



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **СКОРРЕКТИРОВАННОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**

Примечание: библиография отражает состояние при переиздании

(52) СПК

A61K 39/395 (2019.08); A61P 35/00 (2019.08); G01N 33/574 (2019.08)

(21)(22) Заявка: 2017136863, 14.04.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
14.04.2016

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
17.04.2015 US 62/149,184

(43) Дата публикации заявки: 17.05.2019 Бюл. № 14

(45) Опубликовано: 14.04.2020

(15) Информация о коррекции:
Версия коррекции №1 (W1 C2)

(48) Коррекция опубликована:
08.07.2020 Бюл. № 19

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 17.11.2017

(86) Заявка РСТ:
US 2016/027497 (14.04.2016)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2016/168440 (20.10.2016)

Адрес для переписки:
191036, Санкт-Петербург, а/я 24,
"НЕВИНПАТ"

(72) Автор(ы):

О'ШАННЕССИ Даниель Джон (US)

(73) Патентообладатель(и):

Эйсай Инк. (US)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: THOMAS A. et al. "Farletuzumab in
lung cancer". Lung Cancer 2013 April;80(1):15-18,
doi: 10/1016/j.lungcan.2012.12.021.

O'SHANNESY DJ. et al. "Folate receptor alpha
expression in lung cancer: diagnostic and
prognostic significance". Oncotarget 2012
Apr;3(4):414-25, реферат, найдено 19.08.2019 из
PubMed PMID:22547449. O'SHANNESY DJ. et
al. (см. прод.)

(54) Способы лечения рака легкого

(57) Реферат:

Настоящая группа изобретений относится к
медицине, а именно к онкологии, и касается
лечения рака легкого с экспрессией рецептора
фолиевой кислоты альфа (FRA). Для этого
предварительно определяют уровень экспрессии
FRA в биологическом образце пациента и
сравнивают его с референсным стандартом. В
том случае, если уровень экспрессии FRA

пациента равен или превосходит референсный
уровень, осуществляют лечение путем введения
антитела, которое иммуноспецифически
связывается с рецептором FRA. Это обеспечивает
эффективное лечение рака легкого у данной
группы больных за счет индивидуального выбора
оптимального вида лекарственной терапии. 3 н.
и 27 з.п. ф-лы, 5 ил., 1 пр.

(56) (продолжение):

"Characterization of the Human Folate Receptor Alpha Via Novel Antibody-Based Probes". Oncotarget 2011;2:1227-1243. RU 2529797 C2, 27.09.2014.

R U 2 7 1 8 7 8 0 C 9

R U 2 7 1 8 7 8 0 C 9



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

Note: Bibliography reflects the latest situation

(52) CPC

A61K 39/395 (2019.08); *A61P 35/00* (2019.08); *G01N 33/574* (2019.08)

(21)(22) Application: **2017136863, 14.04.2016**

(24) Effective date for property rights:
14.04.2016

Priority:

(30) Convention priority:
17.04.2015 US 62/149,184

(43) Application published: **17.05.2019 Bull. № 14**

(45) Date of publication: **14.04.2020**

(15) Correction information:
Corrected version no1 (W1 C2)

(48) Corrigendum issued on:
08.07.2020 Bull. № 19

(85) Commencement of national phase: **17.11.2017**

(86) PCT application:
US 2016/027497 (14.04.2016)

(87) PCT publication:
WO 2016/168440 (20.10.2016)

Mail address:
191036, Sankt-Peterburg, a/ya 24, "NEVINPAT"

(72) Inventor(s):

O'SHANNESY Daniel John (US)

(73) Proprietor(s):

Eisai Inc. (US)

(54) **METHODS OF TREATING LUNG CANCER**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: present group of inventions refers to medicine, namely to oncology, and concerns treating lung cancer with folic acid receptor alpha (FRA) expression. That is ensured by determining the FRA expression level in the patient's biological sample and comparing it with the reference standard. If the patient's FRA expression level is equal to or exceeds the

reference level, treatment is ensured by introducing an antibody that binds immunorelectively to the FRA receptor.

EFFECT: invention provides effective treatment of lung cancer in the given group of patients due to individual selection of the optimal type of drug therapy.

30 cl, 5 dwg, 1 ex

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

В данной заявке испрашивается приоритет предварительной заявки на патент США No. 62/149184, поданной 17 апреля 2015 года, содержание которой включено в данное описание путем ссылки во всей своей полноте.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

Настоящая заявка содержит перечень последовательностей, который представлен в электронном виде в формате ASCII и включен в данное описание путем ссылки. Указанная копия ASCII, созданная 13 апреля 2016 года, названа 104018.000950_SL.txt и имеет размер 30473 байт.

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Описанный здесь объект относится к способам прогнозирования вероятности возникновения ответной реакции на лечение агентом направленного действия на рецептор фолиевой кислоты альфа (FRA) у пациента, страдающего раком легкого с экспрессией FRA, а также к способам лечения рака легкого с экспрессией FRA у пациента с использованием агента направленного действия на FRA.

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

По оценке Американского общества по борьбе с раком в Соединенных Штатах Америки в 2015 году диагностировано 221200 новых случаев рака легкого и бронхов, что составляет приблизительно 14% от всех вновь возникших случаев рака. Кроме того, по оценке в Соединенных Штатах Америки в 2015 году 158040 человек умрет от рака легкого и бронхов, что составляет приблизительно 27% от всех случаев смерти от рака. Приблизительно 84% всех случаев рака легкого представляют собой немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), и пятилетний уровень выживаемости составляет лишь 18% (American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2015. Atlanta: American Cancer Society. 2015).

Распространенный NSCLC остается трудно поддающимся лечению, причем длительная выживаемость является чрезвычайно редкой. Химиотерапия, в особенности основанные на платине двухкомпонентные комбинации лекарственных средств, представляет собой утвержденное лечение для пациентов, у которых отсутствуют или не известны активирующие мутации для направленной терапии. Гистология представляет собой все более значимый фактор при выборе химиотерапии для пациентов с распространенным NSCLC (Li et al., J Clin Oncol 2013; 31:1039-1049). В расширенном исследовании 3 фазы распространенного NSCLC обнаружено, что цисплатин вместе с пеметрекседом обеспечивали статистически превосходящую общую выживаемость (OS) по сравнению с цисплатином вместе с гемцитабином у субъектов с аденокарциномой или крупноклеточной карциномой (Scagliotti, et al., J Clin Oncol 2008; 26:3543-3551.) Однако в том же исследовании те субъекты, которые имели плоскоклеточную гистологию, продемонстрировали лучший результат при лечении гемцитабином вместе с цисплатином.

Позже было идентифицировано множество драйверных мутаций, обеспечивающих направленное лечение с лучшими результатами при NSCLC. Европейский консорциум по известным мутациям при раке легкого обнаружил такие "действенные" мутации у 64% из 1007 пациентов с аденокарциномой, которые были оценены, причем наиболее часто встречались KRAS, EGFR и ALK. Использование направленного лечения на этой стадии приводило в результате к медиане OS, составляющей 3,5 года, в подгруппе пациентов с онкогенными драйверными мутациями, получающих направленное лечение, по сравнению с OS, составляющей 2,4 года, у пациентов, у которых мутации были идентифицированы, но направленная терапия не проводилась, и 2,1 года у пациентов,

у которых не были продемонстрированы онкогенные драйверы ($P=0,001$) (Kris et al., JAMA 2014; 311:1998-2006).

Рецептор фолиевой кислоты альфа (FRA) представляет собой белок, заякоренный на клеточной поверхности посредством GPI (гликозилфосфатидилинозитол), экспрессия и биология которого ассоциирована с множеством типов злокачественных клеток. Антитела против FRA были разработаны и протестированы в доклинических и клинических исследованиях, оценивающих их действие по подавлению ракового роста у пациентов, у которых опухоли экспрессируют этот антиген. Недавно были проведены исследования при раке яичников и раке легкого для тестирования эффектов антител против FRA при этих заболеваниях (Armstrong et al., Gynecol. Oncol. 2013 Jun; 129(3):452-8; Thomas et al., Lung Cancer. 2013; 80(1):15-8.). Результаты этих исследований демонстрируют, что терапия против FRA не смогла обеспечить статистически значимую клиническую пользу в широких, не дополненных или не отобранных по биомаркеру гетерогенных группах всех пациентов, первоначально отобранных для лечения, которые частично состояли из пациентов, страдающих от видов рака, проявляющих варьирующие уровни антигена FRA, а также другие факторы, которые могут повлиять на фармакологическую(ие) активность(и) антител против FRA (Vergote et al., Cancer Metastasis Rev. 2015 Jan 7, DOI 10.1007/s10555-014-9539-8; Thomas et al., Lung Cance. 2013; 80(1):15-8). Хотя большинство клинических исследований антитела против FRA включали всех направленных для исследования пациентов, ни в одном из исследований не отбирали пациентов на основе уровня экспрессии FRA для определения того, могут ли пороговые уровни экспрессии FRA в опухоли коррелировать с терапевтическим ответом на терапию антителом против FRA. В настоящее время отсутствуют данные, которые свидетельствовали бы о корреляции уровня экспрессии FRA с терапевтическим ответом на терапию антителом против FRA. Действительно, обнаруженные коррелятивные взаимодействия между экспрессией опухолевого антигена и ответом на терапию, направленную против антигена, сложно установить для множества опухолевых антигенов. Один из наиболее исследованных опухолевых антигенов HER2 представляет собой один из множества примеров, демонстрирующих отсутствие корреляции экспрессия-клиническая польза, поскольку при лечении пациентов антителом против HER2 герцептином (трастузумабом) было обнаружено, что оно обеспечивает клиническую пользу независимо от высокого или низкого уровня опухолевого антигена (Paik et. al; N Engl J Med 2008; 358:1409-1411).

Существует все возрастающая потребность в способах идентификации пациентов, страдающих NSCLC, которые могли бы отвечать на схемы лечения, направленные на FRA. Описанные здесь способы и наборы удовлетворяют этой потребности.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В данном изобретении предложены способы прогнозирования вероятности возникновения ответной реакции на лечение агентом направленного действия на рецептор фолиевой кислоты альфа (FRA) у пациента, страдающего раком легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа (FRA). Способы прогнозирования такой вероятности возникновения ответной реакции на лечение включают определение уровня экспрессии FRA у пациента в биологическом образце и сравнение данного уровня экспрессии FRA у пациента с референсным уровнем экспрессии FRA. Пациент вероятно отвечает на лечение агентом направленного действия на FRA в том случае, если уровень экспрессии FRA у пациента равен или превосходит референсный уровень экспрессии FRA.

Также здесь предложены способы лечения рака легкого с экспрессией рецептора

фолиевой кислоты альфа (FRA) у пациента агентом направленного действия на FRA. Такие способы включают определение уровня экспрессии FRA у пациента в биологическом образце; сравнение данного уровня экспрессии FRA у пациента с референсным уровнем экспрессии FRA; и введение агента направленного действия на FRA пациенту в том случае, если уровень экспрессии FRA у пациента равен референсному уровню экспрессии FRA или превосходит его. В некоторых воплощениях химиотерапевтический агент (например, описанную здесь стандартную химиотерапию) вводят пациенту вместе с агентом направленного действия на FRA или без такого агента.

В некоторых воплощениях способов прогнозирования вероятности возникновения ответной реакции на лечение агентом направленного действия на рецептор фолиевой кислоты альфа (FRA) и способов лечения рака легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа (FRA) у пациента описанным здесь агентом направленного действия на FRA, указанный агент направленного действия на FRA включает антитело, которое иммуноспецифически связывается с FRA или его антигенсвязывающим фрагментом. В предпочтительных воплощениях такое антитело, которое иммуноспецифически связывается с FRA, включает фарлетузумаб. В некоторых воплощениях антитело, которое иммуноспецифически связывается с FRA, конъюгировано с токсином, таким как, например, ингибитор образования микротрубочек, агент, повреждающий ДНК (например, радионуклид), ингибитор репарации ДНК или ингибитор передачи сигнала. Пример конъюгата антитело-лекарственное средство, который может быть использован в качестве агента направленного действия на FRA, в соответствии с описанными здесь способами, представляет собой IMG853. В некоторых воплощениях описанных здесь способов агент направленного действия на FRA представляет собой винтафолдид.

В некоторых воплощениях описанных здесь способов рак легкого с экспрессией FRA представляет собой немелкоклеточный рак легкого (NSCLC) с экспрессией FRA. В некоторых воплощениях NSCLC представляет собой аденокарциному.

Для каждого из вышеупомянутых способов референсный уровень экспрессии FRA соответствует уровню экспрессии FRA, выше которого группа пациентов, пораженных раком легкого с экспрессией FRA, которой вводят агент направленного действия на FRA, демонстрирует статистически значимое улучшение в по меньшей мере одном клиническом результате по сравнению с группой пациентов, пораженных раком легкого с экспрессией FRA, которой вводят плацебо. Улучшенный клинический результат может представлять собой, например, выживаемость без прогрессирования и/или общую выживаемость. В некоторых воплощениях референсный уровень экспрессии FRA соответствует 42%+1 или больше описанного здесь окрашивания против FRA. В некоторых воплощениях референсный уровень экспрессии FRA составляет 21%+2 или больше описанного здесь окрашивания против FRA. В некоторых воплощениях референсный уровень экспрессии FRA составляет 14%+3 или больше описанного здесь окрашивания. В некоторых воплощениях референсный уровень экспрессии FRA равен показателю FRAMSCOR (или M-score) 7. В некоторых воплощениях референсный уровень экспрессии FRA равен показателю HBSCOR 0,25.

В некоторых воплощениях группам пациентов, пораженных раком легкого с экспрессией FRA, дополнительно вводят химиотерапевтический агент, такой как, например, таксан, содержащее платину соединение (например, цисплатин, карбоплатин) и антифолат (например, пеметрексед) или любую их комбинацию.

Уровень экспрессии FRA может быть измерен в соответствии с описанными здесь способами путем количественного определения белка или количественного определения

РНК. Может быть измерена экспрессия цитоплазматического или мембранного FRA. В предпочтительном воплощении уровень экспрессии FRA измеряют посредством иммуногистохимического анализа. В предпочтительных воплощениях уровень экспрессии FRA определяют посредством иммуноанализа с использованием по меньшей мере одного из следующих антител:

(а) антитело, которое связывается с тем же самым эпитопом, что и фарлетузумаб;
 (б) антитело, содержащее SEQ ID NO:1 (GFTFSGYGLS) в качестве CDRH1, SEQ ID NO:2 (MISSGGSYTYADSVKG) в качестве CDRH2, SEQ ID NO:3 (HGDDPAWFAY) в качестве CDRH3, SEQ ID NO:4 (SVSSSISSNNLH) в качестве CDRL1, SEQ ID NO:5 (GTS N LAS) в качестве CDRL2 и SEQ ID NO:6 (QQWSSYPYMYT) в качестве CDRL3;

(в) антитело, содержащее вариабельную область зрелой легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:7, и вариабельную область зрелой тяжелой цепи, содержащую аминокислоту SEQ ID NO: 8;

(г) фарлетузумаб;

(д) антитело 548908;

(е) антитело, которое связывается с тем же самым эпитопом, что и антитело 548908;

(ж) антитело 6D398;

(з) антитело, которое связывается с тем же самым эпитопом, что и антитело 6D398;

(и) антитело BN3.2 (Leica Biosystems);

(к) антитело, которое связывается с тем же самым эпитопом, что и антитело BN3.2;

(л) антитело, которое связывается с тем же самым эпитопом, что и антитело 26B3;

(м) антитело, содержащее SEQ ID NO: 14 (GYFMN) в качестве CDRH1, SEQ ID NO: 15 (RIFPYNGDTFYNQKFKG) в качестве CDRH2, SEQ ID NO: 16 (GTHYFDY) в качестве CDRH3, SEQ ID NO: 17 (RTSENIFSILA) в качестве CDRL1, SEQ ID NO: 18 (NAKTLAE) в качестве CDRL2 и SEQ ID NO: 19 (QHNYAFPWT) в качестве CDRL3;

(н) антитело 26B3;

(о) антитело, которое связывается с тем же самым эпитопом, что и антитело 19D4;

(п) антитело, содержащее SEQ ID NO: 20 (HPYMH) в качестве CDRH1, SEQ ID NO: 21 (RIDPANGNTKYDPKFQGG) в качестве CDRH2, SEQ ID NO: 22 (EEVADYTMDY) в качестве CDRH3, SEQ ID NO: 23 (RASESVDITYGNNFIH) в качестве CDRL1, SEQ ID NO: 24 (LASNLES) в качестве CDRL2 и SEQ ID NO: 25 (QQNNGDPWT) в качестве CDRL3;

(р) антитело 19D4;

(с) антитело, которое связывается с тем же самым эпитопом, что и антитело 9F3;

(т) антитело, содержащее SEQ ID NO: 26 (SGYYWN) в качестве CDRH1, SEQ ID NO: 27 (YIKSDGSNNYNPSLKN) в качестве CDRH2, SEQ ID NO: 28 (EWKAMDY) в качестве CDRH3, SEQ ID NO: 29 (RASSTVSYSYLH) в качестве CDRL1, SEQ ID NO: 30 (GTSNLA) в качестве CDRL2 и SEQ ID NO: 31 (QQYSGYPLT) в качестве CDRL3;

(у) антитело 9F3;

(ф) антитело, которое связывается с тем же самым эпитопом, что и антитело 24F12;

(х) антитело, содержащее SEQ ID NO: 32 (SYAMS) в качестве CDRH1, SEQ ID NO: 33 (EIGSGGSYTYYPDTVTG) в качестве CDRH2, SEQ ID NO: 34 (ETTAGYFDY) в качестве CDRH3, SEQ ID NO: 35 (SASQGINNFLN) в качестве CDRL1, SEQ ID NO: 36 (YTSSLHS) в качестве CDRL2 и SEQ ID NO: 37 (QHFSKLPWT) в качестве CDRL3;

(ц) антитело 24F12;

(ч) антитело, которое содержит вариабельную область легкой цепи, выбранную из группы, состоящей из:

(1) LK26HuVK;

(2) LK26HuVKY;

(3) LK26HuVKPW; и

(4) LK26HuVKPW,Y;

(ш) антитело, которое содержит вариабельную область тяжелой цепи, выбранную из группы, состоящей из:

(1) LK26HuVH;

(2) LK26HuVH FAIS,N;

(3) LK26HuVH SLF;

(4) LK26HuVH I,I;

(5) LK26KOLHuVH;

(э) антитело, которое содержит вариабельную область тяжелой цепи LK26KOLHuVH (SEQ ID NO: 46) и вариабельную область легкой цепи LK26HuVKPW,Y (SEQ ID NO: 41);

(ю) антитело, которое содержит вариабельную область тяжелой цепи LK26HuVH SLF (SEQ ID NO: 44) и вариабельную область легкой цепи LK26HuVKPW,Y (SEQ ID NO: 41);

(аа) антитело, которое содержит вариабельную область тяжелой цепи LK26HuVH FAIS.N (SEQ ID NO: 43) и вариабельную область легкой цепи LK26HuVKPW,Y (SEQ ID NO: 41); и

(бб) мышинное моноклональное антитело LK26.

В описанных здесь способах уровень экспрессии FRA может быть определен методикой цифровой визуализации или количественного определения патологии вручную. В некоторых воплощениях уровень экспрессии FRA определяют по показателю FRAMSCOR или HBSCOR.

Биологический образец, исследуемый в соответствии с описанными здесь способами, может представлять собой мочу, кровь, сыворотку крови, плазму крови, слюну, циркулирующие в крови клетки, циркулирующие в крови опухолевые клетки или опухолевую ткань (например, плевральную ткань). В некоторых воплощениях биологический образец содержит плевральные клетки, полученные из экссудата.

Описанные способы дополнительно могут включать введение пациенту химиотерапевтического агента независимо от того, равен ли уровень экспрессии FRA у пациента референсному уровню экспрессии FRA или превосходит его. В предпочтительном воплощении химиотерапевтический агент включает содержащее платину соединение, такое как цисплатин или карбоплатин; таксан (например, паклитаксел); антифолат (например, пеметрексед) или любую их комбинацию. Например, в описанных здесь способах пациенту могут быть введены карбоплатин и паклитаксел; карбоплатин и пеметрексед; или цисплатин и пеметрексед.

Дополнительные аспекты приведенного объекта изобретения более подробно изложены в подробном описании изобретения, а также в примерах и сопроводительных графических материалах.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Краткое изложение сущности изобретения, а также последующее подробное описание изобретения далее станут понятны при их прочтении вместе с формулой изобретения. Для цели иллюстрирования раскрытые способы представлены в графическом изложении примеров воплощений способов; однако, способы не ограничены конкретными раскрытыми воплощениями. В графических материалах:

На Фиг. 1 показана пригодность плевральной ткани для количественного определения FRA по показателю FRAMSCOR и HBSCOR. Образцы нормальной ткани (левая верхняя панель) или ткани злокачественной немелкоклеточной карциномы легкого (NSCLC) (все остальные панели) получены от пациентов. Ткани фиксировали в формалине,

нарезали на предметных стеклах и окрашивали в отношении экспрессии FRA с использованием антитела против FRA 26B3. Окрашенные предметные стекла визуализировали посредством микроскопии и документировали при помощи фотографии. На данной фигуре представлен образец плевральной ткани и окрашивание, которое подходит для количественного определения окрашивания цитоплазматического или мембранного FRA (верхний ряд). Образцы с плохой консервацией ткани, плохой тканевой морфологией или чрезмерным окрашиванием, а также образцы, состоящие из злокачественных клеток в плевральных экссудатах, а не плевральной ткани, исключены из исследования корреляции клинического результата и экспрессии FRA. Примеры последнего представлены в нижнем ряду. Клетки, полученные из экссудатов, могут быть использованы для измерения минимальных уровней FRA, необходимых для анти-FRA терапевтического ответа.

На Фиг. 2 показан типичный образец референсного набора данных, используемых для оценки +1 (низкая экспрессия), +2 (умеренные уровни) и +3 (высокие уровни) экспрессии FRA в злокачественной плевральной ткани.

На Фиг. 3 показан типичный анализ экспрессии с точкой отсечения, измеряющий цитоплазматические уровни FRA с клиническим результатом (общая выживаемость) с использованием метода HBSCOR. Значимое улучшение ответа обнаружено у пациентов, у которых уровень экспрессии FRA превосходит показатель HBSCOR, равный приблизительно 0,29 или больше. При этом уровне наблюдаются значимые клинические ответы (отношение рисков меньше 0,5) по сравнению с пациентами, у которых уровень экспрессии опухолевого FRA меньше этой величины. Положительные клинические результаты (отношение рисков меньше 0,7) наблюдаются у пациентов, которых лечили фарлетузумабом, причем показатель HBSCOR равен 0,25 или больше.

На Фиг. 4А и 4В проиллюстрированы клинические ответы у пациентов, которых лечили стандартной (standard-of-care, SOC) химиотерапией с фарлетузумабом или без него, и у которых экспрессируются высокие уровни локализованного в мембране (FRAMSCOR) FRA. Панель А демонстрирует типичное измерение общей выживаемости (OS) у пациентов с высокими уровнями FRA с использованием метода FRAMSCOR, где пациенты, которых лечили фарлетузумабом плюс SOC (верхняя линия; треугольники) и у которых показатель FRAMSCOR больше 7, демонстрировали клинически значимое улучшение OS по сравнению с пациентами, которых лечили плацебо плюс SOC (нижняя линия; окружности) к 18,3 месяцам по сравнению с 10,0 месяцами (отношение рисков 0,54; $p=0,0266$), соответственно. Похожее улучшение клинических показателей обнаружено при измерении PFS (время в месяцах с даты рандомизации к дате первого обнаружения прогрессирования). Панель В демонстрирует то, что пациенты, которых лечили фарлетузумабом плюс SOC (верхняя линия; треугольники) и у которых показатель FRAMSCOR меньше 7, не демонстрировали клинически значимого улучшения OS по сравнению с пациентами, которых лечили плацебо плюс SOC (нижняя линия; окружности) ($P=0,386$).

На Фиг. 5А и 5В проиллюстрированы клинические ответы у пациентов, которых лечили стандартной (SOC) химиотерапией с фарлетузумабом или без него и у которых экспрессируются высокие уровни цитоплазматического FRA (панель В), по сравнению с пациентами, у которых экспрессируются низкие уровни цитоплазматического FRA (панель А), определенные с использованием метода HBSCOR. Панель А демонстрирует типичное измерение общей выживаемости (OS) у пациентов с низкими уровнями FRA, где пациенты, имеющие субоптимальный показатель HBSCOR (HBSCOR меньше 0,38), не демонстрировали клиническое улучшение при лечении фарлетузумабом (закрашенные

окружности) по сравнению с контролем плацебо (незакрашенные окружности) (отношение рисков 1,03; $p=0,5389$). Панель В демонстрирует статистически значимое улучшение общей выживаемости у пациентов, имеющих оптимальный показатель HBSCOR (HBSCOR не менее 0,38; общее отношение 0,24; $p=0,0069$), которое

5 пересчитывается в показатель улучшения общей выживаемости 8,8 месяцев. Похожие эффекты обнаружены при измерении PFS.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЛЛЮСТРАТИВНЫХ ВОПЛОЩЕНИЙ

Раскрытые способы будут более понятны со ссылкой на следующее подробное описание с использованием графических материалов, которые образуют часть данного

10 описания. Понятно, что раскрытые способы не ограничены конкретными описанными и/или представленными здесь способами, и что используемая здесь терминология приведена исключительно с целью описания конкретных воплощений и не предназначена для ограничения заявленных способов.

Аналогично, если специально не указано иное, то предполагается, что любое описание

15 в отношении возможного механизма или способа действия или причины для улучшения является исключительно иллюстративным, и раскрытые способы не должны ограничиваться корректностью или не корректностью любого такого предполагаемого механизма или способа действия, или причины для улучшения.

Понятно, что некоторые характеристики раскрытых способов, которые для ясности

20 описаны здесь в контексте отдельных воплощений, также могут быть предложены в комбинации в одном воплощении. Наоборот, различные характеристики раскрытых способов, которые для краткости описаны в контексте одного воплощения, также могут быть предложены отдельно или в любой подкомбинации.

Используемые здесь формы единственного числа включают множественные формы.

Предполагается, что используемый здесь термин "приблизительно" в отношении

25 измеряемой величины, такой как количество, временной отрезок и тому подобное охватывает отклонения до $\pm 10\%$ от указанной величины, насколько такие отклонения приемлемы для реализации раскрытых способов. Если не указано иное, то все числа, выражающие количества ингредиентов, свойства, такие как молекулярная масса,

30 реакционные условия и тому подобное, используемые в описании и формуле изобретения, должны рассматриваться как модифицируемые во всех случаях термином "приблизительно". Соответственно, если не указано иное, то числовые параметры, представленные в следующем описании и формуле изобретения, представляют собой приближения, которые могут варьировать до тех пор, пока желаемые рассматриваемые

35 характеристики могут достигаться настоящим изобретением. По меньшей мере и не в качестве попытки ограничить заявку на изобретение доктрины эквивалентов объемом формулы изобретения, каждый числовой параметр по меньшей мере должен быть интерпретирован в свете ряда приведенных значащих разрядов и путем применения обычных способов округления.

40 Термин "антитело" относится к (а) иммуноглобулиновым полипептидам, то есть полипептидам семейства иммуноглобулинов, содержащим антигенсвязывающий сайт, который специфически связывается с конкретным антигеном (например, рецептором фолиевой кислоты альфа), включающим все изотипы иммуноглобулинов (IgG, IgA, IgE, IgM, IgD и IgY), классы (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2), подклассы и

45 различные мономерные и полимерные формы каждого изотипа, если не указано иное, и (б) вариантам с консервативными заменами таких иммуноглобулиновых полипептидов, которые иммуноспецифически связываются с этим антигеном (например, рецептором фолиевой кислоты альфа). Антитела в общем описаны, например, в Harlow & Lane,

Antibodies: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988). Если из контекста не очевидно иное, то ссылка на антитело также включает производные антитела, как более подробно описано ниже.

"Фрагменты антитела" содержат часть полноразмерного антитела, как правило, его антигенсвязывающую или вариабельную область, такую как Fab, Fab', F(ab')₂ и

фрагменты Fv; диатела; биотела; линейные антитела; одноцепочечные молекулы антитела; и мультиспецифические антитела, образованные фрагментами антитела.

Различные способы разработаны для продуцирования фрагментов антитела, включая протеолитическое расщепление антител и рекомбинантное продуцирование в клетках-

хозяевах; тем не менее, другие способы продуцирования фрагментов антител будут понятны практикующим специалистам в данной области техники. В некоторых воплощениях выбираемый фрагмент антитела представляет собой одноцепочечный фрагмент Fv (scFv). "Одноцепочечный Fv" или "scFv" фрагменты антитела содержат домены V_H и V_L антитела, где эти домены представлены в одной полипептидной цепи.

Как правило, полипептид Fv дополнительно содержит полипептидный линкер между доменами V_H и V_L, который обеспечивает scFv возможность образовывать желаемую структуру для связывания антигена. Обзор scFv и других фрагментов антитела см. в James D. Marks, Antibody Engineering, Chapter 2, Oxford University Press (1995) (Carl K. Borrebaeck, Ed.).

"Производное антитела" обозначает антитело, определенное выше, модифицированное ковалентным присоединением гетерологичной молекулы, например, присоединением гетерологичного полипептида (например, цитотоксина) или терапевтического агента (например, химиотерапевтического агента), или гликозилированием, дегликозилированием, ацетилированием или фосфорилированием, в обычных условиях не связанным с антителом, и тому подобное.

Термин "моноклональные антитела" относится к антителу, полученному из одного клона клетки, включая клон любой эукариотической или прокариотической клетки, или фаговый клон, а не к способу, которым оно получено. Таким образом, термин "моноклональное антитело" не ограничено антителами, полученными при помощи гибридной технологии.

"Антиген" представляет собой объект, с которым антитело связывается специфическим образом. Например, рецептор фолиевой кислоты альфа представляет собой антиген, с которым специфически связывается антитело против рецептора фолиевой кислоты альфа.

"Агент направленного действия на FRA" представляет собой терапевтический агент, который нацеливается на FRA или оказывает свое действие через FRA. Агенты направленного действия на FRA включают, без ограничения, связывающие FRA белки, такие как антитела, которые иммуноспецифически связываются с FRA, и их антигенсвязывающие фрагменты, например, фарлетузумаб; конъюгаты лекарственного средства с такими антителами и антигенсвязывающими фрагментами, например IMG853 (Immunogen); и небольшие молекулы, такие как винтафолид (EC 145; Endocyte). Винтафолид представляет собой конъюгат фолат-деацетилвинбластин моногидразид, который обеспечивает высвобождение лекарственного средства в цитоплазму раковых клеток посредством FRA и эндоцитоза. В предпочтительных воплощениях агент направленного действия на FRA представляет собой фарлетузумаб.

Термины "рак" или "опухоль" хорошо известны в данной области техники и относятся к наличию, например, у субъекта клеток, обладающих характеристиками, типичными

для клеток, вызывающих рак, такими как неконтролируемая пролиферация, бессмертие, метастатический потенциал, быстрый рост и скорость пролиферации, и некоторые характерные морфологические признаки. Раковые клетки часто находятся в форме опухоли, однако такие клетки могут существовать отдельно внутри субъекта, или могут представлять собой не образующие опухоль раковые клетки, такие как лейкозные клетки. Используемый здесь термин "рак" включает предзлокачественный, а также злокачественный рак.

Используемый здесь термин "рецептор фолиевой кислоты альфа" (также называемый FRA, FR-альфа, FOLR-1 или FOLR1) относится к альфа-изоформе высокоаффинного рецептора фолата. Связанный с мембраной FRA присоединен к клеточной поверхности с помощью гликозилфосфатидилинозитольного (GPI) якоря, рециркулирует между мембраной и эндоцитарным компартментами и способен транспортировать фолат в клетку. FRA экспрессируется в различных эпителиальных тканях, включающих ткани женских половых путей, плаценту, молочную железу, проксимальные каналы почек, хорионидное сплетение, легкое и слюнные железы. Растворимые формы FRA включают, без ограничения, формы, образующиеся под действием протеаз или фосфолипазы на заякоренных на мембране рецепторах фолиевой кислоты.

Консенсусные нуклеотидные и аминокислотные последовательности для человеческого FRA представлены здесь как SEQ ID NO: 9 и 10, соответственно.

SEQ ID NO: 9

tcaagggttaa acgacaagga cagacatggc tcagcgggatg acaacacagc tgctgctcct 60

tctagtgtgg gtggctgtag taggggaggg tcagacaagg attgcatggg ccaggactga 120

gcttctcaat gtctgcatga acgccaagca ccacaaggaa aagccaggcc ccgaggacaa 180

gttgcatgag cagtgtcgac cctggaggaa gaatgcctgc tgttctacca acaccagcca 240

ggaagcccat aaggatgttt cctacctata tagattcaac tggaaccact gtggagagat 300

ggcacctgcc tgcaaacggc atttcatcca ggacacctgc ctctacgagt gctcccccaa 360


```

cttggggccc tggatccagc aggtggatca gagctggcgc aaagagcggg tactgaacgt 420
gccctgtgc aaagaggact gtgagcaatg gtgggaagat tgtcgcacct cctacacctg 480
5 caagagcaac tggcacaagg gctggaactg gacttcaggg tttaacaagt gcgcagtggg 540
agctgcctgc caacctttcc atttctactt cccacacccc actgttctgt gcaatgaaat 600
ctggactcac tcctacaagg tcagcaacta cagccgaggg agtggccgct gcatccagat 660
10 gtggttcgac ccagcccagg gcaaccccaa tgaggaggtg gcgaggttct atgctgcagc 720
catgagtggg gctggggcct gggcagcctg gcctttcctg cttagcctgg ccctaagtct 780
gctgtggctg ctcagctgac ctcctttttac cttctgatac ctggaaatcc ctgccctgtt 840
cagccccaca gctcccaact atttggttcc tgctccatgg tcgggcctct gacagccact 900
15 ttgaataaac cagacaccgc acatgtgtct tgagaattat ttggaaaaaa aaaaaaaaaa 960
aa 962

```

SEQ ID NO: 10

```

Met Ala Gln Arg Met Thr Thr Gln Leu Leu Leu Leu Leu Val Trp Val
20 Ala Val Val Gly Glu Ala Gln Thr Arg Ile Ala Trp Ala Arg Thr Glu
Leu Leu Asn Val Cys Met Asn Ala Lys His His Lys Glu Lys Pro Gly
Pro Glu Asp Lys Leu His Glu Gln Cys Arg Pro Trp Arg Lys Asn Ala
25 Cys Cys Ser Thr Asn Thr Ser Gln Glu Ala His Lys Asp Val Ser Tyr
Leu Tyr Arg Phe Asn Trp Asn His Cys Gly Glu Met Ala Pro Ala Cys
Lys Arg His Phe Ile Gln Asp Thr Cys Leu Tyr Glu Cys Ser Pro Asn
30 Leu Gly Pro Trp Ile Gln Gln Val Asp Gln Ser Trp Arg Lys Glu Arg
Val Leu Asn Val Pro Leu Cys Lys Glu Asp Cys Glu Gln Trp Trp Glu
Asp Cys Arg Thr Ser Tyr Thr Cys Lys Ser Asn Trp His Lys Gly Trp
35 Asn Trp Thr Ser Gly Phe Asn Lys Cys Ala Val Gly Ala Ala Cys Gln
Pro Phe His Phe Tyr Phe Pro Thr Pro Thr Val Leu Cys Asn Glu Ile
Trp Thr His Ser Tyr Lys Val Ser Asn Tyr Ser Arg Gly Ser Gly Arg
40 Cys Ile Gln Met Trp Phe Asp Pro Ala Gln Gly Asn Pro Asn Glu Glu
Val Ala Arg Phe Tyr Ala Ala Ala Met Ser Gly Ala Gly Pro Trp Ala
Ala Trp Pro Phe Leu Leu Ser Leu Ala Leu Met Leu Leu Trp Leu Leu
45 Ser

```

Используемые здесь термины охватывают варианты, например встречающиеся в природе аллельные варианты или последовательности, содержащие по меньшей мере одну аминокислотную замену.

Использованный здесь термин "не связанный с клеткой" относится к белку, который не присоединен к клеточной мембране клетки, такой как раковая клетка. В конкретном воплощении FRA, не связанный с клеткой, не связан ни с какой клеткой и свободно плавает или солюбилизирован в биологических жидкостях, например моче, сыворотке крови, плазме крови или плевральном экссудате. Например, белок, который не связан с клеткой, может выталкиваться, секретироваться или экспортироваться нормальными или раковыми клетками, например, с поверхности раковых клеток, в биологические жидкости.

Используемый здесь "уровень" или "уровень экспрессии" конкретной РНК относится к уровню РНК, определенному с использованием любого из способов, известных в данной области техники для измерения уровней РНК. Такие способы включают, без ограничения, спектрофотометрию (например, ультрафиолетовое поглощение), флуориметрию, гибридизационный анализ и микрокапиллярный электрофорез.

Используемый здесь "уровень" или "уровень экспрессии" конкретного белка относится к уровню белка, определенному с использованием любого из способов, известных в данной области техники для измерения уровней белка. Такие способы включают, например, электрофорез, капиллярный электрофорез, высокоэффективную жидкостную хроматографию (HPLC), тонкослойную хроматографию (TLC), гипердиффузионную хроматографию, реакции преципитации в жидкости, или геле, абсорбционную спектроскопию, колориметрические анализы, спектрофотометрические анализы, проточную цитометрию, иммунодиффузию (единичную или двойную), анализ в жидкой фазе, иммунофлуориметрию, иммунопреципитацию, равновесный диализ, иммунодиффузию, иммуноэлектрофорез, вестерн-блоттинг, радиоиммунный анализ (RIA), иммуноферментные анализы (ELISA), иммунофлуоресцентные анализы и электрохемилуминесцентный иммуноанализ (проиллюстрированный ниже) и тому подобное. В предпочтительном воплощении уровень определяют с использованием способов на основе антител, как здесь описано более подробно.

Антитела, используемые в иммуноанализах для определения уровня экспрессии конкретного белка, такого как, например, FRA, могут быть мечеными поддающейся обнаружению меткой. Термин "меченый" в отношении связывающего агента или антитела предназначен охватывать непосредственное мечение связывающего агента или антитела путем сочетания (то есть физического связывания) детектируемого вещества со связывающим агентом или антителом, а также опосредованное мечение связывающего агента или антитела путем реакции с другим реагентом, который является непосредственно меченым. Пример опосредованного мечения включает обнаружение первичного антитела с использованием меченого флуоресцентной меткой вторичного антитела. В одном из воплощений антитело является меченым, например, радиоактивно меченым, меченым хромофором, меченым флуорофором или ферментативно меченым. В еще одном воплощении антитело представляет собой производное антитела (например, антитело, конъюгированное с субстратом либо с белком или лигандом пары белок-лиганд (например, биотин-стрептавидин)), или фрагмент антитела (например, одноцепочечное антитело, выделенный гипервариабельный домен антитела).

Уровни экспрессии конкретного маркера (например, FRA) могут быть определены любым из способов количественного определения РНК или белка, известных в данной области техники. Такие способы включают, без ограничения, спектрофотометрию (например, ультрафиолетовое поглощение), флуориметрию, гибридизационные анализы, электрофорез, капиллярный электрофорез, высокоэффективную жидкостную хроматографию (HPLC), тонкослойную хроматографию (TLC), гипердиффузионную

хроматографию, реакции преципитации в жидкости или геле, абсорбционную спектроскопию, колориметрические анализы, спектрофотометрические анализы, проточную цитометрию, иммунодиффузию (единичную или двойную), анализ в жидкой фазе, иммунофлуориметрию, иммунопреципитацию, равновесный диализ, иммунодиффузию, анализ в жидкой фазе, иммуноэлектрофорез, вестерн-блоттинг, радиоиммунный анализ (RIA), иммуноферментные анализы (ELISA), иммунофлуоресцентные анализы и электрохемилюминесцентный иммуноанализ (пример которого приведен ниже) и тому подобное. В предпочтительном воплощении уровень определяют с использованием способов на основе антител, как здесь описано более подробно. В предпочтительном воплощении используют иммуногистохимический анализ (например, опухолевой ткани). В одном из воплощений используют протеомные способы, например масс-спектрометрию. Масс-спектрометрия представляет собой аналитический способ, который состоит из ионизации химических соединений с образованием заряженных молекул (или их фрагментов) и измерения отношений их массы к заряду. В типичном способе масс-спектрометрии получают образец от субъекта, загружают в масс-спектрометр, и его компоненты (например, FRA) ионизируют различными способами (например, путем воздействия на них электронного пучка), что приводит в результате к образованию заряженных частиц (ионов). Затем вычисляют отношение массы к заряду частиц по движению ионов по мере того, как они проходят через электромагнитные поля.

Например, для определения уровня FRA можно использовать времяпролетную масс-спектрометрию с лазерной ионизацией и десорбцией из жидкой матрицы (MALDI-TOF MS) или усиленную поверхность времяпролетную масс-спектрометрию с лазерной десорбцией/ионизацией (SELDI-TOF MS), которая включает нанесение образца, такого как моча или сыворотка крови, на связывающий белок чип (Wright, G.L., Jr., et al. (2002) Expert Rev Mol Diagn 2:549; Li, J., et al. (2002) Clin Chem 48:1296; Laronga, C, et al. (2003) Dis Markers 19:229; Petricoin, E.F., et al. (2002) 359:572; Adam, B.L., et al. (2002) Cancer Res 62:3609; Tolson, J., et al. (2004) Lab Invest 84:845; Xiao, Z., et al. (2001) Cancer Res 61:6029).

Кроме того, способы определения уровня маркера (например, FRA) *in vivo*, включают введение субъекту меченого антитела, направленного против маркера, которое связывается с данным маркером с обеспечением его обнаружения. Присутствие, уровень или расположение поддающегося обнаружению маркера у субъекта могут быть определены с использованием стандартных способов визуализации (например, позитронно-эмиссионной томографии (PET)).

Используемый здесь субъект, который "поражен раком легкого" или "страдает раком легкого", представляет собой субъекта, у которого практикующим врачом клинически диагностирован рак легкого на любой стадии, или субъекта, который демонстрирует один или более чем один признак или симптом такого рака, и у которого такой рак затем клинически диагностируется квалифицированным практикующим врачом. Не являющийся человеком субъект, который служит в качестве животной модели рака легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа, также может находиться в объеме термина субъекта, "пораженного раком легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа".

Используемый здесь "рак легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа" включает любой тип рака легкого, характеризующийся тем, что раковые клетки экспрессируют или презентуют на своей поверхности рецептор фолиевой кислоты альфа. Рак легкого может быть клинически диагностирован, но не требуется, чтобы был клинически диагностирован как экспрессирующий FRA, охватываемый

используемым здесь термином "рак легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа". Фраза "рак легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа" специфически включает немелкоклеточный рак легкого (NSCLC) с экспрессией FRA и экспрессирующую FRA немелкоклеточную легочную аденокарциному.

5 Используемый здесь термин "образец" или "биологический образец" относится к отбору похожих жидкостей, клеток или тканей, выделенных у субъекта, а также жидкостей, клеток или тканей, присутствующих внутри субъекта. Образец, оцениваемый в отношении уровня экспрессии FRA, может быть получен из мочи, крови, сыворотки крови, плазмы крови, плеврального экссудата, мокроты, бронхиальных смывов, циркулирующих в крови клеток, циркулирующих в крови опухолевых клеток, клеток, которые не ассоциированы с тканью (то есть свободных клеток), тканей (например, плевральной ткани, хирургически удаленной опухолевой ткани, биопсий, включающих тонкоигольную аспирационную биопсию), гистологических препаратов и тому подобное.

15 В некоторых воплощениях только часть образца подвергают анализу для определения уровня маркера, или различные части образца подвергают различным анализам для определения уровня маркера. Также во многих воплощениях образец может быть предварительно обработан физическими или химическими средствами перед анализом. Например, образцы могут быть подвергнуты центрифугированию, разведению и/или обработке солибилизирующим веществом (например, обработке гуанидином) перед измерением в образцах маркера. Такие способы служат для повышения точности, надежности и воспроизводимости анализов.

Термин "референсный уровень экспрессии", используемый для описания уровня экспрессии маркера (например, FRA), относится к принятому или заранее определенному уровню маркера, который используется для сравнения с уровнем маркера в образце, полученном у субъекта. В одном из воплощений референсный уровень экспрессии FRA 25 заранее определяют с использованием группы пациентов, пораженных раком легкого с экспрессией FRA, которых лечат агентом направленного действия на FRA (например, антителом, которое иммуноспецифически связывается с FRA), относительно группы пациентов, пораженных раком легкого с экспрессией FRA, которые получают плацебо вместо агента направленного действия на FRA. Группы пациентов могут получать стандартную терапию такого рака легкого с экспрессией FRA дополнительно к указанному антителу или плацебо.

Использованный здесь термин "приведение образца в контакт" со специфическим связывающим агентом, например антителом, включает воздействие на образец или 35 любую его часть агентом, так чтобы по меньшей мере часть образца приводилась в контакт с агентом. Образец или его часть можно изменять некоторым образом, например подвергая его физической или химической обработке (например, разведение или обработка гуанидином) перед приведением его в контакт с агентом.

Термин "ингибировать" или "ингибирование" означает уменьшение измеряемого 40 количества или полное предотвращение.

Термин "истощение" в контексте действия терапевтического агента FRA на клетки, экспрессирующие рецептор фолиевой кислоты альфа, относится к уменьшению количества или устранению клеток, экспрессирующих рецептор фолиевой кислоты альфа.

45 Термин "функциональный" в контексте антитела, используемого в соответствии с описанными здесь способами, указывает на то, что антитело (1) способно связываться с антигеном и/или (2) истощает или ингибирует пролиферацию клеток, экспрессирующих антиген.

Термины "лечение" или "лечить" либо "положительный терапевтический ответ" относятся к замедлению, остановке или обращению прогрессирования рака с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа у пациента, о чем свидетельствует уменьшение или устранение клинического или диагностического симптома заболевания путем введения субъекту агента направленного действия на FRA после проявления клинического или диагностического симптома рака легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа на любой клинической стадии. Лечение может включать, например, уменьшение тяжести симптома, количества симптомов или частоты обострений, истощение содержания клеток рака легкого с экспрессией FRA, ингибирование роста клеток рака легкого с экспрессией FRA или статистически значимое и/или клинически релевантное улучшение специфического клинического результата (например, выживаемость без прогрессирования, общая выживаемость).

Фраза "отвечающий на лечение агентом направленного действия на FRA" предназначена для обозначения того, что субъект-кандидат (то есть индивид, страдающий раком легкого с экспрессией FRA) после введения агента направленного действия на FRA будет демонстрировать положительный терапевтический ответ в отношении рака легкого.

Термин "фармацевтически приемлемый" относится к характеристикам и/или веществам, которые приемлемы для пациента с фармакологической/токсикологической точки зрения и к приготовлению фармацевтических соединений с физической/химической точки зрения в отношении композиции, состава, стабильности, приемлемости для пациента и биологической доступности, и включает свойства и/или вещества, одобренные регулирующими органами федерального правительства или правительства штата или перечисленные в Фармакопее США или другой общепринятой фармакопее для применения в отношении животных, и более конкретно, в отношении людей. Термин "фармацевтически совместимый ингредиент" относится к фармацевтически приемлемому разбавителю, адъюванту, эксципиенту или разбавителю, с которым вводят антитело против рецептора фолиевой кислоты альфа. "Фармацевтически приемлемый носитель" относится к среде, которая не влияет на эффективность биологической активности активного(ых) ингредиента(ов) и не является токсичной в отношении хозяина, которому ее вводят.

Термины "эффективное количество", "терапевтически эффективное количество" используются здесь взаимозаменяемо и в контексте введения фармацевтического агента относятся к количеству агента (например, агента направленного действия на FRA), достаточному для ингибирования возникновения или облегчения одного или более чем одного клинического или диагностического симптома у пациента, страдающего раком легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа. Терапевтически эффективное количество агента может варьировать в зависимости от факторов, таких как стадия заболевания, возраст, пол и масса индивида, а также способность агента вызывать желаемый ответ у индивида. Такие результаты могут включать, без ограничения, лечение рака легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа, как определено любыми средствами, подходящими в данной области техники. Эффективное количество агента вводят в соответствии со способами, описанными здесь в "эффективной схеме". Термин "эффективная схема" относится к комбинации количества агента и частоты введения дозы, адекватной для осуществления лечения рака легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа.

Термины "пациент" и "субъект" используются взаимозаменяемо в отношении людей и других животных, не являющихся человеком, включая ветеринарных субъектов,

которые получают диагностическое, профилактическое или терапевтическое лечение. Термин "животное, не являющееся человеком" включает всех позвоночных животных, например млекопитающих и немлекопитающих, таких как приматы, не являющиеся человеком, мыши, кролики, овцы, собаки, кошки, лошади, коровы, куры, земноводные и пресмыкающиеся. В предпочтительном воплощении субъект представляет собой человека.

Терапевтические агенты, как правило, являются по существу чистыми от нежелательных примесей. Это означает, что агент, как правило, является чистым по меньшей мере приблизительно на 50% масс/масс, (масса/масса), а также по существу чистым от мешающих белков и примесей. Иногда агенты являются чистыми по меньшей мере приблизительно на 80% масс/масс, и более предпочтительно по меньшей мере на 90 или приблизительно 95% масс/масс. Тем не менее, с использованием обычных способов очистки белка могут быть получены гомогенные пептиды с по меньшей мере 99% чистотой масс/масс.

Способы прогнозирования вероятности возникновения ответной реакции на лечение агентом направленного действия на FRA

Здесь предложены способы прогнозирования вероятности возникновения ответной реакции на лечение агентом направленного действия на FRA (например, антителом, которое иммуноспецифически связывается с FRA), у пациента, страдающего раком легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа (FRA). В некоторых воплощениях способов прогнозирования вероятности возникновения ответной реакции на лечение описанным здесь агентом направленного действия на FRA рак легкого с экспрессией FRA представляет собой немелкоклеточный рак легкого (NSCLC). В некоторых воплощениях NSCLC представляет собой аденокарциному.

Описанные способы прогнозирования вероятности возникновения ответной реакции на лечение агентом направленного действия на FRA у пациента, страдающего раком легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа (FRA), включают определение уровня экспрессии FRA в биологическом образце пациента.

Определение уровня экспрессии FRA в биологическом образце пациента может быть осуществлено при постановке диагноза, при хирургическом удалении, при начале терапии первой линии, при окончании терапии первой линии, при симптоматическом прогрессировании, серологическом прогрессировании и/или радиологическом прогрессировании рака, при начале терапии второй или следующей линии и/или при завершении такой терапии.

В раскрытых способах прогнозирования вероятности возникновения ответной реакции на лечение агентом направленного действия против FRA у пациента, страдающего раком легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа (FRA), уровень экспрессии FRA может быть определен любым из способов, известных в данной области техники, включая известные способы количественного определения РНК или белка. Такие способы включают, без ограничения, использование антитела для обнаружения экспрессии белка, гибридизацию нуклеиновой кислоты, количественную RT-PCR (полимеразную цепную реакцию с обратной транскрипцией), иммунопреципитацию, равновесный диализ, иммунодиффузию, иммуногистохимию, сортировку клеток с возбуждением флуоресценцией (FACS), флуориметрию, гибридационные анализы, электрофорез, капиллярный электрофорез, высокоэффективную жидкостную хроматографию (HPLC), тонкослойную хроматографию (TLC), гипердиффузионную хроматографию, реакции осаждения в жидкости или геле, абсорбционную спектроскопию, колориметрические анализы,

спектрофотометрические анализы, проточную цитометрию, иммунодиффузию (единичную или двойную), анализ жидкой фазы, иммунопреципитацию, равновесный диализ, иммунодиффузию, анализ жидкой фазы, иммуноэлектрофорез, вестерн-блоттинг, радиоиммуноанализ (RIA), иммуноферментный анализ (ELISA), иммунофлуоресцентные анализы и электрохемилюминесцентный иммуноанализ и тому подобное. В

предпочтительном воплощении уровень определяют с использованием способов на основе антитела, как здесь описано более подробно. В предпочтительном воплощении используют иммуногистохимический анализ (например, плевральной ткани). Стадия определения уровня экспрессии FRA может быть осуществлена *ex vivo* или *in vivo*.

Для анализов *ex vivo* биологический образец, используемый в определении уровня экспрессии FRA, может представлять собой мочу, цельную кровь, сыворотку крови, плазму крови, плевральный экссудат, мокроту, бронхиальные смывы, циркулирующие в крови клетки, циркулирующие в крови опухолевые клетки, клетки, которые не ассоциированы с тканью (то есть свободные клетки), ткани (например, плевральную ткань, хирургически удаленную опухолевую ткань, биопсии, включающие

тонкоигольную аспирационную биопсию), гистологические препараты и тому подобное. Образец ткани, на котором осуществляют анализ, может быть фиксирован или заморожен для осуществления приготовления гистологических срезов. Предпочтительно, удаленные образцы ткани фиксируют в альдегидных фиксаторах, таких как

формальдегид, параформальдегид, глutarовый альдегид; или фиксаторах на основе тяжелых металлов, таких как хлорид двухвалентной ртути. Более предпочтительно, образцы удаленной ткани фиксируют в формалине и заключают в парафиновую смолу перед инкубацией с антителом. Возможно образцы FFPE могут быть обработаны цитратом, EDTA (этилендиаминтетрауксусная кислота), путем ферментативного разложения или тепловой обработки для увеличения доступности эпитопов.

Альтернативно, белковая фракция может быть выделена из клеток установленного или предполагаемого рака легкого и проанализирована посредством ELISA, вестерн-блоттинга, иммунопреципитации и тому подобного. В еще одном варианте клетки могут быть проанализированы в отношении экспрессии рецептора фолиевой кислоты альфа посредством анализа FACS. В еще одном варианте мРНК может быть экстрагирована из клеток установленного или предполагаемого рака легкого. мРНК или происходящую из нее нуклеиновую кислоту, такую как кДНК, можно затем анализировать путем гибридизации с нуклеиновым зондом, связывающимся с ДНК, кодирующей рецептор фолиевой кислоты альфа.

Например, стадия определения уровня экспрессии FRA может включать определение уровня экспрессии FRA в биологическом образце ткани рака легкого, полученной у субъекта. Уровни экспрессии FRA могут быть определены посредством иммуноанализа, при котором образец, содержащий клетки, для которых известно или предполагается, что они происходят из рака (например, из рака легкого), приводят в контакт с антителом против FRA или антигенсвязывающим фрагментом. После контакта определяют присутствие или отсутствие связывания антитела или антигенсвязывающего фрагмента с клетками в образце. Связывание свидетельствует о присутствии или отсутствии антигена, экспрессируемого на раковых клетках, в данном образце. Как правило, образец приводят в контакт с меченым специфическим связывающим партнером антитела против FRA или антигенсвязывающего фрагмента, способным продуцировать обнаружимый сигнал. Альтернативно, антитело против FRA или фрагмент сами по себе могут быть мечеными. Примеры типов меток включают ферментативные метки, радиоизотопные метки, нерадиоактивные метки, флуоресцентные метки, токеиновые

метки и хемилюминесцентные метки. Многие такие метки известны специалистам в данной области техники. Например, подходящие метки включают радиоактивные метки, флуоресцентные метки (такие как DyLight[®] 649), эпитопные метки, биотин, хромофорные метки, метки ECL или ферменты, но не ограничиваются ими. Более

конкретно, описанные метки включают рутений, ¹¹¹In-DOTA, ¹¹¹In-диэтиленetriаминпентауксусную кислоту (DTPA), пероксидазу хрена, щелочную фосфатазу и бета-галактозидазу, полигистидин (HIS метка), акридиновые красители, цианиновые красители, флуороновые красители, оксазиновые красители,

фенантридиновые красители, родаминовые красители, красители Alexafluor[®] и тому подобное. Обнаружение сигнала от метки указывает на присутствие в образце антитела или фрагмента, специфически связанного с рецептором фолиевой кислоты альфа.

Как упоминалось выше, в некоторых воплощениях уровень экспрессии FRA может быть определен посредством иммуноанализа, при котором образец, содержащий клетки, для которых известно или предполагается, что они происходят из рака (например, рака легкого), приводят в контакт с антителом против FRA или антигенсвязывающим фрагментом. В некоторых воплощениях FRA не связан с клеткой в образце. Способы определения уровня экспрессии FRA в образце, полученном от субъекта, раскрыты, например, в публикации заявки на патент США №20130017195, включенной в данное описание путем ссылки. Способы определения уровня экспрессии FRA, который не связан с клеткой в образце, полученном от субъекта, раскрыты, например, в публикации заявки на патент США №20120207771, включенной в данное описание путем ссылки. Образец, используемый для определения уровня экспрессии FRA, может быть получен, например, из мочи, крови, сыворотки крови, плазмы крови, плеврального экссудата, мокроты, бронхиальных смывов, циркулирующих в крови клеток, циркулирующих в крови опухолевых клеток, клеток, которые не ассоциированы с тканью (то есть свободных клеток), тканей (например, плевральной ткани, хирургически удаленной опухолевой ткани, биопсий, включающих тонкоигольную аспирационную биопсию), гистологических препаратов и тому подобного. В предпочтительных воплощениях образец представляет собой ткань, мочу или сыворотку крови.

В различных аспектах уровень экспрессии FRA определяют путем приведения образца в контакт с антителом, которое связывается с FRA. Например, антитело против FRA может быть выбрано из группы, состоящей из:

(а) антитела, которое связывается с тем же самым эпитопом, что и антитело MORAb-003;

(б) антитела, содержащего SEQ ID NO:1 (GFTFSGYGLS) в качестве CDRH1, SEQ ID NO:2 (MISSGGSYTTYADSVKG) в качестве CDRH2, SEQ ID NO:3 (HGDDPAWFAY) в качестве CDRH3, SEQ ID NO:4 (SVSSISSNNLH) в качестве CDRL1, SEQ ID NO:5 (GTSNLAS) в качестве CDRL2 и SEQ ID NO:6 (QQWSSYPYMYT) в качестве CDRL3;

(в) антитела, содержащего вариабельную область зрелой легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7:

```

1    DIQLTQSPSS LSASVGDRVIT ITCSVSSSIS SNNLHWYQQK PGKAPKPWIY
51   GTSNLASGVP SRFSGSGSGT DYTFTISSLQ PEDIATYYCQ QWSSYPYMYT

```


101 FGQGTKVEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ
 151 WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLKADYE KHKVYACEVT
 201 HQGLSSPVTK SFNRGEC,

и вариабельную область зрелой тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8:

1 EVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCSASGFTFS GYGLSWVRQA PGKGLEWVAM
 51 ISSGGSYTTY ADSVKGRFAI SRDNAKNTLF LQMDSLRLPED TGVYFCARHG
 101 DDPWFAYWG QGTPVTVSSA STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD
 151 YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPVAVLQSSG LYSLSVVTV PSSSLGTQTY
 201 ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHTCPP CPAPELLGGP SVFLFPPKPK
 251 DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS
 301 TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV
 351 YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPVL
 401 DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPGK

(CDR подчеркнуты);

(г) антитела MORAb-003 (название USAN (непатентованное название в США): фарлетузумаб), как описано в публикации заявки на патент США №20090274697 и патенте США №8124083, содержание которых включено в данное описание путем ссылки;

(д) антитела 548908 (Novus; номер по каталогу MAB5646);

(е) антитела, которое связывается с тем же самым эпитопом, что и антитело 548908;

(ж) антитела 6D398 (USBiological Life Sciences);

(з) антитела, которое связывается с тем же самым эпитопом, что и антитело 6D398;

(и) антитела BN3.2 (Leica Biosystems);

(к) антитела, которое связывается с тем же самым эпитопом, что и антитело BN3.2;

(л) антитела, которое связывается с тем же самым эпитопом, что и антитело 26B3;

(м) антитела, содержащего SEQ ID NO: 14 (GYFMN) в качестве CDRH1, SEQ ID NO: 15 (RIFPYNGDTFYNQKFKG) в качестве CDRH2, SEQ ID NO: 16 (GTHYFDY) в качестве CDRH3, SEQ ID NO: 17 (RTSENIFYSLA) в качестве CDRL1, SEQ ID NO: 18 (NAKTLAE) в качестве CDRL2 и SEQ ID NO: 19 (QHNYAFPWT) в качестве CDRL3;

(н) антитела 26B3;

(о) антитела, которое связывается с тем же самым эпитопом, что и антитело 19D4;

(п) антитела, содержащего SEQ ID NO: 20 (HPYMH) в качестве CDRH1, SEQ ID NO: 21 (RIDPANGNTKYDPKFQG) в качестве CDRH2, SEQ ID NO: 22 (EEVADYTMDY) в качестве CDRH3, SEQ ID NO: 23 (RASESVDTYGNNFIH) в качестве CDRL1, SEQ ID NO: 24 (LASNLES) в качестве CDRL2 и SEQ ID NO: 25 (QQNNGDPWT) в качестве CDRL3;

(р) антитела 19D4 (см. патент США №8475795);

(с) антитела, которое связывается с тем же самым эпитопом, что и антитело 9F3;

(т) антитела, содержащего SEQ ID NO: 26 (SGYYWN) в качестве CDRH1, SEQ ID NO: 27 (YIKSDGSNNYNPSLKN) в качестве CDRH2, SEQ ID NO: 28 (EWKAMDY) в качестве CDRH3, SEQ ID NO: 29 (RASSTVSYSYLH) в качестве CDRL1, SEQ ID NO: 30 (GTSNLA) в качестве CDRL2 и SEQ ID NO: 31 (QQYSGYPLT) в качестве CDRL3;

(у) антитела 9F3 (см. патент США №8475795);

(ф) антитела, которое связывается с тем же самым эпитопом, что и антитело 24F12;
 (х) антитела, содержащего SEQ ID NO: 32 (SYAMS) в качестве CDRH1, SEQ ID NO: 33 (EIGSGGSYTYYPDTVTG) в качестве CDRH2, SEQ ID NO: 34 (ETTAGYFDY) в качестве CDRH3, SEQ ID NO: 35 (SASQGINNFLN) в качестве CDRL1, SEQ ID NO: 36 (YTSSLHS) в качестве CDRL2 и SEQ ID NO: 37 (QHFSKLPWT) в качестве CDRL3;

(ц) антитела 24F12 (см. патент США №8475795);

(ч) антитела, которое содержит вариабельную область легкой цепи, выбранную из группы, состоящей из:

(1) LK26HuVK, представленной в SEQ ID NO: 38:

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn
 Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
 Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln
 Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro
 Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys,

(2) LK26HuVKY, представленной в SEQ ID NO: 39:

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn
 Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
 Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln
 Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro
 Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys,

(3) LK26HuVKPW, представленной в SEQ ID NO: 40:

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn
 Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Trp
 Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln
 Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro
 Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys,

и

(4) LK26HuVKPW,Y, представленной в SEQ ID NO: 41:

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn
 Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Trp
 5 Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln
 Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro
 Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys;

10 (ш) антитела, которое содержит вариабельную область тяжелой цепи, выбранную из группы, состоящей из:

(1) LK26HuVH, представленной в SEQ ID NO: 42:

15 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr
 Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val
 Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 Lys Gly Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
 20 Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 Ser Leu Val Thr Val Ser Ser,

25 (2) LK26HuVH FAIS,N, представленной в SEQ ID NO: 43:

30 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr
 Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val
 Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Gln Phe Ser
 Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 35 Ser Leu Val Thr Val Ser Ser,

(3) LK26HuVH SLF, представленной в SEQ ID NO: 44:

40 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr
 Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val
 Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 Lys Gly Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Ser Leu Phe
 45 Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser,

(4) LK26HuVH I,I, представленной в SEQ ID NO: 45:

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr
 Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val
 5 Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 Lys Gly Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
 Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ile Tyr Ile Cys
 10 Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 Ser Leu Val Thr Val Ser Ser,

(5) LK26KOLHuVH, представленной в SEQ ID NO: 46:

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 15 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr
 Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe
 20 Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys
 Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 Thr Pro Val Thr Val Ser Ser;

(ш) антитела, которое содержит вариабельную область тяжелой цепи LK26KOLHuVH
 25 (SEQ ID NO: 46) и вариабельную область легкой цепи LK26HuVKPW,Y (SEQ ID NO: 41);

(э) антитела, которое содержит вариабельную область тяжелой цепи LK26HuVH SLF
 (SEQ ID NO: 44) и вариабельную область легкой цепи LK26HuVKPW,Y (SEQ ID NO: 41);

(аа) антитела, которое содержит вариабельную область тяжелой цепи LK26HuVH
 FAIS,N (SEQ ID NO: 43) и вариабельную область легкой цепи LK26HuVKPW,Y (SEQ ID
 30 NO: 41); и

(бб) мышинового моноклонального антитела LK26, тяжелая и легкая цепи которого
 представлены здесь как SEQ ID NO: 11 и 12, соответственно:

SEQ ID NO: 11

Gln Val Xaa Leu Gln Xaa Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro Gly Gly
 35 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr
 Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu Glu Trp Val
 Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
 40 Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Ile Cys
 Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ala (где Xaa относится к любой аминокислоте)

SEQ ID NO: 12

Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Leu Met Ala Ala Ser Pro Gly
 Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn
 Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Glu Thr Ser Pro Lys Pro Trp
 5 Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Leu Arg Phe Arg
 Gly Phe Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu
 Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro
 Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys,

10 как описано в Европейской заявке на патент №86104170.5 (Rettig), содержание которой включено в данное описание путем ссылки. В некоторых воплощениях антитело против FRA включает (1) переменную область тяжелой цепи LK26KOLHuVH (SEQ ID NO: 46) и переменную область легкой цепи LK26HuVKPW,Y (SEQ ID NO: 41); переменную область тяжелой цепи LK26HuVH SLF (SEQ ID NO: 44) и переменную область легкой цепи LK26HuVKPW,Y (SEQ ID NO: 41); или переменную область тяжелой цепи LK26HuVH FAIS.N (SEQ ID NO: 43) и переменную область легкой цепи LK26HuVKPW,Y (SEQ ID NO: 41). Клетки яичников китайского хомячка (CHO), продуцирующие MORAb-003, депонированы в ATCC (Американская коллекция типовых культур) (10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110) 24 апреля 2006 года под номером PTA-7552.

20 Другие полезные антитела, которые иммуноспецифически связываются с рецептором фолиевой кислоты альфа, содержат зрелые переменные области легкой и тяжелой цепи, имеющие по меньшей мере 90%-ную и предпочтительно по меньшей мере 95%-ную или 99%-ную идентичность последовательности SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 8, соответственно. Другие полезные антитела, которые иммуноспецифически связываются с рецептором фолиевой кислоты альфа или его производными, могут конкурентно ингибировать связывание фарлетузамаба с рецептором фолиевой кислоты альфа, что определяют, например, иммуноанализом. Конкурентное ингибирование означает, что антитело, присутствующее по меньшей мере в двукратном и предпочтительно
 25 пятикратном избытке, ингибирует связывание фарлетузамаба с рецептором фолиевой кислоты альфа по меньшей мере на 50%, типично по меньшей мере на 60%, еще более типично по меньшей мере, на 70% и наиболее типично по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95%.

35 Антитело, которое иммуноспецифически связывается с рецептором фолиевой кислоты альфа, также может представлять собой производное антитела против рецептора фолиевой кислоты альфа, раскрытого выше. Типичные модификации включают, например, гликозилирование, дегликозилирование, ацетилирование, пегилирование, фосфорилирование, амидирование, дериватизацию известными защитными/
 40 блокирующими группами, протеолитическое расщепление, связывание с клеточным лигандом или другим белком и тому подобное. Дополнительно, производное может содержать одну или более чем одну неклассическую аминокислоту.

В некоторых воплощениях антитело против FRA выбрано из группы, состоящей из мышинового антитела, человеческого антитела, гуманизированного антитела, биспецифического антитела, химерного антитела, Fab, Fab'2, ScFv, SMIP, аффитела, авимера, версатела, нанотела, биотела и доменного антитела. Альтернативно или в комбинации, антитело против FRA мечено, например, меткой, выбранной из группы, состоящей из радиоактивной метки, биотиновой метки, хромофорной метки, флуорофорной метки или ферментативной метки.

В дополнительном аспекте уровень экспрессии рецептора фолиевой кислоты альфа (FRA) в образце, полученном у субъекта, определяют посредством сэндвич-анализа с двумя антителами. В некоторых воплощениях сэндвич-анализа образец приводят в контакт с (а) антителом 9F3, иммобилизованным на твердой подложке и меченым антителом 24F12, (б) антителом 26B3, иммобилизованным на твердой подложке и меченым антителом 19D4, и (в) антителом 9F3, иммобилизованным на твердой подложке и меченым антителом 26B3. Например, образец может представлять собой мочу, цельную кровь, сыворотку крови, плазму крови, плевральный экссудат, мокроту, бронхиальные смывы, циркулирующие в крови клетки, циркулирующие в крови опухолевые клетки, клетки, не ассоциированные с тканью (то есть свободные клетки), ткани (например, плевральная ткань, хирургически удаленная опухолевая ткань, биопсии, включающие тонкоигольную аспирационную биопсию), гистологические препараты и тому подобное.

В некоторых воплощениях образец обрабатывают гуанидином перед определением уровня экспрессии FRA в образце. Альтернативно или в комбинации, образец разбавляют перед определением уровня экспрессии FRA в образце. Альтернативно или в комбинации, образец центрифугируют, перемешивают на вортексе или совершают обе обработки перед определением уровня экспрессии FRA в образце.

В еще одном варианте уровень экспрессии FRA при известном или предполагаемом раке легкого может быть обнаружен *in vivo* путем введения пациенту меченого антитела против FRA или его антигенсвязывающего фрагмента и обнаружения антитела или фрагмента путем визуализации *in vivo*. Любое из описанных выше антител вероятно может быть использовано в анализе путем визуализации *in vivo*.

Уровень FRA в образце легочной ткани может (но не обязательно) быть определен относительно одного или более чем одного стандарта. Стандарты могут быть определены на основании ранее имеющихся сведений или в одно время. Стандарт может представлять собой, например, экспрессирующие FRA образцы легочной ткани, о которых известно, что они являются злокачественными, от различных субъектов, экспрессирующие FRA образцы легочной ткани, о которых известно, что они не являются злокачественными, от различных субъектов, ткань пациента или другого субъекта, о которой известно, что в ней не экспрессируется FRA, или клеточная линия рака легкого с экспрессией FRA.

Наличие поддающегося обнаружению сигнала в результате связывания антитела против FRA или фрагмента с FRA по сравнению со стандартом (если он используется) указывает на присутствие FRA в образце ткани, и уровень обнаруживаемого связывания представляет собой показатель уровня экспрессии FRA. В анализах, осуществляемых на тканевых срезах, уровень экспрессии может быть выражен как процент площади поверхности образца, демонстрирующего обнаружимую экспрессию FRA.

Альтернативно или дополнительно, уровень (интенсивность) экспрессии может быть использован в качестве меры общей экспрессии в образце или клеток, экспрессирующих FRA в образце. Интенсивность экспрессии может быть определена, например, путем цифровой визуализации или микроскопического определения вручную на тканевых срезах с использованием способов, описанных ранее (Potts, Drug Discov Today, 2009; 14 (19-20):935-41; O'Shannessy et al., Oncotarget, 2012; 3(4):414-25; патент США №8475795; указания производителя, №. по каталогу IPI4006K G10 (Biocare Medical; Concord, CA). Интенсивность экспрессии FRA может быть использована для определения показателя FRAMSCOR или HBSCOR, как здесь описано. Конкретно, показатель FRAMSCOR (M-score) рассчитывают как средневзвешенную величину, принимая во внимание следующую

систему оценки 0, 1+, 2+, 3+ (см. Фиг. 2):

x = % опухоли, окрашиваемой при 1+,

y = % опухоли, окрашиваемой при 2+,

z = % опухоли, окрашиваемой при 3+,

5 тогда

$$M = \frac{x + 2y + 3z}{6}$$

Для примера, если опухоль у пациента имеет 20%-ное окрашивание FRA при +1, 10%-
 10 ное окрашивание FRA при +2 и 20%-ное окрашивание FRA при +3, то M-score равен 16,6. Показатель HBSCOR (H-Score) означает среднюю величину оптической плотности для окрашивания биомаркера (в данном случае окрашивание FRA), рассчитанную для всех клеток в интересующем тканевом компартменте. Используют собственные
 15 характеристики распознавания ткани для определения тканевого компартмента посредством линейной оценки и непрерывного расширения H-score по бесклеточной классификации. H-score представляет стандартный способ оценки, который обычно используется патологами и специалистами в данной области техники для оценки
 экспрессии биомаркера в тканях, которая в основном представляет собой сумму оценок интенсивностей при всех уровнях интенсивностей (1+, +2 x 2+, +3x 3+). HBSCOR получают
 20 по сумме клеточных измерений (оптическая плотность), разделенной на общее количество клеток. В свою очередь, HBSCOR свидетельствует о величине окрашивания биомаркером, рассчитанной для всех клеток в интересующем тканевом компартменте. Этот расчет осуществляют с использованием следующей формулы:

$$25 \quad \text{HBSCOR} = \frac{\text{Клетки} \sum \text{Измерений для клеток}}{\text{Количество клеток}}$$

После определения у пациента уровня экспрессии FRA его сравнивают с референсным
 30 уровнем экспрессии FRA. В предпочтительном воплощении уровень экспрессии FRA у пациента представлен в виде показателя FRAMSCOR (т.е. M-score) или HBSCOR (т.е. H-score) для сравнения с референсным уровнем экспрессии FRA. В предпочтительном воплощении референсный уровень экспрессии FRA определен заранее. Например, референсный набор данных может быть установлен с использованием образцов
 35 посторонних пациентов с низкими, умеренными и высокими уровнями экспрессии FRA. Этот набор данных представляет стандарт, при помощи которого относительные уровни экспрессии FRA сравнивают между пациентами и количественно оценивают с использованием способов анализа вручную и цифрового анализа FRAMSCOR и HBSCOR. В некоторых воплощениях референсный уровень экспрессии FRA определяют путем
 40 сравнения группы пациентов, пораженных раком легкого с экспрессией FRA, которым вводят агент направленного действия на FRA, с группой пациентов, пораженных раком легкого с экспрессией FRA, которым вводят плацебо. Группы пациентов, пораженных раком легкого с экспрессией FRA, могут также получать стандартную химиотерапию. Уровень экспрессии FRA для каждого пациента в соответствующих группах, пораженных
 45 раком легкого с экспрессией FRA, определяют в соответствии со способами, описанными выше. Контролируют клинические результаты (например, выживаемость без прогрессирования или общую выживаемость) для групп пациентов. Клинические результаты для групп пациентов относительно уровней экспрессии FRA затем

сравнивают как описано в примерах, приведенных ниже. Референсный уровень экспрессии FRA соответствует уровню экспрессии FRA, выше которого группа пациентов, пораженных раком легкого с экспрессией FRA, которым вводят агент направленного действия на FRA (например, антитело, которое иммуноспецифически связывается с FRA), демонстрирует статистически значимое улучшение по меньшей мере одного клинического результата по сравнению с группой пациентов, пораженных раком легкого с экспрессией FRA, которым вводят плацебо. Уровень экспрессии FRA у пациента, который равен референсному уровню экспрессии FRA или превосходит его, является показателем того, что пациент получает пользу от лечения агентом направленного действия на FRA.

Способы лечения

Также здесь предложены способы лечения пациента, страдающего раком легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа (FRA). В некоторых воплощениях способов лечения пациента, страдающего раком легкого с экспрессией FRA, указанный рак представляет собой NSCLC. В некоторых воплощениях NSCLC представляет собой аденокарциному. Раскрытые способы лечения рака легкого с экспрессией FRA у пациента включают способы, при которых антитело, которое иммуноспецифически связывается с рецептором фолиевой кислоты альфа (FRA), вводят пациенту, уровень экспрессии FRA у которого равен или превосходит референсный уровень экспрессии FRA.

В соответствии со способами лечения пациента, страдающего описанным здесь раком легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа (FRA), уровень экспрессии FRA в биологическом образце пациента количественно определяют и сравнивают с референсным уровнем экспрессии FRA, как описано выше. Если уровень экспрессии FRA у пациента равен или превосходит референсный уровень экспрессии FRA, то пациенту вводят агент направленного действия на FRA (например, антитело, которое иммуноспецифически связывается с FRA).

В некоторых воплощениях описанных здесь способов лечения агент направленного действия на FRA представляет собой винтафолид. В некоторых воплощениях агент направленного действия на FRA представляет собой антитело, которое иммуноспецифически связывается с FRA, таким как антитело, которое иммуноспецифически связывается с рецептором фолиевой кислоты альфа, экспрессируемым на клетках рака легкого; антигенсвязывающие фрагменты такого антитела; производные; и их варианты, но не ограничивается ими. В предпочтительном воплощении антитело, которое иммуноспецифически связывается с рецептором фолиевой кислоты альфа, представляет собой антитело, выбранное из группы, состоящей из:

(а) антитела, содержащего SEQ ID NO:1 в качестве CDRH1, SEQ ID NO:2 в качестве CDRH2, SEQ ID NO:3 в качестве CDRH3, SEQ ID NO:4B в качестве CDRL1, SEQ ID NO:5 в качестве CDRL2 и SEQ ID NO:6 в качестве CDRL3;

(б) антитела, содержащего переменную область зрелой легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:7, и/или переменную область зрелой тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8;

(в) фарлетузумаба;

(г) антитела, которое специфически связывается с рецептором фолиевой кислоты альфа, содержащего зрелые переменные области легкой и тяжелой цепи, имеющие по меньшей мере 90%-ную и предпочтительно по меньшей мере 95%-ную или 99%-ную идентичность последовательности с SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 8, соответственно;

(д) антитела или его производного, которые могут конкурентно ингибировать связывание фарлетузумаба с рецептором фолиевой кислоты альфа, что определяют,

например, посредством иммуноанализа.

Производное антитела, которое иммуноспецифически связывается с FRA, может также быть использовано при практической реализации способов по настоящему изобретению. Типичные модификации включают, например, гликозилирование, дегликозилирование, ацетилирование, пегилирование, фосфорилирование, амидирование, дериватизацию известными защитными/блокирующими группами, протеолитическое расщепление, связывание с клеточным лигандом или другим белком и тому подобное. Дополнительно, производное может содержать одну или более чем одну неклассическую аминокислоту. В некоторых воплощениях это антитело, которое иммуноспецифически связывается с FRA, конъюгировано с токсином, таким как ингибитор образования микротрубочек, агент, повреждающий ДНК (например, радионуклид), ингибитор репарации ДНК или ингибитор передачи сигнала, но не ограниченным ими. Линкеры для конъюгации антитела и способы конъюгирования антител известны в данной области техники. Пример конъюгата антитело-лекарственное средство, который может быть использован в качестве агента направленного действия на FRA, в соответствии с описанными здесь способами, представляет собой IMGN853.

Способы по настоящему изобретению можно комбинировать с другими средствами лечения, такими как хирургическое лечение (например, операция по уменьшению объема опухоли), облучение, направленная терапия, химиотерапия, иммунотерапия, применение ингибиторов фактора роста или антиангиогенных факторов. Агент направленного действия на FRA может быть введен одновременно пациенту, который получает хирургическое лечение, химиотерапию или радиационную терапию. Альтернативно, пациент может получать хирургическое лечение, химиотерапию или радиационную терапию до или после введения агента направленного действия на FRA в течение по меньшей мере одного часа и вплоть до нескольких месяцев, например по меньшей мере одного часа, пяти часов, 12 часов, суток, недели, месяца или трех месяцев до или после введения агента направленного действия на FRA. Например, некоторые предложенные здесь воплощения способов лечения дополнительно включают введение субъекту терапевтически эффективного количества содержащего платину соединения, антифолата и/или таксана в дополнение к агенту направленного действия на FRA. Примеры содержащих платину соединений представляют собой цисплатин или карбоплатин. Примеры таксанов для применения в способах лечения включают, без ограничения, паклитаксел, доцетаксел и их полусинтетические, синтетические и/или модифицированные варианты и препараты, включая, без ограничения, наб-паклитаксел (Abraxane[®]), кабазитаксел (Jevtana[®]), DJ-927 (Tasetaxel[®]), паклитаксел полиглюмекс (Opaxio[®]), XRP9881 (Larotaxel[®]), EndoTAG плюс паклитаксел (EndoTAG[®]-1), полимерно-мицеллярный паклитаксел (Genexol-PM[®]), ДНА-паклитаксел (Taxoprexin[®]), BMS-184476. Пример антифолата представляет собой пеметрексед. Содержащее платину соединение может быть введено пациенту один раз в неделю, один раз каждые две недели, один раз каждые три недели или один раз каждые четыре недели. Таксан может быть введен пациенту один раз в неделю, один раз каждые две недели, один раз каждые три недели или один раз каждые четыре недели. Антифолат может быть введен пациенту один раз в неделю, один раз каждые две недели, один раз каждые три недели или один раз каждые четыре недели. В воплощениях, при которых пациенту в качестве части схемы лечения вводят содержащее платину соединение и таксан или антифолат, указанные таксан или антифолат могут быть введены до, после или одновременно с содержащим платину соединением.

В некоторых воплощениях описанных здесь способов лечения пациенту может быть проведено хирургическое удаление рака легкого до лечения на основе платины, до лечения на основе таксана и/или до лечения на основе платины и таксана для лечения рака перед количественным определением уровня экспрессии FRA у пациента. В некоторых воплощениях способов, при которых пациенту проводили хирургическое удаление рака, до лечения на основе платины, до лечения на основе таксана и/или до лечения на основе платины и таксана для лечения рака перед определением уровня экспрессии FRA у пациента, пациент может демонстрировать симптоматическое прогрессирующее, серологическое прогрессирующее и/или радиологическое прогрессирующее рака перед проведением стадии определения уровня экспрессии FRA у пациента.

Введение терапевтических агентов (включая агент направленного действия на FRA, таксана, антифолата и/или содержащего платину соединения) в соответствии с описанными здесь способами лечения может быть осуществлено любыми средствами, известными в данной области техники.

Различные системы доставки могут быть использованы для введения терапевтических агентов (включая агент направленного действия на FRA, таксан, антифолат и/или содержащее платину соединение), включая внутрикожные, внутримышечные, внутрибрюшинные, внутривенные, подкожные, интраназальные, эпидуральные и пероральные пути введения. Агенты могут быть введены, например, путем инфузии или болюсной инъекции, путем абсорбции через эпителиальные или кожно-слизистые выстилки (например, слизистую оболочку ротовой полости, ректальную и интестинальную слизистую оболочку и тому подобное). Введение может быть системным или локальным.

Терапевтические агенты могут быть введены путем инъекции, при помощи катетера, при помощи суппозитория или при помощи имплантата, где имплантат представляет собой пористый, непористый или гелеобразный материал, включающий мембрану, такую как сиаластиковая мембрана или волокно. Терапевтические агенты и их фармацевтические композиции для описанного здесь применения могут быть введены перорально в любой доступной лекарственной форме, такой как капсулы, таблетки, водные суспензии, растворы или тому подобное.

Предпочтительные способы введения терапевтических агентов включают внутривенную инъекцию и внутрибрюшинное введение, но не ограничиваются ими.

Альтернативно, терапевтические агенты могут быть доставлены в системе с контролируемым высвобождением. Например, может быть использована помпа (см. Langer, 1990, Science 249:1527-1533; Sefton, 1989, CRC Crit. Ref Biomed. Eng. 14:201; Buchwald et al., 1980, Surgery 88:507; Saudek et al., 1989, N. Engl. J. Med. 321:574).

Альтернативно, могут быть использованы полимерные материалы (см. Medical Applications of Controlled Release (Langer & Wise eds., CRC Press, Boca Raton, Fla., 1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance (Smolen & Ball eds., Wiley, New York, 1984); Ranger & Peppas, 1983, Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23: 61. См. также Levy et al., 1985, Science 228:190; During et al., 1989, Ann. Neurol. 25:351; Howard et al., 1989, J. Neurosurg. 71:105.) Другие системы с контролируемым высвобождением обсуждаются, например, выше в работе Langer.

Терапевтические агенты могут быть введены в виде фармацевтических композиций, содержащих терапевтически или профилактически эффективное количество терапевтического(их) агента(ов) и один или более чем один фармацевтически приемлемый или совместимый ингредиент. Например, фармацевтическая композиция

как правило включает один или более чем один фармацевтический носитель (например, стерильные жидкости, такие как вода и масла, включая масла минерального, животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло и тому подобное). Вода является более

5 распространенным носителем тогда, когда фармацевтическую композицию вводят внутривенно. Физиологические растворы (например, физиологический раствор, забуференный фосфатом) и водные растворы декстрозы и глицерина также можно использовать в качестве жидких носителей, в частности для инъектируемых растворов. Подходящие фармацевтические эксципиенты включают, например, крахмал, глюкозу,

10 лактозу, сахарозу, желатин, солод, рис, муку, мел, силикагель, стеарат натрия, глицеринмоностеарат, тальк, хлорид натрия, сухое обезжиренное молоко, глицерин, пропилен, гликоль, воду, этанол и тому подобное. При желании композиция может также содержать незначительные количества увлажняющих агентов или эмульгаторов, забуферивающих pH агентов (например, аминокислот) и/или солюбилизующих или

15 стабилизирующих агентов (например, неионных поверхностно-активных веществ, таких как твин или сахара, такие как сахароза, трегалоза и тому подобное).

Предпочтительный препарат фарлетузимаба содержит фарлетузимаб, фосфат натрия, хлорид натрия (NaCl) и полисорбат-80, pH 7,2. Предпочтительный конечный препарат фарлетузимаба содержит 5 мг/мл фарлетузимаба, 10 mM фосфат натрия, 150 mM NaCl

20 и 0,01% полисорбата 80, pH 7,2.

Предложенные здесь фармацевтические композиции могут быть представлены в форме растворов, суспензий, эмульсии, таблеток, пилюль, капсул, порошков, композиций с длительным высвобождением и тому подобное. Также включены препараты в виде твердой формы, которые предназначены для преобразования в жидкие препараты

25 непосредственно перед применением. Композиция может быть приготовлена в форме суппозитория с общепринятыми связующими веществами и носителями, такими как триглицериды. Композиция для перорального введения может включать стандартные носители, такие как маннит, лактоза, крахмал, стеарат магния, сахарин натрия, целлюлоза, карбонат магния и так далее фармацевтической степени чистоты. Примеры

30 подходящих фармацевтических носителей описаны в "Remington's Pharmaceutical Sciences" by E.W. Martin. Такие композиции содержат терапевтически эффективное количество нуклеиновой кислоты или белка, как правило, в очищенной форме, вместе с подходящим количеством носителя таким образом, чтобы получить форму для надлежащего введения пациенту. Композиции соответствуют способу введения.

Как правило, композиции для внутривенного введения представляют собой растворы в стерильном изотоническом водном буфере. При необходимости фармацевтическая композиция также может включать солюбилизующий агент и местный анестетик, такой как лидокаин, для облегчения боли в месте инъекции. Как правило, ингредиенты

40 либо поставляются по отдельности, либо смешаны вместе в стандартной лекарственной форме, например в форме сухого лиофилизированного порошка или концентрата в герметично закрытом контейнере, таком как ампула или саше, с указанием количества активного агента. Когда фармацевтическая композиция предназначена для введения путем инфузии, тогда она может быть распределена во флаконы для инфузии, содержащие стерильную воду фармацевтической степени чистоты или физиологический

45 раствор. Когда фармацевтическую композицию вводят путем инъекции, тогда может быть предложена ампула со стерильной водой для инъекций или физиологическим раствором, так чтобы ингредиенты можно было смешать перед введением.

Количество терапевтического агента, которое является эффективным при лечении

рака легкого, может быть определено стандартными клиническими способами. Кроме того, возможно использовать анализы *in vitro* для того, чтобы помочь идентифицировать оптимальные диапазоны доз. Точная доза для использования в композиции также зависит от пути введения и стадии рака, и она должна быть определена в соответствии с решением практикующего специалиста и состояния каждого пациента. Эффективные дозы могут быть экстраполированы из кривых зависимости ответа от дозы, полученных в тестовых системах *in vitro* или в животной модели. Доза может быть определена в животных моделях для достижения диапазона циркулирующих в плазме концентраций, который включает IC_{50} (то есть концентрация тестируемого соединения, при которой достигается половина максимального ингибирования симптомов), как определено в культуре клеток.

Например, токсичность и терапевтическая эффективность агентов может быть определена в культурах клеток или на экспериментальных животных с использованием стандартных фармацевтических способов определения LD_{50} (дозы, смертельной для 50% популяции) и ED_{50} (дозы, терапевтически эффективной для 50% популяции).

Соотношение доз для токсического и терапевтического действий представляет собой терапевтический индекс, и его можно выразить как отношение LD_{50}/ED_{50} .

Предпочтительны агенты, которые демонстрируют большие терапевтические индексы.

Когда агент демонстрирует токсические побочные действия, тогда может быть использована система доставки, которая нацеливает агент на участок пораженной ткани для минимизации потенциального повреждения клеток, не экспрессирующих рецептор фолиевой кислоты альфа и, таким образом, для уменьшения побочных действий.

В некоторых воплощениях субъекту может быть введен описанный здесь терапевтический агент в диапазоне суточных доз, составляющих от приблизительно 0,01 мкг до приблизительно 500 мг на кг массы тела субъекта. Как правило, доза терапевтического агента (например, агента направленного действия на FRA, такого как антитело, которое иммуноспецифически связывается с FRA, предпочтительно фарлетузимаба), которую вводят пациенту, страдающему раком легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа, составляет от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 100 мг/кг массы тела субъекта. Более конкретно, доза, вводимая субъекту, составляет от приблизительно 1,25 мг/кг до приблизительно 12,5 мг/кг массы тела субъекта, или еще более конкретно, от приблизительно 2,5 мг/кг до приблизительно 10,0 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых воплощениях доза агента направленного действия на FRA (например, антитела, которое иммуноспецифически связывается с FRA, предпочтительно фарлетузимаба), вводимого субъекту, страдающему раком легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа, составляет от приблизительно 5,0 мг/кг до приблизительно 7,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых описанных здесь воплощениях способов лечения субъекту вводят нагрузочную дозу агента направленного действия на FRA (например, антитела, которое иммуноспецифически связывается с FRA), составляющую от приблизительно 7,5 мг/кг до приблизительно 12,5 мг/кг, предпочтительно приблизительно 10 мг/кг. В некоторых описанных здесь воплощениях способов лечения субъекту в течение первых двух недель лечения вводят две нагрузочные дозы агента направленного действия на FRA (например, антитела, которое иммуноспецифически связывается с FRA), составляющие от приблизительно 7,5 мг/кг до приблизительно 12,5 мг/кг в неделю, предпочтительно приблизительно 10 мг/кг. В некоторых воплощениях доза таксана, вводимого субъекту, страдающему

раком легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа, составляет от приблизительно 50 мг/м² до приблизительно 250 мг/м² массы тела субъекта, предпочтительно от приблизительно 75 мг/м² до приблизительно 200 мг/м². В некоторых воплощениях доза карбоплатина, вводимого субъекту, страдающему раком легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа, составляет приблизительно AUC 3, предпочтительно приблизительно AUC 4, более предпочтительно приблизительно AUC 5-6, и в некоторых предпочтительных воплощениях приблизительно AUC 6. В некоторых воплощениях доза цисплатина, вводимого субъекту, страдающему раком легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа, составляет от приблизительно 50 мг/м² до приблизительно 250 мг/м² массы тела субъекта, предпочтительно от приблизительно 75 мг/м² до приблизительно 200 мг/м². В некоторых воплощениях доза антифолата, вводимого субъекту, страдающему раком легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа, составляет от приблизительно 400 до приблизительно 600 мг/м². В предпочтительном воплощении пациенту вводят по меньшей мере от четырех до шести циклов химиотерапии в комбинации с введением агента направленного действия на FRA.

Для эффективного лечения специалист в данной области техники может рекомендовать схему введения доз и дозы терапевтического(их) агента(ов), подходящие для данного субъекта, которого лечат. Может быть предпочтительно осуществлять введение дозы от одного до четырех или более чем четырех раз в сутки, один раз в неделю, один раз каждые две недели, один раз каждые три недели или один раз каждые четыре недели в течение необходимого времени. Как правило, агент направленного действия на FRA вводят субъекту еженедельно.

Введение доз может быть осуществлено менее часто в том случае, если композиции приготовлены в носителях с длительной доставкой. Схема введения доз также может варьировать в зависимости от концентрации активного лекарственного средства, которая может зависеть от потребностей данного субъекта.

Наборы

Дополнительно здесь предложены наборы для прогнозирования вероятности возникновения ответной реакции на лечение агентом направленного действия на FRA, у пациента, страдающего раком легкого с экспрессией FRA. В некоторых воплощениях наборы содержат антитело против FRA, флакон для содержания антитела, когда оно не используется, и инструкции по использованию антитела против FRA для определения уровня экспрессии FRA у субъекта. Один или более чем один дополнительный контейнер может вмещать элементы, такие как реагенты или буферы, используемые в маркерном (ых) анализе(ах). Такие наборы могут также, или альтернативно, содержать реагент для обнаружения, который содержит группу-репортер, подходящую для непосредственного или опосредованного обнаружения связывания антитела.

Также здесь предложены наборы для лечения рака легкого с экспрессией FRA у пациента, содержащие агент направленного действия на FRA (например, винтафолид, антитело, которое иммуноспецифически связывается с FRA, такое как фарлетузумаб, или конъюгат антитело-лекарственное средство, такое как IMGN853), флакон, содержащий агент направленного действия на FRA, когда он не используется, и инструкции по применению агента направленного действия на FRA. Фарлетузумаб представляет собой предпочтительное антитело, которое иммуноспецифически связывается с FRA, в данных наборах. В некоторых воплощениях наборы для лечения

субъекта, страдающего раком легкого с экспрессией FRA, также содержат антитело против FRA для применения в количественном определении уровня экспрессии FRA в биологическом образце пациента. Это последнее антитело против FRA может быть тем же самым или отличаться от антитела, которое иммуноспецифически связывается с FRA, которое вводят терапевтически. В некоторых воплощениях наборы также содержат флакон для содержания антитела против FRA, когда оно не используется, и инструкции по применению антитела против FRA для определения уровня экспрессии FRA у субъекта.

Наборы для лечения субъекта, страдающего раком легкого с экспрессией FRA, также могут содержать дополнительные терапевтические агенты (например, содержащее платину соединение, таксан и/или антифолат), как здесь описано. Примеры содержащих платину соединений для включения в наборы включают цисплатин и карбоплатин, но не ограничиваются ими. Примеры таксанов для включения в наборы включают, без ограничения, паклитаксел, доцетаксел и их полусинтетические, синтетические и/или модифицированные варианты и композиции, включающие, без ограничения, наб- паклитаксел (Abraxane[®]), кабазитаксел (Jevtana[®]), DJ-927 (Tesetaxel[®]), паклитаксел полиглюмекс (Opaxio[®]), XRP9881 (Larotaxel[®]), EndoTAG плюс паклитаксел (EndoTAG[®]-1), полимерно-мицеллярный паклитаксел (Genexol-PM[®]), ДНА-паклитаксел (Taxoprexin[®]), BMS-184476. Пример антифолата для включения в наборы представляет собой пеметрексед. Терапевтические агенты могут находиться в любой из множества форм, подходящих для размещения в наборе. Формы терапевтических агентов, подходящих для размещения в наборах, могут включать жидкость, порошок, таблетку, суспензию и подобную композицию для предложения терапевтического агента. Наборы также могут включать фармацевтически приемлемый разбавитель (например, стерильную воду) для инъекции, разведения или растворения терапевтического(их) агента(ов). Один или более чем один дополнительный контейнер может включать элементы, такие как реагенты или буферы, используемые в маркерном(ых) анализе(ах). Такие наборы могут также, или альтернативно, содержать реагент для обнаружения, который содержит группу-репортер, подходящий для непосредственного или опосредованного обнаружения связывания антитела.

Наборы, как правило, также включают этикетку или инструкцию по применению в описанных здесь способах. Этикетка или инструкция относится к любому письменному или записанному материалу, который прикреплен к набору или иным образом дополняет набор в любой момент времени на протяжении его изготовления, транспортировки, продажи или применения. Она может представлять собой информационное сообщение в форме, предписанной государственным учреждением, регулирующим изготовление, применение или продажу фармацевтических или биологических продуктов, где информационное сообщение отражает одобрение учреждением изготовления, применения или продажи для введения человеку. Этикетка или инструкция может включать также рекламные листовки и брошюры, упаковочные материалы, инструкции, аудио- или видеокассеты, компьютерные диски, а также надписи, напечатанные непосредственно на фармацевтических наборах.

Следующий пример предложен для дополнительного описания некоторых из раскрытых здесь воплощений. Этот пример предназначен для иллюстрации, а не ограничения раскрытых воплощений.

ПРИМЕР 1

Пациенты

Подходящие субъекты должны иметь вновь диагностированную, неоперабельную, гистологически или цитологически подтвержденную аденокарциному легкого, причем экспрессия FRA (определенная как 1+или больше мембранного окрашивания) составляет по меньшей мере 5% опухолевых клеток в соответствии с иммуногистохимией,

5 классифицированную как IV стадия с по меньшей мере одним одномерно измеряемым поражением в соответствии с Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (критерии оценки ответа при солидных опухолях) (RECIST) версия 1.1, с использованием компьютерной томографии (CT) или магнитной резонансной томографии (MRI) (ClinicalTrials.gov identifier NCT01218516). Поскольку отсутствуют данные в отношении степени и частоты
10 положительной реакции в отношении FRA, которая теоретически могла быть необходимой для максимального(ых) фармакологического(их) действия(ий) антитела против FRA, пациенты, у которых опухоли по меньшей мере на 5% положительны при +1 интенсивности мембранной экспрессии FRA (с использованием способов, как правило используемых специалистами в данной области техники), рассматривались как FRA-
15 положительные опухоли и подходящие для включения в исследование. Субъекты не получали предшествующую химиотерапию, радиационную терапию или хирургическое вмешательство для лечения у них рака легкого.

Лечение

Субъектов случайным образом отбирали в соотношении 1:1 для получения выбранной
20 двухкомпонентной терапии с препаратом платины (карбоплатин с площадью под кривой (AUC) фармакокинетического уровня воздействия, равной 6, и паклитаксел 200 мг/м²; карбоплатин с AUC 5-6 и пеметрексед 500 мг/м²; или цисплатин 75 мг/м² и пеметрексед 500 мг/м²) с фарлетузумабом или плацебо. Рандомизацию стратифицировали
25 в соответствии с Eastern Cooperative Oncology Group (Восточная объединенная группа онкологов) (ECOG), с присвоением баллов общего состояния онкологического больного по шкале ECOG (0 или 1) и выбранной схемой химиотерапии. Всех рандомизированных субъектов лечили 7,5 мг/кг фарлетузумаба или плацебо в комбинации с одной из 3 приемлемых схем химиотерапии, вводимых внутривенно (IV) на 1 сутки 21-суточного
30 цикла, за исключением первого цикла, когда монотерапию с фарлетузумабом или плацебо вводили на 8 сутки в виде нагрузочной дозы. Начиная со 2 цикла фарлетузумаб или плацебо вводили на 1 сутки всех дополнительных циклов в комбинации с химиотерапией.

Все допустимые по протоколу двухкомпонентные терапии с препаратом платины
35 вводили один раз каждые 3 недели в течение по меньшей мере 4, но не более чем 6 циклов. Схемы химиотерапии не меняли после начала. Дозы для химиотерапии могут быть уменьшены, или введение может быть задержано из-за токсичности в соответствии со специфическими для страны одобренными инструкциями к препарату и на основе степени токсичности, испытываемой субъектом. В том случае, когда химиотерапию прерывали до 4-го цикла или задерживали на более чем 6 недель, тогда субъекта
40 исключали из протокола лечения.

Субъекты, которые ощущали клиническую пользу от комбинированной терапии, могли продолжить получение фарлетузумаба или плацебо на 1 сутки каждого 21-суточного цикла до обнаружения зарегистрированного рентгенологического
45 прогрессирования или других одобренных по протоколу показателей прогрессирования заболевания. После обнаружения прогрессирования заболевания для каждого субъекта присваивали статус выживаемости и использовали дополнительную системную терапию для IV стадии аденокарциномы легкого. В течение этого периода наблюдения с субъектами поддерживали ежемесячный контакт в течение первых 9 месяцев и каждые

2 месяца после этого до их смерти.

Оценки

Рентгенографические оценки заболевания осуществляли каждые 2 цикла во время комбинированной терапии и каждые 3 цикла во время монотерапии, визуализировали локально в независимом обзоре. СТ-сканы (сканы компьютерной томографии) (или MRI (магниторезонансная визуализация)) также оценивали независимо в центральном обзоре с использованием RECIST v.1.1. Субъектов, в отношении которых лечение было прекращено перед рентгенографическим прогрессированием по любой из причин, подвергали рентгенографическому наблюдению каждые 9 недель до зарегистрированного рентгенографического прогрессирования или других одобренных в соответствии с протоколом показателей прогрессирования заболевания.

Оценки безопасности осуществляли в процессе исследования и включали обзор побочных действий (AE), физических исследований, лабораторных исследований, антител против лекарственного средства (ADA) и электрокардиографии (ECG).

PFS определили как время (в месяцах) с даты рандомизации до даты первого обнаружения прогрессирования, основанного на рентгенологической оценке при помощи RECIST, или однозначного клинического прогрессирования заболевания, оцениваемого исследователями (например, новое проявление положительной жидкостной цитологии), или даты смерти независимо от причины при отсутствии прогрессирования заболевания.

Для демонстрации того, что относительный уровень экспрессии FRA в опухолевой ткани или пороговый уровень экспрессии являются важными для повышенных опосредованных фартетузабамом клинических улучшений у пациентов, страдающих немелкоклеточной легочной аденокарциномой (NSCLC), в комбинации со стандартной химиотерапией (карбоплатин плюс паклитаксел; карбоплатин плюс пеметрексед; или цисплатин плюс пеметрексед), слайды со срезами тканей толщиной 5 мкм, приготовленные из опухолевых поражений пациентов на IV стадии, не проходивших ранее курс химиотерапии, страдающих NSCLC аденокарциномой, анализировали в отношении уровней экспрессии цитоплазматического или мембранного FRA.

Уровни белка FRA определяли посредством иммуногистохимического (ИHC) анализа для данного исследования с использованием антитела 26 B3 против FRA (O'Shannessy et al., Oncotarget, 2012; 3(4):414-25; также содержится в номере по каталогу IPI4006K G10 (Biocare Medical; Concord, CA); см. также патент США №8475795) в соответствии со стандартными указаниями к протоколу. Количественное определение уровней экспрессии FRA осуществляли с использованием одной из двух процедур и анализа обученными патологами в слепом режиме. Определяли экспрессию цитоплазматического или мембранного FRA путем цифровой визуализации или микроскопического анализа вручную 26B3-окрашенных тканевых срезов с использованием ранее описанных способов (Potts, Drug Discov Today, 2009; 14(19-20):935-41; O'Shannessy et al., Oncotarget, 2012; 3(4):414-25; патент США №8475795; инструкции производителя, № по каталогу IPI4006K G10 (Biocare Medical; Concord, CA).

Цифровой анализ FRA в 26B3-окрашенных слайдах со срезами тканей осуществляли с использованием анализа изображения при помощи алгоритмов Cell Map (клеточного картирования) и/или Stain Map (картирования окрашивания) в соответствии с Flagship Biosciences (Westminster, CO). Ручной анализ экспрессии FRA осуществляли подготовленные патологи, специализирующиеся в данной области, при помощи микроскопической оценки в двух независимых лабораториях.

Для количественного определения уровней экспрессии мембранного или

цитоплазматического FRA, полученных путем цифровой визуализации или ручного анализа, был разработан алгоритм количественного определения окрашивания FRA как процент положительных опухолей и интенсивности сигнала. Эти величины, идентифицированные для применения в ручном способе оценки патологии, представлены в виде FRA M Score (FRAMSCOR) для окрашивания мембраны. Величины, идентифицированные для применения в анализе путем цифровой визуализации, представлены в виде HBS Score (HBSCOR) для цитоплазматического окрашивания. Для предыдущих способов, используемых для точного количественного определения уровней экспрессии биомаркера, было определено, что для достижения высокоточной оценки опухолевых срезов должны быть хорошо зафиксированы и IHC-окрашивание должно быть однородным. Для оценки качества тканевых срезов и окрашивания, получаемых для включения пациента в данное исследование, патолог-специалист в данной области техники независимо вслепую оценивал целостность FRA 26 B3-окрашенных срезов NSCLC опухолевой ткани для сравнения экспрессии FRA в плевральной ткани с использованием стандартов, полученных из плевральной ткани. После полного определения патолог посчитал, что 85 из 130 тканевых срезов подходят для анализа плевральной ткани FRAMSCOR и HBSCOR. Несмотря на то, что оставшиеся 45 слайдов подходят для обнаружения "присутствия" экспрессии FRA, подробный анализ экспрессии для них не представляется возможным вследствие: 1) плохой консервации ткани, которая мешает точному анализу мембранной экспрессии; 2) неспособности точно определять экспрессию FRA в плевральной ткани (подгруппа слайдов, содержащих только злокачественные клетки в плевральном экссудате); и/или 3) крайне небрежного окрашивания, которое мешало точному анализу окрашивания в линейном диапазоне. На Фиг. 1 продемонстрирована пригодность целостности/морфологии ткани и окрашивания по сравнению с примерами тех, которые не подходят для количественного определения экспрессии FRA при помощи FRAMSCOR или HBSCOR, которые представляли собой часть исходного клинического набора группы всех пациентов, прошедших рандомизацию (ITT).

Для определения интенсивности окрашивания FRA в 85 подходящих плевральных срезах опухоли набор референсных данных для плевральной ткани сначала получали с использованием образцов посторонних пациентов с низким, умеренным и высоким уровнями экспрессии FRA. Этот набор данных представляет собой стандарт, при помощи которого относительные уровни экспрессии FRA сравнивают среди пациентов и количественно определяют с использованием способов ручного и цифрового анализа FRAMSCOR и HBSCOR. На Фиг. 2 представлен пример референсного набора данных, используемого для оценки +1 (низкая экспрессия), +2 (умеренная экспрессия) и +3 (высокая экспрессия), как известно специалистам в области техники в отношении FRA в образцах аденокарциномы NSCLC. Кроме того, процент положительных опухолей также учитывали в алгоритме для каждого способа (от 1 до 100% положительных от площади поверхности опухоли) (не показано) с использованием нижеприведенных формул.

FRAMSCOR (M-score) рассчитывают как средневзвешенную величину, принимая во внимание следующую систему оценки 0, 1+, 2+, 3+ (см. Фиг. 2):

$x = \% \text{ опухоли, окрашиваемой при } 1+,$

$y = \% \text{ опухоли, окрашиваемой при } 2+,$

$z = \% \text{ опухоли, окрашиваемой при } 3+,$

тогда

$$M = \frac{x+2y+3z}{6}$$

Для примера, если опухоль у пациента имеет 20%-ное 26В3-окрашивание FRA при +1, 10%-ное 26В3-окрашивание FRA при +2 и 20%-ное 26В3-окрашивание FRA при +3, то показатель M-score равен 16,6.

HBSCOR демонстрирует среднюю величину оптической плотности для окрашивания биомаркера (в данном случае 26В3-окрашивание FRA), рассчитанную для всех клеток в интересующем тканевом компартменте. В нем используют собственные характеристики распознавания ткани для определения тканевого компартмента посредством линейной оценки и непрерывного расширения H-score с использованием бесклеточной классификации. H-score представляет собой стандартный способ оценки, который обычно используется патологами и специалистами в данной области техники для оценки экспрессии биомаркера в тканях, которая в основном представляет собой сумму оценок интенсивностей при всех уровнях интенсивностей (1+, +2 x 2+, +3x 3+). HBSCOR получают по сумме клеточных измерений (оптическая плотность), разделенной на общее количество клеток. В свою очередь, HBSCOR свидетельствует о величине окрашивания биомаркером, рассчитанной для всех клеток в интересующем тканевом компартменте. Этот расчет осуществляют с использованием следующей формулы:

$$\text{HBSCOR} = \frac{\sum_{\text{Клетки}} \text{Измерений для клеток}}{\text{Количество клеток}}$$

Анализировали и количественно определяли оцениваемые слайды, содержащие ткань, полученную у пациента, окрашенную в отношении FRA с использованием антитела 26В3, с использованием описанных выше способов FRAMSCOR и HBSCOR в слепом анализе. Данные сначала анализировали с использованием анализа экспрессии с пограничной точкой. Корреляцию экспрессии рецептора фолиевой кислоты альфа (FRA) с общей выживаемостью (OS) осуществляли для определения того, коррелирует ли высокая или низкая экспрессия FRA с терапевтическим ответом на лечение фарлетузумабом по сравнению с пациентами, которых лечили плацебо в качестве контроля. На Фиг. 3 продемонстрирован пример этого анализа, посредством которого образцы пациентов количественно определяли в отношении экспрессии FRA при помощи способа HBSCOR. Как показано, у пациента обнаружен значимый ответ OS, поскольку клинически положительные отношения рисков обнаружены для пациентов, которых лечили фарлетузумабом, которые экспрессируют более высокие уровни FRA, по сравнению с пациентами с низкой экспрессией. Для определения общего влияния экспрессии FRA и лечения фарлетузумабом на клинический ответ у пациента как функцию выживаемости без прогрессирования (PFS) или OS проводили анализ Каплан-Мейера. Как показано на Фиг. 4, пациенты, отобранные для высокой мембранной экспрессии FRA с использованием FRAMSCOR, демонстрировали статистически значимое клиническое улучшение в OS (улучшение на 8,4 месяца, HR 0,54; p=0,0266) при лечении фарлетузумаб плюс SOC по сравнению с пациентами, которых лечили исключительно плацебо плюс SOC (p=0,386). Улучшенные ответы PFS также обнаружены у пациентов, демонстрирующих высокое мембранное окрашивание FRA по сравнению с низким мембранным окрашиванием (не показано). Подобные эффекты обнаружены, когда использовали пациентов с оптимальной цитоплазматической экспрессией FRA с

использованием способа HBSCOR, где пациенты, которых лечили фарлетузумабом, демонстрировали статистически значимую клиническую пользу в PFS и OS (Фиг. 5, панель В) по сравнению с пациентами, которых лечили фарлетузумабом, экспрессирующими менее чем оптимальные уровни FRA (Фиг. 5, панель А). Эти результаты объясняют применение идентификации экспрессии FRA в биопсиях пациентов, страдающих раком легкого, для определения пациентов, которые демонстрируют минимальный пороговый уровень с использованием способа FRAMSCOR или HBSCOR для улучшения терапевтической пользы, нежели чем привлечение пациентов с опухолью, демонстрирующих любую экспрессию FRA, как было сделано для группы ИТТ, в которой не удалось продемонстрировать статистическую клиническую пользу для пациентов, которых лечили фарлетузумабом плюс SOC, по сравнению с пациентами, которых лечили плацебо +SOC (PFS HR 0,91, $p=0,7045$, и OS HR 0,91, $p=0,6525$).

Многофакторный анализ осуществляли с использованием стандартных факторов, которые могут повлиять на клинические ответы у пациента, страдающего раком легкого NSCLC, на лечение SOC, таких как курение, возраст или статус в соответствии с ECOG. Никакие эффекты не обнаружены в многофакторном анализе, которые влияли бы на статистически положительное действие фарлетузумаба на клинический ответ у пациентов с высокими уровнями FRA.

Эти обнаружения свидетельствуют о применении тканевых биопсий хорошего качества, содержащих плевральную злокачественную ткань и окрашенных таким образом, чтобы обеспечить возможность количественного анализа экспрессии FRA, локализованной на мембране или в цитоплазме, для использования в идентификации пациентов, которые могут отвечать на терапию антителом против рецептора фолиевой кислоты альфа. Последующий анализ обнаружил, что образцы пациентов, полученные из плевральных экссудатов и тонкоигольных аспирационных биопсий, также могут быть количественно определены для идентификации образцов, демонстрирующих подходящую экспрессию FRA для анти-FRA терапевтических эффектов. В этих случаях для сравнения может быть разработан не плевральный референсный стандарт. Кроме того, эти результаты демонстрируют то, что пациенты с опухолями, экспрессирующими более высокие уровни FRA в мембране и/или цитоплазме, как определено способами FRAMSCOR или HBSCOR, демонстрируют значимое улучшение клинических результатов, включающих PFS и OS. Эти обнаружения должны ориентировать на применение терапий с использованием антител против FRA у пациентов с NSCLC, наиболее вероятно отвечающих на терапию(и) с использованием антитела против FRA. Уровни FRA важны для определения пациентов, которые отвечают на терапию антителом против FRA в комбинации с SOC. Будущие исследования и клиническая польза должны включать лечение пациентов, демонстрирующих необходимые пороговые уровни FRA выше минимальной пороговой точки для эффективности. Эти уровни, определенные здесь, включают уровни с показателем FRAMSCOR не менее 7 и HBSCOR не менее 0,25 (см. Фиг. 3). В среднем это пересчитывается для опухолей NSCLC с более чем 42%-ной экспрессией FRA при интенсивности +1, 21%-ной экспрессией FRA при интенсивности +2 и/или опухолей с более чем 14%-ной экспрессией FRA при интенсивности +3.

(57) Формула изобретения

1. Способ лечения рака легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа (FRA) у пациента антителом, которое иммуноспецифически связывается с рецептором фолиевой кислоты альфа (FRA), включающий:

определение уровня экспрессии FRA пациента в биологическом образце пациента;
сравнение уровня экспрессии FRA у пациента с референсным уровнем экспрессии FRA; и

введение терапевтически эффективного количества указанного антитела указанному пациенту в случае, если уровень экспрессии FRA у указанного пациента равен указанному референсному уровню экспрессии FRA или превосходит его,

где указанный референсный уровень экспрессии FRA соответствует уровню экспрессии FRA, выше которого группа пациентов, пораженных указанным раком легкого с экспрессией FRA, которой вводят указанное антитело, которое иммуноспецифически связывается с FRA, показала статистически значимое улучшение по меньшей мере одного клинического результата по сравнению с группой пациентов, пораженных указанным раком легкого с экспрессией FRA, которой вводят плацебо,

где указанный референсный уровень экспрессии FRA составляет:

(1) 42% +1 или больше анти-FRA окрашивания;

(2) 21% +2 или больше анти-FRA окрашивания;

(3) 14% +3 или больше анти-FRA окрашивания;

(4) FRAMSCOR, равный 7; или

(5) HBSCOR, равный 0,25;

где FRAMSCOR (M-score) рассчитывают как средневзвешенную величину, принимая во внимание следующую систему оценки 0, 1+, 2+, 3+:

x = % опухолей, окрашиваемой при 1+,

y = % опухолей, окрашиваемой при 2+,

z = % опухолей, окрашиваемой при 3+,

тогда

$$M = \frac{x + 2y + 3z}{6}$$

где HBSCOR получают по сумме клеточных измерений (оптическая плотность), разделенной на общее количество клеток; и

где указанное антитело, которое иммуноспецифически связывается с FRA, представляет собой:

антитело, содержащее SEQ ID NO: 1 в качестве CDRH1 (гипервариабельная область 1 тяжелой цепи), SEQ ID NO: 2 в качестве CDRH2, SEQ ID NO: 3 в качестве CDRH3, SEQ ID NO: 4 в качестве CDRL1 (гипервариабельная область 1 легкой цепи), SEQ ID NO: 5 в качестве CDRL2 и SEQ ID NO: 6 в качестве CDRL3;

антитело, содержащее вариабельную область зрелой легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и/или вариабельную область зрелой тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8; фарлетузумаб;

антитело, которое специфически связывается с рецептором фолиевой кислоты альфа, содержащее вариабельные области зрелых легкой и тяжелой цепей, имеющие по меньшей мере 90%-ную и предпочтительно по меньшей мере 95%-ную или 99%-ную идентичность последовательности с SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 8, соответственно; или

антитело или его производное, которое может конкурентно ингибировать связывание фарлетузумаба с рецептором фолиевой кислоты альфа.

2. Способ лечения рака легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа (FRA) у пациента, включающий введение пациенту антитела, которое иммуноспецифически связывается с рецептором фолиевой кислоты альфа (FRA), где уровень экспрессии FRA у пациента равен или превосходит референсный уровень

экспрессии FRA,

где указанный референсный уровень экспрессии FRA соответствует уровню экспрессии FRA, выше которого группа пациентов, пораженных указанным раком легкого с экспрессией FRA, которой вводят указанное антитело, которое иммуноспецифически связывается с FRA, показала статистически значимое улучшение по меньшей мере одного клинического результата по сравнению с группой пациентов, пораженных указанным раком легкого с экспрессией FRA, которой вводят плацебо,

где указанный референсный уровень экспрессии FRA составляет:

(1) 42% +1 или больше анти-FRA окрашивания;

(2) 21% +2 или больше анти-FRA окрашивания;

(3) 14% +3 или больше анти-FRA окрашивания;

(4) FRAMSCOR, равный 7; или

(5) HBSCOR, равный 0,25;

где FRAMSCOR (M-score) рассчитывают как средневзвешенную величину, принимая во внимание следующую систему оценки 0, 1+, 2+, 3+:

x = % опухолей, окрашиваемой при 1+,

y = % опухолей, окрашиваемой при 2+,

z = % опухолей, окрашиваемой при 3+,

тогда

$$M = \frac{x + 2y + 3z}{6} ;$$

где HBSCOR получают по сумме клеточных измерений (оптическая плотность), разделенной на общее количество клеток; и

где указанное антитело, которое иммуноспецифически связывается с FRA, представляет собой:

антитело, содержащее SEQ ID NO: 1 в качестве CDRH1, SEQ ID NO: 2 в качестве CDRH2, SEQ ID NO: 3 в качестве CDRH3, SEQ ID NO: 4 в качестве CDRL1, SEQ ID NO: 5 в качестве CDRL2 и SEQ ID NO: 6 в качестве CDRL3;

антитело, содержащее переменную область зрелой легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и/или переменную область зрелой тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8;

фарлетузумаб;

антитело, которое специфически связывается с рецептором фолиевой кислоты альфа, содержащее переменные области зрелых легкой и тяжелой цепей, имеющие по меньшей мере 90%-ную и предпочтительно по меньшей мере 95%-ную или 99%-ную идентичность последовательности с SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 8, соответственно; или

антитело или его производное, которое может конкурентно ингибировать связывание фарлетузумаба с рецептором фолиевой кислоты альфа.

3. Способ прогнозирования вероятности возникновения ответной реакции на лечение антителом, которое иммуноспецифически связывается с рецептором фолиевой кислоты альфа (FRA), у пациента, страдающего раком легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа (FRA), включающий:

определение уровня экспрессии FRA пациента в биологическом образце пациента;

и сравнение уровня экспрессии FRA у указанного пациента с референсным уровнем экспрессии FRA,

где у указанного пациента вероятно возникает ответная реакция на лечение

указанным антителом, которое иммуноспецифически связывается с FRA, в случае, если уровень экспрессии FRA у указанного пациента равен указанному референсному уровню экспрессии FRA или превосходит его,

где указанный референсный уровень экспрессии FRA соответствует уровню экспрессии FRA, выше которого группа пациентов, пораженных указанным раком легкого с экспрессией FRA, которой вводят указанное антитело, которое иммуноспецифически связывается с FRA, показала статистически значимое улучшение по меньшей мере одного клинического результата по сравнению с группой пациентов, пораженных указанным раком легкого с экспрессией FRA, которой вводят плацебо,

где указанный референсный уровень экспрессии FRA составляет:

(1) 42% +1 или больше анти-FRA окрашивания;

(2) 21% +2 или больше анти-FRA окрашивания;

(3) 14% +3 или больше анти-FRA окрашивания;

(4) FRAMSCOR, равный 7; или

(5) HBSCOR, равный 0,25;

где FRAMSCOR (M-score) рассчитывают как средневзвешенную величину, принимая во внимание следующую систему оценки 0, 1+, 2+, 3+:

x = % опухолей, окрашиваемой при 1+,

y = % опухолей, окрашиваемой при 2+,

z = % опухолей, окрашиваемой при 3+,

тогда

$$M = \frac{x + 2y + 3z}{6} ;$$

где HBSCOR получают по сумме клеточных измерений (оптическая плотность), разделенной на общее количество клеток; и

где указанное антитело, которое иммуноспецифически связывается с FRA, представляет собой:

антитело, содержащее SEQ ID NO: 1 в качестве CDRH1, SEQ ID NO: 2 в качестве CDRH2, SEQ ID NO: 3 в качестве CDRH3, SEQ ID NO: 4 в качестве CDRL1, SEQ ID NO: 5 в качестве CDRL2 и SEQ ID NO: 6 в качестве CDRL3;

антитело, содержащее переменную область зрелой легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и/или переменную область зрелой тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8;

фарлетузумаб;

антитело, которое специфически связывается с рецептором фолиевой кислоты альфа, содержащее переменные области зрелых легкой и тяжелой цепей, имеющие по меньшей мере 90%-ную и предпочтительно по меньшей мере 95%-ную или 99%-ную идентичность последовательности с SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 8, соответственно; или

антитело или его производное, которое может конкурентно ингибировать связывание фарлетузумаба с рецептором фолиевой кислоты альфа.

4. Способ по пп. 1, 2 или 3, где указанным группам пациентов дополнительно вводили химиотерапевтический агент.

5. Способ по п. 4, где указанный химиотерапевтический агент включает таксан, цисплатин, карбоплатин и/или пеметрексед.

6. Способ по любому из пп. 1-5, где указанный уровень экспрессии FRA

(а) измеряют путем количественного определения белка или количественного определения РНК;

- (б) измеряют путем иммуногистохимического анализа; и/или
- (в) представляет собой (1) экспрессию цитоплазматического FRA; или
- (2) экспрессию мембранного FRA.

7. Способ по любому из пп. 1-6, дополнительно включающий введение указанному

пациенту терапевтически эффективного количества химиотерапевтического агента.

8. Способ по п. 7, где указанный химиотерапевтический агент включает содержащее платину соединение.

9. Способ по п. 8, где указанное содержащее платину соединение включает цисплатин или карбоплатин.

10. Способ по любому из пп. 1-9, дополнительно включающий введение указанному

пациенту терапевтически эффективного количества таксана.

11. Способ по п. 10, где указанный таксан представляет собой паклитаксел.

12. Способ по пп. 7, 8, 9, 10 или 11, дополнительно включающий введение указанному

пациенту терапевтически эффективного количества пеметрекседа.

13. Способ по любому из пп. 1-6, дополнительно включающий введение указанному

пациенту карбоплатина и паклитаксела.

14. Способ по п. 13, где карбоплатин вводят указанному пациенту для достижения

площади под кривой (AUC), равной 6 или меньше.

15. Способ по п. 13 или 14, где паклитаксел вводят указанному пациенту в дозе от

50 мг/м² до 250 мг/м².

16. Способ по любому из пп. 1-6, дополнительно включающий введение указанному

пациенту карбоплатина и пеметрекседа.

17. Способ по п. 16, где указанный карбоплатин вводят указанному пациенту для

достижения площади под кривой, равной 5-6 или меньше.

18. Способ по п. 16 или 17, где указанный пеметрексед вводят указанному пациенту

в дозе от 400 до 600 мг/м².

19. Способ по любому из пп. 1-6, дополнительно включающий введение указанному

пациенту цисплатина и пеметрекседа.

20. Способ по п. 19, где цисплатин вводят указанному пациенту в дозе от 50 мг/м²

до 250 мг/м².

21. Способ по п. 19 или 20, где пеметрексед вводят в дозе от 400 мг/м² до 600 мг/м².

22. Способ по любому из пп. 1-21, где указанный уровень экспрессии FRA определяют

путем иммуноанализа с использованием по меньшей мере одного из следующих антител:

(а) антитело, которое связывается с тем же самым эпитопом, что и фарлетузумаб;

(б) антитело, содержащее SEQ ID NO: 1 (GFTFSGYGLS) в качестве CDRH1, SEQ ID

NO: 2 (MISSGGSYTYADSVKG) в качестве CDRH2, SEQ ID NO: 3 (HGDDPAWFAY) в

качестве CDRH3, SEQ ID NO: 4 (SVSSSISSNNLH) в качестве CDRL1, SEQ ID NO: 5

(GTSNLAS) в качестве CDRL2 и SEQ ID NO: 6 (QQWSSYPYMYT) в качестве CDRL3;

(в) антитело, содержащее вариабельную область зрелой легкой цепи, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и вариабельную область зрелой

тяжелой цепи, содержащую аминокислотную SEQ ID NO: 8;

(г) фарлетузумаб;

(д) антитело 548908;

(е) антитело, которое связывается с тем же самым эпитопом, что и антитело 548908;

(ж) антитело 6D398;

(з) антитело, которое связывается с тем же самым эпитопом, что и антитело 6D398;

(и) антитело BN3.2;

- (к) антитело, которое связывается с тем же самым эпитопом, что и антитело BN3.2;
- (л) антитело, которое связывается с тем же самым эпитопом, что и антитело 26B3;
- (м) антитело, содержащее SEQ ID NO: 14 (GYFMN) в качестве CDRH1, SEQ ID NO: 15 (RIFPYNGDTFYNQKFKG) в качестве CDRH2, SEQ ID NO: 16 (GTHYFDY) в качестве CDRH3, SEQ ID NO: 17 (RTSENIFSILA) в качестве CDRL1, SEQ ID NO: 18 (NAKTLAE) в качестве CDRL2 и SEQ ID NO: 19 (QHNYAFPWT) в качестве CDRL3;
- (н) антитело 26B3;
- (о) антитело, которое связывается с тем же самым эпитопом, что и антитело 19D4;
- (п) антитело, содержащее SEQ ID NO: 20 (HPYMH) в качестве CDRH1, SEQ ID NO: 21 (RIDPANGNTKYDPKFQG) в качестве CDRH2, SEQ ID NO: 22 (EEVADYTMDY) в качестве CDRH3, SEQ ID NO: 23 (RASESVDITYGNNFIH) в качестве CDRL1, SEQ ID NO: 24 (LASNLES) в качестве CDRL2 и SEQ ID NO: 25 (QQNNGDPWT) в качестве CDRL3;
- (р) антитело 19D4;
- (с) антитело, которое связывается с тем же самым эпитопом, что и антитело 9F3;
- (т) антитело, содержащее SEQ ID NO: 26 (SGYYWN) в качестве CDRH1, SEQ ID NO: 27 (YIKSDGSNNYNPSLKN) в качестве CDRH2, SEQ ID NO: 28 (EWKAMDY) в качестве CDRH3, SEQ ID NO: 29 (RASSTVSYSYLH) в качестве CDRL1, SEQ ID NO: 30 (GTSNLAS) в качестве CDRL2 и SEQ ID NO: 31 (QQYSGYPLT) в качестве CDRL3;
- (у) антитело 9F3;
- (ф) антитело, которое связывается с тем же самым эпитопом, что и антитело 24F12;
- (х) антитело, содержащее SEQ ID NO: 32 (SYAMS) в качестве CDRH1, SEQ ID NO: 33 (EIGSGGSYTYYPDTVTG) в качестве CDRH2, SEQ ID NO: 34 (ETTAGYFDY) в качестве CDRH3, SEQ ID NO: 35 (SASQGINNFLN) в качестве CDRL1, SEQ ID NO: 36 (YTSSLHS) в качестве CDRL2 и SEQ ID NO: 37 (QHFSKLPWT) в качестве CDRL3;
- (ц) антитело 24F12;
- (ч) антитело, которое содержит переменную область легкой цепи, выбранную из группы, состоящей из:
- (1) LK26HuVK;
- (2) LK26HuVKY;
- (3) LK26HuVKPW; и
- (4) LK26HuVKPW,Y;
- (ш) антитело, которое содержит переменную область тяжелой цепи, выбранную из группы, состоящей из:
- (1) LK26HuVH;
- (2) LK26HuVH FAIS,N;
- (3) LK26HuVH SLF;
- (4) LK26HuVH I,I;
- (5) LK26KOLHuVH;
- (щ) антитело, которое содержит переменную область тяжелой цепи LK26KOLHuVH (SEQ ID NO: 46) и переменную область легкой цепи LK26HuVKPW, Y (SEQ ID NO: 41);
- (э) антитело, которое содержит переменную область тяжелой цепи LK26HuVH SLF (SEQ ID NO: 44) и переменную область легкой цепи LK26HuVKPW,Y (SEQ ID NO: 41);
- (аа) антитело, которое содержит переменную область тяжелой цепи LK26HuVH FAIS,N (SEQ ID NO: 43) и переменную область легкой цепи LK26HuVKPW,Y (SEQ ID NO: 41); и
- (бб) мышинное моноклональное антитело LK26.

23. Способ по любому из пп. 1-22, где уровень экспрессии FRA у указанного пациента

определяют средствами цифровой визуализации или путем количественного определения патологии вручную.

24. Способ по п. 6, где уровень экспрессии FRA у указанного пациента определяют по показателю FRAMSCOR или HBSCOR.

5 25. Способ по любому из пп. 1-24, где указанный биологический образец представляет собой цельную кровь, сыворотку крови, плазму крови, циркулирующие в крови клетки, циркулирующие в крови опухолевые клетки, свободные клетки, ткань, плевральный экссудат, мочу, слюну, мокроту или бронхиальный смыв.

10 26. Способ по любому из пп. 1-25, где указанный биологический образец содержит плевральную ткань.

27. Способ по любому из пп. 1-26, где указанный биологический образец содержит плевральные клетки, имеющие происхождение из экссудата.

15 28. Способ по п. 1, 2 или 3, где указанный по меньшей мере один клинический результат, представляет собой выживаемость без прогрессирования и/или общую выживаемость.

29. Способ по любому из пп. 1-28, где указанный рак легкого с экспрессией FRA представляет собой немелкоклеточный рак легкого (NSCLC) с экспрессией FRA.

30. Способ по п. 29, где указанный NSCLC представляет собой аденокарциному.

20

25

30

35

40

45

SEQUENCE LISTING

<110> MORPHOTEK, INC.
 <120> METHODS FOR TREATING LUNG CANCER
 <130> 104018.000950
 <140>
 <141>
 <150> 62/149,184
 <151> 2015-04-17
 <160> 46
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 1
 Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr Gly Leu Ser
 1 5 10
 <210> 2
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 2
 Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly
 <210> 3
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 3
 His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr
 1 5 10
 <210> 4
 <211> 12

Страница 1

```

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 4
Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn Asn Leu His
1          5          10

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 5
Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1          5

<210> 6
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 6
Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Tyr Met Tyr Thr
1          5          10

<210> 7
<211> 217
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 7
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1          5          10          15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn
20          25          30

Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Trp
35          40          45

Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
50          55          60

```

Страница 2

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro
 85 90 95
 Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
 100 105 110
 Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
 115 120 125
 Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
 130 135 140
 Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
 145 150 155 160
 Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
 165 170 175
 Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
 180 185 190
 Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
 195 200 205
 Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215
 <210> 8
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 8
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr
 20 25 30
 Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe
 Страница 3

65 70 75 80
 Leu Gln Met Asp Ser₈₅ Leu Arg Pro Glu Asp₉₀ Thr Gly Val Tyr Phe Cys₉₅
 Ala Arg His Gly₁₀₀ Asp Asp Pro Ala Trp₁₀₅ Phe Ala Tyr Trp Gly₁₁₀ Gln Gly
 Thr Pro Val₁₁₅ Thr Val Ser Ser Ala₁₂₀ Ser Thr Lys Gly₁₂₅ Pro Ser Val Phe
 Pro Leu₁₃₀ Ala Pro Ser Ser Lys₁₃₅ Ser Thr Ser Gly₁₄₀ Thr Ala Ala Leu
 Gly Cys Leu Val Lys₁₅₀ Tyr Phe Pro Glu₁₅₅ Pro Val Thr Val Ser Trp₁₆₀
 Asn Ser Gly Ala₁₆₅ Leu Thr Ser Gly Val His₁₇₀ Thr Phe Pro Ala Val₁₇₅ Leu
 Gln Ser Ser Gly₁₈₀ Leu Tyr Ser Leu₁₈₅ Ser Val Val Thr Val₁₉₀ Pro Ser
 Ser Ser Leu₁₉₅ Gly Thr Gln Thr Tyr₂₀₀ Ile Cys Asn Val₂₀₅ Asn His Lys Pro
 Ser Asn Thr Lys Val Asp₂₁₅ Lys Lys Val Glu Pro Lys₂₂₀ Ser Cys Asp Lys
 Thr His Thr Cys Pro₂₃₀ Pro Cys Pro Ala Pro Glu₂₃₅ Leu Leu Gly Gly Pro₂₄₀
 Ser Val Phe Leu₂₄₅ Phe Pro Pro Lys Pro Lys₂₅₀ Asp Thr Leu Met Ile₂₅₅ Ser
 Arg Thr Pro Glu₂₆₀ Val Thr Cys Val Val₂₆₅ Val Asp Val Ser His Glu Asp
 Pro Glu Val₂₇₅ Lys Phe Asn Trp Tyr₂₈₀ Val Asp Gly Val Glu₂₈₅ Val His Asn
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu₂₉₅ Glu Gln Tyr Asn Ser₃₀₀ Thr Tyr Arg Val
 Val Ser Val Leu Thr₃₁₀ Val Leu His Gln Asp Trp₃₁₅ Leu Asn Gly Lys Glu₃₂₀
 Tyr Lys Cys Lys Val₃₂₅ Ser Asn Lys Ala Leu₃₃₀ Pro Ala Pro Ile Glu₃₃₅ Lys
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro₃₄₅ Arg Glu Pro Gln Val₃₅₀ Tyr Thr

Страница 4

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 9
<211> 962
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 9	tcaaggttaa acgacaagga cagacatggc tcagcggatg acaacacagc tgctgctcct	60
	tctagtgtgg gtggctgtag taggggaggc tcagacaagg attgcatggg ccaggactga	120
	gcttctcaat gtctgcatga acgccaagca ccacaaggaa aagccaggcc ccgaggacaa	180
	gttgcagtag cagtgtcgac cctggaggaa gaatgcctgc tgttctacca acaccagcca	240
	ggaagcccat aaggatgttt cctacctata tagattcaac tggaaccact gtggagagat	300
	ggcacctgcc tgcaaacggc atttcatcca ggacacctgc ctctacgagt gctcccccac	360
	cttggggccc tggatccagc aggtggatca gagctggcgc aaagagcggg tactgaacgt	420
	gcccctgtgc aaagaggact gtgagcaatg gtgggaagat tgtcgacact cctacacctg	480
	caagagcaac tggcacaagg gctggaactg gacttcaggg tttaacaagt gcgcagtggg	540
	agctgcctgc caacctttcc atttctactt cccacacccc actgttctgt gcaatgaaat	600
	ctggactcac tcctacaagg tcagcaacta cagccgaggg agtggccgct gcatccagat	660
	gtgggttcgac ccagcccagg gcaaccccaa tgaggaggtg gcgaggttct atgctgcagc	720
	catgagtggg gctgggccct gggcagcctg gcctttctct cttagcctgg ccctaagtct	780
	gctgtggctg ctcagctgac ctctttttac cttctgatac ctggaaatcc ctgccctgtt	840
	cagccccaca gctcccaact atttggttcc tgctccatgg tcgggcctct gacagccact	900
	ttgaataaac cagacaccgc acatgtgtct tgagaattat ttggaaaaaa aaaaaaaaaa	960
	aa	962

Страница 5

```

<210> 10
<211> 257
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 10
Met Ala Gln Arg Met Thr Thr Gln Leu Leu Leu Leu Val Trp Val
1      5      10      15

Ala Val Val Gly Glu Ala Gln Thr Arg Ile Ala Trp Ala Arg Thr Glu
20     25     30

Leu Leu Asn Val Cys Met Asn Ala Lys His His Lys Glu Lys Pro Gly
35     40     45

Pro Glu Asp Lys Leu His Glu Gln Cys Arg Pro Trp Arg Lys Asn Ala
50     55     60

Cys Cys Ser Thr Asn Thr Ser Gln Glu Ala His Lys Asp Val Ser Tyr
65     70     75     80

Leu Tyr Arg Phe Asn Trp Asn His Cys Gly Glu Met Ala Pro Ala Cys
85     90     95

Lys Arg His Phe Ile Gln Asp Thr Cys Leu Tyr Glu Cys Ser Pro Asn
100    105    110

Leu Gly Pro Trp Ile Gln Gln Val Asp Gln Ser Trp Arg Lys Glu Arg
115    120    125

Val Leu Asn Val Pro Leu Cys Lys Glu Asp Cys Glu Gln Trp Trp Glu
130    135    140

Asp Cys Arg Thr Ser Tyr Thr Cys Lys Ser Asn Trp His Lys Gly Trp
145    150    155    160

Asn Trp Thr Ser Gly Phe Asn Lys Cys Ala Val Gly Ala Ala Cys Gln
165    170    175

Pro Phe His Phe Tyr Phe Pro Thr Pro Thr Val Leu Cys Asn Glu Ile
180    185    190

Trp Thr His Ser Tyr Lys Val Ser Asn Tyr Ser Arg Gly Ser Gly Arg
195    200    205

Cys Ile Gln Met Trp Phe Asp Pro Ala Gln Gly Asn Pro Asn Glu Glu
210    215    220

Val Ala Arg Phe Tyr Ala Ala Ala Met Ser Gly Ala Gly Pro Trp Ala
225    230    235    240

Ala Trp Pro Phe Leu Leu Ser Leu Ala Leu Met Leu Leu Trp Leu Leu

```

Страница 6

245 250 255

Ser

<210> 11
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)..(3)
 <223> Any amino acid

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Any amino acid

<400> 11
 Gln Val Xaa Leu Gln Xaa Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr
 20 25 30

Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
 65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Ile Cys
 85 90 95

Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
 115

<210> 12
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 страница 7

polypeptide"

<400> 12
 Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Leu Met Ala Ala Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn
 20 25 30

Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Glu Thr Ser Pro Lys Pro Trp
 35 40 45

Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Leu Arg Phe Arg
 50 55 60

Gly Phe Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu
 65 70 75 80

Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro
 85 90 95

Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 13
 <400> 13
 000

<210> 14
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence

<220>
 <221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 14
 Gly Tyr Phe Met Asn
 1 5

<210> 15
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 15
 Arg Ile Phe Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Gly

Страница 8

<210> 16
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 16
 Gly Thr His Tyr Phe Asp Tyr
 1 5

<210> 17
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <221> source
 <223> /note="Description of Artificial sequence: Synthetic peptide"

<400> 17
 Arg Thr Ser Glu Asn Ile Phe Ser Tyr Leu Ala
 1 5 10

<210> 18
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 18
 Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu
 1 5

<210> 19
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 19
 Gln His His Tyr Ala Phe Pro Trp Thr
 1 5

<210> 20
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <221> source

Страница 9

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 20
His Pro Tyr Met His
1 5

<210> 21
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 21
Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Asp Pro Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 22
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 22
Glu Glu Val Ala Asp Tyr Thr Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 23
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 23
Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Thr Tyr Gly Asn Asn Phe Ile His
1 5 10 15

<210> 24
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial sequence: Synthetic peptide"

<400> 24
Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser

Страница 10

1 5

<210> 25
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 25
 Gln Gln Asn Asn Gly Asp Pro Trp Thr
 1 5

<210> 26
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 26
 Ser Gly Tyr Tyr Trp Asn
 1 5

<210> 27
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 27
 Tyr Ile Lys Ser Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asn
 1 5 10 15

<210> 28
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 28
 Glu Trp Lys Ala Met Asp Tyr
 1 5

<210> 29
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>

Страница 11

```

<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 29
Arg Ala Ser Ser Thr Val Ser Tyr Ser Tyr Leu His
1          5          10

<210> 30
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 30
Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1          5

<210> 31
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 31
Gln Gln Tyr Ser Gly Tyr Pro Leu Thr
1          5

<210> 32
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 32
Ser Tyr Ala Met Ser
1          5

<210> 33
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 33
Glu Ile Gly Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val Thr
1          5          10          15

```

Страница 12

Gly

<210> 34
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 34
Glu Thr Thr Ala Gly Tyr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 35
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 35
Ser Ala Ser Gln Gly Ile Asn Asn Phe Leu Asn
1 5 10

<210> 36
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 36
Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser
1 5

<210> 37
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 37
Gln His Phe Ser Lys Leu Pro Trp Thr
1 5

<210> 38
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

Страница 13

```

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        polypeptide"

<400> 38
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1      5      10      15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn
      20      25      30

Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
      35      40      45

Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
      50      55      60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln
65      70      75      80

Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro
      85      90      95

Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
      100      105      110

<210> 39
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        polypeptide"

<400> 39
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1      5      10      15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn
      20      25      30

Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
      35      40      45

Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
      50      55      60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln
65      70      75      80

Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro
      85      90      95

```

Страница 14

Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 40
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 40
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn
20 25 30

Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Trp
35 40 45

Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln
65 70 75 80

Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro
85 90 95

Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 41
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 41
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Val Ser Ser Ser Ile Ser Ser Asn
20 25 30

Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Trp
35 40 45

Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
50 55 60

Страница 15

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln
65 70 75 80

Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Trp Ser Ser Tyr Pro
85 90 95

Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 42
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 42
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Ser Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 43
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 43
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Страница 16

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr
 20 25 30
 Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Gln Phe Ser
 65 70 75 80
 Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Ser Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 44
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 44
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr
 20 25 30
 Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Ser Leu Phe
 65 70 75 80
 Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 45
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 45
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ile Tyr Ile Cys
85 90 95

Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Ser Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 46
<211> 119
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

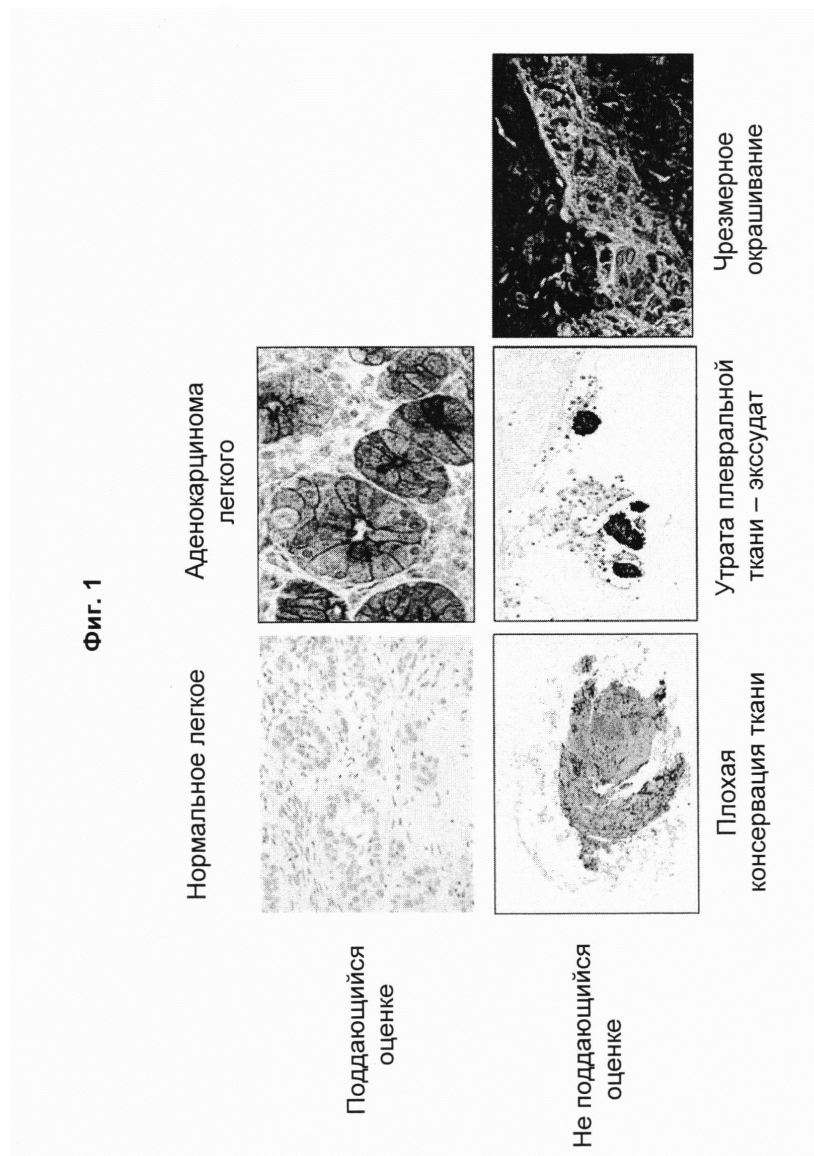
<400> 46
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

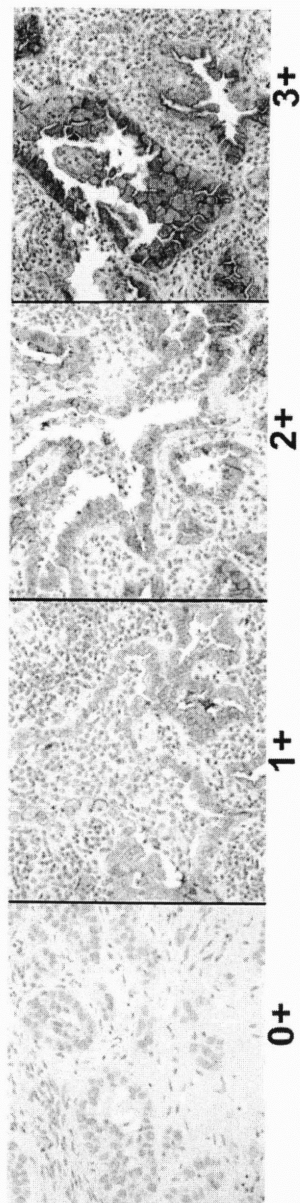
Страница 18

Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Pro Val Thr Val Ser Ser
115



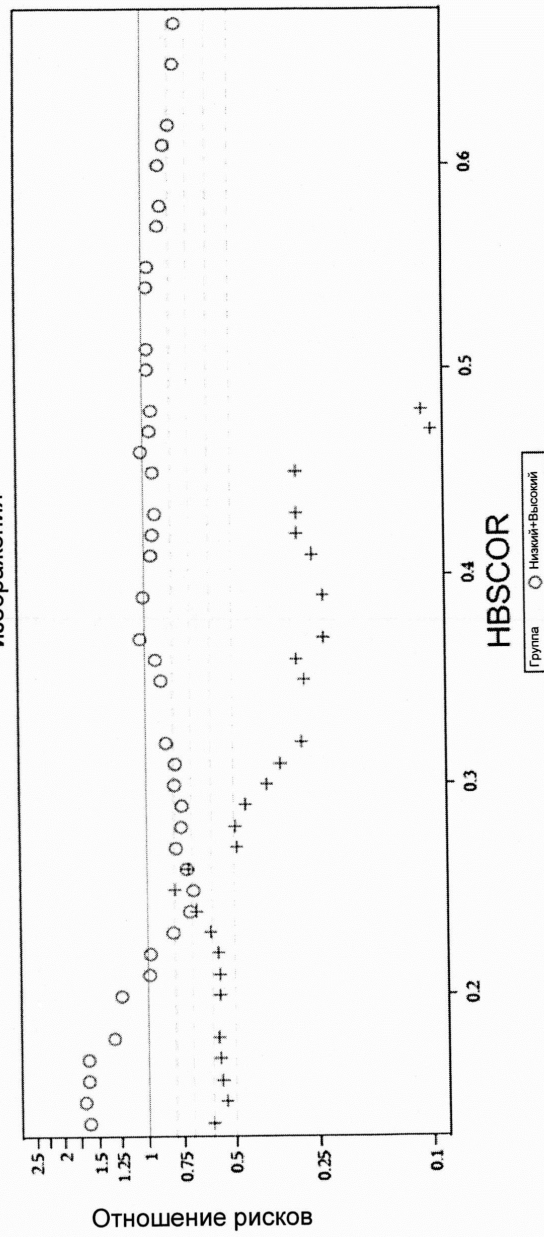
Фиг. 2

Градации окрашивания немелкоклеточной легочной аденокарциномы:



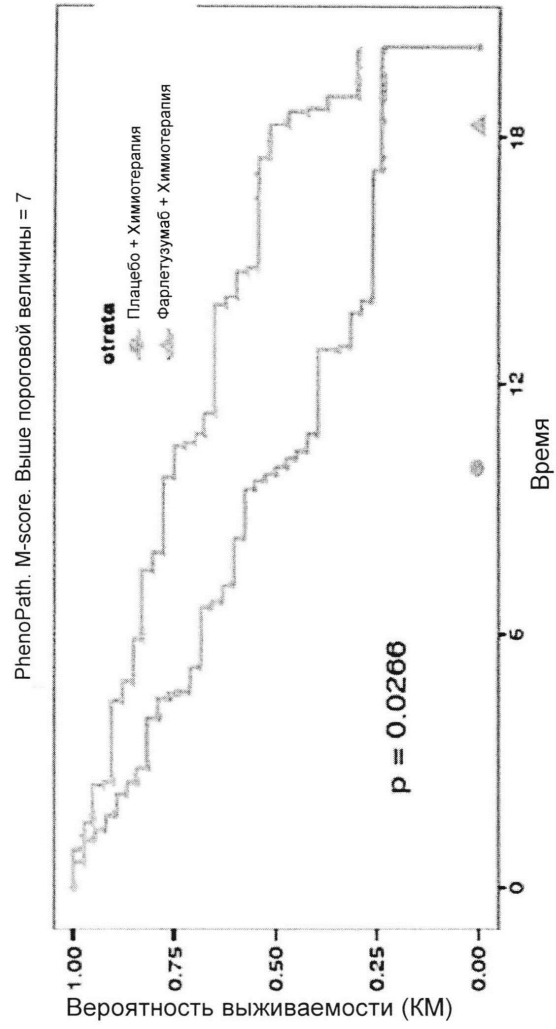
Фиг. 3

Отношение рисков для OS пациента, которого лечили фарлутузабамом, при различных уровнях экспрессии цитоплазматического FRA, обнаруженные путем цифрового анализа изображения



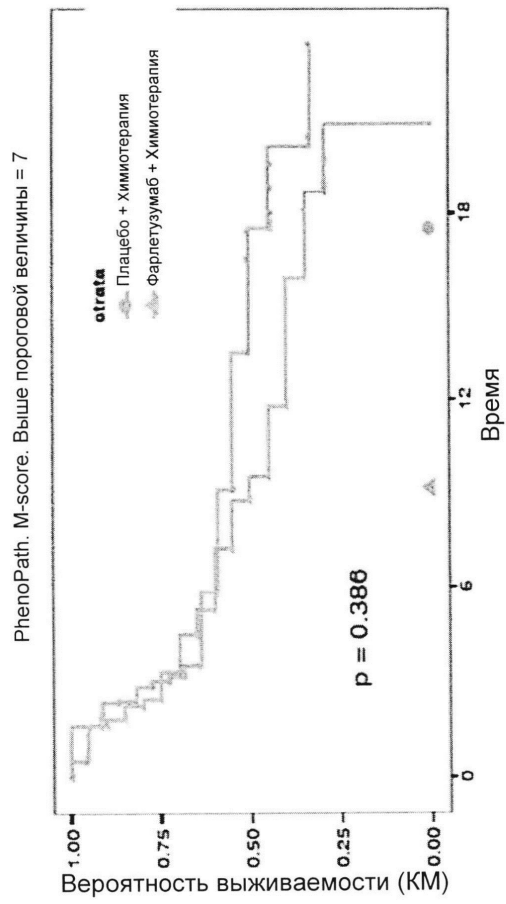
Фиг. 4

A

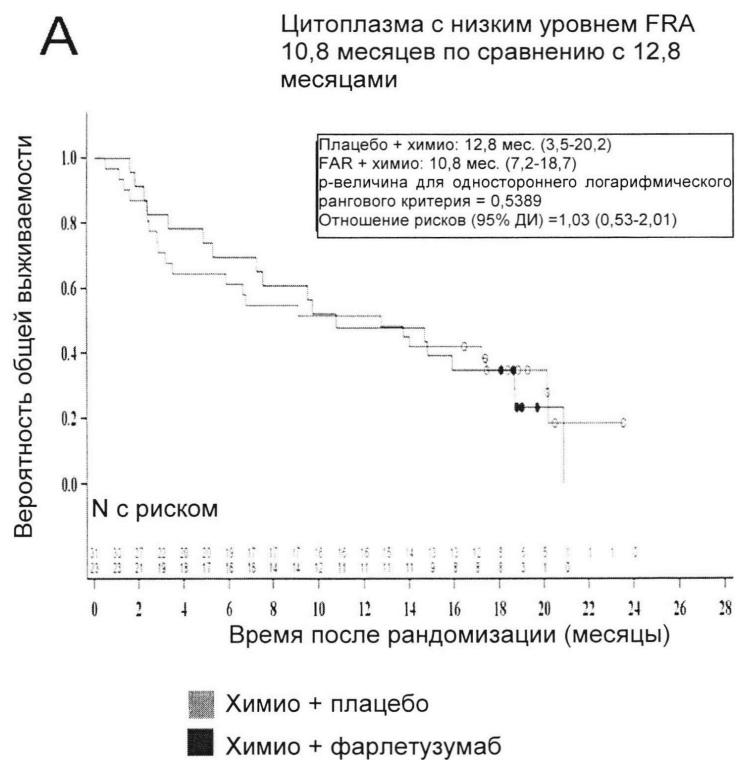


B

Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 5

