

RU 2718780 C9

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



(19)

RU

(11)

2 718 780<sup>(13)</sup> C9

(51) МПК

*A61K 39/395* (2006.01)

*A61P 35/00* (2006.01)

*G01N 33/574* (2006.01)

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"

(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

(72) Автор(ы):

ОШАННЕССИ 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'SHANNESSEY 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'SHANNESSEY DJ. et al. (см. прод.)

R U 2 7 1 8 7 8 0 C 9

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

R U 2 7 1 8 7 8 0 C 9

RUSSIAN FEDERATION



(19) RU (11)

2 718 780<sup>(13)</sup> C9

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

FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(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 immunoreselectively 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.

### 5 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.

### 10 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 15 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 20 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 25 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 30 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 35 (OS) по сравнению с цисплатином вместе с гемцитабином у субъектов с adenокарциномой 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.

40 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 adenокарциномой, которые были оценены, причем наиболее часто встречались KRAS, EGFR и ALK. Использование направленного лечения на этой 45 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, зажоренный на клеточной поверхности посредством GPI (гликозилфосфатидилинозитол), экспрессия

5 и биология которого ассоциирована с множеством типов злокачественных клеток.

Антитела против FRA были разработаны и протестираны в доклинических и клинических исследованиях, оценивающих их действие по подавлению ракового роста у пациентов, у которых опухоли экспрессируют этот антиген. Недавно были проведены

10 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

15 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 Cancer. 2013; 80(1):15-8). Хотя большинство клинических исследований антитела против FRA включали

20 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 25 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

30 экспрессия-клиническую пользу, 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,

35 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

40 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 45 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 receptor фолиевой кислоты альфа (FRA) и способов лечения рака легкого с экспрессией receptorа 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 фарлутузумаб. 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 IMGN853. В некоторых воплощениях описанных здесь способов агент направленного действия на FRA представляет собой винтафолид.

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 adenокарциному.

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 мембранныго FRA. В предпочтительном воплощении уровень экспрессии FRA измеряют посредством иммуногистохимического анализа. В предпочтительных воплощениях уровень экспрессии FRA определяют посредством иммуноанализа с использованием по меньшей

5 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 (MISSGGSYTYYADSVKG) в качестве CDRH2, SEQ ID NO:3 (HGDDPAWFAY) в качестве CDRH3, SEQ ID NO:4 (SVSSSISSNNLH) в качестве CDRL1, SEQ ID NO:5 (GTS 10 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;
- 15 (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);
- 20 (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 (RIFPYNGDTFYQNQKFKG) в качестве CDRH2, SEQ ID NO: 16 (GTHYFDY) в качестве CDRH3, SEQ ID NO: 17 (RTSENIFSYLA) в качестве CDRL1, SEQ ID NO: 18 (NAKTLAE) 25 в качестве CDRL2 и SEQ ID NO: 19 (QHHYAFPWT) 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 (EEVADYTM DY) в 30 качестве CDRH3, SEQ ID NO: 23 (RASESVDTYGNNTFIH) 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: 35 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;
- 40 (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;
- 45 (ч) антитело, которое содержит вариабельную область легкой цепи, выбранную из группы, состоящей из:
  - (1) LK26HuVK;
  - (2) LK26HuVKY;

- (3) LK26HuVKPW; и
- (4) LK26HuVKPW,Y;
- (щ) антитело, которое содержит вариабельную область тяжелой цепи, выбранную из группы, состоящей из:
  - 5 (1) LK26HuVH;
  - (2) LK26HuVH FAIS,N;
  - (3) LK26HuVH SLF;
  - (4) LK26HuVH I,I;
  - (5) LK26KOLHuVH;
- 10 (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);
- 15 (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) мышиное моноклональное антитело LK26.

В описанных здесь способах уровень экспрессии FRA может быть определен 20 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, слону, 25 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 30 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; 35 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

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

45 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,

5 которое подходит для количественного определения окрашивания цитоплазматического или мембранных 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.

10 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)

15 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

20 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 фарлетеузумабом, причем показатель HBSCOR равен 0,25 или больше.

25 На Фиг. 4А и 4В проиллюстрированы клинические ответы у пациентов, которых лечили стандартной (standard-of-care, SOC) химиотерапией с фарлетеузумабом 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 30 пациенты, которых лечили фарлетеузумабом 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

35 обнаружено при измерении PFS (время в месяцах с даты рандомизации к дате первого обнаружения прогрессирования). Панель В демонстрирует то, что пациенты, которых лечили фарлетеузумабом 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) ( $P=0,386$ ).

40 На Фиг. 5А и 5В проиллюстрированы клинические ответы у пациентов, которых лечили стандартной (SOC) химиотерапией с фарлетеузумабом или без него и у которых экспрессируются высокие уровни цитоплазматического FRA (панель В), по сравнению с пациентами, у которых экспрессируются низкие уровни цитоплазматического FRA

45 (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 фарлетеузумабом (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

Раскрытие способов будут более понятны со ссылкой на следующее подробное описание с использованием графических материалов, которые образуют часть данного 10 описания. Понятно, что раскрытие способов 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 раскрытие способов не должны ограничиваться корректностью или не корректностью любого такого предполагаемого механизма или способа действия, или причины для улучшения.

Понятно, что некоторые характеристики раскрытия способов, которые для ясности 20 описаны здесь в контексте отдельных воплощений, также могут быть предложены в комбинации в одном воплощении. Наоборот, различные характеристики раскрытия 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.

25 Предполагается, что используемый здесь термин "приблизительно" в отношении измеряемой величины, такой как количество, временной отрезок и тому подобное охватывает отклонения до  $\pm 10\%$  от указанной величины, насколько такие отклонения приемлемы для реализации раскрытия способов. Если не указано иное, то все числа, выражющие 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 иммunoспецифически 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')<sub>2</sub> и

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

Различные способы разработаны для производства фрагментов антитела, включая протеолитическое расщепление антител и рекомбинантное производство в клетках-хозяевах; тем не менее, другие способы производства 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<sub>H</sub> и V<sub>L</sub> антитела, где эти домены представлены в одной полипептидной цепи.

Как правило, полипептид Fv дополнительно содержит полипептидный линкер между доменами V<sub>H</sub> и V<sub>L</sub>, 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 гетерологической молекулы, например, присоединением гетерологического 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 иммunoспецифически связываются с FRA, и их антигенсвязывающие фрагменты, например, фарлутузумаб; конъюгаты лекарственного средства с такими антителами и антигенсвязывающими фрагментами, например IMGN853 (Immunogen); и небольшие молекулы, такие как винтафолид (EC 145; Endocyte). Винтафолид представляет собой конъюгат фолат-дезацетилвинblastина моногидразид, который обеспечивает высвобождение лекарственного средства в цитоплазму раковых клеток посредством FRA и эндоцитоза. В предпочтительных воплощениях агент направленного действия на FRA представляет собой фарлутузумаб.

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 5 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. Использованный здесь термин "рак" включает предзлокачественный, а также злокачественный рак.

Использованный здесь термин "рецептор фолиевой кислоты альфа" (также называемый FRA, FR-альфа, FOLR-1 или FOLR1) относится к альфа-изоформе 10 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, 15 проксимальные каналы почек, хориоидное сплетение, легкие 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 20 человеческого FRA представлены здесь как SEQ ID NO: 9 и 10, соответственно.

|  |     |
|--|-----|
| SEQ ID NO: 9   |     |
| tcaaggtaa acgacaagga cagacatggc tcagcggatg acaacacagc tgctgctcct           | 60  |
| tctagtgtgg gtggctgttag taggggaggc tcagacaagg attgcattgg ccaggactga         | 120 |
| 25 gcttctcaat gtctgcatac acgccaagca ccacaaggaa aagccaggcc ccgaggacaa       | 180 |
| gttgcatacg cagtgtcgac cctggaggaa gaatgcctgc tgttctacca acaccagcca          | 240 |
| ggaagccat aaggatgttt cctacctata tagattcaac tggaaccact gtggagagat           | 300 |
| 30 ggcacacctgcc tgcaaaacggc atttcatacca ggacacacctgc ctctacgagt gctcccccaa | 360 |

35

40

45

|    |  |     |
|----|--|-----|
|    | cttggggccc tggatccagc aggtggatca gagctggcgc aaagagcggg tactgaacgt  | 420 |
|    | gcccctgtgc aaagaggact gtgagcaatg gtggaaagat tgcgcaccc cctacacctg   | 480 |
| 5  | caagagcaac tggcacaagg gctggaactg gacttcaggg tttacaactg ggcagtggg   | 540 |
|    | agctgcctgc caaccttcc atttctactt ccccacaccc actgttctgt gcaatgaaat   | 600 |
|    | ctggactcac tcctacaagg tcagcaacta cagccgaggg agtggccgct gcatccagat  | 660 |
| 10 | gtggttcgac ccagcccagg gcaaccccaa tgaggaggtg gcgaggttct atgctgcagc  | 720 |
|    | catgagtggg gctggccct gggcagcctg gccttcctg cttagcctgg ccctaattgt    | 780 |
|    | gctgtggctg ctcagctgac ctccctttac cttctgatac ctggaaatcc ctgcccgtt   | 840 |
|    | cagccccaca gctcccaact atttggttcc tgctccatgg tcgggcctct gacagccact  | 900 |
| 15 | ttgaataaac cagacaccgc acatgtgtct tgagaattat ttggaaaaaaaaaaaaaaaaaa | 960 |
|    | aa   | 962 |

SEQ ID NO: 10

Met Ala Gln Arg Met Thr Thr Gln Leu Leu Leu Leu Leu Val Trp Val

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

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

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

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

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

Val Ala Arg Phe Tyr 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

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 5 крови, плазме крови или плевральном экссудате. Например, белок, который не связан с клеткой, может выталкиваться, секретироваться или экспортirоваться нормальными или раковыми клетками, например, с поверхности раковых клеток, в биологические жидкости.

Используемый здесь "уровень" или "уровень экспрессии" конкретной РНК относится

10 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

15 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

20 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

25 электрохемилюминесцентный 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 меченными поддающейся 30 обнаружению меткой. Термин "меченный" 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

35 непосредственно меченым. Пример опосредованного мечения включает обнаружение первичного антитела с использованием меченого флуоресцентной меткой вторичного антитела. В одном из воплощений антитело является меченным, например, радиоактивно меченным, меченным хромофором, меченным флуорофором или ферментативно меченым. В еще одном воплощении антитело представляет собой производное антитела (например,

40 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 45 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,

- 5 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
- 10 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
- 15 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
- 20 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 поверхностью времяпролетную масс-спектрометрию с лазерной десорбцией/ионизацией (SELDI-TOF MS), которая включает нанесение образца, такого

- 25 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)).

- 35 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
- 40 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 презентируют 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 adenокарциному.

- 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 смызов,
- 10 10 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 солюбилизирующим веществом (например, обработке гуанидином) перед
- 20 измерением в образцах маркера. Такие способы служат для повышения точности, надежности и воспроизводимости анализов.

- 25 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 заранее определяют с использованием группы пациентов, пораженных раком легкого с экспрессией FRA, которых лечат агентом направленного действия на FRA (например, антителом, которое иммunoспецифически связывается с FRA), относительно группы пациентов, пораженных раком легкого с экспрессией FRA, которые получают плацебо
- 30 вместо агента направленного действия на FRA. Группы пациентов могут получать стандартную терапию такого рака легкого с экспрессией FRA дополнительно к указанному антителу или плацебо.

- 35 Использованный здесь термин "приведение образца в контакт" со специфическим связывающим агентом, например антителом, включает воздействие на образец или 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.

- 40 Термин "ингибиовать" или "ингибиование" означает уменьшение измеряемого количества или полное предотвращение.

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

- 50 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, адьюванту, эксцизиенту 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 взаимозаменяющими 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 взаимозаменяющими 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 adenокарциному.

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 анализ, иммунодиффузию, иммуногистохимию, сортировку клеток с возбуждением флуоресценцией (FACS), флуориметрию, гибридизационные 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 5 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*.

10 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 15 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 20 формальдегид, параформальдегид, глутаровый 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 25 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 30 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 receptor 35 фолиевой кислоты альфа.

35 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 40 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 45 антитела против FRA или антигенсвязывающего фрагмента, способным продуцировать обнаружимый сигнал. Альтернативно, антитело против FRA или фрагмент сами по себе могут быть меченными. 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<sup>®</sup> 649), эпитопные метки, биотин, хромофорные метки, метки ECL или ферменты, но не ограничиваются ими. Более

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

10 фенантридиновые красители, родаминовые красители, красители Alexafluor<sup>®</sup> 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,

15 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

20 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, 25 мокроты, бронхиальных смызов, 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 30 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-

35 003;

(б) антитела, содержащего SEQ ID NO:1 (GFTFSGYGLS) в качестве CDRH1, SEQ ID NO:2 (MISSGGSYTYYADSVKG) 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;

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

1      DIQLTQSPSS LSASVGDRVT ITCSVSSSIS SNNLHWYQQK PGKAPKPWIY

51      GTSNLASGVP SRFSGGSGGT DYTFTISSLQ PEDIATYYCQ QWSSYPYMYT

45

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

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

1 EVQLVESGGG VVQPGRLRL SCSASGFTFS GYGLSWVRQA PGKGLEWVAM  
 51 ISSGGSYTYY ADSVKGRFAI SRDNAKNTLF LQMDSLRPED TGVYFCARHG  
 101 DDPAWFAYWG QGTPVTVSSA STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD  
 151 YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY  
 201 ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHTCPP CPAPELLGGP SVFLFPPKPK  
 251 DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS  
 301 TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV  
 351 YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTPPPVL  
 401 DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPGK

20 (CDR подчеркнуты);

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

25 (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);

30 (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 (RTSENIFSYLA) в качестве CDRL1, SEQ ID NO: 18 (NAKTLAE) в качестве CDRL2 и SEQ ID NO: 19 (QHHYAFPWT) 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 (EEVADYTM DY) в качестве CDRH3, SEQ ID NO: 23 (RASESVDTYGNNFH) 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 (RASSTVSYSLH) в качестве CDRL1, SEQ ID NO: 30 (GTSNLAS) 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 (EIGSGGSYYPDTVTG) в качестве CDRH2, SEQ ID NO: 34 (ETTAGYFDY) в качестве CDRH3, SEQ ID NO: 35 (SASQGINNFLN) в качестве CDRL1, SEQ ID NO: 36 (YTSSLHS)

5 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:

10 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 Ile Ser Ser Asn  
 Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
 15 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,

20 (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 Ile Ser Ser Asn  
 Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
 25 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,

30 (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 Ile Ser Ser Asn  
 Asn Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro Trp  
 35 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,

40 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 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:

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln  
 15 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 Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 20 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 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:

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  
 30 Ala Met Ile Ser Ser 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:

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 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  
 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  
 Ala Arg His Gly Asp Asp Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly  
 10 Ser Leu Val Thr Val Ser Ser,

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

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser 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;

(щ) антитела, которое содержит вариабельную область тяжелой цепи LK26KOLHuVH (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);

(aa) антитела, 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) мышного 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 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) вариабельную область тяжелой цепи LK26KOLHuVH (SEQ ID NO: 46) и вариабельную область легкой цепи LK26HuVKPW,Y (SEQ ID NO: 41); вариабельную область тяжелой цепи LK26HuVH SLF (SEQ ID NO: 44) и вариабельную область легкой цепи LK26HuVKPW,Y (SEQ ID NO: 41); или вариабельную область тяжелой цепи LK26HuVH FAIS.N (SEQ ID NO: 43) и вариабельную область легкой цепи LK26HuVKPW,Y (SEQ ID NO: 41). Клетки яичников китайского хомячка (CHO), производящие MORAb-003, депонированы в ATCC (Американская коллекция типовых культур) (10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110) 24 апреля 2006 года под номером PTA-7552.

15 20 Другие полезные антитела, которые иммуноспецифически связываются с рецептором фолиевой кислоты альфа, содержат зрелые вариабельные 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 25 30 с рецептором фолиевой кислоты альфа или его производными, могут конкурентно ингибировать связывание фарлетузумаба с рецептором фолиевой кислоты альфа, что определяют, например, иммуноанализом. Конкурентное ингибиование означает, что антитело, присутствующее по меньшей мере вдвухкратном и предпочтительно пятикратном избытке, ингибирует связывание фарлетузумаба 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 40 Антитело, которое иммуноспецифически связывается с рецептором фолиевой кислоты альфа, также может представлять собой производное антитела против рецептора фолиевой кислоты альфа, раскрытое выше. 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.

45 В некоторых воплощениях антитело против FRA выбрано из группы, состоящей из мышиного 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, иммобилизированном на твердой подложке и меченным 5 антителом 24F12, (б) антителом 26B3, иммобилизированном на твердой подложке и меченным антителом 19D4, и (в) антителом 9F3, иммобилизированном на твердой подложке и меченным 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 10 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 15 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 20 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 25 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 30 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 35 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 40 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; 45 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+,

тогда

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

Для примера, если опухоль у пациента имеет 20%-ное окрашивание FRA при +1, 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 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 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:

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

После определения у пациента уровня экспрессии FRA его сравнивают с референсным 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 30 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 35 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 40 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 45 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. Раскрыты 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:4 в качестве CDRL1, SEQ ID NO:5 в качестве CDRL2 и SEQ ID NO:6 в качестве CDRL3;

(б) антитела, содержащего 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;

(в) фарлетузумаба;

(г) антитела, которое специфически связывается с рецептором фолиевой кислоты альфа, содержащего зрелые вариабельные 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,

5 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 10 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 15 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 20 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 25 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 30 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 35 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 40 варианты и препараты, включая, без ограничения, наб-паклитаксел (Abraxane<sup>®</sup>), кабазитаксел (Jevtana<sup>®</sup>), DJ-927 (Tesetaxel<sup>®</sup>), паклитаксел полиглюмекс (Opaxio<sup>®</sup>), XRP9881 (Larotaxel<sup>®</sup>), EndoTAG плюс паклитаксел (EndoTAG<sup>®</sup>-1), полимерно- 45 мицеллярный паклитаксел (Genexol-PM<sup>®</sup>), DHA-паклитаксел (Taxoprexin<sup>®</sup>), 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 45 четырех 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

- 5 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 прогрессирование, серологическое прогрессирование и/или радиологическое 10 прогрессирование рака перед проведением стадии определения уровня экспрессии FRA у пациента.

15 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.

20 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 25 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.

30 25 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 сиалистиковая мембрана или волокно. Терапевтические агенты и их фармацевтические композиции для описанного здесь применения могут быть введены 35 перорально в любой доступной лекарственной форме, такой как капсулы, таблетки, водные суспензии, растворы или тому подобное.

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

45 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).

50 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.

55 45 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 инъецируемых 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 солюбилизирующих или 15 стабилизирующих агентов (например, неионных поверхностно-активных веществ, таких как твин или сахара, такие как сахароза, трегалоза и тому подобное).

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

35 Как правило, композиции для внутривенного введения представляют собой растворы в стерильном изотоническом водном буфере. При необходимости фармацевтическая композиция также может включать солюбилизирующий агент и местный анестетик, такой как лигнокайн, для облегчения боли в месте инъекции. Как правило, ингредиенты либо поставляются по отдельности, либо смешаны вместе в стандартной лекарственной 40 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 15 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. 20 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.

25 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 иммunoспецифически связывается с FRA, предпочтительно 30 фарлетузумаба), 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 35 10,0 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых воплощениях доза агента направленного действия на FRA (например, антитела, которое иммunoспецифически связывается с FRA, предпочтительно фарлетузумаба), 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 40 здесь воплощениях способов лечения субъекту вводят нагрузочную дозу агента направленного действия на FRA (например, антитела, которое иммunoспецифически 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 45 воплощениях способов лечения субъекту в течение первых двух недель лечения вводят две нагрузочные дозы агента направленного действия на FRA (например, антитела, которое иммunoспецифически 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/м<sup>2</sup> до приблизительно 250 мг/м<sup>2</sup> массы тела субъекта, предпочтительно от приблизительно 75 мг/м<sup>2</sup> до приблизительно 200 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых 5 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 10 воплощениях доза цисплатина, вводимого субъекту, страдающему раком легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа, составляет от приблизительно 50 мг/м<sup>2</sup> до приблизительно 250 мг/м<sup>2</sup> массы тела субъекта, предпочтительно от приблизительно 75 мг/м<sup>2</sup> до приблизительно 200 мг/м<sup>2</sup>. В некоторых 15 воплощениях доза антифолата, вводимого субъекту, страдающему раком легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа, составляет от приблизительно 400 до приблизительно 600 мг/м<sup>2</sup>. В предпочтительном 20 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 25 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 30 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.

### 35 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 40 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 иммunoспецифически связывается с FRA, такое как фарлетузумаб, или конъюгат антитело-лекарственное средство, такое как IMGN853), флакон, 45 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 иммunoспецифически 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

5 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

10 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

15 модифицированные варианты и композиции, включающие, без ограничения, набор паклитаксел (Abraxane<sup>®</sup>), кабазитаксел (Jevtana<sup>®</sup>), DJ-927 (Tesetaxel<sup>®</sup>), паклитаксел полиглюмекс (Opaxio<sup>®</sup>), XRP9881 (Larotaxel<sup>®</sup>), EndoTAG плюс паклитаксел (EndoTAG<sup>®</sup>-1),

20 полимерно-мицеллярный паклитаксел (Genexol-PM<sup>®</sup>), ДНК-паклитаксел (Taxoprexin<sup>®</sup>), 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, супензию и подобную композицию для предложения терапевтического агента. Наборы также

25 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

30 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

35 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,

40 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 45 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 adenокарциному легкого, причем экспрессия FRA (определенная как 1+или больше мембранныго окрашивания) составляет по меньшей мере 5% опухолевых клеток в соответствии с иммуногистохимией,

- 5 классифициированную 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 мембранный 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/м<sup>2</sup>; карбоплатин с AUC 5-6 и пеметрексед 500 мг/м<sup>2</sup>; или цисплатин 75 мг/м<sup>2</sup> и пеметрексед 500 мг/м<sup>2</sup>) с фарлутузумабом 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 фарлутузумаба 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 фарлутузумабом или плацебо вводили на 8 сутки в виде нагрузочной дозы. Начиная со 2 цикла фарлутузумаб 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
- 40 прерывали до 4-го цикла или задерживали на более чем 6 недель, тогда субъекта исключали из протокола лечения.

- Субъекты, которые ощущали клиническую пользу от комбинированной терапии, могли продолжить получение фарлутузумаба или плацебо на 1 сутки каждого 21-суточного цикла до обнаружения зарегистрированного рентгенологического 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 adenокарциномы 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 10 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).

15 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 20 прогрессирования заболевания.

Для демонстрации того, что относительный уровень экспрессии FRA в опухолевой ткани или пороговый уровень экспрессии являются важными для повышенных опосредованных фарлетузумабом клинических улучшений у пациентов, страдающих немелкоклеточной легочной adenокарциномой (NSCLC), в комбинации со стандартной 25 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 adenокарциномой, анализировали в отношении уровней экспрессии цитоплазматического или мембранных FRA.

30 Уровни белка FRA определяли посредством иммуногистохимического (IHC) анализа для данного исследования с использованием антитела 26B3 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 35 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 мембранных FRA путем цифровой визуализации или микроскопического анализа вручную 26B3-окрашенных тканевых срезов с использованием ранее описанных 40 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)).

45 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 мембранных 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 мембранны. 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 опухолевые срезы должны быть хорошо зафиксированы и 1НС-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 всплескую оценивал целостность FRA 26 В3-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 мембранный 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 26B3-окрашивание FRA при +1, 10%-ное 26B3-окрашивание FRA при +2 и 20%-ное 26B3-окрашивание FRA при +3, то показатель M-score равен 16,6.

HBSCOR демонстрирует среднюю величину оптической плотности для окрашивания биомаркера (в данном случае 26B3-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:

$$20 \quad \text{Клетки} \\ \text{HBSCOR} = \frac{\sum \text{Измерений для клеток}}{\text{Количество клеток}}$$

25 Анализировали и количественно определяли оцениваемые слайды, содержащие ткань, полученную у пациента, окрашенную в отношении FRA с использованием антитела 26B3, 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) 30 с общей выживаемостью (OS) осуществляли для определения того, коррелирует ли высокая или низкая экспрессия FRA с терапевтическим ответом на лечение фарлутузумабом 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 фарлутузумабом, которые экспрессируют более высокие уровни FRA, по сравнению с пациентами с низкой экспрессией. Для определения общего влияния экспрессии FRA и лечения фарлутузумабом на клинический ответ у пациента как 35 функцию выживаемости без прогрессирования (PFS) или OS проводили анализ Каплан-Майера. Как показано на Фиг. 4, пациенты, отобранные для высокой мембранный 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 фарлутузумаб плюс SOC по сравнению с пациентами, которых лечили исключительно 40 плацебо плюс SOC (p=0,386). Улучшенные ответы PFS также обнаружены у пациентов, демонстрирующих высокое мембранные 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 фарлетеузумабом, демонстрировали статистически значимую клиническую пользу в PFS и OS (Фиг. 5, панель B) по сравнению с пациентами, которых лечили фарлетеузумабом, экспрессирующими менее чем оптимальные уровни FRA (Фиг. 5, панель A). Эти

5 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 10 ITT, в которой не удалось продемонстрировать статистическую клиническую пользу для пациентов, которых лечили фарлетеузумабом 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 15 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 фарлетеузумаба на клинический ответ у пациентов с высокими уровнями FRA.

Эти обнаружения свидетельствуют о применении тканевых биопсий хорошего 20 качества, содержащих плевральную злокачественную ткань и окрашенных таким образом, чтобы обеспечить возможность количественного анализа экспрессии FRA, локализованной на мемbrane 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 25 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 30 более высокие уровни FRA в мемbrane и/или цитоплазме, как определено способами FRAMSCOR или HBSCOR, демонстрируют значимое улучшение клинических результатов, включающих PFS и OS. Эти обнаружения должны ориентировать на применение терапии с использованием антител против FRA у пациентов с NSCLC, наиболее вероятно отвечающих на терапию(и) с использованием антитела против FRA. 35 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 40 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.

45 (57) Формула изобретения

1. Способ лечения рака легкого с экспрессией рецептора фолиевой кислоты альфа (FRA) у пациента антителом, которое иммunoспецифически 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

5 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 10 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

20 во внимание следующую систему оценки 0, 1+, 2+, 3+:

$x = \%$  опухоли, окрашиваемой при 1+,

$y = \%$  опухоли, окрашиваемой при 2+,

$z = \%$  опухоли, окрашиваемой при 3+,

тогда

$$25 M = \frac{x + 2y + 3z}{6};$$

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

30 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;

35 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;

фарлутузумаб;

40 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

45 антитело или его производное, которое может конкурентно ингибировать связывание фарлутузумаба 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+:

$x = \%$  опухоли, окрашиваемой при 1+,

$y = \%$  опухоли, окрашиваемой при 2+,

$z = \%$  опухоли, 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 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;

фарлэтузумаб;

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 фарлэтузумаба 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

5 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,

10 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

15 (5) HBSCOR, равный 0,25;

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

$x = \%$  опухоли, окрашиваемой при 1+,

$y = \%$  опухоли, окрашиваемой при 2+,

20  $z = \%$  опухоли, окрашиваемой при 3+,

тогда

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

25 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: 30 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;

35 фарлутузумаб;

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

40 антитело или его производное, которое может конкурентно ингибировать связывание фарлутузума 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, 45 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 мембранныго FRA.

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

5 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.

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

20 50 мг/м<sup>2</sup> до 250 мг/м<sup>2</sup>.

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.

25 18. Способ по п. 16 или 17, где указанный пеметрексед вводят указанному пациенту в дозе от 400 до 600 мг/м<sup>2</sup>.

19. Способ по любому из пп. 1-6, дополнительно включающий введение указанному пациенту цисплатина и пеметрекседа.

30 20. Способ по п. 19, где цисплатин вводят указанному пациенту в дозе от 50 мг/м<sup>2</sup> до 250 мг/м<sup>2</sup>.

21. Способ по п. 19 или 20, где пеметрексед вводят в дозе от 400 мг/м<sup>2</sup> до 600 мг/м<sup>2</sup>.

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

35 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 (MISSGGSYTYYADSVKG) 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;

40 (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;

45 (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 (RTSENIFSYLA) в качестве CDRL1, SEQ ID NO: 18 (NAKTLAE) в качестве CDRL2 и SEQ ID NO: 19 (QHHYAFPWT) в качестве CDRL3;
- 5 (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: 10 21 (RIDPANGNTKYDPKFQG) в качестве CDRH2, SEQ ID NO: 22 (EEVADYTMDY) в качестве CDRH3, SEQ ID NO: 23 (RASESVDTYGNNNFIH) 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;
- 15 (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;
- 20 (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;
- 25 (ц) антитело 24F12;
- (ч) антитело, которое содержит вариабельную область легкой цепи, выбранную из группы, состоящей из:
- (1) LK26HuVK;
- (2) LK26HuVKY;
- 30 (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;
- 35 (3) LK26HuVH SLF;
- (4) LK26HuVH I,I;
- (5) LK26KOLHuVH;
- (щ) антитело, которое содержит вариабельную область тяжелой цепи LK26KOLHuVH
- 40 (SEQ ID NO: 46) и вариабельную область легкой цепи LK26HuVKPW, Y (SEQ ID NO: 41);
- (э) 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
- 45 FAIS,N (SEQ ID NO: 43) и вариабельную область легкой цепи LK26HuVKPW, Y (SEQ ID NO: 41); и
- (бб) мышью 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, слону, 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 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 70 Thr Asp Tyr 75 Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln 80  
 65  
 Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro 95  
 85  
 Tyr Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly 105 Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr 110  
 100  
 Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu 125  
 115  
 Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro 140  
 130  
 Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly 160  
 145 150 155  
 Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr 175  
 165  
 Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His 190  
 180  
 Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val 205  
 195  
 Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys 215  
 210  
 <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 15  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr 30  
 20 25 30  
 Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val 45  
 35 40  
 Ala Met Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val 60  
 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 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 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe |                     |                         |     |
| 115   | 120                 | 125                     |     |
| Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu |                     |                         |     |
| 130   | 135                 | 140                     |     |
| Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp |                     |                         |     |
| 145   | 150                 | 155                     | 160 |
| Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu |                     |                         |     |
| 165   | 170                 | 175                     |     |
| Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser |                     |                         |     |
| 180   | 185                 | 190                     |     |
| Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro |                     |                         |     |
| 195   | 200                 | 205                     |     |
| Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys |                     |                         |     |
| 210   | 215                 | 220                     |     |
| Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro |                     |                         |     |
| 225   | 230                 | 235                     | 240 |
| Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser |                     |                         |     |
| 245   | 250                 | 255                     |     |
| Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp |                     |                         |     |
| 260   | 265                 | 270                     |     |
| Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn |                     |                         |     |
| 275   | 280                 | 285                     |     |
| Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val |                     |                         |     |
| 290   | 295                 | 300                     |     |
| Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu |                     |                         |     |
| 305   | 310                 | 315                     | 320 |
| Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys |                     |                         |     |
| 325   | 330                 | 335                     |     |
| Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr |                     |                         |     |
| 340   | 345                 | 350                     |     |

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   |     |
| tcaaggtaa acgacaagga cagacatggc tcagcggatg acaacacagc tgctgctcc     | 60  |
| tctagtgtgg gtggctgttag taggggaggc tcagacaagg attgcattggg ccaggactga | 120 |
| gcttcataat gtctgcatac acgccaagca ccacaaggaa aagccaggcc ccgaggacaa   | 180 |
| gttgcattgc cagtgtcgac cctggaggaa gaatgcctgc tggatcacca acaccagcca   | 240 |
| ggaagcccat aaggatgttt cttacctata tagattcaac tggaaacct gtggagagat    | 300 |
| ggcacctgcc tgcaaacggc atttcattca ggacacctgc ctctacgagt gtcacccaa    | 360 |
| cttggggccc tggatccagc aggtggatca gagctggcgc aaagagcggg tactgaacgt   | 420 |
| gccccctgtgc aaagaggact gtgagcaatg gtggaaagat tggatcacct cttacaccc   | 480 |
| caagagcaac tggcacaagg gctggaaatg gacttcaggg tttaaacaaat ggcgactggg  | 540 |
| agctgcctgc caaccccttcc atttctactt ccccacaccc actgttctgt gcaatgaaat  | 600 |
| ctggactcac tcctacaagg tcagcaacta cagccgggg agtggccgt gcatccagat     | 660 |
| gtggatccagc ccagcccccc gcaaccccaa tgaggagggt gcgaggatct atgctgcac   | 720 |
| catgagttgg gctggggccc gggcagctg gcctttctgg cttagctgg ccctaactgt     | 780 |
| gctgtggctg cttagctgc ctccctttac cttagatc ctggaaatcc ctggccctgtt     | 840 |
| cagccccaca gctcccaact atttggttcc tgctccatgg tcggccctt gacagccact    | 900 |
| ttgaataaac cagacacccgc acatgtgtct tgagaattat ttggaaaaaaa 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  
 210 215 220 225  
 Val Ala Arg Phe Tyr Ala Ala Ala Met Ser Gly Ala Gly Pro Trp Ala  
 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 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 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

```

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 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 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 70 Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln  
 65 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> 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 Gln 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

Страница 17

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 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

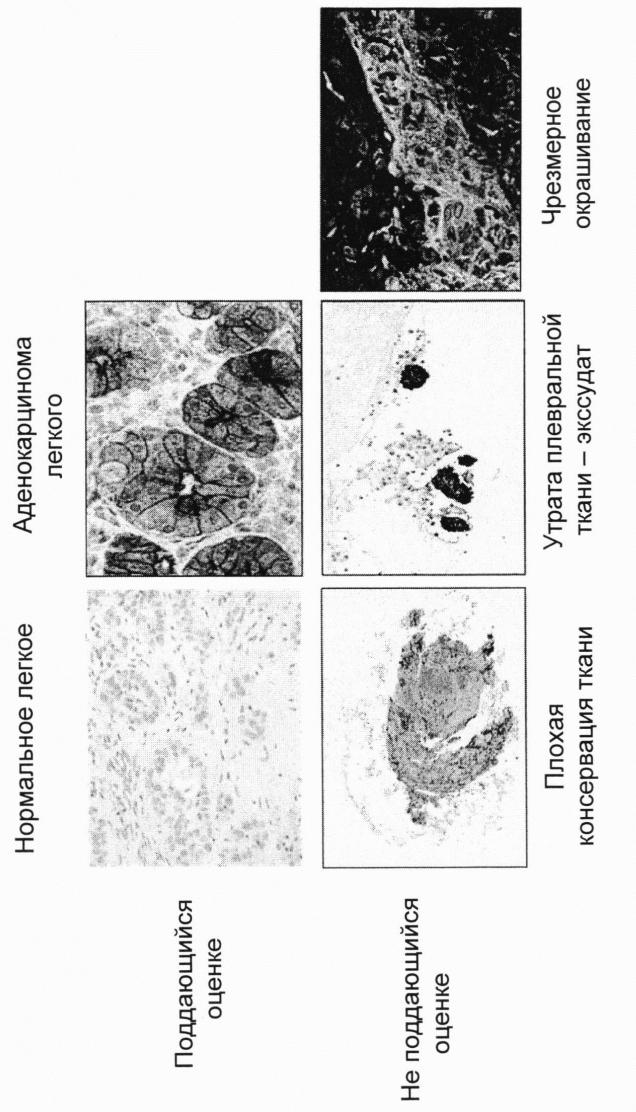
Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe  
65 70 75 80

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

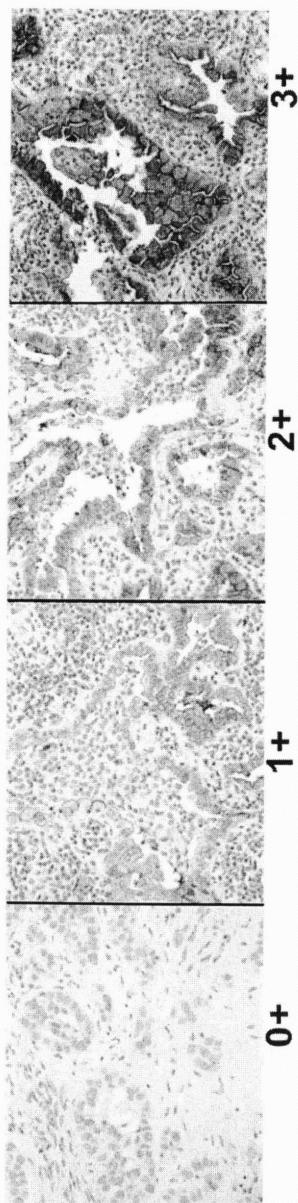
Thr Pro Val Thr Val Ser Ser  
115

Фиг. 1

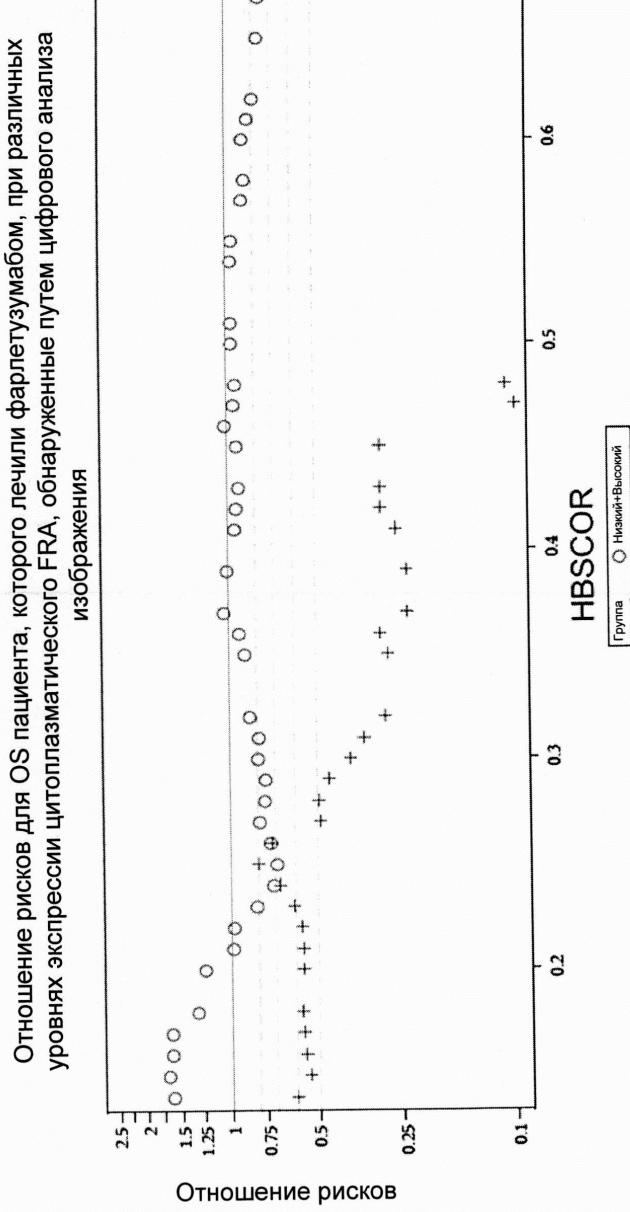


Фиг. 2

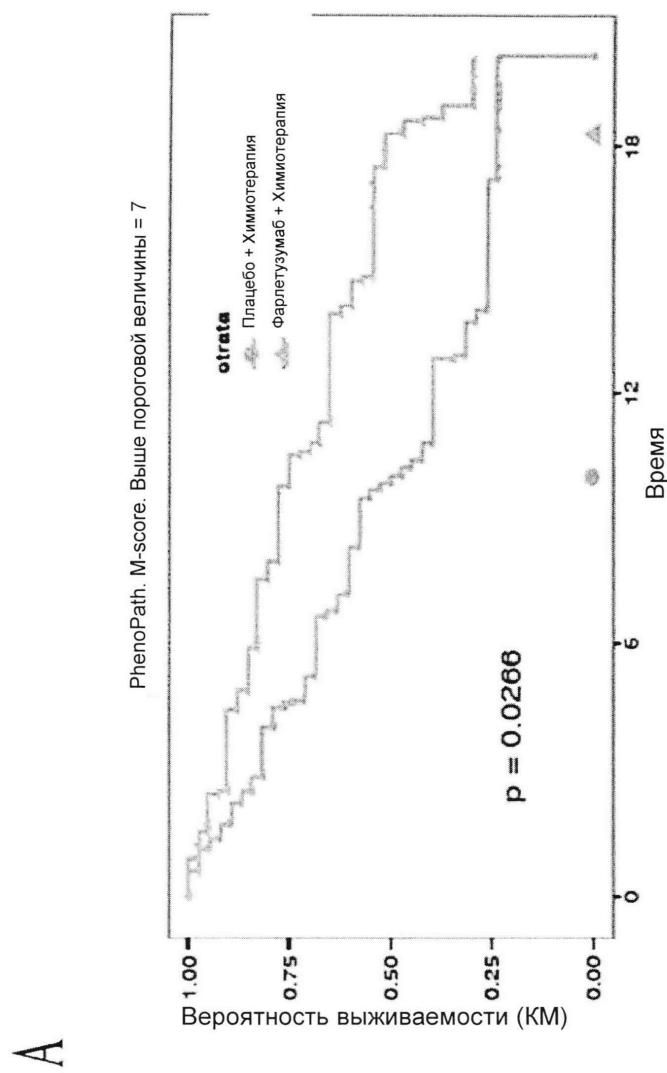
Градации окрашивания немелкоклеточной легочной аденокарциномы:



Фиг. 3

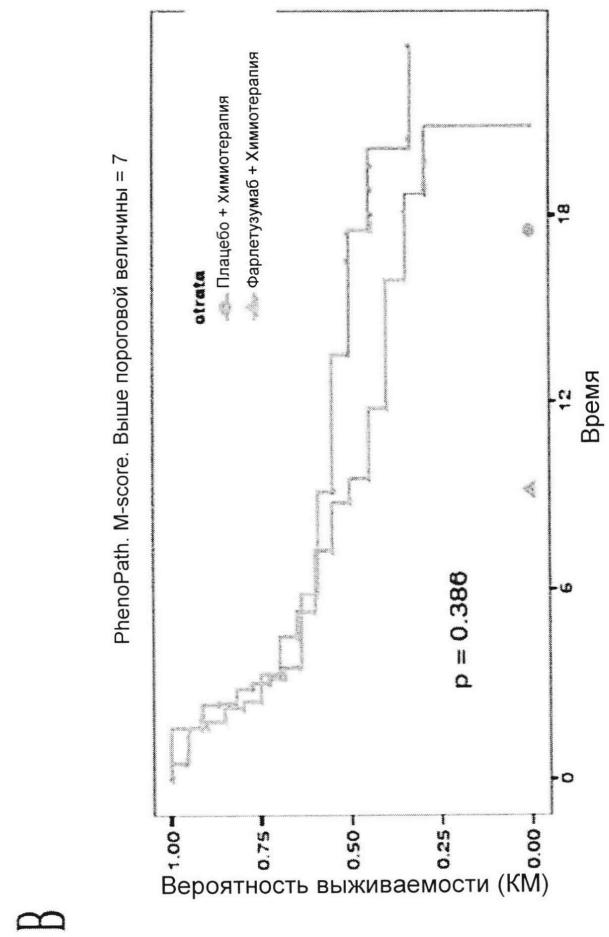


Фиг. 4



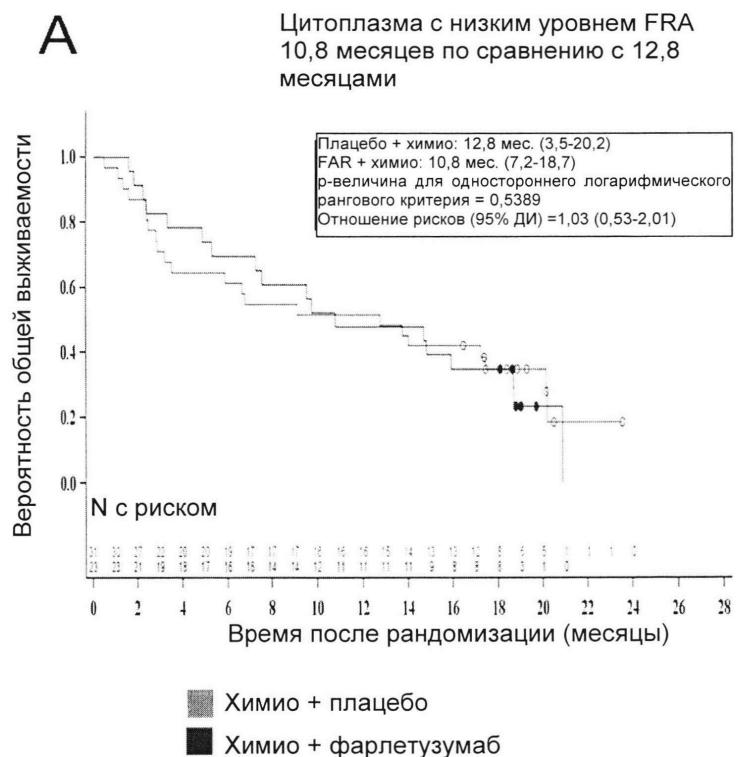
A

Фиг. 4



B

Фиг. 5



Фиг. 5

