

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: 2018103235, 29.06.2016

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
30.06.2015 US 62/187,086

(43) Дата публикации заявки: 31.07.2019 Бюл. № 22

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 30.01.2018(86) Заявка РСТ:
US 2016/040134 (29.06.2016)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2017/004230 (05.01.2017)Адрес для переписки:
119019, Москва, Гоголевский б-р, 11, этаж 3,
"Гоулинг ВЛГ (Интернэшнл) Инк.", Строкова
Ольга Владимировна(71) Заявитель(и):
НОРТВЕСТ БИОТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.
(US)(72) Автор(ы):
БОШ Марникс Л. (US)(54) ОПТИМАЛЬНО АКТИВИРОВАННЫЕ ДЕНДРИТНЫЕ КЛЕТКИ, ИНДУЦИРУЮЩИЕ
УЛУЧШЕННЫЙ ИЛИ ПОВЫШЕННЫЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ

(57) Формула изобретения

1. Способ получения выделенных частично зрелых и оптимально активированных дендритных клеток человека, включающий
 - i) выделение популяции клеток, содержащей РВМС человека, из периферической крови;
 - ii) обогащение популяции клеток, содержащей РВМС человека, моноцитарными предшественниками дендритных клеток человека;
 - ш) культивирование популяции клеток, обогащенной моноцитарными предшественниками дендритных клеток человека, в среде для культивирования тканей, дополненной эффективным количеством средства для индукции дифференцировки дендритных клеток, в течение периода времени, достаточного для дифференцировки моноцитарных предшественников дендритных клеток человека в незрелые дендритные клетки человека;
 - iv) культивирование популяции клеток, обогащенной незрелыми дендритными клетками человека, с эффективным количеством средства для индукции созревания дендритных клеток с целью активации незрелых дендритных клеток человека в течение от около 10 до около 19 часов;
 - v) выделение и промывание активированных дендритных клеток человека.
2. Способ получения выделенных частично зрелых и активированных дендритных

A
2018103235 A

RU 2018103235 A

клеток человека, включающий:

- i) выделение популяции клеток, содержащей моноцитарные предшественники дендритных клеток человека;
- ii) культивирование популяции клеток, обогащенной моноцитарными предшественниками дендритных клеток человека, в среде для культивирования тканей, дополненной эффективным количеством средства для индукции дифференцировки дендритных клеток, в течение периода времени, достаточного для дифференцировки моноцитарных предшественников дендритных клеток человека в незрелые дендритные клетки человека;
- iii) культивирование популяции клеток, обогащенной незрелыми дендритными клетками человека, с эффективным количеством средства для индукции созревания дендритных клеток с целью активации незрелых дендритных клеток человека в течение от около 10 до около 19 часов; и
- iv) выделение и промывание активированных дендритных клеток человека.

3. Способ по п. 2, в котором моноцитарные предшественники дендритных клеток получают из кожи, селезенки, костного мозга, тимуса, лимфатических узлов, пуповинной крови или периферической крови.

4. Способ по любому из пп. 1-3, в котором клетки, являющиеся моноцитарными предшественниками дендритных клеток, представляют собой неактивированные моноцитарные предшественники дендритных клеток.

5. Способ по любому из пп. 1-4, в котором моноцитарные предшественники дендритных клеток получают от подлежащего лечению отдельного субъекта.

6. Способ по любому из пп. 1-4, в котором моноцитарные предшественники дендритных клеток получают от здорового отдельного субъекта, совместного по HLA с подлежащим лечению отдельным субъектом.

7. Способ по любому из пп. 1 и 2, в котором средство для индукции дифференцировки дендритных клеток представляет собой GM-CSF без какого-либо другого цитокина или GM-CSF в комбинации с IL-4, IL-7, IL-13 или IL-15.

8. Способ по любому из пп. 1 и 2, в котором средство для индукции созревания дендритных клеток представляет собой инактивированную бациллу Кальметта-Герена (BCG), интерферон- γ (IFN γ), липополисахарид (LPS), фактор некроза опухоли- α (TNF α), соединение имидазохинолина, синтетический двунитевой полиривонуклеотид, агонист толл-подобного рецептора (TLR), последовательность нуклеиновых кислот, содержащую неметилированные CpG-мотивы, которые, как известно, индуцируют созревание дендритных клеток, или любую их комбинацию.

9. Способ по п. 8, в котором инактивированная BCG содержит полную BCG, элементы клеточной стенки BCG, полученные из BCG липоарабидоманнаны или компоненты BCG.

10. Способ по п. 9, в котором инактивированная BCG представляет собой термоинактивированную BCG, обработанную формалином BCG или термоинактивированную и обработанную формалином BCG.

11. Способ по любому из пп. 8-10, в котором эффективное количество BCG составляет от около 10^5 до около 10^7 КОЕ на миллилитр среды для культивирования тканей, а эффективное количество IFN γ составляет от около 100 до около 1000 единиц на миллилитр среды для культивирования тканей.

12. Способ по п. 8, в котором соединение имидазохинолина представляет собой соединение имидазохинолин-4-амина.

13. Способ по п. 12, в котором соединение имидазохинолин-4-амина представляет собой 4-амино-2-этоксиметил- α , α -диметил-1 Н-имидаэоз[4,5-с]хинолин-1 -5-этанол или 1-(2-метилпропил)-1Н-имидаэоз[4,5-с]хинолин-4-амин или их производное.

14. Способ по п. 8, в котором синтетический двунитевой полирибонуклеотид представляет собой поли[1]:поли[C(12)U].

15. Способ по любому из пп. 1-14, в котором частично зрелые и оптимально активированные дендритные клетки вводят непосредственно в опухоль, в ложе опухоли после хирургического удаления или резекции опухоли, в область ткани, окружающую опухоль, в лимфатический узел, непосредственно дренирующий опухолевую область; непосредственно в проток кровеносного сосуда, который несет кровь или лимфу в опухоль или пораженный опухолью орган, или в кровеносную систему, за счет чего осуществляется доставка клеток в опухоль или пораженный опухолью орган.

16. Способ по любому из пп. 1-15, в котором частично зрелые и оптимально активированные дендритные клетки вводят в качестве вспомогательного средства при лучевой терапии, химиотерапии или их комбинации.

17. Способ по любому из пп. 1-15, в котором активированные дендритные клетки вводят до лучевой терапии, химиотерапии или их комбинации, после них или одновременно с ними.

18. Способ вызова противоопухолевого иммунного ответа, включающий введение композиции, содержащей популяцию клеток, обогащенную дендритными клетками человека, которые были подвержены частичному созреванию и оптимальной активации *in vitro* с помощью средства для индукции созревания дендритных клеток человека в течение от около 10 до около 19 часов, и фармацевтически приемлемый носитель; где композицию вводят в опухоль, ложе опухоли или область ткани, окружающую опухоль, у индивидуума, нуждающегося в таком лечении.

19. Композиция, содержащая частично зрелые и оптимально активированные дендритные клетки человека, индуцированные к созреванию путем культивирования незрелых дендритных клеток со средством для индукции созревания дендритных клеток человека в течение от около 10 до около 19 часов, где частично зрелые и оптимально активированные дендритные клетки продуцируют цитокины, ассоциированные с воспалительным ответом.

20. Композиция по п. 19, в которой цитокины представляют собой фактор некроза опухоли- α (TNF α), интерлейкин 6 (IL-6) и/или интерлейкин 8 (IL-8).