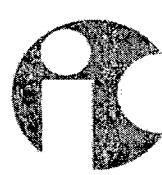


BT

OPS



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
INVENTARIO

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

PCT

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

10-23987

21. EXPEDIENTE N°

54. TÍTULO TERAPIA COMBINADA PARA EL CANCER DE PANCREAS

USANDO UN PEPTIDO ANTIGENICO Y UN AGENTE

QUIMIOTERAPEUTICO.

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL C07K 14/00

71. SOLICITANTE ONCOTHERAPY SCIENCE, INC.

DOMICILIO Kawasaki-shi, Kanagawa, Japón.

74. APODERADO DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN

22. BOGOTÁ, D.C. _____



No. 10-023987 - 00000-0000

Fecha: 2010-03-01 15:42:32
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACIÓN

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 145

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

1

SOLICITUD DE:



Patente de Invención



Patente de Modelo de Utilidad



Capítulo I.



Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: ONCOTHERAPY SCIENCE, INC.

Dirección: 2-1, Sakado 3-chome, Takatsu-ku,
Kawasaki-shi, Kanagawa, 2130012, Japón.

Nacionalidad o domicilio: Kawasaki-shi,
Kanagawa, Japón.

Lugar de Constitución: Japón.

Teléfono:

Fax:

E-mail

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Número

3

REPRESENTANTE
O APODERADO
(74)

Nombre: DILIA MARÍA RODRÍGUEZ
D'ALEMAN

Dirección: Carrera 11 No. 86-53, piso 6

Teléfono: 6 181088 **Fax:** 6350824

E-mail: clarkemodet@clarkemodet.com.co

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Número 41.654.882
TP 20824 CSJ

4

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: YAMAUE, Hiroki

Dirección: c/o Wakayama Medical University, 811-1, Kimiidera, Wakayama-shi,
Wakayama 641-8509, Japón.

Nacionalidad o domicilio: Japones

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/JP2008/002232 **Fecha** 19 de agosto de 2008

Publicación Internacional No. WO 2009/028150 A1 **Fecha** 05 de marzo de 2009

6 TÍTULO (54) TERAPIA COMBINADA PARA EL CANCER DE PANCREAS USANDO UN
PEPTIDO ANTIGENICO Y UN AGENTE QUIMIOTERAPEUTICO. (Folio 149)

7 Clasificación Internacional (51)

C07K 14/00

8 Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen
Estados Unidos de América

(32) Fecha
21 de febrero de 2007

(31) Número de Solicitud
60/902,949

24-08-2007

(Folio 162)

9 Comprobante de pago No. 10-6,979 // 10-1,506 // 10-11,069 // 10-7,162

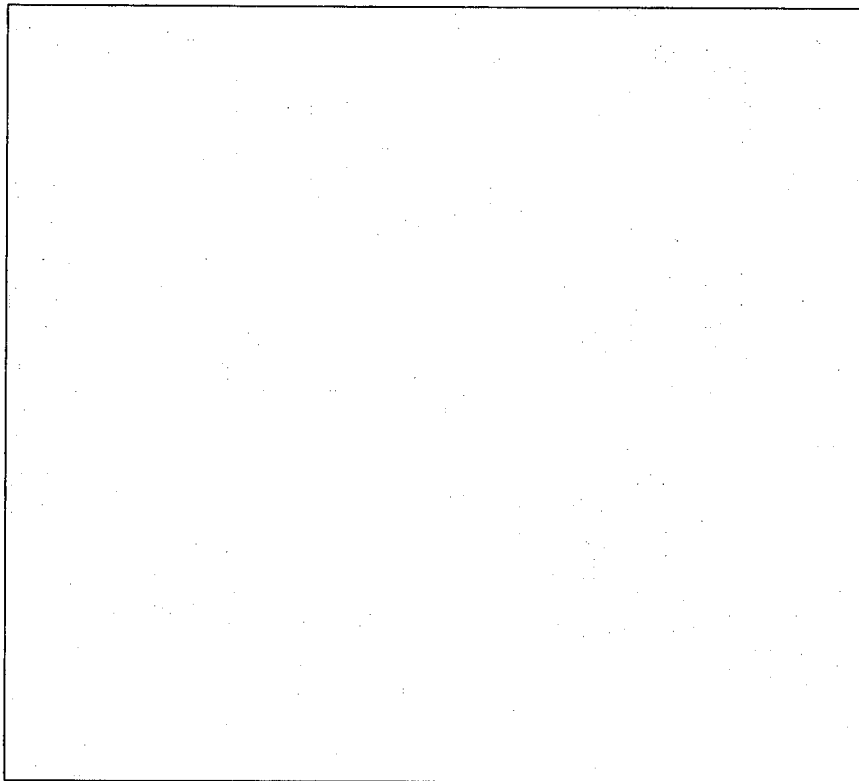
Fecha 29/01/10 // 06/01/10 // 10/02/10 // 29/01/10

10

ANEXOS

- ☐ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☐ Poderes si fuere el caso
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☐ Declaraciones
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso copia de contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas
- ☐ De ser el caso, certificado de deposito del material biológico
- ☐ Arte final 12 X 12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional
- ☐ Otros Opinión escrita.

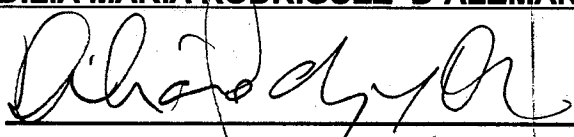
11 FIGURA CARACTERÍSTICA



12 Solicito la concesión de la patente

NOMBRE : DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D'ALEMAN

FIRMA:

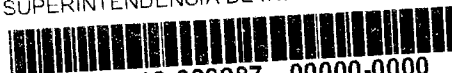

C.C. 41.654.882 T.P. 20824

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 6,979
FECHA : ENERO 29 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-023987-00000-0000

Fecha: 2010-03-01 15:42:32 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 145

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMB	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	111710620	28/01/2010	66,939,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	554,000.00
		TOTAL :	\$ 554,000.00

SON: QUINIENTOS CINCUENTA Y CUATRO MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

P-2470
2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 1,506
FECHA : ENERO 6 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-023987- -00000-0000

Fecha: 2010-03-01 15:42:32 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 145

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMB	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	175684121	06/01/2010	100.325,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	*** S.DISTINTIVO INSCRIPCION AFECTACI
			280,000.00
		TOTAL :	\$ 280,000.00

SON: DOSCIENTOS OCHENTA MIL PESOS

RESPONSABLE : 

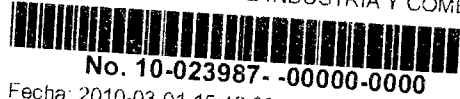
RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 10 - 11,069
FECHA : FEBRERO 10 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-023987- -00000-0000

Fecha: 2010-03-01 15:42:32 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 145

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMB	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	175684132	10/02/2010	68,215,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	99 OTROS SERVCIOS ADMINISTRATIVOS
			5,000.00
		TOTAL :	\$ 5,000.00

SON: CINCO MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

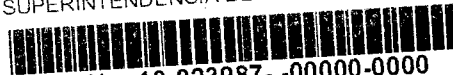
ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA
COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER
SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 10 - 7,162
FECHA : ENERO 29 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-023987- -00000-0000

Fecha: 2010-03-01 15:42:32 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 145

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMBRECIBO DE CAJA				7006	29/01/2010	12,105,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
		99 OTROS SERVCIOS ADMINISTRATIVOS	1,000.00
		TOTAL :	\$ 1,000.00

SON: MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA
COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER
SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

**TERAPIA COMBINADA PARA EL CANCER DE PANCREAS USANDO UN
PEPTIDO ANTIGENICO Y UN AGENTE QUIMIOTERAPEUTICO**

CAMPO DE LA INVENCION

5

La presente invención se relaciona con una nueva terapia combinada para el cáncer de páncreas donde se utiliza un péptido antigénico y un agente quimioterapéutico.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El cáncer de páncreas tiene una de las tasas de mortalidad más altas entre las enfermedades malignas, y la tasa de supervivencia de los pacientes a los 5 años es de 4%.
15 Aproximadamente 28000 pacientes reciben un diagnóstico de cáncer de páncreas cada año, y casi la totalidad de estos pacientes morirán de esta enfermedad (Greenlee, R. T., et al., (2001) CA Cancer J Clin, 51: 15-36). El pronóstico pobre de esta enfermedad maligna es el resultado de la dificultad
20 de obtener un diagnóstico temprano y de su escasa respuesta a los métodos terapéuticos actuales (Greenlee, R. T., et al. (2001) CA Cancer J Clin, 51: 15-36, Klinkenbijl, J. H., et al. (1999) Ann Surg, 230: 776-82; discusión 782-4). En particular, aún no se han identificado marcadores de tumor

que permitan realizar un tamizaje confiable en una etapa temprana potencialmente curable de la enfermedad.

La investigación centrada en la elucidación de los mecanismos carcinogénicos ha revelado una cantidad de moléculas blanco candidatas para el desarrollo de agentes antitumorales. Por ejemplo, se ha demostrado que el inhibidor de la farnesiltransferasa (FTI) es efectivo en el tratamiento de los tumores dependientes de Ras en modelos animales (Sun J et al., (1998) *Oncogene*, 16:1467-73). Posteriormente, este agente farmacéutico fue desarrollado para inhibir las vías señalizadoras del crecimiento relacionadas con Ras que dependen de la farnesilación post-transcripcional. En pruebas clínicas en humanos en las cuales se aplicaron agentes antitumorales en combinación con el anticuerpo monoclonal anti-HER2 trastuzumab para antagonizar el proto-oncogen HER2/neu, han tenido éxito en mejorar la respuesta clínica y mejorar la tasa de supervivencia general de pacientes con cáncer de mama. El inhibidor de la tirosina quinasa STI-571 es un inhibidor que desactiva selectivamente la proteína de fusión bcr-abl. Posteriormente, este agente farmacéutico fue desarrollado para la terapia de la leucemia mieloide crónica, donde la activación constante de la tirosina quinasa bcr-abl cumple una función significativa en la transformación de los leucocitos. Estos agentes farmacéuticos están diseñados para

inhibir la actividad carcinogénica de productos génicos específicos (Molina MA, et al., (2000) Cancer Res, 16:4744-9). Por consiguiente, en las células cancerosas, los productos génicos con una expresión promovida generalmente
5 sirven como blancos potenciales para el desarrollo de nuevos agentes antitumorales. De manera alternativa, también pueden usarse inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos como agentes antitumorales. Por ejemplo, la gemcitabina (Gemzar®) es un tratamiento de primera línea del cáncer de páncreas. La
10 terapia combinada de gemcitabina y paclitaxel también ha sido aplicada al tratamiento del cáncer de páncreas.

Entretanto, la angiogénesis tumoral tiene una participación crítica en la progresión de los tumores. Con anterioridad se había demostrado que era posible desarrollar
15 una vacuna efectiva contra la angiogénesis tumoral de acuerdo con una estrategia basada en células endoteliales, que elige como blanco los receptores del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR) 1 y 2, ya que las moléculas de HLA clase I no se ven sometidas a una regulación negativa en
20 las células endoteliales (Wada S et al., Cancer Res. 1° de Junio de 2005, 65(11): 4939-46; Ishizaki H et al., Clin Cancer Res. 1° de Octubre de 2006, 12(19): 5841-9). También se han descrito previamente péptidos que inducen linfocitos T citotóxicos (CTL) específicos para las células que expresan

VEGFR, y que por lo tanto, suprimen la angiogénesis tumoral con una respuesta de CTL específica y eficiente (véase WO/2004/024766, incorporada para referencia en la presente solicitud).

5 La presente invención tiene por objeto satisfacer la necesidad en la técnica de una terapia mejorada para el cáncer de páncreas proporcionando una nueva terapia combinada para el cáncer de páncreas que utiliza un péptido antigénico, particularmente péptidos antigénicos y vacunas contra el
10 cáncer que eligen como blanco a VEGFR2, y un agente quimioterapéutico, tal como gemcitabina.

SUMARIO DE LA INVENCION

15 Teniendo en cuenta el estado de la técnica de la terapia contra el cáncer, un objetivo de la presente invención es encontrar medios para mejorar el efecto terapéutico de la quimioterapia. VEGFR2 presenta una expresión fuerte en las células endoteliales del tejido
20 tumoral y se cree que está involucrada en la proliferación de las células endoteliales en la señal del VEGF. Por ende, la presente invención se centra en posibles terapias con vacunas contra el cáncer que eligen como blanco a VEGFR2 (KDR/flk-1; que se conocerá de aquí en adelante como KDR). Posteriormente

se describió que el efecto terapéutico de los agentes quimioterapéuticos, tales como la gemcitabina, es potenciado por los péptidos de VEGFR2 (KDR/flk-1; que se conocerá de aquí en adelante como KDR), que inducen células T citotóxicas
5 contra las células que expresan VEGFR2. Por lo tanto, un objeto de la presente invención es proveer:

1. Un método para tratar un cáncer en un individuo que incluye el paso de administrarle al individuo (i) y (ii);

(i) uno o más péptidos que se seleccionan a partir
10 del grupo que consiste en

(a) uno o más péptidos que tienen la secuencia de aminoácidos que se selecciona a partir del grupo que consiste de RFVPDGNRI (SEQ ID NO: 1), VYSSEEAEEL (SEQ ID NO: 2), GYRIYDVVL (SEQ ID NO: 3), SYMISYAGM (SEQ ID NO: 4), KWEFPRDRL
15 (SEQ ID NO: 5) y DFLTLEHLI (SEQ ID NO: 6),

(b) el péptido de (a), en el cual se han sustituido, suprimido o agregado 1, 2 o varios aminoácidos, y en el cual dicho péptido tiene capacidad de inducción de células T citotóxicas;

20 (c) el péptido de (b), en el cual el segundo aminoácido desde el extremo N-terminal es fenilalanina, tirosina, metionina o triptófano;

(d) el péptido de (b) o (c), en el cual el aminoácido C-terminal es fenilalanina, leucina, isoleucina,

triptófano o metionina;

(e) uno o más péptidos que tienen la secuencia de aminoácidos que se selecciona a partir del grupo que consiste de AMFFWLLL (SEQ ID NO: 7), VIAMFFWLL (SEQ ID NO: 8),
 5 AVIAMFFWL (SEQ ID NO: 9), KLIEIGVQT (SEQ ID NO: 10),
 YMISYAGMV (SEQ ID NO: 11), IQSDVWSFGV (SEQ ID NO: 12) y
 VLAMFFWLL (SEQ ID NO: 13);

(f) el péptido de (e), en el cual se han sustituido, suprimido o agregado 1, 2 o varios aminoácidos, y
 10 en el cual dicho péptido tiene capacidad de inducción de células T citotóxicas;

(g) el péptido de (f), en el cual el segundo aminoácido desde el extremo N-terminal es leucina o metionina; y

15 (h) el péptido de (f) o (g), en el cual el aminoácido C-terminal es valina o leucina.

(ii) uno o más agentes quimioterapéuticos que se seleccionan a partir del grupo que consiste de gemcitabina, una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un
 20 profármaco de la misma.

2. El método de 1, en el cual el individuo es HLA-A24-positivo o HLA-A02-positivo.

3. El método de 1, en el cual el cáncer es cáncer de páncreas.

4. Un estuche para tratar un cáncer en un individuo que contiene composiciones farmacéuticas que incluyen (i) y (ii) como ingredientes activos, respectivamente, y un vehículo farmacéuticamente aceptable:

5 (i) uno o más péptidos que se seleccionan a partir del grupo que consiste de (a)-(h) de 1-(i); y

 (ii) uno o más agentes quimioterapéuticos que se seleccionan a partir del grupo que consiste de gemcitabina, una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un
10 profármaco de la misma.

5. El estuche de 4, en el cual el individuo es HLA-A24-positivo o HLA-A02-positivo.

6. El estuche de 4, en el cual el cáncer es cáncer de páncreas.

15 7. Un agente anti-cáncer para tratar un cáncer en un individuo que incluye (i) en combinación con (ii);

 (i) uno o más péptidos que se seleccionan a partir del grupo que consiste de (a)-(h) de 1-(i); y

 (ii) uno o más agentes quimioterapéuticos que se
20 seleccionan a partir del grupo que consiste de gemcitabina, una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un profármaco de la misma.

8. El agente anti-cáncer de 7, en el cual el individuo es HLA-A24-positivo o HLA-A02-positivo.

9. El agente anti-cáncer de 7, en el cual el cáncer es cáncer de páncreas.

10. El uso de una combinación de (i) y (ii) en el tratamiento de un cáncer en un individuo:

5 (i) uno o más péptidos que se seleccionan a partir del grupo que consiste de (a)-(h) de 1-(i); y

 (ii) uno o más agentes quimioterapéuticos que se seleccionan a partir del grupo que consiste de gemcitabina, una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un
10 profármaco de la misma.

11. El uso de 10, en el cual el individuo es HLA-A24-positivo o HLA-A02-positivo.

12. El uso de 10, en el cual el cáncer es cáncer de páncreas.

15 13. El uso de uno o más péptidos que se seleccionan a partir del grupo que consiste de (a)-(h) de 1-(i) en la fabricación de una composición farmacéutica que incrementa el efecto terapéutico de la gemcitabina.

 14. El uso de 13, en el cual el efecto terapéutico
20 a mejorar es un efecto terapéutico de la gemcitabina en el tratamiento de un cáncer en un individuo, en el cual el individuo es HLA-A24-positivo o HLA-A02-positivo.

 15. El uso de 14, en el cual el cáncer es cáncer de páncreas.

Los expertos en la técnica comprenderán que uno o más aspectos de esta invención pueden cumplir determinados objetivos, mientras que uno o más de los otros aspectos pueden cumplir otros objetivos. Cada objetivo puede no aplicarse de manera igual, en todos sus aspectos, a cada aspecto de esta invención. Por lo tanto, los objetivos anteriores pueden contemplarse como alternativa con respecto a cualquier aspecto de esta invención. Estos y otros objetivos y características de la invención serán más evidentes cuando la siguiente descripción detallada se lea en combinación con las figuras y los ejemplos adjuntos. Sin embargo, se debe entender que tanto el sumario de la invención precedente y la siguiente descripción detallada son para una modalidad preferida, y no son restrictivas de la invención o de otras modalidades alternativas de la invención.

BREVE DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

Diversos aspectos y aplicaciones de la presente invención se harán evidentes para los expertos en la técnica al considerar la breve descripción de las figuras y la descripción detallada de la presente invención y sus modalidades preferidas, las cuales se proporcionan a

continuación.

La figura 1 presenta los resultados del análisis de citometría de flujo de células T no afectadas por el tratamiento, de memoria y efectoras entre células T CD8-positivas, en las cuales las fracciones de linfocitos funcionales se determinan mediante tinción con perforina.

La figura 2 presenta el cambio numérico en las células T reguladoras (por ejemplo, células CD25high y Foxp3-positivas entre células T CD4-positivas), antes y después de la administración de la vacuna, según se mide mediante citometría de flujo después de una tinción con cuatro colores.

La figura 3 presenta los resultados de un barrido de PET en el Caso 3, en particular, una linfadenopatía cerca del sitio de inoculación, después de la vacunación.

La figura 4 presenta los cambios en la concentración de marcadores tumorales con respecto al tiempo en el Caso 3.

La figura 5 presenta los niveles de la reacción de CTL específica generada en el Caso 3 antes y después de la vacunación.

La figura 6 presenta una serie de barridos de CT en el Caso 4, que muestran el efecto reductor del tratamiento sobre el foco primario del cáncer de páncreas.

La figura 7 presenta una serie de barridos de CT en el Caso 4, que muestran el efecto reductor de tumor en el foco metastásico en hígado del cáncer de páncreas 1.

La figura 8 presenta una serie de barridos de CT en el Caso 4, que muestran el efecto reductor de tumor en el foco metastásico en hígado del cáncer de páncreas 2.

La figura 9 presenta los cambios en los marcadores tumorales CEA y CA19-9, generados en el Caso 4 a lo largo del curso de tratamiento.

La figura 10 presenta la reacción de CTL específica que se genera en el Caso 4 antes y después de la vacunación.

La figura 11 presenta una serie de barridos de CT en el Caso 6, que muestran el efecto reductor de tumor en el foco primario del cáncer de páncreas.

La figura 12 presenta una serie de barridos de PET en el Caso 6, que muestran el efecto reductor de tumor en el foco primario del cáncer de páncreas.

La figura 13 presenta la reacción de CTL específica generada en el Caso 6 antes y después de la vacunación.

La figura 14 presenta una serie de barridos de CT en el Caso 7, que muestran los cambios en el foco primario del cáncer de páncreas.

La figura 15 presenta los cambios en el marcador tumoral CA125 que se genera en el Caso 7 a lo largo del curso

de tratamiento.

La figura 16 se presenta la reacción de CTL específica generada en el Caso 7 antes y después de la vacunación.

5 La figura 17 presenta una serie de barridos de CT en el Caso 10, que muestran los cambios en el foco primario del cáncer de páncreas.

La figura 18 presenta los cambios en el marcador tumoral CA125 que surgen en el Caso 10 a lo largo del curso
10 de tratamiento.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

Aunque pueden usarse métodos y materiales similares
15 o equivalentes a los descritos en la presente solicitud en la práctica o la evaluación de las modalidades de la presente invención, a continuación se describirán los métodos y los materiales preferidos. Sin embargo, ha de comprenderse que esta invención no se limita a las moléculas, las
20 composiciones, las metodologías o los protocolos particulares descritos en la presente solicitud, ya que éstos pueden variar de acuerdo con la experimentación de rutina y la optimización. También ha de comprenderse que la terminología usada en la descripción solamente tiene el objeto de

describir las versiones o las modalidades particulares, y no pretende limitar el alcance de la presente invención, que solamente estará limitado por las reivindicaciones adjuntas.

A menos que se los defina de otro modo, todos los
5 términos técnicos y científicos usados en la presente
solicitud tienen el mismo significado que comúnmente le dan
los expertos en la técnica a los que concierne esta
invención. Sin embargo, en caso de conflicto, esta memoria
descriptiva, incluyendo las definiciones, ha de servir como
10 control. Por ende, en el contexto de la presente invención,
se aplican las siguientes definiciones:

Definiciones

Las palabras "un", "uno/una" y "el/la", como se las
15 usa en la presente solicitud, hacen referencia a "por lo menos
uno/una", a menos que se indique específicamente lo contrario.

En el contexto de la presente invención, el término
"varias", aplicado a adiciones, deleciones y/o sustituciones
de aminoácidos, hace referencia a 3-7, preferiblemente 3-5,
20 más preferiblemente 3-4, aún más preferiblemente 3 residuos
de aminoácidos.

Como se lo usa en la presente solicitud, el término
"organismo" hace referencia a cualquier entidad viva
compuesta por lo menos por una célula. Un organismo vivo

puede ser tan simple, por ejemplo, como una sola célula eucariota, o puede ser tan complejo como un mamífero, incluyendo un ser humano.

Como se lo usa en la presente solicitud, el término

5 "muestra biológica" hace referencia a un organismo complejo o un subconjunto de sus tejidos, sus células o sus partes componentes (por ejemplo, fluidos corporales, incluyendo, pero sin limitarse a, sangre, moco, fluido linfático, fluido sinovial, fluido cerebroespinal, saliva, fluido amniótico,

10 sangre del cordón amniótico, orina, fluido vaginal y semen). El término "muestra biológica" también hace referencia a un homogenizado, un lisado, un extracto, un cultivo celular o un cultivo tisular preparado a partir de un organismo completo o un subconjunto de sus células, tejidos o partes componentes,

15 o una fracción o una porción de los mismos. Por último, "muestra biológica" hace referencia a un medio, tal como un caldo nutritivo o un gel en el cual se ha propagado un organismo, que contiene componentes celulares, tales como proteínas o polinucleótidos.

20 Los términos "polipéptido", "péptido" y "proteína" se usan indistintamente en la presente solicitud para hacer referencia a un polímero de residuos de aminoácido. Los términos se aplican a polímeros de aminoácidos en los cuales uno o más residuos de aminoácidos son residuos modificados o

residuos que normalmente no se presentan en la Naturaleza, tales como un mimético químico artificial de un aminoácido correspondiente normalmente presente en la Naturaleza, así como a polímeros de aminoácido normalmente presentes en la Naturaleza.

Los términos "polinucleótidos", "oligonucleótidos", "nucleótidos", "ácidos nucleicos" y "moléculas de ácidos nucleicos" se usan indistintamente en la presente solicitud para hacer referencia a un polímero de residuos de ácidos nucleicos, y a menos que se indique específicamente lo contrario, se denominan de manera similar a los aminoácidos a los que se hace referencia mediante sus códigos de una sola letra comúnmente aceptados. De manera similar a los aminoácidos, éstos abarcan polímeros de ácidos nucleicos normalmente presentes en la Naturaleza y polímeros de ácidos nucleicos que no están presentes en la Naturaleza.

El término "agente quimioterapéutico", como se lo usa en la presente solicitud, hace referencia a un compuesto químico útil en el tratamiento del cáncer. Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen, pero no se limitan a, los siguientes y sus sales, ácidos y derivados farmacéuticamente aceptables: agentes alquilantes, tales como tiotepa y ciclosfosfamida; sulfonatos de alquilo, tales como busulfan, improsulfan y piposulfan; aziridinas, tales como

benzodopa, carboquona, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilamelaminas, incluyendo altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosfaoramida y trimetilolomelamina; mostazas nitrogenadas, tales como

5 clorambucil, clornafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembiehina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosureas, tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina,

10 nimustina, ranimustina; antibióticos, tales como aclacinomisinias, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, calicheamicina, carabicina, carminomicina, carzinofilina, cromoinicinas, dactinomicina, daunorrubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina,

15 doxorubicina, epirrubicina, esorrubicina, idambicina, marcelomicina, mitomicinas, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, pofiromicina, puromicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorrubicina; anti-

20 metabolitos, tales como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos de ácido fólico, tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purinas, tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidinas, tales como ancitabina,

azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina,
 dideoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina, 5-
 FU; andrógenos, tales como calusterona, propionato de
 dromostanolona, epitioestanol, mepitioestano, testolactona;
 5 anti-adrenales, tales como aminoglutenetimidina, mitotano,
 trilostano; reabastecedores de ácido fólico, tales como ácido
 frolínico; aceglatona; glucósido de aldofosfamida; ácido
 aminolevulínico; amsacrina; bestabucil; bisantreno;
 edatraxato; defofamina; demecolcina; diaziquona; elfornitina;
 10 acetato de eliptinio; etoglucida; nitrato de galio;
 hidroxiiurea; lentinan; lonidamina; mitoguazona; mitoxantrona;
 mopidamol; nitracrina; pentostatina; fenamet; pirarrubicina;
 ácido podofilínico; 2-etilhidrazida; procarbazona;
 PSK@ razoxano; sizofrran; espirogermanio; ácido
 15 tenuazónico; triaziquona; 2, 2', 2''-triclorotrietilamina;
 uretano; vindesina; dacarbazina; manomustina; mitobronitol;
 mitolactol; pipobroman; gacitosina; arabinósido ("Ara-C");
 ciclofosfamida; tiotepa; taxoides, por ejemplo, paclitaxel
 (TAXOLO, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, NJ) y
 20 doxetaxel (TAXOTEW, Rhône-Poulenc Rorer, Antony, Francia);
 clorambucil; gemcitabina; 6-tioguanina; mercaptopurina;
 metotrexato; análogos de platino, tales como cisplatina y
 carboplatina; vinblastina; platino; etopósido (VP-16);
 ifosfamida; mitomicina C; mitoxantrona; vincristina;

vinorelbina; navelbina; novantrona; tenipósido; daunomicina; aminopterina; xeloda; ibandronato; CPT-11; inhibidor de topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); ácido retinoico; esperamicinas; y capecitabina; en esta definición
 5 también se incluyen los agentes anti-hormonales que actúan regulando o inhibiendo la acción sobre los tumores, tales como los anti-estrógenos, incluyendo por ejemplo, tamoxifeno, raloxifeno, los 4-(5)-imidazoles que inhiben la aromatasa, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, onapristona y
 10 toremifeno (Fareston); y los anti-andrógenos, tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida y goserelina; y las sales, los ácidos y los derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.

15 Péptidos antigénicos

Como se indicó con anterioridad, la presente invención se relaciona con agentes que potencian o mejoran el efecto terapéutico de la quimioterapia, más particularmente péptidos antigénicos que eligen como blanco a VEGFR2, inducen
 20 células T citotóxicas contra las células que expresan VEGFR2 y luego potencian o mejoran el efecto terapéutico de agentes quimioterapéuticos tales como la gemcitabina.

En el método, el estuche o la composición de la presente invención pueden usarse péptidos antigénicos que

tienen subsecuencias de VEGFR2. Los péptidos antigénicos apropiados para usar en el contexto de la presente invención preferiblemente tienen una secuencia de aminoácidos que se selecciona a partir de las mostradas a continuación.

- 5 VYSSEEAEEL (SEQ ID NO: 2),
- GYRIYDVVL (SEQ ID NO: 3),
- SYMISYAGM (SEQ ID NO: 4),
- RFVPDGNRI (SEQ ID NO: 1),
- KWEFPRDRL (SEQ ID NO: 5), o
- 10 DFLTLEHLI (SEQ ID NO: 6).

Se sabe que los péptidos mutados o modificados, los péptidos que tienen secuencias de aminoácidos modificadas mediante delección, adición y/o reemplazo de uno o más residuos de aminoácidos de una cierta secuencia de

15 aminoácidos, retienen la actividad biológica original (Mark, D. F. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1984) 81, 5662-5666, Zoller, M. J. & Smith, M., Nucleic Acids Research (1982) 10, 6487-6500, Wang, A. et al., Science 224, 1431-1433, Dalbadie-McFarland, G. et al., Proc. Natl. Acad. Sci.

20 USA (1982) 79, 6409-6413). Por consiguiente, en la presente invención se contemplan variaciones y modificaciones de las secuencias anteriores. En particular, los péptidos antigénicos donde se han reemplazado uno, dos o varios aminoácidos, o donde se han agregado uno dos o varios

aminoácidos a las secuencias de aminoácidos mencionadas con anterioridad, también son útiles en el contexto de la presente invención, siempre que los péptidos modificados resultantes retengan la capacidad requerida de inducir 5 células T citotóxicas. Estos péptidos modificados, los cuales pueden inducir los CTL así como una secuencia de aminoácidos como la mencionada con anterioridad, en la cual se han sustituido o agregado uno, dos o varios aminoácidos, están contemplados en la presente solicitud con la condición que no 10 coincida con la secuencia de aminoácidos de otra proteína.

Por consiguiente, en una modalidad preferida, el segundo aminoácido desde el extremo N-terminal de preferencia se sustituye con fenilalanina, tirosina, metionina o triptófano, o el aminoácido C-terminal de preferencia se 15 sustituye con fenilalanina, leucina, isoleucina, triptófano o metionina; o se agregan uno o dos aminoácidos al extremo N-terminal y/o al extremo C-terminal.

De manera alternativa, también se prefieren los nonapéptidos y los decapeptidos seleccionan a partir de los 20 péptidos que tienen las secuencias de aminoácidos indicadas a continuación como péptidos que tienen capacidad elevada de inducción de CTL:

AMFFWLLLV (SEQ ID NO: 7),

VIAMFFWLL (SEQ ID NO: 8),

AVIAMFFWL (SEQ ID NO: 9),
 KLIEIGVQT (SEQ ID NO: 10),
 YMISYAGMV (SEQ ID NO: 11),
 IQSDVWSFGV (SEQ ID NO: 12), o
 5 VLAMFFWLL (SEQ ID NO: 13).

En el contexto de la presente invención, también pueden usarse los péptidos capaces de inducir células T citotóxicas en los cuales se han sustituido o agregado uno, dos o varios aminoácidos a una de las secuencias de aminoácidos mencionadas con anterioridad. Los péptidos que
 10 tienen secuencias de aminoácidos constituidas por nueve o diez aminoácidos como se mencionó con anterioridad, en las cuales se han sustituido o agregado uno, dos o varios aminoácidos, pueden ser capaces de inducir CTL en tanto que
 15 éstos no coincidan con la secuencia de aminoácidos de otra proteína. En particular, por ejemplo, el segundo aminoácido desde el extremo N-terminal preferiblemente se sustituye con leucina o metionina, o el aminoácido C-terminal preferiblemente se sustituye con valina o leucina; o se
 20 agregan uno o dos aminoácidos al extremo N-terminal y/o al extremo C-terminal.

Un ejemplo de un péptido modificado de este tipo es el péptido VIAMFFWLL (SEQ ID NO: 8), en el cual el segundo aminoácido desde el extremo N-terminal ha sido sustituido con

leucina (VLAMFFWLL (SEQ ID NO: 13)); sin embargo, la presente invención no se limita a este ejemplo. Los clones de CTL obtenidos a partir de la estimulación con estos péptidos modificados pueden reconocer los péptidos originales y
5 provocar daños.

Los ejemplos de inserciones contempladas en la secuencia de aminoácidos incluyen fusiones amino- y/o carboxilo-terminales con longitudes que varían entre uno y varios residuos, así como inserciones de uno o varios
10 residuos de aminoácidos dentro de la secuencia. Los ejemplos de inserciones en el extremo terminal incluyen un residuo de metionilo N-terminal o el anticuerpo fusionado a un polipéptido citotóxico. Los péptidos usados para la presente invención también pueden contener modificaciones, tales como
15 la glucosilación, oxidación de cadena lateral o fosforilación, siempre y cuando las modificaciones no destruyan la actividad biológica de los péptidos como se describe en la presente solicitud. Otras modificaciones incluyen las fusiones de una enzima o un polipéptido en el
20 extremo N-terminal o C del péptido, donde dichas enzimas o polipéptidos incrementan la vida media en suero del anticuerpo. Los ejemplos de estas últimas modificaciones incluyen los D-aminoácidos u otros miméticos de aminoácidos.

En el contexto de las inserciones de aminoácidos,

en las cuales se agregan uno o más residuos de aminoácidos a un péptido de la presente invención, en la presente invención también se contemplan las proteínas de fusión. Las proteínas de fusión generalmente están constituidas por un polipéptido o una proteína de interés con un polipéptido o una proteína de utilidad conocida. Las proteínas de fusión pueden prepararse con técnicas bien conocidas por los expertos en la técnica, tales como la unión de un ADN que codifica para un péptido de la presente invención con un ADN que codifica para otros péptidos o proteínas, de modo que coincidan los marcos de lectura, insertando el ADN de fusión en un vector de expresión, y expresando en un hospedero. No hay restricciones en cuanto a los péptidos o proteínas fusionadas a la proteína de la presente invención. Sin embargo, los ejemplos de péptidos conocidos que pueden usarse en el contexto de las proteínas de fusión incluyen, pero no se limitan a, FLAG (Hopp, T. P. et al., *Biotechnology* (1988) 6, 1204-1210), 6xHis, que contiene seis residuos His (histidina), 10xHis, aglutinina de influenza (HA), fragmento de c-myc de humano, fragmento de VSP-GP, fragmento de p18HIV, marca T7, marca HSV, marca E, fragmento del antígeno SV40T, marca lck, fragmento de alfa-tubulina, una marca B, fragmento de la proteína C, y similares. Los ejemplos de proteínas que pueden fusionarse a una proteína de la invención incluyen GST

(glutación-S-transferasa), aglutinina de influenza (HA), la región constante de inmunoglobulina, beta-galactosidasa, MBP (proteína de unión a maltosa), y similares. En el contexto de las sustituciones de aminoácidos, el residuo de aminoácido a

5 sustituir preferiblemente se muta en un aminoácido diferente, en el cual las propiedades de la cadena lateral del aminoácido se conservan (un proceso conocido como sustitución de aminoácido conservadora). Los ejemplos de propiedades de las cadenas laterales de aminoácidos son aminoácidos

10 hidrofóbicos (A, I, L, M, F, P, W, Y, V), aminoácidos hidrofílicos (R, D, N, C, E, Q, G, H, K, S, T), y cadenas laterales que tienen los siguientes grupos funcionales o características en común: una cadena lateral alifática (G, A, V, L, I, P); una cadena lateral que contiene grupos hidroxilo

15 (S, T, Y); una cadena lateral que contiene átomos de azufre (C, M); una cadena lateral que contiene un ácido carboxílico y una amida (D, N, E, Q); una cadena lateral que contiene una base (R, K, H); y una cadena lateral que contiene un grupo aromático (H, F, Y, W). Nota, las letras entre paréntesis

20 indican los códigos de una letra de los aminoácidos.

Los péptidos antigénicos de la presente invención pueden prepararse usando técnicas bien conocidas. Por ejemplo, los péptidos pueden prepararse por medios sintéticos, usando tecnología de ADN recombinante o síntesis

química. Los péptidos pueden sintetizarse de manera individual o como polipéptidos más largos constituidos por dos o más péptidos. Estos péptidos preferiblemente están aislados, es decir, están sustancialmente libres de otras proteínas normalmente presentes en la célula hospedera y fragmentos de las mismas.

Los péptidos antigénicos de la presente invención pueden proveerse en un coctel o pueden conjugarse unos con otros usando técnicas convencionales. Por ejemplo, los péptidos pueden ser expresados como una secuencia de polipéptido individual. Los péptidos en la combinación pueden ser iguales o diferentes. Al administrar los péptidos de esta invención, los péptidos se presentan en una densidad elevada en los antígenos HLA de las células presentadoras de antígeno, las cuales, a su vez, inducen CTL que reaccionan específicamente hacia el complejo formado entre el péptido presentado y el antígeno HLA. De manera alternativa, las células presentadoras de antígeno que tienen los péptidos de esta invención inmovilizados sobre su superficie celular, que se obtienen eliminando células dendríticas de los individuos, pueden estimularse con los péptidos de esta invención. La re-administración de estas células a los individuos respectivos induce los CTL, y como resultado, puede incrementarse la agresividad hacia las células blanco.

Composiciones farmacéuticas y métodos para usarlas

La presente invención provee fármacos para tratar y/o prevenir el cáncer de páncreas que han de usarse en combinación con un agente quimioterapéutico, tal como
5 gemcitabina. Los péptidos usados para la invención se encuentran utilidad particular en el tratamiento del cáncer de páncreas.

La estimulación *in vivo* e *in vitro* de las células dendríticas mediante los péptidos antigénicos de la presente
10 invención puede efectuarse fácilmente exponiendo las células a una concentración elevada de los péptidos, lo que provoca que estos péptidos reemplacen a los péptidos inmovilizados originalmente sobre las células. Por lo tanto, para que sean
útiles en el contexto de la presente invención, los péptidos
15 antigénicos deben tener por lo menos un cierto nivel de afinidad de unión a los antígenos HLA.

Los productos farmacéuticos que contienen estos péptidos pueden administrarse directamente como los propios péptidos, o pueden administrarse como composiciones
20 farmacéuticas que han sido formuladas utilizando métodos de formulación convencionales. En estos casos, los productos farmacéuticos pueden incluir apropiadamente, además de los péptidos, vehículos, excipientes y similares que se usen comúnmente para productos farmacéuticos, pero sin

limitaciones particulares. Los productos farmacéuticos pueden usarse para el tratamiento y la prevención del cáncer de páncreas en combinación con gemcitabina.

Los productos farmacéuticos para tratar y/o
5 prevenir el cáncer de páncreas que incluyen un péptido antigénico de la presente invención como un ingrediente activo, pueden administrarse con coadyuvantes que induzcan de manera efectiva la inmunidad celular; pueden administrarse con otros ingredientes activos, tales como agentes
10 antitumorales; y pueden administrarse en formas granuladas. Los coadyuvantes apropiados se describen en la literatura (Clin. Microbiol. Rev., 7:277-289, 1994). Además, los productos farmacéuticos de esta invención pueden administrarse como formulaciones de liposoma, como
15 formulaciones granuladas unidas a glóbulos de unos cuantos micrómetros de diámetro, y como formulaciones a las cuales se unen lípidos.

Los métodos de administración se pueden efectuar, por ejemplo, por vía oral, intradérmica o subcutánea, o a
20 través de inyección intravenosa, o similares. Puede ser aplicable la administración sistémica o la administración local en las cercanías del tumor objetivo o directamente en el tumor objetivo. Las dosis de los péptidos de esta invención pueden ajustarse apropiadamente dependiendo de la

enfermedad a tratar, la edad y el peso de los pacientes, los métodos de administración, y similares. Comúnmente de preferencia se administran 0.001 mg a 1,000 mg, más preferido 0.001 mg a 1000 mg, más preferido aun 0.1 mg a 10 mg de los péptidos, una vez en un intervalo de unos cuantos días a unos cuantos meses. Más específicamente, con el fin de incrementar el efecto terapéutico de la gemcitabina, en una modalidad preferida, pueden administrarse 0.5 mg a 2.0 mg de los péptidos una vez en un intervalo de unos cuantos días a unos cuantos meses, de manera más preferida en una semana (7 días), en combinación con gemcitabina. Los expertos en la técnica pueden seleccionar de manera apropiada las dosis adecuadas.

De manera alternativa, en el contexto de la presente invención, pueden usarse vesículas intracelulares que presentan los complejos formados entre los péptidos de esta invención y los antígenos HLA en su superficie para el propósito de la presente invención. Estas vesículas intracelulares se denominan exosomas. Los exosomas pueden prepararse, por ejemplo, de conformidad con los métodos descritos específicamente en las Traducciones Japonesas Publicadas de las Publicaciones Internacionales N° Hei 11-510507 y 2000-512161. Los exosomas de preferencia se pueden preparar usando células presentadoras de antígeno obtenidas

de los individuos que han de ser el objeto de la terapia o profilaxis. Los exosomas de esta invención pueden inocularse como vacunas contra el cáncer, al igual que los péptidos de esta invención.

5 El tipo de antígenos HLA a usar debe coincidir con los del individuo que necesita la terapia y/o la profilaxis. Por ejemplo, para la gente japonesa, con frecuencia son apropiados HLA-A24 o HLA-A02, particularmente HLA-A2402 o HLA-0201.

10 De manera similar, en el contexto de la presente invención, también pueden usarse células T citotóxicas aisladas, que sean inducidas por los péptidos para el propósito de la presente invención. Las células T citotóxicas, las cuales han sido inducidas mediante
15 estimulación con células presentadoras de antígeno que presentan los péptidos de esta invención, de preferencia se obtienen a partir de los individuos que han de ser el blanco de la terapia y/o la profilaxis. Las células T citotóxicas pueden administrarse solas, o para el propósito de efecto
20 antitumoral, en combinación con otros fármacos, incluyendo los péptidos, los exosomas, etc. de esta invención. Las células T citotóxicas obtenidas actúan específicamente contra las células blanco que presentan los péptidos de esta invención, o preferiblemente, contra células blanco que

presentan los mismos péptidos usados para la inducción. Las células blanco pueden ser células que expresan KDR de manera endógena o células forzadas a expresar KDR. Además, las células que presentan los péptidos en su superficie debido a la estimulación con estos péptidos también pueden elegir como blanco.

En el contexto de la presente invención, las células presentadoras de antígeno que presentan complejos formados entre los antígenos HLA y los péptidos también pueden usarse para el propósito de la presente invención. Las células presentadoras de antígeno que se obtienen mediante el contacto con los péptidos, o con nucleótidos que codifican para los péptidos, preferiblemente se obtienen a partir de los individuos que han de ser el blanco de la terapia y/o la profilaxis. Las células presentadoras de antígeno pueden administrarse como vacunas, solas o en combinación con otros fármacos, tales como los péptidos de esta invención, exosomas y células T citotóxicas.

En el contexto de la presente invención, los péptidos preferiblemente se administran en combinación con gemcitabina. La gemcitabina es un nombre común que se le da al compuesto monoclóridato de 2'-desoxi-2',2'-difluorocitidina (isómero $\square$). Una composición farmacéutica compuesta por la sal de clorhidrato de gemcitabina

(gemcitabina HCl) comúnmente se halla disponible comercialmente como Gemzar (marca comercial). En el contexto de la presente invención, puede administrarse por lo menos uno de gemcitabina, una sal de gemcitabina farmacéuticamente
5 aceptable o un profármaco de la misma, en combinación con los péptidos mencionados con anterioridad. Por consiguiente, a menos que se indique lo contrario, las referencias en la presente solicitud a gemcitabina incluyen su sal o su profármaco.

10 La gemcitabina es un agente quimioterapéutico que ya está en uso clínico como agente terapéutico para diversos cánceres, incluyendo el cáncer de páncreas. El protocolo terapéutico convencional para administrar gemcitabina a un adulto para el tratamiento del cáncer de páncreas implica la
15 administración de 1000 mg/m² de gemcitabina por semana hasta por siete semanas. La gemcitabina típicamente se administra mediante infusión intravenosa. En la terapia del cáncer de páncreas, generalmente, un programa de tres semanas administración seguidas por una semana de no tratamiento, se
20 establece como un ciclo, y el tratamiento se continúa y se repite según sea necesario. Durante este período, la dosis de gemcitabina puede ajustarse usando la toxicidad hematológica, o similares, como un indicador. En la presente invención, los péptidos se administran de conformidad con dicho programa de

administración similar al usado con la gemcitabina. Los péptidos antigénicos de la presente invención pueden administrarse en cualquier etapa durante el período de administración de gemcitabina. De manera alternativa, siempre
5 que los CTL inducidos por los péptidos antigénicos de la presente invención mantengan su actividad *in vivo*, estos péptidos se pueden administrar antes de la administración de gemcitabina. En general, resulta razonable administrarlos con el mismo programa que el utilizado para la administración de
10 gemcitabina, con lo que se mantiene el compromiso de tiempo del paciente al mínimo.

Como se ha descubierto en la presente solicitud, la administración de péptidos derivados de VEGFR2 que tienen secuencias de aminoácidos tales como RFVPDGNRI (SEQ ID NO: 1)
15 puede mejorar los efectos terapéuticos de la gemcitabina. Las secuencias de aminoácidos de los ejemplos de péptidos derivados de VEGFR2 que pueden usarse en el contexto de la presente invención se describirán nuevamente más adelante. En el contexto de la presente invención, también pueden usarse
20 versiones modificadas o mutadas de estas secuencias de aminoácidos en la presente invención, en tanto que éstos retengan la capacidad de inducción de CTL deseada.

VYSSEEAEL (SEQ ID NO: 2),

GYRIYDVVL (SEQ ID NO: 3),

SYMISYAGM (SEQ ID NO: 4),
 RFVPDGNRI (SEQ ID NO: 1),
 KWEFPRDRL (SEQ ID NO: 5),
 DFLTLEHLI (SEQ ID NO: 6),
 5 AMFFWLLLV (SEQ ID NO: 7),
 VIAMFFWLL (SEQ ID NO: 8),
 AVIAMFFWL (SEQ ID NO: 9),
 KLIEIGVQT (SEQ ID NO: 10),
 YMISYAGMV (SEQ ID NO: 11),
 10 IQSDVWSFGV (SEQ ID NO: 12), o
 VLAMFFWLL (SEQ ID NO: 13).

Por lo tanto, la presente invención provee agentes
 que potencian el efecto terapéutico de la gemcitabina sobre
 el cáncer de páncreas, dichos agentes incluyen los péptidos
 15 derivados de VEGFR2 mencionados con anterioridad como
 ingrediente activo. De manera alternativa, la presente
 invención provee usos de los péptidos derivados de VEGFR2 en
 la producción de composiciones farmacéuticas que potencian
 los efectos terapéuticos de la gemcitabina sobre el cáncer de
 20 páncreas. Además, la presente invención provee usos
 combinados (combinación) de los péptidos derivados de VEGFR2
 durante la terapia del cáncer de páncreas utilizando
 gemcitabina.

De conformidad con la presente invención, los

péptidos derivados de VEGFR2 pueden usarse en combinación con gemcitabina para la terapia del cáncer de páncreas. Más específicamente, la presente invención provee un estuche para tratar el cáncer de páncreas el cual está constituido por una

5 composición farmacéutica que contiene como ingredientes activos cada uno de los siguientes: un vehículo farmacéuticamente aceptable , los péptidos derivados de VEGFR2 mencionados con anterioridad y gemcitabina. Además, la presente invención provee agentes anti-cáncer para tratar el

10 cáncer de páncreas, los cuales incluyen una combinación de los péptidos derivados de VEGFR2 mencionados con anterioridad y gemcitabina. De manera alternativa, la presente invención provee un estuche para tratar el cáncer de páncreas que incluye los péptidos derivados de VEGFR2 mencionados con

15 anterioridad y una hoja con instrucciones donde se indica que el efecto terapéutico de gemcitabina se ve potenciado cuando los péptidos se administran a pacientes con cáncer de páncreas en combinación con gemcitabina.

En otra modalidad, la presente invención también

20 provee un uso de una combinación de los péptidos derivados de VEGFR2 y uno o más agentes quimioterapéuticos que se seleccionan a partir del grupo que consiste de gemcitabina, una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un profármaco de la misma, en la fabricación de una composición

farmacéutica para tratar un cáncer, incluyendo cáncer de páncreas. De manera alternativa, en otra modalidad, la presente invención provee un uso de los péptidos derivados de VEGFR2 en la fabricación de una composición farmacéutica para

5 tratar un cáncer, incluyendo cáncer de páncreas, en el cual la composición farmacéutica se usa en combinación con uno o más agentes quimioterapéuticos que se seleccionan a partir del grupo que consiste de gemcitabina, una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un profármaco de la

10 misma. En otra modalidad, la presente invención provee adicionalmente un uso de los péptidos derivados de VEGFR2 en la fabricación de una composición farmacéutica para potenciar un efecto terapéutico de uno o más agentes quimioterapéuticos que se seleccionan a partir del grupo que consiste de

15 gemcitabina, una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un profármaco de la misma, para tratar un cáncer, incluyendo cáncer de páncreas.

De manera alternativa, la presente invención provee además un método o un proceso para fabricar a composición

20 farmacéutica para potenciar un efecto terapéutico de uno o más agentes quimioterapéuticos que se seleccionan a partir del grupo que consiste de gemcitabina, una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un profármaco de la misma, para tratar un cáncer, incluyendo el cáncer de

páncreas, en el cual el método o el proceso comprende el paso de formular un vehículo farmacéuticamente o fisiológicamente aceptable con los péptidos derivados de VEGFR2 como ingredientes activos. En otra modalidad, la presente
5 invención provee además un método o un proceso para la fabricación de una composición farmacéutica para potenciar un efecto terapéutico de uno o más agentes quimioterapéuticos que se seleccionan a partir del grupo que consiste de gemcitabina, una sal farmacéuticamente aceptable de la misma
10 y un profármaco de la misma, para tratar un cáncer, incluyendo el cáncer de páncreas, en la cual el método o el proceso comprende el paso de mezclar íntimamente los péptidos derivados de VEGFR2 con un vehículo farmacéuticamente o fisiológicamente aceptable.

15 En otra modalidad, la presente invención también provee un método o un proceso para fabricar un estuche para tratar un cáncer, incluyendo el cáncer de páncreas, en la cual el método o el proceso comprende el paso de combinar o envasar una composición farmacéutica que comprende los
20 péptidos derivados de VEGFR2 y un vehículo farmacéuticamente o fisiológicamente aceptable, junto con uno o más agentes quimioterapéuticos que se seleccionan a partir del grupo que consiste de gemcitabina, una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un profármaco de la misma. De manera

alternativa, en otra modalidad, la presente invención también provee el uso de una combinación de los péptidos derivados de VEGFR2 y uno o más agentes quimioterapéuticos que se seleccionan a partir del grupo que consiste de gemcitabina,
5 una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un profármaco de la misma, en la fabricación de un estuche para tratar un cáncer, incluyendo el cáncer de páncreas.

En las modalidades de la presente invención mencionadas con anterioridad, un individuo, en el cual se va
10 a tratar un cáncer, puede ser HLA-A24-positivo o HLA-A02-positivo. El cáncer a tratar incluye el cáncer de páncreas.

EJEMPLOS

15 De aquí en adelante, la presente invención se describe en detalle con referencia a los ejemplos, más particularmente, a una prueba clínica para evaluar el uso de un péptido de epítipo que elige como blanco los nuevos vasos sanguíneos del tumor en combinación con gemcitabina, para el
20 tratamiento del cáncer de páncreas recurrente avanzado que no puede extirparse. Sin embargo, los materiales, métodos y similares descritos en dichos ejemplos solamente ilustran aspectos de la invención, y no pretenden limitar de modo alguno el alcance de la presente invención. Por lo tanto,

dichos materiales, métodos y similares o equivalentes a los descritos en los ejemplos se pueden utilizar en la práctica o evaluación de la presente invención.

5 Introducción

En la presente solicitud se describe una prueba clínica de un método novedoso de quimioterapia con vacuna para pacientes con cáncer de páncreas recurrente avanzado que no pueda extirparse, en el cual se mezclan péptidos de epítipo derivados del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 2 (VEGFR2/KDR) con coadyuvante incompleto de Freund (IFA), y luego se administran por vía subcutánea a los pacientes. Se espera que las vacunas peptídicas presenten efectos antitumorales a través de inhibición de neovascularización del tumor. Estos se utilizan en la presente solicitud en combinación con gemcitabina, la norma actual para quimioterapia de cáncer de páncreas. La presente prueba clínica tiene por objeto verificar la seguridad de la nueva quimioterapia de vacuna dirigida a inhibir los nuevos vasos sanguíneos del tumor y producir efectos antitumorales a través de quimioterapia efectuando un escalamiento de dosis de los péptidos de epítipo administrados en una cohorte de tres pacientes. El propósito secundario es evaluar la tasa de respuesta, el tiempo de supervivencia y las respuestas

10
15
20

inmunes.

La extirpación quirúrgica es la terapia requerida para curar el cáncer de páncreas; sin embargo, la detección temprana es difícil y al momento del diagnóstico, aproximadamente 60% de los pacientes se hallan en una situación en la cual no es posible la extirpación [Matsuno S et al. Int J Clin Oncol. 5:153-157, 2000, Pantalone D et al. 18:41-46, 2001]. En la actualidad, se usa gemcitabina como terapia convencional contra el cáncer de páncreas que no puede extirparse; sin embargo, aunque la mediana del periodo de supervivencia y la tasa de supervivencia al año han mejorado en comparación con los grupos a los que se les administra 5-FU solo, los valores son de 5.7 meses y 18% respectivamente y de ninguna manera no son satisfactorios. Además, la tasa de respuesta es de 5.4% a 14,3%, los cuales no son valores altos [Burris HA et al. J.Clin Oncol. 15: 2403-2413, 1997, Casper ES et al. 12:29-34, 1994, Carmichael J et al. Br J Cancer; 73:101-105, 1996, Rothenberg ML et al. Ann Oncol. 7: 347-53, 1996], y existe la necesidad de examinar métodos terapéuticos novedosos que puedan mejorar la tasa de respuesta y el período de supervivencia mediante un uso combinado con gemcitabina.

Por otro lado, en años recientes, se ha elucidado el mecanismo mediante el cual las células T reconocen los

antígenos, y además, se han descubierto las proteínas reconocidas por los CTL como antígenos tumorales, y han comenzado las investigaciones sobre métodos terapéuticos que utilicen los antígenos tumorales o los genes de los antígenos. La inmunoterapia que utiliza este péptido antigénico de rechazo tumoral identificado fue adoptada rápidamente para el melanoma maligno, y se han reportado éxitos desde 1998, principalmente por Rosenberg *et al.* [Celis E. *et al.* Cancer Biology 6:329-336, 1995, Marchard M, *et al.* Int.J.Cancer 63:883-885, 1995]. Después de esto, se ha puesto en práctica el uso combinado con IL-2 o GM-CSF, el desarrollo de protocolos para administrar una pluralidad de péptidos antigénicos de rechazo tumoral, el desarrollo de péptidos modificados, y pruebas clínicas de células dendríticas con pulsos de péptidos, y aún hasta la fecha, la inmunoterapia antitumoral con el uso de péptidos antigénicos de rechazo tumoral sigue recibiendo atención como un método terapéutico que complementa los métodos terapéuticos convencionales, tales como la operación quirúrgica y la quimioterapia.

Se descubrieron antígenos tumorales reconocidos y atacados por las células T citotóxicas (CTL), y después de esto, se identificaron antígenos específicos de tumor uno tras otro, y actualmente se hallan en progreso pruebas clínicas para terapia con vacunas contra el cáncer que

utilizan péptidos de epítotope, lo cual es una inmunoterapia específica que elige como blanco a estos antígenos. Sin embargo, también se han encontrado nuevos problemas. Aún si se pudiera inducir CTL potentes, la expresión disminuida o
5 perdida de moléculas del MHC en las células tumorales, la ausencia de moléculas blanco en las células tumorales y similares pueden causar la pérdida de los efectos antitumorales de los CTL. Además, los péptidos antigénicos tumorales que han sido identificados hasta la fecha están
10 presentes en determinados tipos de tumores, pero éstos no abarcan todos los tumores. Por lo tanto, para superar estos problemas, las células blanco de los CTL en la terapia con la vacuna fueron las células del endotelio neovascular del tumor en lugar de las células tumorales mismas, y se formuló una
15 terapia de vacuna que elige como blanco a las moléculas derivadas de los nuevos vasos sanguíneos del tumor. Como molécula blanco, la atención se enfocó en el receptor del factor del crecimiento endotelial vascular 2 (VEGFR2/KDR), el cual es difícilmente expresado en células endoteliales
20 normales, pero es altamente expresado en células del endotelio neovascular del tumor, y es un receptor del factor del crecimiento de célula endotelial vascular indispensable para el crecimiento de estas células.

Se sabe que VEGFR2 se expresa en los tejidos

tumorales de muchos tumores sólidos, tales como cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de riñón, melanoma maligno y cáncer de pulmón [Folkman J. *Nature Biotechnol.* 15, 510, 1997, Folkman J. *EXS* 79, 1-8, 1997]. También se ha revelado
5 que la expresión de VEGFR2 está fuertemente relacionada con la proliferación de las células cancerosas [Kranz A, et al. *Int J Cancer* 84: 293-298, 1999, Nakopoulou L, et al. *Hum Pathol* 33:863-870, 2002, Reden L, et al. *Breast Cancer Res. & Treat.* 82:147-154, 2003].

10 Por otro lado, con respecto a si VEGFR2 se puede convertir o no en un blanco para la inmunoterapia, los resultados de la investigación básica de la vacunación con la proteína y el ADN de VEGFR2 demostraron que los efectos antitumorales son reconocidos a través de la supresión de los
15 nuevos vasos sanguíneos del tumor, independientemente del tipo de tumor, por lo tanto, se confirma que las células T citotóxicas específicas para VEGFR2 son las responsables de este efecto antitumoral. Lo anterior demuestra que VEGFR2 se puede convertir en un blanco para la inmunoterapia de los
20 tumores [Yiwen, Li. et al. *J. Exp. Med.* 195, 1575-1584, 2002. Nietammer, A.G. et al. *Nature Med.* 8, 1369-1375, 2002]. Además, como resultado de los análisis básicos en seres humanos, se comprobó la presencia de clones de CTL que reconocen y dañan VEGFR2, y se identificaron varios tipos de

péptidos de epítipo restringidos por HLA-A24 o A02 capaces de inducir CTL potentes. Los CTL inducidos por estos péptidos de epítipo dañan las células endoteliales de la vena umbilical humana en cultivo (HUVEC) que expresan VEGFR2 de manera endógena, de un modo restringido por HLA. Además, en el examen de los efectos antitumorales *in vivo* utilizando ratones transgénicos A2/Kb que expresan HLA, se confirmaron efectos antitumorales fuertes independientemente del tipo de cáncer por medio de una terapia de vacuna contra el cáncer, usando péptidos de epítipo derivados de VEGFR2. Debido a que los CTLs también se pueden inducir a partir de sangre periférica de pacientes con cáncer usando los péptidos empleados en la presente prueba clínica, se descubrió que también existen células precursoras de CTL en los pacientes con cáncer [Wada S, Cancer Res. 65, 4939-4946, 2005]. De conformidad con lo anterior, mediante la administración de los presentes péptidos y la inducción de CTL específicos de VEGFR2 en los pacientes, puede inhibirse la neovascularización tumoral y pueden obtenerse efectos antitumorales potentes.

Por lo tanto, se contempla una nueva quimioterapia con vacuna, en la cual se utiliza una vacuna de péptido que se espera muestre efectos antitumorales a través de la inhibición de la neovascularización tumoral en combinación

con gemcitabina, la cual actualmente es la quimioterapia convencional contra el cáncer de páncreas. Se utilizan RFVPDGNRI (SEQ ID NO: 1), VYSSEEAEL (SEQ ID NO: 2), GYRIYDVVL (SEQ ID NO: 3), SYMISYAGM (SEQ ID NO: 4), KWEFPRDRL (SEQ ID NO: 5), DFLTLEHLI (SEQ ID NO: 6), AMFFWLLLV (SEQ ID NO: 7), VIAMFFWLL (SEQ ID NO: 8), AVIAMFFWL (SEQ ID NO: 9), KLIEIGVQT (SEQ ID NO: 10), YMISYAGMV (SEQ ID NO: 11), IQSDVWSFGV (SEQ ID NO: 12) o VLAMFFWLL (SEQ ID NO: 13) [Wada S, Cancer Res. 65, 4939-4946, 2005, WO2004/024766], los cuales se obtienen a partir de VEGFR2 y son péptidos de epítipo restringidos por HLA-A24 o HLA-A02 en la formulación de vacuna para uso combinado.

A continuación se provee un resumen del razonamiento:

1. VEGFR2 es una molécula importante implicada en el crecimiento de células endoteliales neovasculares del tumor, y este péptido puede usarse para inducir CTL específicos *in vitro* [Wada S, Cancer Res. 65, 4939-4946, 2005, WO2004/024766].

2. Los CTLs específicos también se pueden inducir *in vitro* a partir de células mononucleadas de sangre periférica del paciente con cáncer usando péptidos de epítipo restringidos por HLA-A24 o HLA-A02 obtenidos a partir de VEGFR2 [Wada S, Cancer Res. 65, 4939-4946, 2005].

3. La mayoría de los japoneses portan HLA-A24 o HLA-A02 [Date Y, et al. Tissue Antigen, 47, 93-101, 1996].

4. Estos son bioquímicamente estables y son apropiados para las pruebas clínicas [Wada S, Cancer Res. 65, 4939-4946, 2005].

5. La gemcitabina ya ha sido aprobada como agente quimioterapéutico contra el cáncer de páncreas.

6. Se sabe que la gemcitabina mejora la inmunocompetencia, tal como la capacidad de inducción de CTL [Correale P, et al. J Immunol. 175, 820-828, 2005, Dauer M, et al. J Immunother. 28, 332-342, 2005], y pueden esperarse efectos del uso combinado con formulaciones de vacuna.

La presente prueba clínica se llevó a cabo tomando como base el razonamiento anterior.

15

Materiales y métodos

Individuos

Los pacientes se seleccionan de acuerdo con los siguientes criterios de selección y criterios de exclusión.

20

Criterios de selección

1. Cáncer de páncreas primario para el cual se consideró imposible realizar una extirpación radical debido a: metástasis distante, tal como metástasis hepática,

metástasis peritoneal y metástasis ósea a partir de varios diagnósticos, tales como diagnóstico por imágenes mediante CT o exámenes con ultrasonido; metástasis distante de nodos linfáticos como se define mediante la Clasificación de Carcinoma Pancreático editada por la Sociedad Japonesa del Páncreas, 5ª edición; o infiltración en los vasos grandes (aorta abdominal, arteria hepática propia, arterias hepáticas izquierda y derecha, arteria mesentérica superior y venas mesentéricas superiores que no pueden ser reconstruidas); o cáncer recurrente de páncreas.

2. Aunque la presencia o ausencia de lesiones mensurables con RECIST no es crítica, debe ser posible evaluar los efectos clínicos sobre el tumor.

3. Un estatus de desempeño de ECOG de 0 a 2.

4. Una edad de 20 años o mayor y de 80 años o menor al momento de obtener el consentimiento.

5. El pronóstico de vida esperado debe ser de tres meses o más al comenzar la terapia con gemcitabina y la vacuna.

6. Si el paciente ha sido sometido a algún tipo de operación, el paciente debe haberse recuperado de los efectos de la operación. De manera alternativa, deben haber transcurrido cuatro semanas o más desde la terapia previa.

7. Deben mantenerse las funciones de los órganos

importantes: función de la médula ósea (cuenta de leucocitos de 2000/mm³ o mayor y 15000/mm³ o menor y cuenta de plaquetas de 7.5/mm³ o mayor); función hepática (GOT de 150 IU/l o menos, GPT de 150 IU/l o menos, y T-bil de 3.0 g/dl o menos);
5 y función renal (Cr de 3.0 o menor).

8. Presencia de HLA apropiados.

9. Sin historia de tratamiento utilizando gemcitabina contra la enfermedad primaria.

10 Criterios de exclusión

1. Mujeres embarazadas (las mujeres que puedan quedar embarazadas deben tomar medidas anticonceptivas después de iniciar este estudio clínico).

15 2. Mujeres en amamantamiento (el amamantamiento se debe detener después de iniciar este estudio clínico).

3. Pacientes que desean quedar embarazadas (tanto hombres como mujeres deben tomar medidas anticonceptivas apropiadas durante el período de prueba).

20 4. Pacientes que tienen una infección activa difícil de regular.

5. Pacientes que necesitan la administración de los siguientes agentes farmacéuticos durante la prueba:

administración sistémica de agentes esteroides adrenales, o administración sistémica de agentes

inmunosupresores.

6. Pacientes que tienen un cáncer doble sin control.

7. Pacientes que tienen lesiones traumáticas que aún no han sanado.

5 8. Pacientes de quienes se sospecha que tienen parálisis intestinal o neumonía intersticial.

9. Pacientes determinados como inapropiados por un médico o un tratante.

10

Plan de Tratamiento

Selección de pacientes con cáncer

15

Los pacientes son aquellos que portan HLA apropiados y que tienen un cáncer de páncreas primario para el cual se determina que la extirpación radical es imposible, o aquellos que tienen cáncer de páncreas recurrente. Los casos en los que se sospechaba razonablemente mediante diagnóstico por imágenes la presencia de cáncer de páncreas también se incluyen en pacientes.

20

Método para examinar la expresión de HLA

El examen externo se solicita a SRL, Inc (Tokio).

Dosis de gemcitabina

Se administran 1,000 mg/m² de gemcitabina

(gemcitabina HCl), la es la norma de dosis terapéutica y administración aprobada para cobertura de seguros, durante tres semanas seguidas por una semana sin administración.

5 Dosis y método para administrar los péptidos y el
coadyuvante

Se mezclan 0.5 mg, 1 mg y 2 mg del péptido sintetizado con 0.5 ml, 1 ml y 2 ml de coadyuvante incompleto de Freund (MONTANIDE*ISA51VG, SEPPIC, Francia),
10 respectivamente, y se administran por vía subcutánea en la parte inferior del brazo o cerca del área inguinal de los pacientes.

Programa de administración

15 El programa se ilustra en la Tabla 1. Un curso se fijó en 28 días desde el comienzo de la administración inicial.

TABLA 1

Protocolo de administración para el péptido antigénico y
agente quimioterapéutico utilizados

20

	1 Vac	2 Vac	3 Vac	4 Vac
Vacuna	Día 1	Día 8	Día 15	Día 22
Gemcitabina	Día 1	Día 8	Día 15	Cese del fármaco
	↓	↓	↓	↓

Método para escalamiento de la dosis y cohorte de tres pacientes

Se fijan la dosis y la administración de gemcitabina (1,000 mg/m², tres semanas de administración y una semana sin administración), y la administración de la vacuna se escala en cuanto a dosis en términos de dosis de péptido hasta 0.5 mg, 1 mg y 2 mg. Específicamente, se administran 0.5 mg de péptido a tres pacientes. Si ningún individuo presenta una toxicidad hematológica de Grado 4 correlacionada de manera innegable (NCI-CTC versión 3.0) o mayor (excluyendo náusea/vómito) o toxicidad hematológica de Grado 3 (NCI-CTC versión 3.0) o mayor, se administra el péptido en la siguiente dosis (1 mg) a los tres pacientes. Si se expresan efectos colaterales en dos o más individuos, se interrumpe esta prueba clínica. Si se expresan efectos colaterales en un individuo, se registran adicionalmente otros tres pacientes a la misma dosis, y si se expresan efectos colaterales en uno de los seis casos, la prueba se lleva a la siguiente dosis. Si se observan efectos colaterales incluso en un solo individuo en esta etapa, se interrumpe esta prueba clínica. El escalamiento de dosis desde 1 mg hasta 2 mg se realiza de la misma manera.

Control de calidad

Con relación al péptido administrado, los péptidos de grado cGMP (Neo-MPS, San Diego) fueron un obsequio del Centro de Genoma Humano, Instituto de Ciencia Médica, Universidad de Tokio. Con relación al coadyuvante, se adquirió coadyuvante incompleto de Freund satisfactorio para un grado GMP (MONTANIDE*ISA51VG) de SEPPIC Co., Francia. El almacenamiento de los péptidos y la preparación de las vacunas peptídicas se realizaron en el Departamento de Farmacia del Hospital de la Universidad de Medicina de Wakayama.

Sobre la "administración preliminar de prueba"

Con el fin de evitar efectos adversos no anticipados, tales como un choque anafiláctico, se administraron 10 µg del péptido por vía subcutánea como una administración preliminar de prueba antes de la administración de la primera vacuna, en un sitio diferente al de la administración real, y se realiza un monitoreo durante 30 minutos. Si no se observa una reacción local de Grado 3 o mayor o un evento adverso sistémico, se realiza la administración real. Con relación a la "administración preliminar de prueba", no se observaron eventos adversos locales o eventos adversos sistémicos en ninguno de los

casos.

RESULTADOS

5 **Evaluación de los datos de la prueba**

Evaluación de la seguridad

La evaluación de la seguridad elige como blanco a los pacientes que han recibido por lo menos una administración de gemcitabina y los péptidos. Se determina la presencia y el grado de eventos adversos mediante referencia a los Criterios de Toxicidad Comunes del Instituto Nacional de Cáncer (NCI-CTC) (edición con traducción al japonés JCOG), versión 3.

15 Evaluación inmunológica

Antes de administrar la vacuna, se recolectaron 50 ml de sangre periférica una vez completado cada curso (día 28 después de la administración inicial), y se separan las células mononucleadas de sangre periférica (PBMC) y se miden mediante centrifugación por densidad Ficoll-paque.

Análisis de la reacción de CTL

La reacción de CTL que resulta de los péptidos administrados se mide utilizando una prueba ELISPOT para IFN-

gamma (estuche ELISPOT para IFN-gamma de humano, BD). Más específicamente, el estimulador se prepara pulsando los péptidos VEGFR2-169 (SEQ ID NO: 1) y HIV-A24 en A24-LCL (HLA-A*2402-positivo), y se utiliza un péptido de VIH como control negativo. La prueba se realiza en tres cavidades a la vez para cada una de las relaciones R/S y cada estimulador, y el valor promedio se calcula en términos del número de manchas por cavidad individual. El número de manchas se lee en una lectora para ELISPOT (IMMUNO SPOT, Cellular Technology Ltd.). El valor que se obtienen restando el número de manchas proveniente de la pulsación de VIH del número de manchas proveniente de la pulsación de VEGFR2-169 se considera que es de las manchas de producción de IFN-gamma específico con respecto a VEGFR2-169 (manchas específicas). Si se observa un incremento en las manchas de producción de IFN-gamma específico después de un curso y después de dos cursos, se considera que se presenta una respuesta inmune debido a la administración de la vacuna.

20 Análisis de la población de células CD8-positivas (figura 1)

Se analiza si existe un cambio o no en la proporción de cada una de las fracciones de células T no afectadas por el tratamiento, de memoria, de memoria

efectoras, y efectoras entre las células T CD8-positivas mediante citometría de flujo (FACS Calibur, BD) con tinción de cuatro colores. Como se ilustra en la figura 1, se regula la fracción de linfocitos de PBMC y se regula la fracción CD8-positiva. Se continúa revelando la fracción CD8-positiva usando CD27(BD) y CD45RA(SD) para obtener la fracción efectora (CD27-negativa/CD45RA-positiva), la fracción de memoria efectora (CD27-negativa/CD45RA-negativa), la fracción de memoria (CD27-positiva/CD45RA-negativa), y la fracción no afectada por tratamiento (CD27-positiva/CD45RA-positiva). Al mismo tiempo, se determinan las fracciones de linfocitos funcionales mediante tinción con perforina (estuche Cytofix/Cytoperm, BD).

15 Análisis de las células T reguladoras (figura 2)

Las células CD25^{high} y Foxp3-positivas entre las células T CD4-positivas se especificaron como células T reguladoras, y se midió su cambio numérico antes y después de la administración de la vacuna mediante citometría de flujo (FACS Calibur, BD) después de tinción con cuatro colores. Más específicamente, como se ilustra en la figura 2, se regula la fracción de linfocito de PBMC, y después de revelar con CD4 y CD25, se calcula la proporción de células CD25^{high} y Foxp3-positivas (estuche Human Regulatory Staining, eBioscience)

entre las células T CD4-positivas.

Evaluación de la eficacia clínica

Efectos citorreductores

5 Se eligen como individuos los pacientes que han
completado por lo menos un curso definido por el presente
protocolo. Para los tumores que se pueden determinar mediante
imágenes, los efectos clínicos se evalúan después de la
vacunación final en cada curso, principalmente de conformidad
10 con los lineamientos "New Guidelines to Evaluate the Effect
of Treatment in Solid Tumors (versión 2 de los lineamientos
de RECIST), traducción al japonés, edición JCOG". Aún en los
casos en que no se había cumplido el período de cuatro
semanas al momento de la evaluación clínica, éstos fueron
15 registrados como respuestas objetivas y se evalúa su
significancia clínica como datos de referencia. Se utilizan
CT y PET para la evaluación de los efectos antitumorales.

Tiempo de supervivencia

20 Se efectúa una observación de seguimiento a largo
plazo y se investigan el tiempo de supervivencia y la tasa de
supervivencia.

Resultados de los pacientes

Tres personas participan en cada nivel, y se hizo posible la evaluación de seguridad. Los casos, hasta el 31 de Julio, se resumen en la Tabla 2 (más adelante).

5

Caso 1 (Nivel I/0.5 mg)

El Caso 1 es una mujer de sesenta y ocho años de edad que había sido tratada previamente con una quimioterapia utilizando TS-1, la cual luego dejó de responder, y que después de esto se registró en la presente prueba. Se realizaron dos cursos, pero no hubo eventos adversos sistémicos, y también están ausentes los eventos adversos locales en el sitio de vacunación (Tabla 2, más adelante). La evaluación por imágenes resultó PD. Los marcadores tumorales también aumentaron. De conformidad con el monitoreo inmunológico, no se observa reacción de CTL específica contra el péptido administrado (Tabla 3, más adelante). Antes de la vacunación, éste está dentro del intervalo normal de células T reguladoras (el promedio normal es de $3.9 \pm 1.2\%$), pero se observa un incremento más allá del intervalo normal después de un curso y también después de dos cursos (Tabla 7, más adelante). La paciente fallece debido a agravamiento la enfermedad original, 3.3 meses después de la vacunación inicial.

10

15

20

Caso 2 (Nivel I/0.5 mg)

El Caso 2 es un hombre de sesenta y seis años de edad que había recibido dos vacunaciones, pero que solicitó ser transferido a otro hospital, y posteriormente fue
5 descartado de la prueba (Tabla 2, más adelante). No hubo eventos adversos sistémicos, y tampoco se presentan eventos adversos locales en el sitio de vacunación.

Caso 3 (Nivel I/0.5 mg)

10 El Caso 3 es un hombre de sesenta y cuatro años de edad. Se realizó un curso. Se observa neutropenia de Grado 3 y disfunción hepática como eventos adversos sistémicos (Tabla 2, más adelante). La interrupción de gemcitabina durante una semana permitió que se recuperara de ambas condiciones, y
15 luego se continuó con la administración. Se observa induración de Grado 2 y enrojecimiento en el sitio de inoculación, y linfadenopatía (hinchazón inguinal) cerca del sitio de inoculación como eventos adversos locales. Se observa una imagen que muestra una fuerte acumulación en el
20 sitio hinchado usando PET (figura 3), y se observa una inflamación fuerte en términos histopatológicos como resultado de una biopsia, lo que sugiere una respuesta inmune en respuesta a la inoculación con el péptido. La evaluación por imágenes es SD y el marcador de tumor (CA19-9) disminuye

(figura 4). De conformidad con el monitoreo inmunológico, se observa una reacción de CTL específica contra los péptidos administrados (figura 5), y en el análisis de la fracción de células T CD8-positivas, se observa un incremento en la fracción de células T no afectadas por el tratamiento y en la fracción de células T efectoras (Tabla 4, más adelante). Las células T reguladoras están por encima del intervalo normal (el promedio normal es de $3.9 \pm 1.2\%$) antes del comienzo de la vacunación, pero disminuyeron hasta el intervalo normal después de un curso (Tabla 7, más adelante). Después de esto, el paciente fallece debido a agravamiento de la enfermedad original 7.3 meses después de la vacunación inicial.

Caso 4 (Nivel I/0.5 mg)

El Caso 4 es un hombre de sesenta y un años de edad. Se realizaron dos cursos. No hubo eventos adversos sistémicos, y como eventos adversos locales, se observa induración de Grado 2 y enrojecimiento en el sitio de inoculación (Tabla 2, más adelante). La evaluación por imágenes fue Respuesta Objetiva. Más específicamente, el foco primario en la región pancreática posterior resultó SD después de un curso, y después de dos cursos este se había reducido claramente, y el efecto se mantiene durante casi dos meses (figura 6). El foco metastásico hepático en la región

portal del hígado prácticamente desapareció después de dos cursos (figura 7). El foco metastásico hepático cerca de la vesícula biliar prácticamente había desaparecido después de un curso, y fue casi inexistente después de dos cursos (figura 8). Por otro lado, los marcadores tumorales (CA19-9 y CEA) los cuales estaban en niveles elevados antes de la vacunación, disminuyeron después de un curso y después de dos cursos, y la tendencia a la disminución de los marcadores tumorales continuó aún un mes más tarde (figura 9). De conformidad con el monitoreo inmunológico, se observa una reacción de CTL específica contra los péptidos administrados (figura 10). Las células T reguladoras están dentro del intervalo normal antes del comienzo de la vacunación, después de un curso, y después de dos cursos (Tabla 7, más adelante).

6.3 meses después de la primera vacunación, el individuo estaba vivo.

Caso 5 (Nivel II/1 mg)

El Caso 5 es un hombre de sesenta y cinco años de edad. Se realizaron dos cursos. No hubo eventos adversos sistémicos o eventos adversos locales (Tabla 2, más adelante). La evaluación por imágenes resultó PD. Los marcadores tumorales también aumentaron. De conformidad con el monitoreo inmunológico, se observa una reacción de CTL

específica contra los péptidos administrados (Tabla 3, más adelante), y en el análisis de la fracción de células T CD8-positivas, se observa un incremento en la fracción de células T no afectadas por el tratamiento y en la fracción de células T efectoras (Tabla 5, más adelante). Las células T reguladoras están dentro del intervalo normal antes del comienzo de la vacunación, después de un curso, y después de dos cursos (Tabla 7, más adelante). Después de esto, el paciente fallece debido a agravamiento de la enfermedad original 4.5 meses después de la vacunación inicial.

Caso 6 (Nivel II/1 mg)

El Caso 6 es una mujer de cincuenta y siete años de edad. Se realizaron dos cursos. Se observó neutropenia de Grado 3 como el evento adverso sistémico (Tabla 2, más adelante). La interrupción de GEM durante una semana permitió que la paciente se recuperara, y después se continuó con la administración. Se observa induración de Grado 2 y enrojecimiento en el sitio de inoculación, y linfadenopatía (hinchazón inguinal) cerca del sitio de inoculación como eventos adversos locales. La evaluación por imágenes es Respuesta Objetiva. Más específicamente, el foco primario en la región pancreática anterior se redujo después de dos cursos, y este efecto se mantuvo casi 2.5 meses (figura 11).

Se comparan los barridos de PET obtenidos antes de la vacunación y después de completar dos cursos. La acumulación en el tumor claramente se redujo después de dos cursos (figura 12). Al comparar los valores SUV que indican objetivamente la cantidad de acumulación en el tumor, la disminución de 6 a 4.5 claramente sugiere que se ha presentado un efecto antitumoral. Además, el marcador tumoral (marcadores tumorales distintos de DUPAN2 son normales a partir del momento del registro) disminuyó después de dos cursos, y los efectos de disminución continuaron incluso dos meses después (Tabla 8, más adelante). De conformidad con el monitoreo inmunológico, se observa una reacción de CTL específica contra los péptidos administrados (figura 13), y en el análisis de la fracción de células T CD8-positivas, se observa un incremento en la fracción de células T no afectadas por el tratamiento y una disminución en la fracción de células T efectoras (Tabla 5, más adelante). Las células T reguladoras están dentro del intervalo normal antes del comienzo de la vacunación, después de un curso, y después de dos cursos (Tabla 7, más adelante). A los seis meses después de la primera vacunación, la calidad de vida sigue siendo buena y el individuo sigue vivo.

Caso 7 (Nivel II/1 mg)

El Caso 7 es un hombre de sesenta y nueve años de edad. Se realizaron dos cursos. Se observa neutropenia de Grado 3 como evento adverso sistémico (Tabla 2, más
5 adelante). La interrupción de GEM durante una semana permite que el paciente se recupere, y después se continúa con la administración. Se observa induración de Grado 2 y enrojecimiento en el sitio de inoculación, y linfadenopatía (hinchazón inguinal) cerca del sitio de inoculación como
10 eventos adversos locales. La evaluación por imágenes resultó SD (figura 14). Más específicamente, el foco primario en la región pancreática anterior no presentó cambios de tamaño después de dos cursos, y este efecto se mantuvo por casi dos meses (figura 14). Además, el marcador tumoral (los
15 marcadores tumorales distintos de CA125 fueron normales a partir del momento del registro) disminuyó después de un curso, y los efectos de disminución continuaron aún después de dos meses (figura 15). De conformidad con el monitoreo inmunológico, se observa una reacción de CTL específica
20 contra los péptidos administrados (figura 16), y en el análisis de la fracción de células T CD8-positivas, se observó una disminución en la fracción de células T no afectadas por el tratamiento y se observa un incremento en la fracción de células T efectoras (Tabla 5, más adelante). Las

células T reguladoras están dentro del intervalo normal antes del comienzo de la vacunación, después de un curso, y después de dos cursos (Tabla 7, más adelante). A los 4.3 meses después de la primera vacunación, la calidad de vida sigue siendo buena y el individuo sigue vivo.

Caso 8 (Nivel III/2 mg)

El Caso 8 es un hombre de cincuenta y ocho años de edad. Se completó un curso, y mientras se estaba realizando el segundo curso, ocurrió una hemorragia gastrointestinal debido al tumor de mayor tamaño. Se estimó que la causa era el agrandamiento del tumor y se interrumpió la prueba (Tabla 2, más adelante). Se observa disfunción hepática como evento adverso sistémico. No hubo eventos adversos locales. La evaluación por imágenes al finalizar un curso fue PD. Los marcadores tumorales también aumentaron.

Caso 9 (Nivel III/2 mg)

El Caso 9 es un hombre de sesenta y tres años de edad. Después de una administración, el estudio se postergó debido a la constricción gastrointestinal causada por el agrandamiento del tumor (Tabla 2, más adelante).

Caso 10 (Nivel III/2 mg)

El Caso 10 es un hombre de sesenta y dos años de edad. Se realizó un curso. No hubo eventos adversos sistémicos, y como eventos adversos locales, se observó induración y enrojecimiento de Grado 2 o menor (Tabla 2, más adelante). La evaluación por imágenes resultó SD (figura 17). Además, el marcador tumoral (los marcadores tumorales distintos de CA125 fueron normales a partir del momento del registro) disminuyó, y la disminución en el marcador tumoral continúa durante aproximadamente un mes (figura 18). De conformidad con el monitoreo inmunológico, se observa una reacción de CTL específica contra los péptidos administrados (Tabla 3, más adelante), y en el análisis de la fracción de células T CD8-positivas, se observa un incremento en la fracción de células T no afectadas por el tratamiento y una disminución en la fracción de células T efectoras (Tabla 6, más adelante). Las células T reguladoras están en un valor elevado de 6.4 antes del comienzo de la vacunación, pero disminuyen hasta un intervalo normal de 2.1 después de un curso (Tabla 7, más adelante).

Comparación con gemcitabina sola

En la Tabla 9 (más adelante), desde el punto de

vista de efectos antitumor en los casos y desde el punto de vista de reacción de DTH la cual es una de las respuestas inmunes, se realizó la comparación con los datos obtenidos hasta el momento con gemcitabina sola. Los efectos antitumorales se compararon en términos de la tasa de control de la enfermedad (número de CR + número de PR + número de SD/todos los casos) y la tasa de expresión clara del efecto antitumoral (respuesta objetiva). Mientras que la tasa permaneció entre 45% y 48% con GEM sola, la tasa superó en gran medida 62.5% con este protocolo. La respuesta objetiva también fue mayor, con un valor del doble o más. La reacción DTH, que es una de las respuestas inmunes, presentó valores más altos con frecuencia. Como esto se observa raramente con VEGFR2 solo (comunicación personal), se considera que la gemcitabina mejora las respuestas inmunes. De hecho, en los casos donde hubo reacciones DTH, se obtuvieron reacciones clínicas de SD o mayores, y los casos PD y los casos donde no hubo reacción DTH coincidieron por completo. Por lo tanto, se considera que los casos donde se evocó algún tipo de respuesta inmune también presentan eficacia clínica.

TABLAS

TABLA 2

Resumen de los casos de las pruebas clínicas

Caso	Péptidos	Edad/ género	Estado de vacunación	Eventos adversos sistémicos	Efectos adversos locales	Lesiones evaluables	Evaluación	Marcadores tumorales	Supervivencia en el período de observación
5									
1		68/mujer	Completó 2 cursos	2 Ninguno	Ninguno	Foco primario	PD	Incrementados	3.3 meses Fallece
2		66/hombre	(2 administra- ciones)	Ninguno	Ninguno				
3	Nivel I 0.5 mg	64/hombre	Completó 1 curso	Neutropenia/ lesión hepática	Induración/ enrojecimiento/ linfadenopatía	Foco primario	SD	Disminuidos	7.3 meses Fallece
4		61/hombre	Completó 2 cursos	2 Ninguno	Induración/ enrojecimiento	Foco primario/ metástasis hepáticas	Resp. obj.	Disminuidos	6.3 meses Con vida
5		65/hombre	Completó 2 cursos	2 Ninguno	Ninguno	Foco primario	PD	Incrementados	4.5 meses Fallece
6	Nivel II 1 mg	57/mujer	Completó 2 cursos	2 Neutropenia	Induración/ enrojecimiento/ linfadenopatía	Foco primario	Resp. obj.	Disminuidos	6.0 meses Con vida
7		69/hombre	Completó 2 cursos	2 Neutropenia	Hinchazón inguinal	Foco primario	SD	Disminuidos	4.3 meses Con vida
8		58/hombre	Durante el curso 2	Neutropenia/ hemorragia tumoral	Ninguno	Foco primario	PD	Incrementados	3.7 meses Con vida
9	Nivel III 2 mg	73/mujer	(1 administra- ción)	Diferido debido a constricción gastrointestinal posterior al agrandamiento del tumor		Foco primario/ metástasis hepáticas			2.8 meses Con vida
10		62/hombre	Completó 1 curso	1 Ninguno	Induración/ enrojecimiento	Foco primario	SD	Disminuidos	2.4 meses Con vida

TABLA 3

Reacción de CTL específica/reacción DTH contra los péptidos administrados

			Antes de la administración	Después de la administración	Reacción DTH	Evaluación clínica
5	Nivel	Caso 1	-	-	-	PD
	I	Caso 2	-	+	+	SD
	0.5 mg	Caso 4	NT	+	+	Resp. obj.
	Nivel	Caso 5	-	+	-	PD
	II	Caso 6	-	+	+	Resp. obj.
	1 mg	Caso 7	-	+	+	SD
10	Nivel	Caso 8	NT	NT	-	PD
	III	Caso 9	NT			NT
	2 mg	Caso 10	-	+	+	SD

NT: No analizado

15

TABLA 4

Análisis de las fracciones de células T CD8-positivas en el nivel I

		Antes de la administración	Después de 1 curso	Después de 2 cursos	Evaluación clínica
20	No afectadas /CD8+ (%)				
	De memoria/CD8+ (%)				
	E. memoria/CD8+ (%)		NT		PD
	Efectoras/CD8+ (%)				

TABLA 4 (cont.)

		Antes de la administración	Después de 1 curso	Después de 2 cursos	Evaluación clínica
	No afectadas/CD8+ (%)	12,5	16,9		SD
5	Caso 3				
	De memoria/CD8+ (%)	11,8	10,9		
	E. memoria/CD8+ (%)	3,7	2,4		
	Efectoras/CD8+ (%)	60,9	64,0		
	No afectadas /CD8+ (%)		NT		Resp. obj.
	Caso 4				
	De memoria/CD8+ (%)				
	E. memoria/CD8+ (%)				
	Efectoras/CD8+ (%)				

10 *Caso 3: terminado después de 1 curso
NT: no evaluado

TABLA 5

Análisis de las fracciones de células T CD8-positivas en el nivel II

		Antes de la administración	Después de 1 curso	Después de 2 cursos	Evaluación clínica
	No afectadas /CD8+ (%)	0	11.9	3.9	
15	Caso 5				
	De memoria/CD8+ (%)	0.1	11.5	8.8	
	Memoria efectora/CD8+ (%)	21.5	22.3	24.3	PD
	Efectoras/CD8+ (%)	140	11.2	19.2	
	No afectadas /CD8+ (%)	54.3	64.5	69.3	
20	Caso 6				
	De memoria/CD8+ (%)	25.8	22.1	20.6	
	Memoria efectora/CD8+ (%)	1.2	0.4	0.3	Resp. obj.
	Efectoras/CD8+ (%)	10.2	5.9	3.9	
	No afectadas /CD8+ (%)	9.4	1.1	0.1	
	Caso 7				
	De memoria/CD8+ (%)	4.4	0.1	0	
	Memoria efectora/CD8+ (%)	10.6	12.0	8.3	SD
	Efectoras/CD8+ (%)	14.4	17.8	18.0	

TABLA 6

Análisis de las fracciones de células T CD8-positivas en el nivel III

		Antes de la administración	Después de 1 curso	Después de 2 cursos	Evaluación clínica
5	No afectadas /CD8+ (%)				
	De memoria/CD8+ (%)				
Caso 8	Memoria efectora/CD8+ (%)		NT		PD
	Efectoras/CD8+ (%)				
	No afectadas /CD8+ (%)				
	De memoria/CD8+ (%)				
Caso 9	Memoria efectora/CD8+ (%)		NT		NT
10	Efectoras/CD8+ (%)				
	No afectadas /CD8+ (%)	51.0	57.2		
	De memoria/CD8+ (%)	10.7	11.4		
Caso 10	Memoria efectora/CD8+ (%)	4.7	3.4		SD
	Efectoras/CD8+ (%)	18.2	14.8		

*Casos 9 y 10: terminados después de 1 curso

NT: no evaluado

TABLA 7

Análisis de las células T reguladoras CD4-positivas/CD25-high/Foxp3-positivas

	Niveles	Casos	Antes	Después de 1 curso	Después de 2 cursos	Evaluación clínica
20	I	1	2.4	9.5	7.8	PD
		3	10.6	4.4		SD
		4	3.2	2.2	1.5	Resp. obj.

TABLA 7 (cont.)

Niveles	Casos	Antes	Después de 1 curso	Después de 2 cursos	Evaluación clínica
II	5	4.6	2.3	1.8	PD
	6	3.1	3.9	4.1	Resp. obj.
	7	3.1	3.3	3.1	SD
III	8	N.T.	N.T.		PD
	9	N.T.	N.T.		N.T.
	10	6.4	2.1		SD

Promedio de individuos saludables (SD)

CD4+CD25HIGH Foxp3+: 3.9% (±1.2)

TABLA 8

Cambios en los marcadores tumorales obtenidos en el Caso 6
durante el tratamiento

	1/26 4 semanas antes de la vacunación	2/8 antes de la vacunación	3/5 después de 1 curso	4/24 después de 2 cursos	5/29 después de 1 mes	6/26 después de 2 meses
DUPAN2	1600<	1600<	1600<	1200	960	880

(CEA, CA19-9, CA125; intervalo normal)

TABLA 9

Resumen de los efectos antitumorales y las reacciones DTH
asociados con el tratamiento de la presente invención

	GEM sola	GEM + R2-169 (casos positivos/ casos totales)
Tasa de control de la enfermedad (SD o mayor)	45 - 48%	62.5% 5/8
Efecto de reducción de tumores evidente (respuesta objetiva)	10%	25% (2/8)
Reacción DTH	N.T.	62.5% (5/8)

Discusión

No hay duda que el cáncer de páncreas es intratable y es un tumor con los peores pronósticos. En la actualidad, la única terapia farmacéutica contra el cáncer de páncreas es la gemcitabina, pero en términos clínicos, no es satisfactoria.

Por otro lado, después de identificar péptidos de epítotope contra antígenos tumorales, hay grandes expectativas respecto a una terapia de vacuna contra el cáncer; sin embargo, es un hecho bien conocido que el desempeño clínico hasta la fecha se ha quedado corto en cuanto a cumplir dichas expectativas. La razón principal es la baja expresión o la ausencia de moléculas del MHC en las células tumorales. Más específicamente, aún si se inducen CTL fuertes usando vacunas, si no hay moléculas del MHC, no se pueden presentar efectos antitumorales.

Las medidas contra la baja expresión y la ausencia de moléculas del MHC son objetivos muy importantes, considerando el hecho de que, aún cuando las reacciones de CTL causadas por las vacunas puedan ser detectadas con un monitoreo inmunológico, no se conectan directamente con efectos antitumorales. Además, la heterogeneidad de los tumores también es un problema importante. Aún cuando se puedan inducir CTL contra un antígeno tumoral, en el caso que

la molécula expresada no sea una molécula esencial para el crecimiento tumoral, dicha molécula es eliminada de modo que ya no es un blanco para los CTL y el tumor puede seguir creciendo. Con el objeto de solucionar los problemas
5 esenciales relacionados con los efectos antitumorales de estas terapias de vacunas, los inventores centraron su atención en VEGFR2, el cual es altamente expresado en las células endoteliales neovasculares del tumor, e identificaron péptidos de epítipo que pueden usarse como vacunas [Wada S,
10 Cancer Res. 65, 4939-4946, 2005, WO 2004/024766].

En términos convencionales, el uso combinado de una terapia de vacuna y quimioterapia ha sido considerado incompatible sobre la base de sus características biológicas. Sin embargo, desde el punto de vista de inmunidad tumoral,
15 tal como el descubrimiento de células T reguladoras y su cancelación, se está sugiriendo la posibilidad de un uso combinado con quimioterapia. Por lo tanto, se planearon pruebas clínicas para examinar si se pueden esperar o no efectos provenientes del uso combinado de gemcitabina y una
20 terapia con vacunas peptídicas que elijan como blanco los nuevos vasos sanguíneos el tumor para cáncer de páncreas.

Como resultado, primero se encontró que es completamente aceptable en términos de seguridad. En lo referente al escalamiento de la dosis, los análisis de

eventos adversos sistémicos de Grado 3 o mayor (al concluir un curso) demostraron que se presenta neutropenia y disfunción hepática en uno de los tres casos en el nivel I, dos de los tres casos en el nivel II, y uno de los dos casos en el nivel III; sin embargo, la interrupción del fármaco o la administración de G-CSF permitieron continuar con la administración. De conformidad con lo anterior, en la actualidad, todos los niveles están dentro del intervalo aceptable. Como esta es una terapia de vacuna dirigida a las células del endotelio neovascular del tumor, la tendencia a la hemorragia y otros eventos adversos fueron una preocupación; sin embargo, la base teórica previa a la puesta en práctica del procedimiento, tal como la baja expresión en las células del endotelio vascular normal, resultó correcta en un cierto grado. Cuando el escalamiento de la dosis se analiza a través de monitoreo inmunológico y se analizan los efectos clínicos en términos de la reacción DTH, la reacción de CTL y la tasa de control de la enfermedad, son todos positivos en dos de los tres casos en el nivel I, y uno de los tres casos en el nivel III. En el nivel II, la reacción de CTL sola fue positiva en los tres casos (la reacción DTH y la tasa de control de la enfermedad fueron iguales que en los niveles I y III). Si bien la cantidad de casos es pequeña, lo anterior sugiere la posibilidad de que el nivel II sea la

dosis recomendada.

Con relación a los efectos antitumorales, aunque se pudo observar claramente el efecto del uso combinado con la quimioterapia con vacuna, se discute la posibilidad de que la
5 vacuna incremente el efecto antitumor de la gemcitabina. Como se observa en la comparación de la Tabla 9, el efecto reductor de tumores evidente es mayor de dos o más veces cuando se compara con la gemcitabina sola. Esto significa que el efecto antitumoral directo de la gemcitabina es
10 incrementado por la vacuna. Más específicamente, es concebible que los CTL inducidos por la vacuna destruyen las células del endotelio neovascular del tumor, de modo que la gemcitabina pudiera alcanzar el tumor de manera eficaz, y como resultado, se presente un efecto antitumoral fuerte.
15 Después, se analiza la posibilidad de que la gemcitabina incremente los efectos antitumorales de la vacuna. El análisis de la respuesta inmune contra el péptido administrado confirma que la potente reacción de CTL es inducida principalmente en casos clínicamente efectivos,
20 incluyendo los casos SD. Además, como la reacción DTH se incrementó, esto sugiere en buena medida la posibilidad de que la gemcitabina esté incrementando la reacción de CTL, que es el elemento central de los efectos antitumorales de la vacuna. También en términos clínicos, hubo cuatro de cinco

casos para los cuales los efectos antitumorales continuaron por un período de tiempo prolongado, incluyendo SD (Caso 4: un mes; Caso 6: dos meses; Caso 7: dos meses, y Caso 10: un mes), y se considera que esto es el resultado de los efectos antitumorales a largo plazo de la vacuna. Más específicamente, esto sugiere la posibilidad de que los CTL sean inducidos de manera eficaz por la gemcitabina, y que estos CTL conduzcan a efectos antitumorales a largo plazo. Además, existe la posibilidad de que el tumor experimente muerte celular debido a la gemcitabina, y esto tiene una acción sinérgica con las reacciones inmunes antitumorales activadas por la vacuna. De este modo, puede esperarse una potenciación de los efectos antitumorales, incluyendo una prolongación de la expectativa de vida, sin que aumenten los efectos colaterales a través de quimioterapia de vacuna utilizando gemcitabina y péptidos de VEGFR2 en combinación. Esto puede ser una gran noticia para la mejora del resultado del tratamiento para los cánceres de páncreas con pronósticos pobres.

20

Aplicación industrial

En la presente solicitud se ha descubierto que el efecto terapéutico de agentes quimioterapéuticos contra el cáncer de páncreas, por ejemplo, la gemcitabina, puede

mejorarse o potenciarse significativamente cuando se los combina con un péptido antigénico apropiado, por ejemplo, el péptido KDR identificado como vacuna contra el cáncer en WO 2004/024766, cuyos contenidos se incorporan a modo de
5 referencia en la presente solicitud en su totalidad. Por consiguiente, la presente invención provee un método mejorado para tratar el cáncer de páncreas en un individuo en necesidad de lo mismo.

Todas las publicaciones, las bases de datos, las
10 secuencias, las patentes y las solicitudes de patentes citadas en la presente solicitud se incorporan en la presente solicitud a modo de referencia.

Aunque la invención se ha descrito en detalle y con referencia a modalidades específicas, será evidente para los
15 expertos en la técnica que pueden realizarse diversos cambios y modificaciones sin apartarse del alcance y campo de la invención, cuyas medidas y límites son fijados por las reivindicaciones adjuntas.

NOVEDAD DE LA INVENCION

Habiendo descrito el presente invento se considera como novedad y por lo tanto se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes:

5

REIVINDICACIONES

1.- Un método para tratar un cáncer en un individuo que comprende administrar a dicho individuo (i) y (ii):

(i) uno o más péptidos que se seleccionan a partir
10 del grupo que consiste de:

(a) uno o más péptidos que tienen la secuencia de aminoácidos que se selecciona a partir del grupo que consiste de RFVPDGNRI (SEQ ID NO: 1), VYSSEEAEL (SEQ ID NO: 2), GYRIYDVVL (SEQ ID NO: 3), SYMISYAGM (SEQ ID NO: 4), KWEFPRDRL
15 (SEQ ID NO: 5) y DFLTLEHLI (SEQ ID NO: 6),

(b) el péptido de (a), en el cual se han sustituido, suprimido o agregado 1, 2 o varios aminoácidos, y en el cual dicho péptido tiene capacidad de inducción de células T citotóxicas;

20 (c) el péptido de (b), en el cual el segundo aminoácido desde el extremo N-terminal es fenilalanina, tirosina, metionina o triptófano;

(d) el péptido de (b) o (c), en el cual el aminoácido C-terminal es fenilalanina, leucina, isoleucina,

triptófano o metionina;

(e) uno o más péptidos que tienen la secuencia de aminoácidos que se selecciona a partir del grupo que consiste de AMFFWLLLV (SEQ ID NO: 7), VIAMFFWLL (SEQ ID NO: 8),
5 AVIAMFFWL (SEQ ID NO: 9), KLIEIGVQT (SEQ ID NO: 10),
YMISYAGMV (SEQ ID NO: 11), IQSDVWSFGV (SEQ ID NO: 12) y
VLAMFFWLL (SEQ ID NO: 13);

(f) el péptido de (e), en el cual se han sustituido, suprimido o agregado 1, 2 o varios aminoácidos, y en el cual
10 dicho péptido tiene capacidad de inducción de células T citotóxicas;

(g) el péptido de (f), en el cual el segundo aminoácido desde el extremo N-terminal es leucina o metionina; y

15 (h) el péptido de (f) o (g), en el cual el aminoácido C-terminal es valina o leucina;

(ii) uno o más agentes quimioterapéuticos que se seleccionan a partir del grupo que consiste de gemcitabina, una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un
20 profármaco de la misma.

2.- El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque dicho individuo es HLA-A24-positivo o HLA-A02-positivo.

3.- El método de conformidad con la reivindicación

1, caracterizado porque dicho cáncer es cáncer de páncreas.

4.- Un estuche para tratar un cáncer en un individuo que comprende composiciones farmacéuticas que comprenden (i) y (ii) como ingrediente activo, 5 respectivamente, y un vehículo farmacéuticamente aceptable :

(i) uno o más péptidos que se seleccionan a partir del grupo que consiste de:

(a) uno o más péptidos que tienen la secuencia de aminoácidos que se selecciona a partir del grupo que consiste 10 de RFVPDGNRI (SEQ ID NO: 1), VYSSEEAEL (SEQ ID NO: 2), GYRIYDVVL (SEQ ID NO: 3), SYMISYAGM (SEQ ID NO: 4), KWEFPRDRL (SEQ ID NO: 5) y DFLTLEHLI (SEQ ID NO: 6),

(b) el péptido de (a), en el cual se han sustituido, suprimido o agregado 1, 2 o varios aminoácidos, y 15 en el cual dicho péptido tiene capacidad de inducción de células T citotóxicas;

(c) el péptido de (b), en el cual el segundo aminoácido desde el extremo N-terminal es fenilalanina, tirosina, metionina o triptófano;

20 (d) el péptido de (b) o (c), en el cual el aminoácido C-terminal es fenilalanina, leucina, isoleucina, triptófano o metionina;

(e) uno o más péptidos que tienen la secuencia de aminoácidos que se selecciona a partir del grupo que consiste

de AMFFWLLLV (SEQ ID NO: 7), VIAMFFWLL (SEQ ID NO: 8),
AVIAMFFWL (SEQ ID NO: 9), KLIEIGVQT (SEQ ID NO: 10),
YMISYAGMV (SEQ ID NO: 11), IQSDVWSFGV (SEQ ID NO: 12) y
VLAMFFWLL (SEQ ID NO: 13);

5 (f) el péptido de (e), en el cual se han
sustituido, suprimido o agregado 1, 2 o varios aminoácidos, y
en el cual dicho péptido tiene capacidad de inducción de
células T citotóxicas;

(g) el péptido de (f), en el cual el segundo
10 aminoácido desde el extremo N-terminal es leucina o
metionina; y

(h) el péptido de (f) o (g), en el cual el
aminoácido C-terminal es valina o leucina.

(ii) uno o más agentes quimioterapéuticos que se
15 seleccionan a partir del grupo que consiste de gemcitabina,
una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un
profármaco de la misma.

5.- El estuche de conformidad con la reivindicación
4, caracterizado porque dicho individuo es HLA-A24-positivo o
20 HLA-A02-positivo.

6.- El estuche de conformidad con la reivindicación
4, caracterizado porque dicho cáncer es cáncer de páncreas.

7.- Un agente anti-cáncer para tratar un cáncer en
un individuo que comprende (i) en combinación con (ii):

(i) uno o más péptidos que se seleccionan a partir del grupo que consiste de:

(a) uno o más péptidos que tienen la secuencia de aminoácidos que se selecciona a partir del grupo que consiste
5 de RFVPDGNRI (SEQ ID NO: 1), VYSSEEAEEL (SEQ ID NO: 2),
GYRIYDVVL (SEQ ID NO: 3), SYMISYAGM (SEQ ID NO: 4), KWEFPRDRL
(SEQ ID NO: 5) y DFLTLEHLI (SEQ ID NO: 6),

(b) el péptido de (a), en el cual se han sustituido, suprimido o agregado 1, 2 o varios aminoácidos, y
10 en el cual dicho péptido tiene capacidad de inducción de células T citotóxicas;

(c) el péptido de (b), en el cual el segundo aminoácido desde el extremo N-terminal es fenilalanina, tirosina, metionina o triptófano;

15 (d) el péptido de (b) o (c), en el cual el aminoácido C-terminal es fenilalanina, leucina, isoleucina, triptófano o metionina;

(e) uno o más péptidos que tienen la secuencia de aminoácidos que se selecciona a partir del grupo que consiste
20 de AMFFWLLLV (SEQ ID NO: 7), VIAMFFWLL (SEQ ID NO: 8),
AVIAMFFWL (SEQ ID NO: 9), KLIEIGVQT (SEQ ID NO: 10),
YMISYAGMV (SEQ ID NO: 11), IQSDVWSFGV (SEQ ID NO: 12) y
VLAMFFWLL (SEQ ID NO: 13);

(f) el péptido de (e), en el cual se han

sustituido, suprimido o agregado 1, 2 o varios aminoácidos, y en el cual dicho péptido tiene capacidad de inducción de células T citotóxicas;

(g) el péptido de (f), en el cual el segundo
5 aminoácido desde el extremo N-terminal es leucina o metionina; y

(h) el péptido de (f) o (g), en el cual el aminoácido C-terminal es valina o leucina.

(ii) uno o más agentes quimioterapéuticos que se
10 seleccionan a partir del grupo que consiste de gemcitabina, una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un profármaco de la misma.

8.- El agente anti-cáncer de conformidad con la reivindicación 7, caracterizado porque dicho individuo es
15 HLA-A24-positivo o HLA-A02-positivo.

9.- El agente anti-cáncer de conformidad con la reivindicación 7, caracterizado porque dicho cáncer es cáncer de páncreas.

10.- El uso de una combinación de (i) y (ii) en el
20 tratamiento de cáncer en un individuo:

(i) uno o más péptidos que se seleccionan a partir del grupo que consiste de:

(a) uno o más péptidos que tienen la secuencia de aminoácidos que se selecciona a partir del grupo que consiste

de RFVPDGNRI (SEQ ID NO: 1), VYSSEEAEEL (SEQ ID NO: 2),
GYRIYDVVL (SEQ ID NO: 3), SYMISYAGM (SEQ ID NO: 4), KWEFPRDRL
(SEQ ID NO: 5) y DFLTLEHLI (SEQ ID NO: 6),

(b) el péptido de (a), en el cual se han
5 sustituido, suprimido o agregado 1, 2 o varios aminoácidos, y
en el cual dicho péptido tiene capacidad de inducción de
células T citotóxicas;

(c) el péptido de (b), en el cual el segundo
aminoácido desde el extremo N-terminal es fenilalanina,
10 tirosina, metionina o triptófano;

(d) el péptido de (b) o (c), en el cual el
aminoácido C-terminal es fenilalanina, leucina, isoleucina,
triptófano o metionina;

(e) uno o más péptidos que tienen la secuencia de
15 aminoácidos que se selecciona a partir del grupo que consiste
de AMFFWLLLV (SEQ ID NO: 7), VIAMFFWLL (SEQ ID NO: 8),
AVIAMFFWL (SEQ ID NO: 9), KLIEIGVQT (SEQ ID NO: 10),
YMISYAGMV (SEQ ID NO: 11), IQSDVWSFGV (SEQ ID NO: 12) y
VLAMFFWLL (SEQ ID NO: 13);

20 (f) el péptido de (e), en el cual se han
sustituido, suprimido o agregado 1, 2 o varios aminoácidos, y
en el cual dicho péptido tiene capacidad de inducción de
células T citotóxicas;

(g) el péptido de (f), en el cual el segundo

aminoácido desde el extremo N-terminal es leucina o metionina; y

(h) el péptido de (f) o (g), en el cual el aminoácido C-terminal es valina o leucina.

5 (ii) uno o más agentes quimioterapéuticos que se seleccionan a partir del grupo que consiste de gemcitabina, una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un profármaco de la misma.

11.- El uso de conformidad con la reivindicación
10 10, caracterizado porque dicho individuo es HLA-A24-positivo o HLA-A02-positivo.

12.- El uso de conformidad con la reivindicación 10, caracterizado porque dicho cáncer es cáncer de páncreas.

13.- Un método para mejorar el efecto terapéutico
15 de la gemcitabina para el tratamiento de cáncer que comprende el paso de administrar a un individuo uno o más péptidos que se seleccionan a partir del grupo que consiste de

(a) uno o más péptidos que tienen la secuencia de aminoácidos que se selecciona a partir del grupo que consiste
20 de RFVPDGNRI (SEQ ID NO: 1), VYSSEEAEL (SEQ ID NO: 2), GYRIYDVVL (SEQ ID NO: 3), SYMISYAGM (SEQ ID NO: 4), KWEFPRDRL (SEQ ID NO: 5) y DFLTLEHLI (SEQ ID NO: 6),

(b) el péptido de (a), en el cual se han sustituido, suprimido o agregado 1, 2 o varios aminoácidos, y

en el cual dicho péptido tiene capacidad de inducción de células T citotóxicas;

(c) el péptido de (b), en el cual el segundo aminoácido desde el extremo N-terminal es fenilalanina, 5 tirosina, metionina o triptófano;

(d) el péptido de (b) o (c), en el cual el aminoácido C-terminal es fenilalanina, leucina, isoleucina, triptófano o metionina;

(e) uno o más péptidos que tienen la secuencia de 10 aminoácidos que se selecciona a partir del grupo que consiste de AMFFWLLLV (SEQ ID NO: 7), VIAMFFWLL (SEQ ID NO: 8), AVIAMFFWL (SEQ ID NO: 9), KLIEIGVQT (SEQ ID NO: 10), YMISYAGMV (SEQ ID NO: 11), IQSDVWSFGV (SEQ ID NO: 12) y VLAMFFWLL (SEQ ID NO: 13);

15 (f) el péptido de (e), en el cual se han sustituido, suprimido o agregado 1, 2 o varios aminoácidos, y en el cual dicho péptido tiene capacidad de inducción de células T citotóxicas;

(g) el péptido de (f), en el cual el segundo 20 aminoácido desde el extremo N-terminal es leucina o metionina; y

(h) el péptido de (f) o (g), en el cual el aminoácido C-terminal es valina o leucina.

14.- El método de conformidad con la reivindicación

13, caracterizado porque dicho individuo es HLA-A24-positivo o HLA-A02-positivo.

15.- El método de conformidad con la reivindicación 13, caracterizado porque dicho cáncer es cáncer de páncreas.

5 16.- El uso de uno o más péptidos que se seleccionan a partir del grupo que consiste de

(a) uno o más péptidos que tienen la secuencia de aminoácidos que se selecciona a partir del grupo que consiste de RFVPDGNRI (SEQ ID NO: 1), VYSSEEAEL (SEQ ID NO: 2),
10 GYRIYDVVL (SEQ ID NO: 3), SYMISYAGM (SEQ ID NO: 4), KWEFPRDRL (SEQ ID NO: 5) y DFLTLEHLI (SEQ ID NO: 6),

(b) el péptido de (a), en el cual se han sustituido, suprimido o agregado 1, 2 o varios aminoácidos, y en el cual dicho péptido tiene capacidad de inducción de
15 células T citotóxicas;

(c) el péptido de (b), en el cual el segundo aminoácido desde el extremo N-terminal es fenilalanina, tirosina, metionina o triptófano;

(d) el péptido de (b) o (c), en el cual el
20 aminoácido C-terminal es fenilalanina, leucina, isoleucina, triptófano o metionina;

(e) uno o más péptidos que tienen la secuencia de aminoácidos que se selecciona a partir del grupo que consiste de AMFFWLLLV (SEQ ID NO: 7), VIAMFFWLL (SEQ ID NO: 8),

AVIAMFFWL (SEQ ID NO: 9), KLIEIGVQT (SEQ ID NO: 10),
YMISYAGMV (SEQ ID NO: 11), IQSDVWSFGV (SEQ ID NO: 12) y
VLAMFFWLL (SEQ ID NO: 13);

5 (f) el péptido de (e), en el cual se han
sustituido, suprimido o agregado 1, 2 o varios aminoácidos, y
en el cual dicho péptido tiene capacidad de inducción de
células T citotóxicas;

(g) el péptido de (f), en el cual el segundo
aminoácido desde el extremo N-terminal es leucina o
10 metionina; y

(h) el péptido de (f) o (g), en el cual el
aminoácido C-terminal es valina o leucina,
en la fabricación de una composición farmacéutica para
mejorar el efecto terapéutico de la gemcitabina para el
15 tratamiento de cáncer en un individuo.

17.- El uso de conformidad con la reivindicación
16, caracterizado porque dicho individuo es HLA-A24-positivo
o HLA-A02-positivo.

18.- El uso de conformidad con la reivindicación
20 16, caracterizado porque dicho cáncer es cáncer de páncreas.

19.- Un agente para mejorar el efecto terapéutico
de la gemcitabina que comprende uno o más péptidos que se
seleccionan a partir del grupo que consiste de

(a) uno o más péptidos que tienen la secuencia de

aminoácidos que se selecciona a partir del grupo que consiste de RFVPDGNRI (SEQ ID NO: 1), VYSSEEAEL (SEQ ID NO: 2), GYRIYDVVL (SEQ ID NO: 3), SYMISYAGM (SEQ ID NO: 4), KWEFPRDRL (SEQ ID NO: 5) y DFLTLEHLI (SEQ ID NO: 6),

5 (b) el péptido de (a), en el cual se han sustituido, suprimido o agregado 1, 2 o varios aminoácidos, y en el cual dicho péptido tiene capacidad de inducción de células T citotóxicas;

(c) el péptido de (b), en el cual el segundo
10 aminoácido desde el extremo N-terminal es fenilalanina, tirosina, metionina o triptófano;

(d) el péptido de (b) o (c), en el cual el aminoácido C-terminal es fenilalanina, leucina, isoleucina, triptófano o metionina;

15 (e) uno o más péptidos que tienen la secuencia de aminoácidos que se selecciona a partir del grupo que consiste de AMFFWLLL (SEQ ID NO: 7), VIAMFFWLL (SEQ ID NO: 8), AVIAMFFWL (SEQ ID NO: 9), KLIEIGVQT (SEQ ID NO: 10), YMISYAGMV (SEQ ID NO: 11), IQSDVWSFGV (SEQ ID NO: 12) y
20 VLAMFFWLL (SEQ ID NO: 13);

(f) el péptido de (e), en el cual se han sustituido, suprimido o agregado 1, 2 o varios aminoácidos, y en el cual dicho péptido tiene capacidad de inducción de células T citotóxicas;

(g) el péptido de (f), en el cual el segundo aminoácido desde el extremo N-terminal es leucina o metionina; y

(h) el péptido de (f) o (g), en el cual el
5 aminoácido C-terminal es valina o leucina,
como ingrediente activo.

20.- El agente de conformidad con la reivindicación 19, caracterizado porque el efecto terapéutico a mejorar es un efecto terapéutico de la gemcitabina para el tratamiento
10 de cáncer en un individuo, en el cual dicho individuo es HLA-A24-positivo o HLA-A02-positivo.

21.- El agente de conformidad con la reivindicación 20, caracterizado porque dicho cáncer es cáncer de páncreas.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> YAMAUE, Hiroki

<120> TERAPIA COMBINADA PARA EL CANCER DE PANCREAS USANDO UN
PEPTIDO ANTIGENICO Y UN AGENTE QUIMIOTERAPEUTICO

<130> ONC-A0719P

<150> US 60/957,923

<151> 2007-08-24

<160> 13

<170> PatentIn versión 3.4

<210> 1

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

2/7

Arg Phe Val Pro Asp Gly Asn Arg Ile

1

5

<210> 2

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Val Tyr Ser Ser Glu Glu Ala Glu Leu

1

5

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Gly Tyr Arg Ile Tyr Asp Val Val Leu

1

5

3/7

<210> 4

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Ser Tyr Met Ile Ser Tyr Ala Gly Met

1

5

<210> 5

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Lys Trp Glu Phe Pro Arg Asp Arg Leu

1

5

<210> 6

<211> 9

4/7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Asp Phe Leu Thr Leu Glu His Leu Ile

1

5

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Ala Met Phe Phe Trp Leu Leu Leu Val

1

5

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

5/7

<400> 8

Val Ile Ala Met Phe Phe Trp Leu Leu

1

5

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Ala Val Ile Ala Met Phe Phe Trp Leu

1

5

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

6/7

Lys Leu Ile Glu Ile Gly Val Gln Thr

1

5

<210> 11

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Tyr Met Ile Ser Tyr Ala Gly Met Val

1

5

<210> 12

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

7/7

<400> 12

Ile Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val

1

5

10

<210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: Péptido sintético

<400> 13

Val Leu Ala Met Phe Phe Trp Leu Leu

1

5

Figura 1

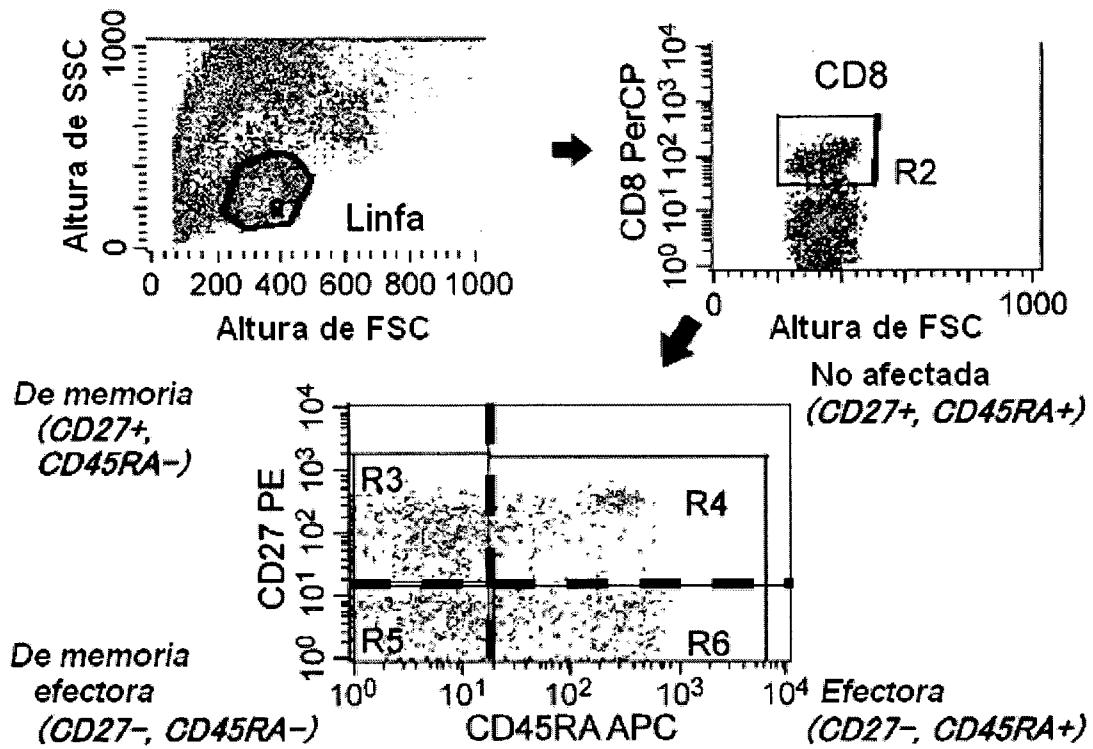


Figura 2

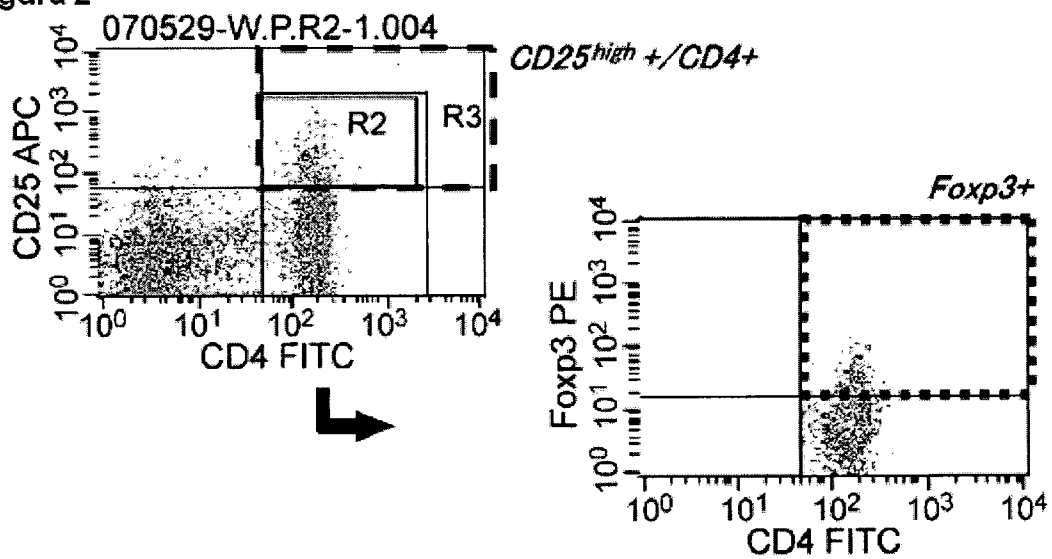


Figura 3

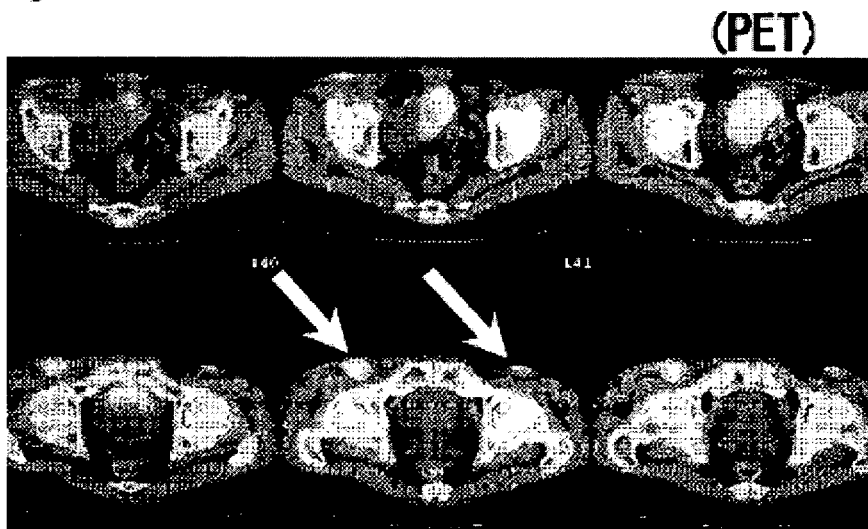


Figura 4

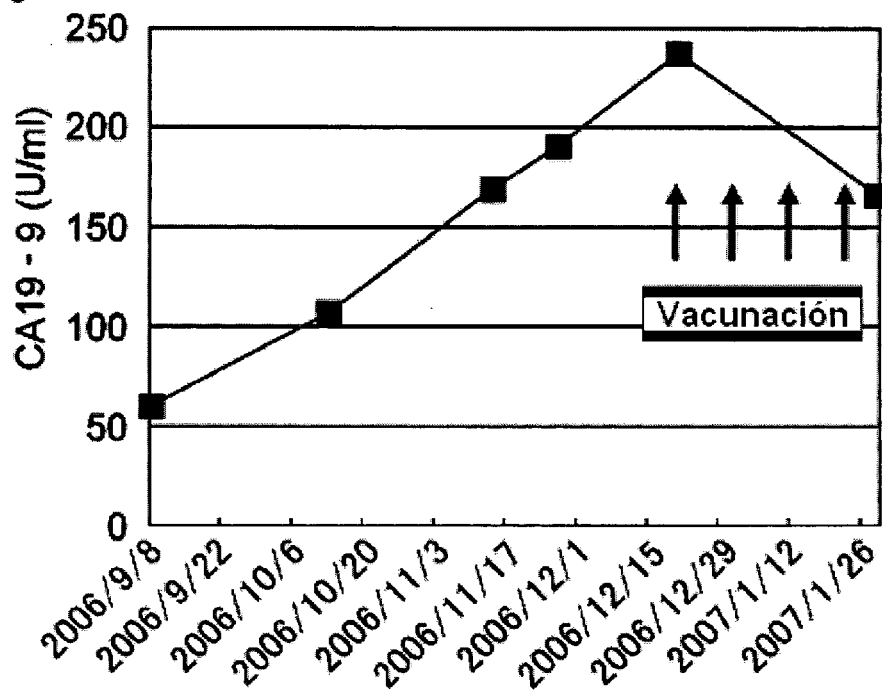


Figura 5

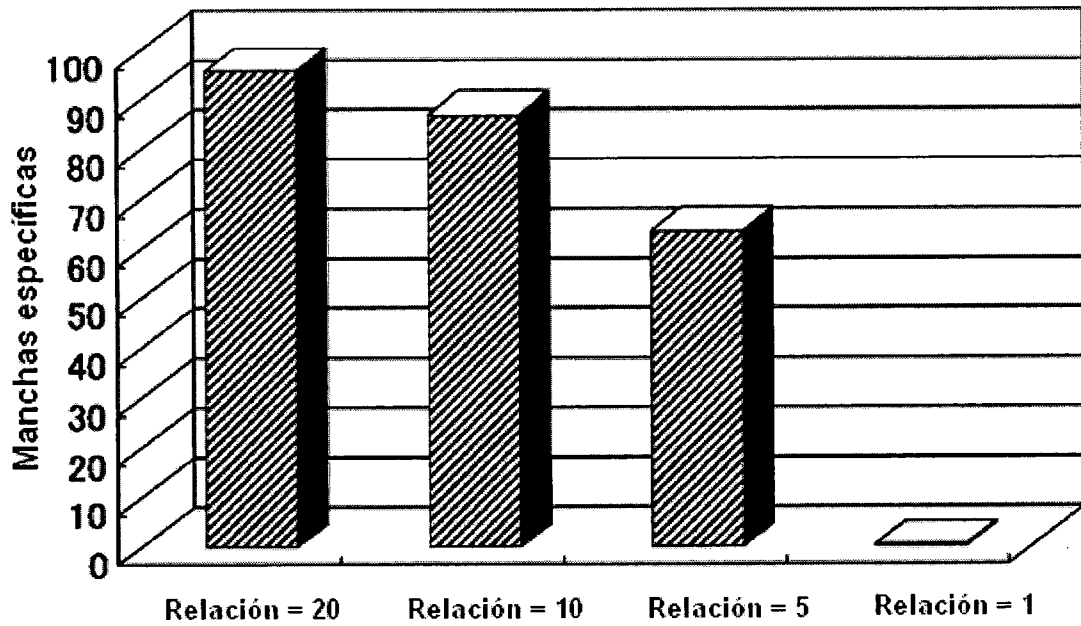


Figura 6

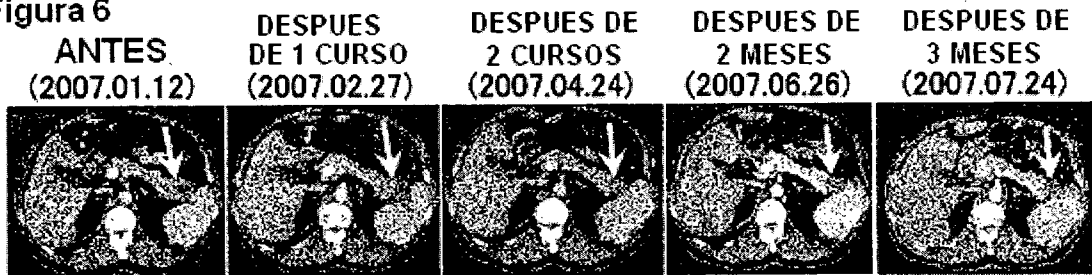


Figura 7

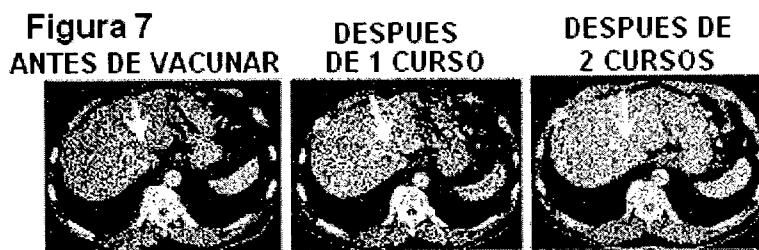


Figura 8

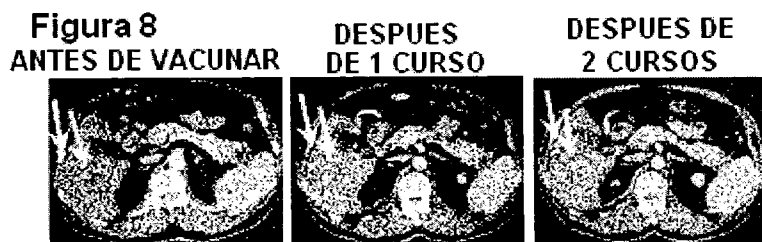


Figura 9

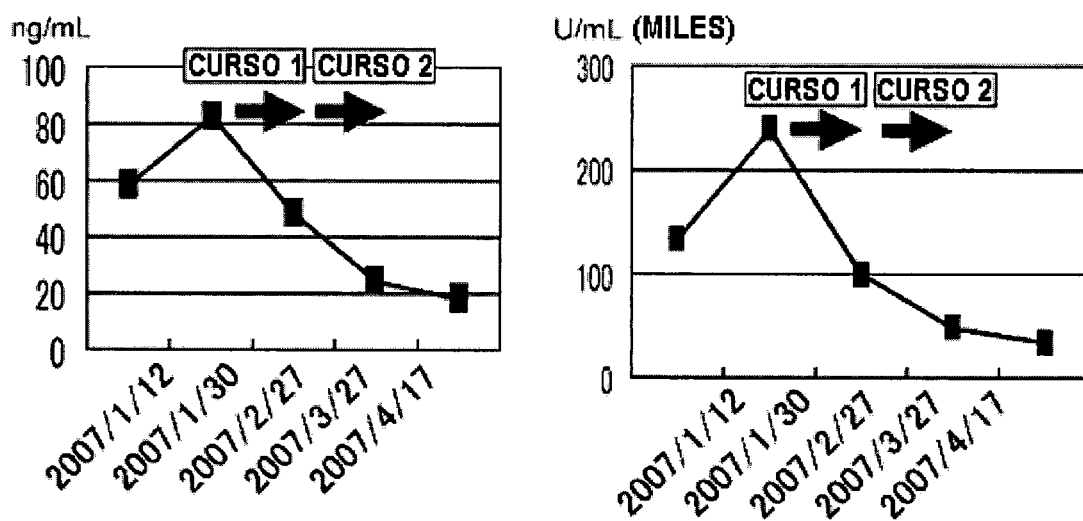


Figura 10

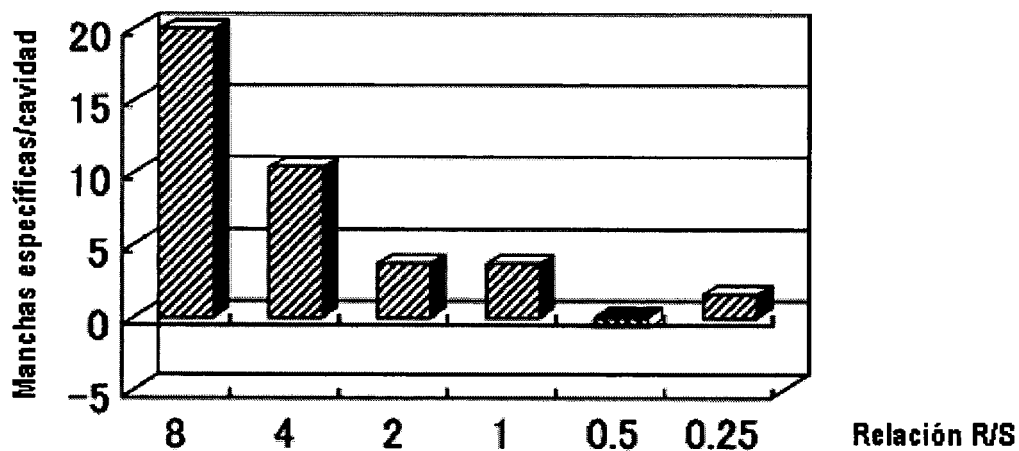


Figura 11

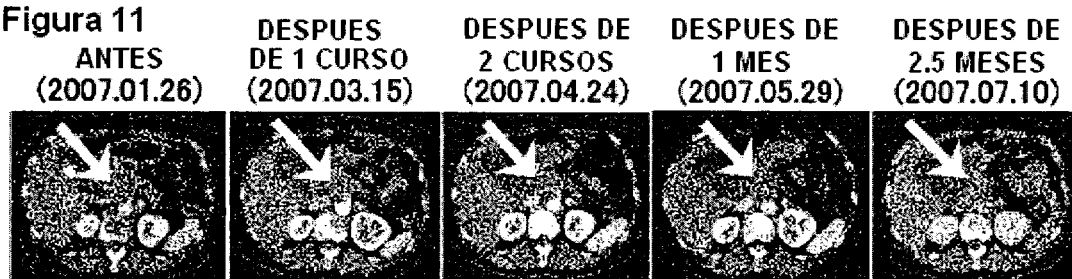


Figura 12

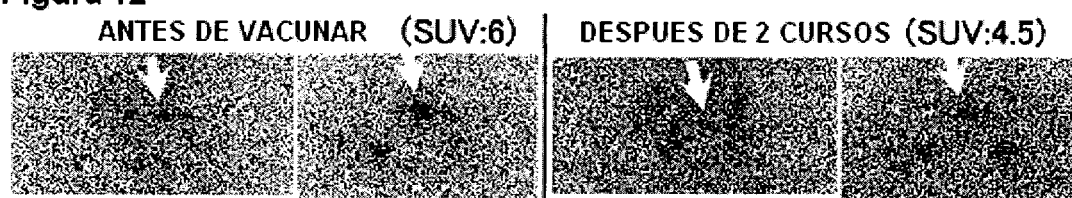


Figura 13

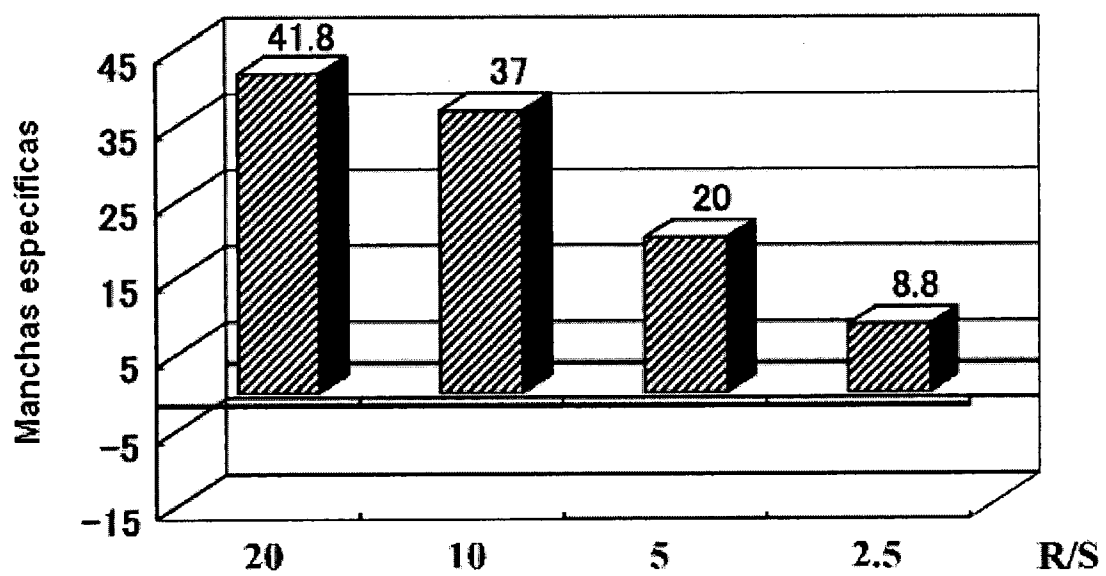


Figura 14

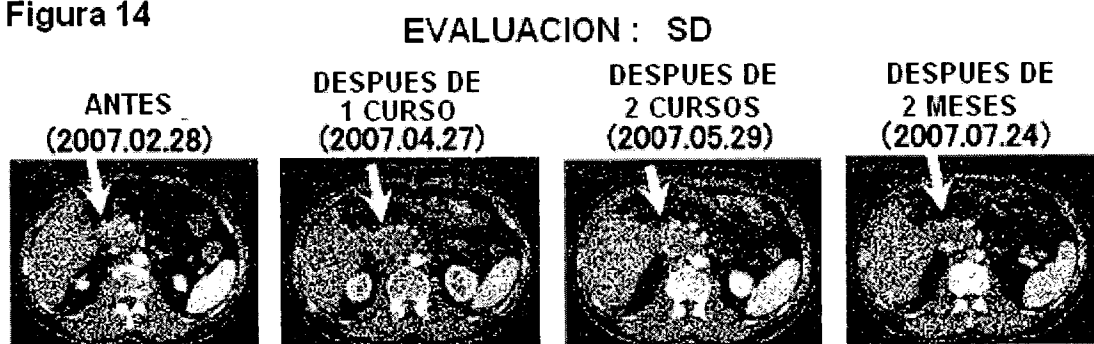
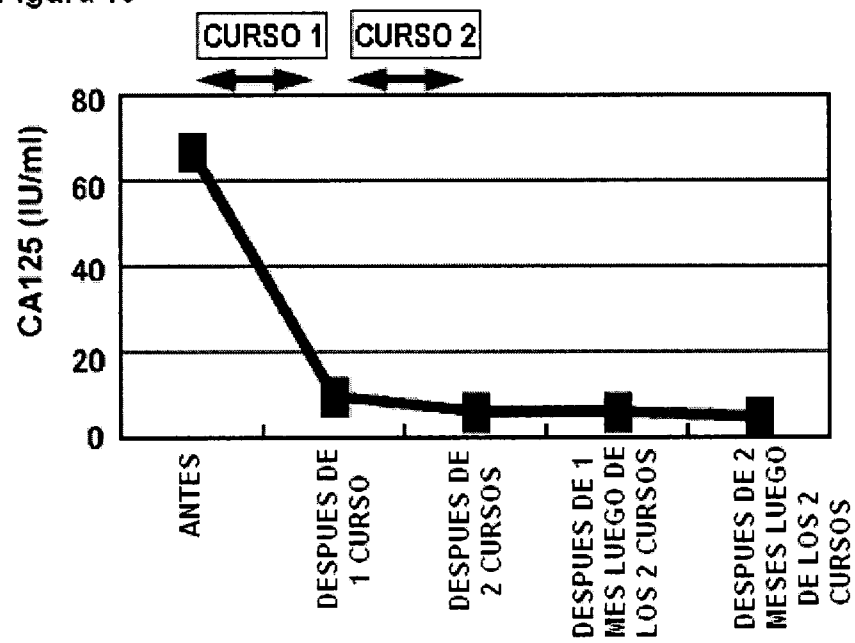
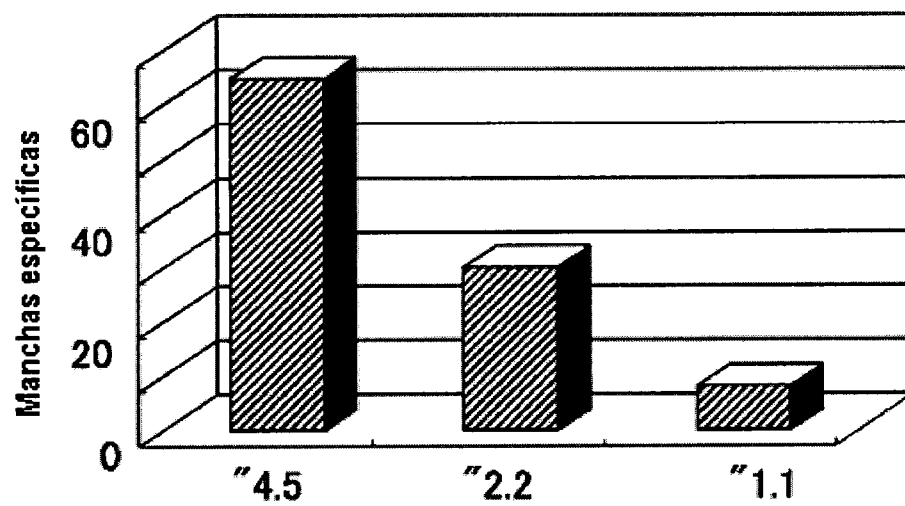


Figura 15



(CEA, CA19-9, DUPAN2: DENTRO DEL INTERVALO NORMAL)

Figura 16



R/S

Figura 17

EVALUACION: SD

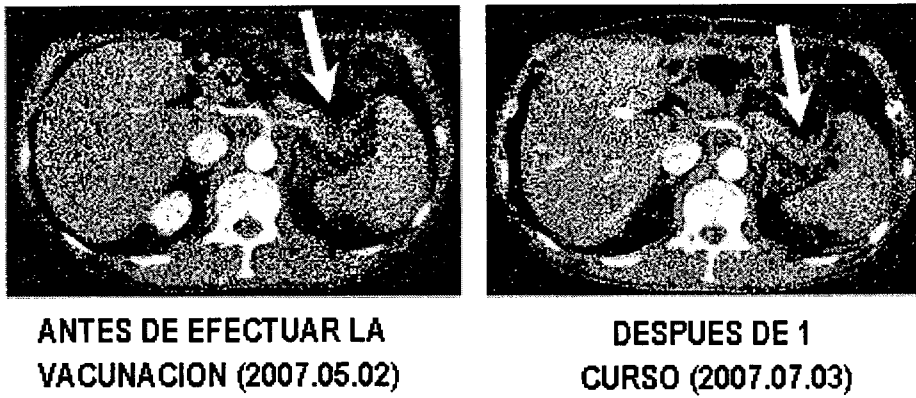
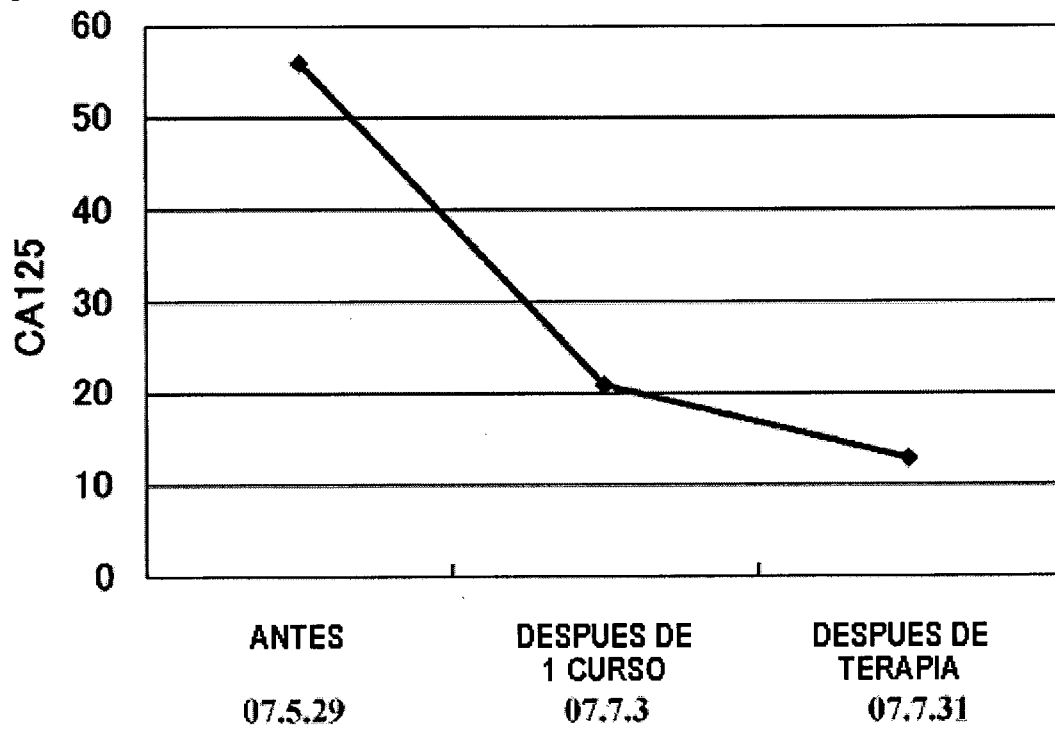


Figura 18



PCT REQUEST

Print Out (Original in Electronic Form)

0	For receiving Office use only	
0-1	International Application No.	PCT/JP2008/002232
0-2	International Filing Date	19 August 2008 (19.08.2008)
0-3	Name of receiving Office and "PCT International Application"	
0-4	Form PCT/RO/101 PCT Request	
0-4-1	Prepared Using	PCT-SAFE Version 3.51.019.194 MT/FOP 20070401/0.20.5.9
0-5	Petition The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty	
0-6	Receiving Office (specified by the applicant)	Japan Patent Office (RO/JP)
0-7	Applicant's or agent's file reference	ONC-A0719P
I	Title of Invention	COMBINATION THERAPY FOR PANCREATIC CANCER USING AN ANTIGENIC PEPTIDE AND CHEMOTHERAPEUTIC AGENT
II	Applicant	
II-1	This person is	applicant and inventor
II-2	Applicant for	all designated States
II-4	Name (LAST, First)	YAMAUE, Hiroki
II-5	Address	c/o Wakayama Medical University, 811-1, Kimiidera, Wakayama-shi, Wakayama 6418509 Japan
II-6	State of nationality	JP
II-7	State of residence	JP

PCT REQUEST

Print Out (Original in Electronic Form)

IV-1	Agent or common representative; or address for correspondence The person identified below is hereby/ has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as:	agent
IV-1-1	Name (LAST, First)	SHIMIZU, Hatsushi
IV-1-2	Address	Kantetsu Tsukuba Bldg. 6F, 1-1-1, Oroshi-machi, Tsuchiura-shi, Ibaraki 3000847 Japan
IV-1-3	Telephone No.	029-841-2001
IV-1-4	Facsimile No.	029-841-2009
IV-1-6	Agent's registration No.	100102978
IV-2	Additional agent(s)	additional agent(s) with same address as first named agent
IV-2-1	Name(s)	OSAKABE, Suguru(100119507); SHIMMI, Hirokazu(100128048); KOBAYASHI, Tomohiko(100129506); INOUE, Ryuichi(100142929)
IV-3	Additional agent(s)	agent
IV-3-1	Name (LAST, First)	WATANABE, Shinichi
IV-3-2	Address	Ishikawa Bldg. 8F, 5-25-16, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 1130033 Japan
IV-3-3	Telephone No.	
IV-3-4	Facsimile No.	
IV-3-5	e-mail	
IV-3-6	Agent's registration No.	100130845
IV-4	Additional agent(s)	agent
IV-4-1	Name (LAST, First)	OHZEKI, Masato
IV-4-2	Address	Ishikawa Bldg. 8F, 5-25-16, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 1130033 Japan
IV-4-3	Telephone No.	
IV-4-4	Facsimile No.	
IV-4-5	e-mail	
IV-4-6	Agent's registration No.	100114340

PCT REQUEST

Print Out (Original in Electronic Form)

V	DESIGNATIONS		
V-1	The filing of this request constitutes under Rule 4.9(a), the designation of all Contracting States bound by the PCT on the international filing date, for the grant of every kind of protection available and, where applicable, for the grant of both regional and national patents.		
VI-1	Priority claim of earlier national application		
VI-1-1	Filing date	24 August 2007 (24.08.2007)	
VI-1-2	Number	60/957,923	
VI-1-3	Country	US	
VI-2	Incorporation by reference : where an element of the international application referred to in Article 11(1)(iii)(d) or (e) or a part of the description, claims or drawings referred to in Rule 20.5(a) is not otherwise contained in this international application but is completely contained in an earlier application whose priority is claimed on the date on which one or more elements referred to in Article 11(1)(iii) were first received by the receiving Office, that element or part is, subject to confirmation under Rule 20.6, incorporated by reference in this international application for the purposes of Rule 20.6.		
VII-1	International Searching Authority Chosen	Japan Patent Office (ISA/JP)	
VIII	Declarations	Number of declarations	
VIII-1	Declaration as to the identity of the inventor	—	
VIII-2	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent	—	
VIII-3	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application	—	
VIII-4	Declaration of inventorship (only for the purposes of the designation of the United States of America)	—	
VIII-5	Declaration as to non-prejudicial disclosures or exceptions to lack of novelty	—	

PCT REQUEST

Print Out (Original in Electronic Form)

IX	Check list	number of sheets	electronic file(s) attached
IX-1	Request (including declaration sheets)	4	✓
IX-2	Description (excluding sequence listing part)	32	✓
IX-3	Claims	6	✓
IX-4	Abstract	1	✓
IX-5	Drawings	7	✓
IX-7a	Sub-total number of sheets	50	
IX-6a	Sequence listing part of description	4	✓
IX-7	TOTAL	54	
	Accompanying Items	paper document(s) attached	electronic file(s) attached
IX-8	Fee calculation sheet	—	✓
IX-17	PCT-SAFE physical media	—	—
IX-19	Figure of the drawings which should accompany the abstract		
IX-20	Language of filing of the international application	English	
X-1	Signature of applicant, agent or common representative	(PKCS7 Digital Signature)	
X-1-1	Name (LAST, First)	SHIMIZU, Hatsushi	
X-1-2	Name of signatory		
X-1-3	Capacity		

FOR RECEIVING OFFICE USE ONLY

10-1	Date of actual receipt of the purported international application	19 August 2008 (19.08.2008)
10-2	Drawings:	
10-2-1	Received	
10-2-2	Not received	
10-3	Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application	
10-4	Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2)	
10-5	International Searching Authority	ISA/JP
10-6	Transmittal of search copy delayed until search fee is paid	

FOR INTERNATIONAL BUREAU USE ONLY

11-1	Date of receipt of the record copy by the International Bureau	
-------------	---	--

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
5 March 2009 (05.03.2009)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2009/028150 A1

(51) International Patent Classification:

A61K 38/00 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/7068 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/JP2008/002232

(22) International Filing Date: 19 August 2008 (19.08.2008)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:

60/957,923 24 August 2007 (24.08.2007) US

(71) Applicant (for all designated States except US):
WAKAYAMA MEDICAL UNIVERSITY [JP/JP];
811-1, Kimiidera, Wakayama-shi, Wakayama, 6418509
(JP).

(72) Inventor; and

(75) Inventor/Applicant (for US only): YAMAUE, Hiroki
[JP/JP]; c/o Wakayama Medical University, 811-1, Kimi-
ideraWakayama-shi, Wakayama, 6418509 (JP).

(74) Agents: SHIMIZU, Hatsushi et al.; Kantetsu Tsukuba
Bldg. 6F, 1-1-1, Oroshi-machi, Tsuchiura-shi, Ibaraki
3000847 (JP).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA,
CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE,
EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID,
IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW,
MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT,
RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ,
TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM,
ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL,
NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

- with international search report
- with sequence listing part of description published sepa-
rately in electronic form and available upon request from
the International Bureau

(54) Title: COMBINATION THERAPY FOR PANCREATIC CANCER USING AN ANTIGENIC PEPTIDE AND
CHEMOTHERAPEUTIC AGENT

(57) Abstract: Described herein is a combination therapy suited to the treatment of pancreatic cancer and the like. Also described
is a method of potentiating the therapeutic effect of chemotherapeutic agents such as gemcitabine.



WO 2009/028150 A1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2008/002232

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl. A61K38/00 (2006.01) i, A61K31/7068 (2006.01) i, A61P35/00 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl. A61K38/00, A61K31/7068, A61P35/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2008
Registered utility model specifications of Japan 1996-2008
Published registered utility model applications of Japan 1994-2008

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

BIOSIS/CAPLUS/EMBASE/MEDLINE (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2004/024766 A1 (ONCOTHERAPY SCIENCE, INC) 2004.03.25, claims 20-22, lines 10-20, page 2, examples & JP 2007-191485 A & US 2006/0216301 A1 & EP 1548032 A1	4-9, 16-21
Y	WADA, S. et al., Rationale for antiangiogenic cancer therapy with vaccination using epitope peptides derived from human vascular endothelial growth factor receptor 2, Cancer Research, 2005, Vol.65, No.11, pp.4939-4946 Abstract, Table 1, Results	4-9, 16-21

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

29.09.2008

Date of mailing of the international search report

07.10.2008

Name and mailing address of the ISA/JP

Japan Patent Office

3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

YASUI Takuya

Telephone No. +81-3-3581-1101 Ext. 3452

4C

3 4 3 7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2008/002232

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	HOU, J-M. et al., Combination of low-dose gemcitabine and recombinant quail vascular endothelial growth factor receptor-2 as a vaccine induces synergistic antitumor activities, Oncology, 2005, Vol.69, pp.81-87 Abstract, line 2-14, page 82, Results and Discussion	4-9,16-21
Y	BRUNS, C.J. et al., Effect of the vascular endothelial growth factor receptor-2 antibody DC101 plus gemcitabine on growth, metastasis and angiogenesis of human pancreatic cancer growing orthotopically in nude mice, International Journal of Cancer, 2002, Vol.102, pp.101-108 Abstract, Results, line 9-15, right column, page 107	4-9,16-21
A	KINDLER, H.L. et al., Phase II trial of bevacizumab plus gemcitabine in patients with advanced pancreatic cancer, Journal of Clinical Oncology, 2005, Vol.23, No.31, pp.8033-8040	4-9,16-21
A	KRAUSE, S. et al., Vascular endothelial growth factor antisense pretreatment of bladder cancer cells significantly enhances the cytotoxicity of mitomycin C, gemcitabine and Cisplatin, The Journal of Urology, 2005, Vol.174, pp.328-331	4-9,16-21
P,X	MIYAZAKI, M. et al., Combination therapy of epitope peptide targeting VEGFR2 and gemcitabine for pancreatic cancer, Suizo, Jun 2008, Vol.23, No.3, p.267 Abstract No.S1-10	4-9,16-21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2008/002232

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 1-3, 10-15
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
The subject matters of claims 1-3, 10-15 relate to methods for treatment of the human by therapy, which do not require an international search by the International Searching Authority in accordance with PCT Article 17(2)(a)(i) and [Rule 39.1(iv)].
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

PATENT COOPERATION TREATY PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)



Applicant's or agent's file reference ONC-A0719P	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/JP2008/002232	International filing date(<i>day/month/year</i>) 19.08.2008	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 24.08.2007
Applicant YAMAUE, Hiroki		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 5 sheets.

☐ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

☒ the international application in the language in which it was filed.

☐ a translation of the international application into _____ which is the language of
a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b)).

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6*bis*(a)).

c. ☒ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☒ **Certain claims were found unsearchable** (see Box No. II).

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No. III).

4. With regard to the **title**,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. With regard to the **drawings**,

a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____

☐ as suggested by the applicant.

☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure.

☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention.

b. ☒ none of the figures is to be published with the abstract.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2008/002232

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of:

a. type of material

- ☒ a sequence listing
- ☐ table(s) related to the sequence listing

b. format of material

- ☐ on paper
- ☒ in electronic form

c. time of filing/furnishing

- ☒ contained in the international application as filed
- ☐ filed together with the international application in electronic form
- ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2008/002232

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 1-3, 10-15
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
The subject matters of claims 1-3, 10-15 relate to methods for treatment of the human by therapy, which do not require an international search by the International Searching Authority in accordance with PCT Article 17(2)(a)(i) and [Rule 39.1(iv)].
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2008/002232

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl. A61K38/00 (2006.01) i, A61K31/7068 (2006.01) i, A61P35/00 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl. A61K38/00, A61K31/7068, A61P35/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2008
 Registered utility model specifications of Japan 1996-2008
 Published registered utility model applications of Japan 1994-2008

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

BIOSIS/Caplus/EMBASE/MEDLINE (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2004/024766 A1 (ONCOTHERAPY SCIENCE, INC) 2004.03.25, claims 20-22, lines 10-20, page 2, examples & JP 2007-191485 A & US 2006/0216301 A1 & EP 1548032 A1	4-9, 16-21
Y	WADA, S. et al., Rationale for antiangiogenic cancer therapy with vaccination using epitope peptides derived from human vascular endothelial growth factor receptor 2, Cancer Research, 2005, Vol.65, No.11, pp.4939-4946 Abstract, Table 1, Results	4-9, 16-21

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

29.09.2008

Date of mailing of the international search report

07.10.2008

Name and mailing address of the ISA/JP

Japan Patent Office

3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

YASUI Takuya

Telephone No. +81-3-3581-1101 Ext. 3452

4C

3 4 3 7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

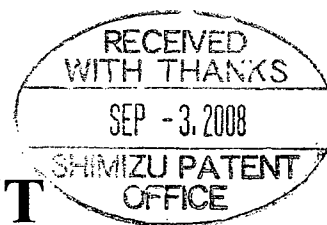
International application No.

PCT/JP2008/002232

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	HOU, J-M. et al., Combination of low-dose gemcitabine and recombinant quail vascular endothelial growth factor receptor-2 as a vaccine induces synergistic antitumor activities, Oncology, 2005, Vol.69, pp.81-87 Abstract, line 2-14, page 82, Results and Discussion	4-9,16-21
Y	BRUNS, C.J. et al., Effect of the vascular endothelial growth factor receptor-2 antibody DC101 plus gemcitabine on growth, metastasis and angiogenesis of human pancreatic cancer growing orthotopically in nude mice, International Journal of Cancer, 2002, Vol.102, pp.101-108 Abstract, Results, line 9-15, right column, page 107	4-9,16-21
A	KINDLER, H.L. et al., Phase II trial of bevacizumab plus gemcitabine in patients with advanced pancreatic cancer, Journal of Clinical Oncology, 2005, Vol.23, No.31, pp.8033-8040	4-9,16-21
A	KRAUSE, S. et al., Vascular endothelial growth factor antisense pretreatment of bladder cancer cells significantly enhances the cytotoxicity of mitomycin C, gemcitabine and Cisplatin, The Journal of Urology, 2005, Vol.174, pp.328-331	4-9,16-21
P,X	MIYAZAKI, M. et al., Combination therapy of epitope peptide targeting VEGFR2 and gemcitabine for pancreatic cancer, Suizo, Jun 2008, Vol.23, No.3, p.267 Abstract No.S1-10	4-9,16-21

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY



PCT

NOTIFICATION OF RECEIPT OF SEARCH COPY

(PCT Rule 25.1)

To:

SHIMIZU, Hatsushi

**Kantetsu Tsukuba Bldg. 6F, 1-1-1, Oros
hi-machi, Tsuchiura-shi, Ibaraki 30008
47 Japan**

Date of mailing
(day/month/year)

02.09.2008

Applicant's or agent's file reference

ONC-A0719P

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.

PCT/ JP2008 / 002232

International filing date (day/month/year)

19.08.2008

Priority date (day/month/year)

24.08.2007

Applicant

YAMAUE, Hiroki

1. Where the International Searching Authority and the receiving Office are not the same Office:

The applicant is hereby notified that the search copy of the international application was received by this International Searching Authority on the date indicated below.

Where the International Searching Authority and the receiving Office are the same Office:

The applicant is hereby notified that the search copy of the international application was received on the date indicated below.

02 . 09 . 2008

(date of receipt).

2. ☐ The search copy was accompanied by a nucleotide and/or amino acid sequence listing or tables related thereto in electronic form.

3. ☐ The search copy contained a nucleotide and/or amino acid sequence listing or tables related thereto in electronic form.

4. Time limit for establishment of international search report and written opinion of the International Searching Authority

The applicant is informed that the time limit for establishing the international search report and the written opinion of the International Searching Authority is three months from the date of receipt indicated above or nine months from the priority date, whichever time limit expires later (Rules 42.1 and 43bis.1(a)).

5. A copy of this notification has been sent to the International Bureau and, where the first sentence of paragraph 1 applies, to the receiving Office.

Name and mailing address of the ISA/

JAPAN PATENT OFFICE

4-3, Kasumigaseki 3 chome,

Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915 Japan

Facsimile No.

Authorized officer

Commissioner

Japan Patent Office

Telephone No. **03-3592-1308**

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY



To:
SHIMIZU, Hatsushi

Kantetsu Tsukuba Bldg. 6F,
1-1-1, Oroshi-machi,
Tsuchiura-shi, Ibaraki 3000847
Japan

PCT

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT AND
THE WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL
SEARCHING AUTHORITY, OR THE DECLARATION

(PCT Rule 44.1)

Date of mailing (day/month/year)	07.10.2008
-------------------------------------	------------

Applicant's or agent's file reference ONC-A0719P

FOR FURTHER ACTION See paragraphs 1 and 4 below
--

International application No. PCT/JP2008/002232
--

International filing date (day/month/year)	19.08.2008
---	------------

Applicant

YAMAUE, Hiroki

1. ☒ The applicant is hereby notified that the international search report and the written opinion of the International Searching Authority have been established and are transmitted herewith.

Filing of amendments and statement under Article 19:

The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the international application (see Rule 46):

When? The time limit for filing such amendments is normally two months from the date of transmittal of the international search report.

Where? Directly to the International Bureau of WIPO, 34 chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland, Facsimile No.: +41 22 338 82 70

For more detailed instructions, see the notes on the accompanying sheet.

2. ☐ The applicant is hereby notified that no international search report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect and the written opinion of the International Searching Authority are transmitted herewith.
3. ☐ **With regard to the protest** against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:
- ☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with the applicant's request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices.
 - ☐ no decision has been made yet on the protest; the applicant will be notified as soon as a decision is made.

4. **Reminders:**

Shortly after the expiration of **18 months** from the priority date, the international application will be published by the International Bureau. If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the international application, or of the priority claim, must reach the International Bureau as provided in Rules 90bis.1 and 90bis.3, respectively, before the completion of the technical preparations for international publication.

Within **19 months** from the priority date, but only in respect of some designated Offices, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase **until 30 months** from the priority date (in some Offices even later); otherwise, the applicant must, **within 20 months** from the priority date, perform the prescribed acts for entry into the national phase before those designated Offices.

In respect of other designated Offices, the time limit of **30 months** (or later) will apply even if no demand is filed within 19 months.

See the Annex to Form PCT/IB/301 and, for details about the applicable time limits, Office by Office, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters and the WIPO Internet site.

Name and mailing address of the ISA/JP	Authorized officer	4C	3 4 3 7
--	--------------------	----	---------

Japan Patent Office

3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan

Commissioner of the Patent Office

Telephone No. +81-3-3581-1101 Ext. 3452

ATTENTIONS

1. An applicant should pay attention that there is an amendment period for requesting to International Bureau computing from the dispatch date of the international search report under Article 19(1) and Rule 46.1.
2. An applicant should pay attention to the period prescribed by Article 22(2).
3. Due to the restriction of acts or contracts, there may be a case in which a part or the whole of non-patent literature described in the international search report is not sent.
4. Request for copies of documents

Copies of the documents described in the international search report:

An applicant can request the copies of these cited documents to the Japan Patent Office, however, National Center for Industrial Property Information and Training (Japan Patent Office building 2nd floor) handles inspection and copying of official gazettes and copying of other document etc.

Contact and Reference

(Official gazettes) Industrial Property Information Reference Department

TEL: +81-3-3581-1101 Ext. 3811,3812

(Others) Industrial Property Reference Materials Department

TEL: +81-3-3581-1101 Ext. 3831,3832,3833

National Center for Industrial Property Information and Training

3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-0013, JAPAN

Japan Patent Information Organization also services sales of the copies of these cited documents. Those who request copying of the cited documents should pay attention to the following points.

Application Method

- (1) As for Patent (Utility Model, Design) Gazette, the following points shall be defined clearly.
 - Types of patent, utility model, and design
 - Fiscal year and number of publication of application or publication of unexamined application (or patent number, registration number)
 - Necessary number of paper sheets
- (2) As for documents except for the gazette, the following points are required attention.
 - Be sure to attach the copy of the international search report (which shall be returned).

Application and Reference

Copying Service Section, Data Processing Department

TEL: +81-3-3508-2313

Japan Patent Information Organization

Sato Daiya Building, 4-1-7, Toyo, Koto-ku, Tokyo 135-0016, JAPAN

Note: The period for requesting the copies of the documents to Japan Patent Office is set to 7 years from the international application date.

NOTES TO FORM PCT/ISA/220

These Notes are intended to give the basic instructions concerning the filing of amendments under Article 19. The Notes are based on the requirements of the Patent Cooperation Treaty, the Regulations and the Administrative Instructions under that Treaty. In case of discrepancy between these Notes and those requirements, the latter are applicable. For more detailed information, see also the *PCT Applicant's Guide*, a publication of WIPO.

In these Notes, "Article," "Rule" and "Section" refer to the provisions of the PCT, the PCT Regulations and the PCT Administrative Instructions, respectively.

INSTRUCTIONS CONCERNING AMENDMENTS UNDER ARTICLE 19

The applicant has, after having received the international search report and the written opinion of the International Searching Authority, one opportunity to amend the claims of the international application. It should however be emphasized that, since all parts of the international application (claims, description and drawings) may be amended during the international preliminary examination procedure, there is usually no need to file amendments of the claims under Article 19 except where, e.g. the applicant wants the latter to be published for the purposes of provisional protection or has another reason for amending the claims before international publication. Furthermore, it should be emphasized that provisional protection is available in some States only (see *PCT Applicant's Guide*, Annexes B1 and B2).

What parts of the international application may be amended ?

Under Article 19, only the claims may be amended.

During the international phase, the claims may also be amended (or further amended) under Article 34 before the International Preliminary Examining Authority. The description and drawings may only be amended under Article 34 before the International Preliminary Examining Authority.

Upon entry into the national phase, all parts of the international application may be amended under Article 28 or, where applicable, Article 41.

When ? Within 2 months from the date of transmittal of the international search report or 16 months from the priority date, whichever time limit expires later. It should be noted, however, that the amendments will be considered as having been received on time if they are received by the International Bureau after the expiration of the applicable time limit but before the completion of the technical preparations for international publication (Rule 46.1).

Where not to file the amendments ?

The amendments may only be filed with the International Bureau and not with the receiving Office or the International Searching Authority (Rule 46.2).

Where a demand for international preliminary examination has been/is filed, see below.

How ? Either by cancelling one or more entire claims, by adding one or more new claims or by amending the text of one or more of the claims as filed.

A replacement sheet must be submitted for each sheet of the claims which, on account of an amendment or amendments, differs from the sheet originally filed.

All the claims appearing on a replacement sheet must be numbered in Arabic numerals. Where a claim is cancelled, no renumbering of the other claims is required. In all cases where claims are renumbered, they must be renumbered consecutively (Administrative Instructions, Section 205(b)).

The amendments must be made in the language in which the international application is to be published.

What documents must/may accompany the amendments ?

Letter (Section 205(b)):

The amendments must be submitted with a letter.

The letter will not be published with the international application and the amended claims. It should not be confused with the "Statement under Article 19(1)" (see below, under "Statement under Article 19(1)").

The letter must be in English or French, at the choice of the applicant. However, if the language of the international application is English, the letter must be in English; if the language of the international application is French, the letter must be in French.

NOTES TO FORM PCT/ISA/220 (continued)

The letter must indicate the differences between the claims as filed and the claims as amended. It must, in particular, indicate, in connection with each claim appearing in the international application (it being understood that identical indications concerning several claims may be grouped), whether

- (i) the claim is unchanged;
- (ii) the claim is cancelled;
- (iii) the claim is new;
- (iv) the claim replaces one or more claims as filed;
- (v) the claim is the result of the division of a claim as filed.

The following examples illustrate the manner in which amendments must be explained in the accompanying letter:

1. [Where originally there were 48 claims and after amendment of some claims there are 51]:
"Claims 1 to 29, 31, 32, 34, 35, 37 to 48 replaced by amended claims bearing the same numbers; claims 30, 33 and 36 unchanged; new claims 49 to 51 added."
2. [Where originally there were 15 claims and after amendment of all claims there are 11]:
"Claims 1 to 15 replaced by amended claims 1 to 11."
3. [Where originally there were 14 claims and the amendments consist in cancelling some claims and in adding new claims]:
"Claims 1 to 6 and 14 unchanged; claims 7 to 13 cancelled; new claims 15, 16 and 17 added." or
"Claims 7 to 13 cancelled; new claims 15, 16 and 17 added; all other claims unchanged."
4. [Where various kinds of amendments are made]:
"Claims 1-10 unchanged; claims 11 to 13, 18 and 19 cancelled; claims 14, 15 and 16 replaced by amended claim 14; claim 17 subdivided into amended claims 15, 16 and 17; new claims 20 and 21 added."

"Statement under Article 19(1)" (Rule 46.4)

The amendments may be accompanied by a statement explaining the amendments and indicating any impact that such amendments might have on the description and the drawings (which cannot be amended under Article 19(1)).

The statement will be published with the international application and the amended claims.

It must be in the language in which the international application is to be published.

It must be brief, not exceeding 500 words if in English or if translated into English.

It should not be confused with and does not replace the letter indicating the differences between the claims as filed and as amended. It must be filed on a separate sheet and must be identified as such by a heading, preferably by using the words "Statement under Article 19(1)."

It may not contain any disparaging comments on the international search report or the relevance of citations contained in that report. Reference to citations, relevant to a given claim, contained in the international search report may be made only in connection with an amendment of that claim.

Consequence if a demand for international preliminary examination has already been filed

If, at the time of filing any amendments and any accompanying statement, under Article 19, a demand for international preliminary examination has already been submitted, the applicant must preferably, at the time of filing the amendments (and any statement) with the International Bureau, also file with the International Preliminary Examining Authority a copy of such amendments (and of any statement) and, where required, a translation of such amendments for the procedure before that Authority (see Rules 55.3(a) and 62.2, first sentence). For further information, see the Notes to the demand form (PCT/IPEA/401).

If a demand for international preliminary examination is made, the written opinion of the International Searching Authority will, except in certain cases where the Authority which established the written opinion does not also act as International Preliminary Examining Authority, be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority. In this case, the applicant is invited to submit to the International Preliminary Examining Authority a written reply together, where appropriate, with amendments before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later (Rule 43bis.1(c)).

Consequence with regard to translation of the international application for entry into the national phase

The applicant's attention is drawn to the fact that, upon entry into the national phase, a translation of the claims as amended under Article 19 may have to be furnished to the designated/elected Offices, instead of, or in addition to, the translation of the claims as filed.

For further details on the requirements of each designated/elected Office, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume II.

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY



To:
SHIMIZU, Hatsushi

Kantetsu Tsukuba Bldg. 6F,
1-1-1, Oroshi-machi,
Tsuchiura-shi, Ibaraki 3000847
Japan

PCT

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY
(PCT Rule 43 bis.1)

Date of mailing (day/month/year)	07.10.2008
-------------------------------------	------------

Applicant's or agent's file reference
ONC-A0719P

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No. PCT/JP2008/002232	International filing date (day/month/year) 19.08.2008	Priority date (day/month/year) 24.08.2007
--	--	--

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
Int.Cl. A61K38/00 (2006.01) i, A61K31/7068 (2006.01) i, A61P35/00 (2006.01) i

Applicant
YAMAUE, Hiroki

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43 bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Date of completion of this opinion		29.09.2008	
Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Authorized officer	4C	3 4 3 7
	YASUI Takuya Telephone No. +81-3-3581-1101 Ext. 3452		

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.

PCT/JP2008/002232

Box No. I Basis of this opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed.
 - ☐ a translation of the international application into _____ which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b)).
2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43 *bis*.1(b)).
3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, this opinion has been established on the basis of:
 - a. type of material
 - ☒ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material
 - ☐ on paper
 - ☒ in electronic form
 - c. time of filing/furnishing
 - ☒ contained in the international application as filed
 - ☐ filed together with the international application in electronic form
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table(s) relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
5. Additional comments:

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.

PCT/JP2008/002232

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

☐ the entire international application.

☒ claims Nos. 1-3, 10-15

because:

☒ the said international application, or the said claims Nos. 1-3, 10-15

relate to the following subject matter which does not require an international search (*specify*):

The subject matters of claims 1-3, 10-15 relate to methods for treatment of the human by therapy.

☐ the description, claims or drawings (indicate particular elements below) or said claims Nos. _____ are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ the claims, or said claims Nos. _____ are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☒ no international search report has been established for said claims Nos. 1-3, 10-15

☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit:

☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rule 13^{ter}.1(a) or (b).

☐ a meaningful opinion could not be formed without the tables related to the sequence listings; the applicant did not, within the prescribed time limit, furnish such tables in electronic form complying with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions, and such tables were not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in electronic form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions.

☐ See Supplemental Box for further details.

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.

PCT/JP2008/002232

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	4-9, 16-21	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	4-9, 16-21	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	4-9, 16-21	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations:

The following documents cited in the ISR have been considered for the purpose of this written opinion.

Document 1: WO 2004/024766 A1 (ONCOTHERAPY SCIENCE, INC) 2004.03.25

Document 2: WADA, S. et al., Cancer Research, 2005, Vol.65,
No.11, pp.4939-4946

Document 3: HOU, J-M. et al., Oncology, 2005, Vol.69, pp.81-87

Document 4: BRUNS, C.J. et al., International Journal of Cancer,
2002, Vol.102, pp.101-108

• The subject matters of Claims 4-9, 16-21 do not involve an inventive step over documents 1-4 for the following reason.

Documents 1 and 2 describe the anti-cancer agent containing the peptides in the present application (document 1: claims 20-22, examples, document 2: Abstract, Table 1, Results). These documents also disclose that these peptides are VEGFR2 epitope peptides, which are useful as vaccine to inhibit growth or angiogenesis in tumors, and that they can be administered to a subject with HLA-A24 or HLA-A02.

The subject matters of claims 4-9, 16-21 differ from documents 1, 2 in combining the VEGFR2 epitope peptides with gemcitabine or in using these peptides to enhance the therapeutic effect of gemcitabine.

However, document 3 describes that the combination of VEGFR2 as an immunotherapeutic vaccine and gemcitabine induces synergistic antitumor and antiangiogenic activities (Abstract, line 2-14, page 82, Results and Discussion).

Document 4 describes that the combination of anti-VEGFR2 antibody and gemcitabine inhibit pancreatic tumor growth and angiogenesis, and that antiangiogenic therapy in combination with cytotoxic chemotherapy provides a promising strategy treatment of pancreatic cancer (Abstract, Results, line 9-15, right column, page 107).

(Continued to the Supplemental Box)

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.

PCT/JP2008/002232

Supplemental Box

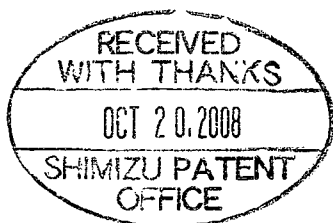
In case the space in any of the preceding boxes is not sufficient.

Continuation of: Box No.V

Therefore, in view of the description of document 3, the person skilled in the art would easily conceive the idea of combining the VEGFR2 epitope peptides in documents 1,2 with gemcitabine (document 3) in order to induce synergistic antitumor/antiangiogenic effect.

Further, in view of the description of document 4, the person skilled in the art would easily conceive the idea of applying such a combination to treat pancreatic cancer.

Additionally, the advantage of antitumor activity in the present application, which is achieved by employing the feature in documents 1-4, can readily be foreseen.



PCT

NOTIFICATION OF RECEIPT OF
RECORD COPY

(PCT Rule 24.2(a))

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

SHIMIZU, Hatsushi
Kantetsu Tsukuba Bldg. 6F
1-1-1, Oroshi-machi
Tsuchiura-shi, Ibaraki 3000847
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 03 October 2008 (03.10.2008)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference ONC-A0719P	International application No. PCT/JP2008/002232

The applicant is hereby **notified** that the International Bureau has received the record copy of the international application as detailed below.

Name(s) of the applicant(s) and State(s) for which they are applicants:

YAMAUE, Hiroki (all designated States)

International filing date:

19 August 2008 (19.08.2008)

Priority date(s) claimed:

24 August 2007 (24.08.2007)

Date of receipt of the record copy by the International Bureau:

04 September 2008 (04.09.2008)

List of designated Offices:

AP: BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW

EA: AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM

EP: AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR

OA: BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG

National: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

ATTENTION: The applicant should carefully check the data appearing in this notification. In case of any discrepancy between these data and the indications in the international application, the applicant should immediately inform the International Bureau. **In addition, the applicant's attention is drawn to the information contained in the Annex, relating to:**

- time limits for entry into the national phase - see **updated important information (as of April 2002)**
- requirements regarding priority documents (if applicable)

A copy of this notification is being sent to the receiving Office and to the International Searching Authority.

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Roux Marianne

Facsimile No. +41 22 338 90 90

e-mail pt07.pct@wipo.int

Telephone No. +41 22 338 74 07

INFORMATION ON ENTERING THE NATIONAL PHASE

The applicant is reminded that the **"national phase"** must be entered before each of the designated Offices indicated on the cover sheet of this notification by paying national fees and furnishing translations, as prescribed by Articles 22 and 39 and the applicable national laws. In addition, the applicant may also have to comply with **other special requirements** applicable in certain Offices. It is the **applicant's responsibility** to ensure that the necessary steps to enter the national phase are taken in a timely fashion. Most Offices do not issue reminders to applicants in connection with the entry into the national phase.

The **applicable time limit** for entering the national phase will, **subject to what is said in the following paragraph**, be **30 MONTHS** from the priority date, not only in respect of any elected Office if a demand for international preliminary examination is filed before the expiration of 19 months from the priority date (see Article 39(1)), but also in respect of any designated Office, in the absence of filing of such demand, where Article 22(1) as modified with effect from 1 April 2002 applies in respect of that designated Office. For further details, see *PCT Gazette* No. 44/2001 of 1 November 2001, pages 19926, 19932 and 19934, as well as the *PCT Newsletter*, October and November 2001 and February 2002 issues.

In practice, **time limits other than the 30-month time limit will continue to apply, for various periods of time**, in respect of certain designated or elected Offices. For **regular updates on the applicable time limits (20, 21, 30 or 31 months, or other time limit)**, Office by Office, refer to the *PCT Gazette* ("Section IV" part published on a weekly basis), to the *PCT Newsletter* (on a monthly basis) and to the relevant National Chapters in Volume II of the *PCT Applicant's Guide* (the paper version of which is updated usually twice a year and the Internet version of which is updated usually on a weekly basis). Finally, a cumulative table of all applicable time limits for entering the national phase is available from WIPO's Internet site, via links from various pages of the site, including those of the *Gazette*, *Newsletter* and *Guide*, at <http://www.wipo.int/pct/en/index.html>.

Information about the requirements for **filing a demand for international preliminary examination** is set out in the *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, Chapter IX. Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination (at present, all PCT Contracting States are bound by Chapter II).

REQUIREMENTS REGARDING PRIORITY DOCUMENTS

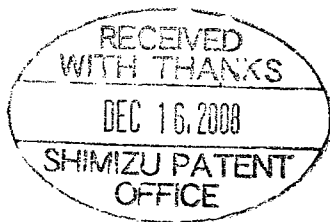
For applicants who have not yet complied with the requirements regarding priority documents, the following is recalled.

Where the priority of an earlier national, regional or international application is claimed, the applicant must submit a copy of the said earlier application, certified by the authority with which it was filed ("the priority document") to the receiving Office (which will transmit it to the International Bureau) or directly to the International Bureau, before the expiration of 16 months from the priority date, provided that any such priority document may still be submitted to the International Bureau before the date of international publication of the international application, in which case that document will be considered to have been received by the International Bureau on the last day of the 16-month time limit (Rule 17.1(a)).

Where the priority document is issued by the receiving Office, the applicant may, instead of submitting the priority document, request the receiving Office to prepare and transmit the priority document to the International Bureau. Such request must be made before the expiration of the 16-month time limit and may be subjected by the receiving Office to the payment of a fee (Rule 17.1(b)).

If the priority document concerned is not submitted to the International Bureau and if the request to the receiving Office to prepare and transmit the priority document has not been made (and the corresponding fee, if any, paid) within the applicable time limit indicated under the preceding paragraphs, any designated State may disregard the priority claim, provided that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances (Rule 17.1(c)).

Where several priorities are claimed, the priority date to be considered for the purposes of computing the 16-month time limit (and all other PCT time limits) is the filing date of the earliest application whose priority is claimed (Article 2(xi)(b)).



From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

To:

SHIMIZU, Hatsushi
Kantetsu Tsukuba Bldg. 6F
1-1-1, Oroshi-machi
Tsuchiura-shi, Ibaraki 3000847
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 28 November 2008 (28.11.2008)	
Applicant's or agent's file reference ONC-A0719P	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/JP2008/002232	International filing date (day/month/year) 19 August 2008 (19.08.2008)
International publication date (day/month/year) Not yet published	Priority date (day/month/year) 24 August 2007 (24.08.2007)
Applicant YAMAUE, Hiroki	

1. By means of this Form, which replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents, the applicant is hereby notified of the date of receipt by the International Bureau of the priority document(s) relating to all earlier application(s) whose priority is claimed. Unless otherwise indicated by the letters "NR", in the right-hand column or by an asterisk appearing next to a date of receipt, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
2. (If applicable) The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which, on the date of mailing of this Form, had not yet been received by the International Bureau under Rule 17.1(a) or (b). Where, under Rule 17.1(a), the priority document must be submitted by the applicant to the receiving Office or the International Bureau, but the applicant fails to submit the priority document within the applicable time limit under that Rule, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
3. (If applicable) An asterisk (*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b) (the priority document was received after the time limit prescribed in Rule 17.1(a) or the request to prepare and transmit the priority document was submitted to the receiving Office after the applicable time limit under Rule 17.1(b)). Even though the priority document was not furnished in compliance with Rule 17.1(a) or (b), the International Bureau will nevertheless transmit a copy of the document to the designated Offices, for their consideration. In case such a copy is not accepted by the designated Office as the priority document, Rule 17.1(c) provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

<u>Priority date</u>	<u>Priority application No.</u>	<u>Country or regional Office or PCT receiving Office</u>	<u>Date of receipt of priority document</u>
24 August 2007 (24.08.2007)	60/957,923	US	20 November 2008 (20.11.2008)

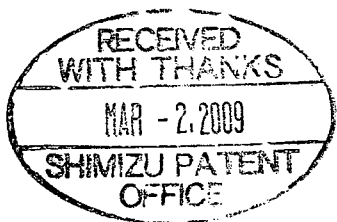
The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Yoshiko Kuwahara

Facsimile No. +41 22 338 82 70

e-mail PT07.PCT@WIPO.INT
Telephone No. +41 22 338 74 07



PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

SHIMIZU, Hatsushi
Kantetsu Tsukuba Bldg. 6F
1-1-1, Oroshi-machi
Tsuchiura-shi, Ibaraki 3000847
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 16 February 2009 (16.02.2009)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference ONC-A0719P	
International application No. PCT/JP2008/002232	International filing date (day/month/year) 19 August 2008 (19.08.2008)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☐ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address

State of Nationality State of Residence

Telephone No.

Facsimile No.

E-mail address

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☒ the person ☐ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address

State of Nationality State of Residence

WAKAYAMA MEDICAL UNIVERSITY
511-1, Kimiidera
Wakayama-shi, Wakayama
6418509
Japan

JP

JP

Telephone No.

Facsimile No.

E-mail address

☐ Notifications by e-mail authorized

3. Further observations, if necessary:

The person identified in Box 2 should be added to the record as applicant for all designated States except the United States of America

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office	☐ the designated Offices concerned
☐ the International Searching Authority	☐ the elected Offices concerned
☐ the International Preliminary Examining Authority	☐ other:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

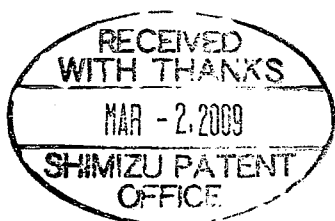
Authorized officer

Fujino Kaori

Facsimile No. +41 22 338 90 90

e-mail pt07.pct@wipo.int

Telephone No. +41 22 338 74 07



From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

SHIMIZU, Hatsushi
Kantetsu Tsukuba Bldg. 6F
1-1-1, Oroshi-machi
Tsuchiura-shi, Ibaraki 3000847
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 16 February 2009 (16.02.2009)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference ONC-A0719P	
International application No. PCT/JP2008/002232	International filing date (day/month/year) 19 August 2008 (19.08.2008)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address

YAMAUE, Hiroki
c/o Wakayama Medical University, 811-1, KimiideraWakayama-shi,
Wakayama
6418509
JapanState of Nationality
JPState of Residence
JP

Telephone No.

Facsimile No.

E-mail address

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☒ the person ☐ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address

YAMAUE, Hiroki
c/o Wakayama Medical University, 811-1, KimiideraWakayama-shi,
Wakayama
6418509
JapanState of Nationality
JPState of Residence
JP

Telephone No.

Facsimile No.

E-mail address

☐ Notifications by e-mail authorized

3. Further observations, if necessary:

The person identified in Box 2 is now recorded as applicant for the United States of America only and inventor for all designated States.

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office	☐ the designated Offices concerned
☐ the International Searching Authority	☐ the elected Offices concerned
☐ the International Preliminary Examining Authority	☐ other:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Fujino Kaori

Facsimile No. +41 22 338 90 90

e-mail pt07.pct@wipo.int

Telephone No. +41 22 338 74 07

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

FIRST NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF
THE COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL
APPLICATION (TO DESIGNATED OFFICES WHICH
DO NOT APPLY THE 30 MONTH TIME LIMIT
UNDER ARTICLE 22(1))

(PCT Rule 47.1(c))

To:

SHIMIZU, Hatsushi
Kantetsu Tsukuba Bldg. 6F
1-1-1, Oroshi-machi
Tsuchiura-shi, Ibaraki 3000847
JAPON

RECEIVED
WITH THANKS

APR - 7, 2009

SHIMIZU PATENT
OFFICE

Date of mailing (day/month/year) 26 March 2009 (26.03.2009)		IMPORTANT NOTICE	
Applicant's or agent's file reference ONC-A0719P			
International application No. PCT/JP2008/002232	International filing date (day/month/year) 19 August 2008 (19.08.2008)	Priority date (day/month/year) 24 August 2007 (24.08.2007)	
Applicant WAKAYAMA MEDICAL UNIVERSITY et al			

- ATTENTION:** For any designated Office(s), for which the time limit under Article 22(1), as in force from 1 April 2002 (30 months from the priority date), **does apply**, please see Form PCT/IB/308(Second and Supplementary Notice) (to be issued promptly after the expiration of 28 months from the priority date).
- Notice is hereby given that the following designated Office(s), for which the time limit under Article 22(1), as in force from 1 April 2002, **does not apply**, has/have requested that the communication of the international application, as provided for in Article 20, be effected under Rule 93bis.1. The International Bureau has effected that communication on the date indicated below:
05 March 2009 (05.03.2009)

None

In accordance with Rule 47.1(c-bis)(i), those Offices will accept the present notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

- The following designated Offices, for which the time limit under Article 22(1), as in force from 1 April 2002, **does not apply**, have not requested, as at the time of mailing of the present notice, that the communication of the international application be effected under Rule 93bis.1 :

LU, TZ, UG

In accordance with Rule 47.1(c-bis)(ii), those Offices accept the present notice as conclusive evidence that the Contracting State for which that Office acts as a designated Office does not require the furnishing, under Article 22, by the applicant of a copy of the international application.

4. TIME LIMITS for entry into the national phase

For the designated Office(s) listed above, and unless a demand for international preliminary examination has been filed before the expiration of **19 months** from the priority date (see Article 39(1)), the applicable time limit for entering the national phase will, **subject to what is said in the following paragraph**, be **20 MONTHS** from the priority date.

In practice, **time limits other than the 20-month time limit** will continue to apply, for various periods of time, in respect of certain of the designated Offices listed above. For **regular updates on the applicable time limits** (20 or 21 months, or other time limit), Office by Office, refer to the *PCT Gazette*, the *PCT Newsletter* and the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters, all available from WIPO's Internet site, at <http://www.wipo.int/pct/en/index.html>.

It is the applicant's **sole responsibility** to monitor all these time limits.

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Yoshiko Kuwahara

Facsimile No. +41 22 338 82 70

e-mail: pt07.pct@wipo.int

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

SECOND AND SUPPLEMENTARY NOTICE
INFORMING THE APPLICANT OF THE
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL
APPLICATION (TO DESIGNATED OFFICES
WHICH APPLY THE 30 MONTH TIME
LIMIT UNDER ARTICLE 22(1))

(PCT Rule 47.1(c))

To:

SHIMIZU, Hatsushi
Kantetsu Tsukuba Bldg. 6F
1-1-1, Oroshi-machi
Tsuchiura-shi, Ibaraki 3000847
JAPON



Date of mailing (day/month/year) 30 December 2009 (30.12.2009)		
Applicant's or agent's file reference ONC-A0719P		IMPORTANT NOTICE
International application No. PCT/JP2008/002232	International filing date (day/month/year) 19 August 2008 (19.08.2008)	
Applicant ONCOTHERAPY SCIENCE, INC. et al		Priority date (day/month/year) 24 August 2007 (24.08.2007)

1. **ATTENTION:** For any designated Office(s), for which the time limit under Article 22(1), as in force from 1 April 2002 (30 months from the priority date), **does not apply**, please see Form PCT/IB/308(First Notice) issued previously.

2. Notice is hereby given that the following designated Office(s), for which the time limit under Article 22(1), as in force from 1 April 2002, **does apply**, has/have requested that the communication of the international application, as provided for in Article 20, be effected under Rule 93bis.1. The International Bureau has effected that communication on the date indicated below:
05 March 2009 (05.03.2009)

AU, AZ, BY, CN, CO, DZ, EP, HU, KG, KP, KR, MD, MK, MY, MZ, NA, NG, PG, RU, SY, TM, US

In accordance with Rule 47.1(c-bis)(i), those Offices will accept the present notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

3. The following designated Offices, for which the time limit under Article 22(1), as in force from 1 April 2002, **does apply**, have not requested, as at the time of mailing of the present notice, that the communication of the international application be effected under Rule 93bis.1:

AE, AG, AL, AM, AO, AP, AT, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BZ, CA, CH, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, EA, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KM, KN, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LY, MA, ME, MG, MN, MW, MX, NI, NO, NZ, OA, OM, PH, PL, PT, RO, RS, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, TJ, TN, TR, TT, UA, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

In accordance with Rule 47.1(c-bis)(ii), those Offices accept the present notice as conclusive evidence that the Contracting State for which that Office acts as a designated Office does not require the furnishing, under Article 22, by the applicant of a copy of the international application.

4. TIME LIMITS for entry into the national phase

For the designated or elected Office(s) listed above, the applicable time limit for entering the national phase will, **subject to what is said in the following paragraph**, be **30 MONTHS** from the priority date.

In practice, **time limits other than the 30-month time limit** will continue to apply, for various periods of time, in respect of certain of the designated or elected Office(s) listed above. For **regular updates on the applicable time limits** (30 or 31 months, or other time limit), Office by Office, refer to the *PCT Gazette*, the *PCT Newsletter* and the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters, all available from WIPO's Internet site, at <http://www.wipo.int/pct/en/index.html>.

It is the applicant's **sole responsibility** to monitor all these time limits.

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

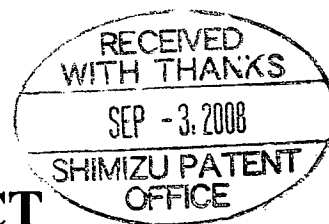
Facsimile No. +41 22 338 82 70

Authorized officer

Yoshiko Kuwahara

e-mail: pt07.pct@wipo.int

PATENT COOPERATION TREATY



PCT

From the RECEIVING OFFICE

To:
SHIMIZU, Hatsushi

Kantetsu Tsukuba Bldg. 6F, 1-1-1, Oros
 hi-machi, Tsuchiura-shi, Ibaraki 30008
 47 Japan

NOTIFICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION NUMBER AND OF THE INTERNATIONAL FILING DATE

(PCT Rule 20.2(c))

Date of mailing (day/month/year) 02.09.2008		
Applicant's or agent's file reference ONC-A0719P	IMPORTANT NOTIFICATION	
International application No. PCT/ JP2008 / 002232	International filing date (day/month/year) 19.08.2008	Priority date (day/month/year) 24.08.2007
Applicant YAMAUE, Hiroki		

1. The applicant is hereby notified that the international application has been accorded the international application number and the international filing date indicated above.
2. The applicant is further notified that the record copy of the international application:

☒ was transmitted to the International Bureau on 02 . 09 . 2008

* The International Bureau monitors the transmittal of the record copy by the receiving Office and will notify the applicant (with Form PCT/RO/301) of its receipt. Should the record copy not have been received by the expiration of 14 months from the priority date, the International Bureau will notify the applicant (Rule 22.1(c)).

Name and mailing address of the receiving Office JAPAN PATENT OFFICE 4-3, Kasumigaseki 3-chome, Chiyoda-ku, TOKYO 100-8915 JAPAN Telephone No. 03-3592-1308	Authorized officer Commissioner
--	---

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE

(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

SHIMIZU, Hatsushi
Kantetsu Tsukuba Bldg. 6F
1-1-1, Oroshi-machi
Tsuchiura-shi, Ibaraki 3000847
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 16 February 2009 (16.02.2009)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference ONC-A0719P	
International application No. PCT/JP2008/002232	International filing date (day/month/year) 19 August 2008 (19.08.2008)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☐ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address	State of Nationality	State of Residence
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address	

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☒ the person ☐ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address WAKAYAMA MEDICAL UNIVERSITY 811-1, Kimiidera Wakayama-shi, Wakayama 6418509 Japan	State of Nationality JP	State of Residence JP
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address ☐ Notifications by e-mail authorized	

3. Further observations, if necessary:
The person identified in Box 2 should be added to the record as applicant for all designated States except the United States of America

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office	☐ the designated Offices concerned
☐ the International Searching Authority	☐ the elected Offices concerned
☐ the International Preliminary Examining Authority	☐ other:

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Fujino Kaori e-mail pt07.pct@wipo.int Telephone No. +41 22 338 74 07
Facsimile No. +41 22 338 90 90	

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE

(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

SHIMIZU, Hatsushi
Kantetsu Tsukuba Bldg. 6F
1-1-1, Oroshi-machi
Tsuchiura-shi, Ibaraki 3000847
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 16 February 2009 (16.02.2009)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference ONC-A0719P	
International application No. PCT/JP2008/002232	International filing date (day/month/year) 19 August 2008 (19.08.2008)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address YAMAUE, Hiroki c/o Wakayama Medical University, 811-1, KimiideraWakayama-shi, Wakayama 6418509 Japan	State of Nationality JP	State of Residence JP
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address	

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☒ the person ☐ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address YAMAUE, Hiroki c/o Wakayama Medical University, 811-1, KimiideraWakayama-shi, Wakayama 6418509 Japan	State of Nationality JP	State of Residence JP
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address ☐ Notifications by e-mail authorized	

3. Further observations, if necessary:
The person identified in Box 2 is now recorded as applicant for the United States of America only and inventor for all designated States.

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office	☐ the designated Offices concerned
☐ the International Searching Authority	☐ the elected Offices concerned
☐ the International Preliminary Examining Authority	☐ other:

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Fujino Kaori e-mail pt07.pct@wipo.int Telephone No. +41 22 338 74 07
---	--

Facsimile No. +41 22 338 90 90

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

To:

SHIMIZU, Hatsushi
Kantetsu Tsukuba Bldg. 6F
1-1-1, Oroshi-machi
Tsuchiura-shi, Ibaraki 3000847
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 28 November 2008 (28.11.2008)	
Applicant's or agent's file reference ONC-A0719P	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/JP2008/002232	International filing date (day/month/year) 19 August 2008 (19.08.2008)
International publication date (day/month/year) Not yet published	Priority date (day/month/year) 24 August 2007 (24.08.2007)
Applicant YAMAUE, Hiroki	

1. By means of this Form, which replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents, the applicant is hereby notified of the date of receipt by the International Bureau of the priority document(s) relating to all earlier application(s) whose priority is claimed. Unless otherwise indicated by the letters "NR", in the right-hand column or by an asterisk appearing next to a date of receipt, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
2. (If applicable) The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which, on the date of mailing of this Form, had not yet been received by the International Bureau under Rule 17.1(a) or (b). Where, under Rule 17.1(a), the priority document must be submitted by the applicant to the receiving Office or the International Bureau, but the applicant fails to submit the priority document within the applicable time limit under that Rule, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
3. (If applicable) An asterisk (*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b) (the priority document was received after the time limit prescribed in Rule 17.1(a) or the request to prepare and transmit the priority document was submitted to the receiving Office after the applicable time limit under Rule 17.1(b)). Even though the priority document was not furnished in compliance with Rule 17.1(a) or (b), the International Bureau will nevertheless transmit a copy of the document to the designated Offices, for their consideration. In case such a copy is not accepted by the designated Office as the priority document, Rule 17.1(c) provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Priority date	Priority application No.	Country or regional Office or PCT receiving Office	Date of receipt of priority document
24 August 2007 (24.08.2007)	60/957,923	US	20 November 2008 (20.11.2008)

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Yoshiko Kuwahara

e-mail PT07.PCT@WIPO.INT

Telephone No. +41 22 338 74 07

Facsimile No. +41 22 338 82 70



No. 10-023987- -00000-0000

Fecha: 2010-03-01 15:42:32 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 145

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decision 486/00

- ☐ Indicación que se solicita una patente.
 - ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
 - ☐ Descripción de la invención
 - ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
 - ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
- Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

- ☒ Indicación que se solicita una PCT
 - ☒ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
 - ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
 - ☒ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
- Completa ☐ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita Diseño industrial
 - ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
 - ☐ Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
 - ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas
- Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado
 - ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
 - ☐ Representación gráfica de un esquema de trazado
 - ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas
- Completa ☐ Incompleta ☐



Bogotá,
2020

Doctor(a)
RODRIGUEZ D^a ALEMAN DILIA MARIA

REFERENCIA	Radicación No.	10 23987
	Solicitud internacional	PCT/JP2008/002232
	Fecha inicio fase nacional	21/09/2010
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	005052

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.

2. El solicitante debe presentar un nuevo título que permita identificar la materia de la cual trata la solicitud, ya que el título relacionado no se encuentra con la precisión necesaria para identificar claramente el objeto de la solicitud de patente. (Regla 4.3 PCT, Art 26-27 D-486, Circular única 5.2.9)

3. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal

Al contestar favor indique el número de radicación consignado en el rótulo

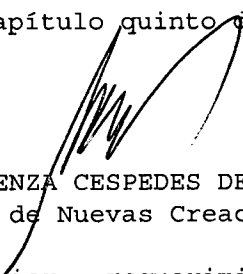
Continúa en la página siguiente...

Sede Centro: Carrera 13 No. 27-00 pisos 2, 5, 7 y 10 PBX: 5870000
Sede CAN: Av. Carrera 50 No. 26 - 55 int.2. Tel 5880070
Call Center 6513240. Línea 01800-910165
Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co
Bogotá D.C. Colombia



Radicación No.:10 23987

e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Directora de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha 16 ABR. 2010
adpall