(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 688 653**

(51) Int. CI.:

A61K 38/17 (2006.01)
A61K 38/16 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 35/76 (2015.01)
C12N 7/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.11.2013 PCT/US2013/071246**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **30.05.2014 WO14081937**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.11.2013 E 13856989 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.07.2018 EP 2922564**

(54) Título: **Poliovirus oncolítico para tumores humanos**

(30) Prioridad:

21.11.2012 US 201261729021 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.11.2018

(73) Titular/es:

DUKE UNIVERSITY (100.0%)
2812 Erwin Road Suite 306 P.O. Box 90083
Durham, North Carolina 90083, US

(72) Inventor/es:

GROMEIER, MATTHIAS;
SAMPSON, JOHN H.;
BIGNER, DARELL D.;
DESJARDINS, ANNICK y
FRIEDMAN, HENRY S.

(74) Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Poliovirus oncolítico para tumores humanos

Campo técnico de la invención

Esta invención está relacionada con el área de terapia anti-tumoral. En particular, se refiere a la terapia anti-tumoral por virus oncolíticos.

Antecedentes de la invención

PVS-RIPO es un poliovirus (PV) oncolítico recombinante. Consiste en la vacuna de PV tipo 1(Sabin) atenuada viva que contiene un sitio interno de entrada al ribosoma (IRES) extraño del rinovirus humano tipo 2 (HV2). El IRES es un elemento genético que actúa en cis situado en la región no traducida 5' del genoma del PV, que media la traducción independiente de m^7G-cap vírica.

La terapia oncolítica de PVS-RIPO se ha presentado en ensayos de cultivo tisular (6, 7, 10, 15-17) y en modelos de tumor animal, pero no en ensayos clínicos en seres humanos. Debido a las diferencias entre el cultivo tisular, los modelos animales y los seres humanos, la eficacia es impredecible. Además, los preparados víricos usados en estudios pre-clínicos a menudo son impuros, de manera que no puede atribuirse cualquier actividad al agente bajo investigación.

La técnica no proporciona ejemplos de agentes víricos oncolíticos en que la actividad biológica en modelos tumorales predijera correctamente la eficacia en los pacientes. La razón para esto es que la terapia vírica oncolítica es el resultado de una compleja relación triangular entre (a) las células malignas infectadas, (b) el microentorno tumoral no maligno, y (c) el sistema inmune del huésped. Un sistema de dicha complejidad e intrincamiento no se ha recreado en ningún modelo animal.

Hay una necesidad actual en la técnica de identificar y desarrollar tratamientos anti-cancerígenos efectivos para seres humanos, particularmente para pacientes con tumores cerebrales.

Compendio de la invención

La presente invención se define en las reivindicaciones.

La presente invención proporciona un constructo de poliovirus quimérico que comprende una cepa Sabin tipo I de poliovirus con un sitio interno de entrada al ribosoma (IRES) del rinovirus humano 2 (HV2) en la región no traducida 5' de dicho poliovirus entre la forma de trébol de dicho poliovirus y el marco de lectura abierta de dicho poliovirus, para usar en el tratamiento de un ser humano que alberga un tumor sólido que expresa NECL5 (proteína tipo nectina 5), en donde el constructo se va a administrar directamente al tumor en el ser humano.

También se proporciona un preparado farmacéutico clínico de un constructo de poliovirus quimérico, que comprende una suspensión de una cepa Sabin tipo I de poliovirus con un sitio interno de entrada al ribosoma (IRES) del rinovirus humano 2 (HV2) en la región no traducida 5' de dicho poliovirus entre la forma de trébol de dicho poliovirus y el marco de lectura abierta de dicho poliovirus, y el Gd-DTPA de contraste para la infusión intratumoral.

Estas y otras realizaciones serán evidentes para los expertos en la técnica tras leer la memoria.

Breve descripción de los dibujos

Fig. 1A-1B (anteriormente Fig. 8) La infusión intratumoral de PVS-RIPO induce la regresión tumoral gradual. Fig. 1A. Volúmenes tumorales tras tratamiento simulado (□) o con PVS-RIPO (■). Fig. 1B. Recuperación promedio del virus de los tumores a los intervalos indicados.

Fig. 2 (anteriormente Fig. 12). IRM del 16/04/2012. IRM ponderada en T1, axial, posterior al contraste, que muestra la progresión de la enfermedad.

Fig. 3 (anteriormente Fig. 13). IRM del 09/05/2012. IRM ponderada en T1, axial, posterior al contraste, obtenida antes de la infusión de PVS-RIPO.

Fig. 4 (anteriormente Fig. 14). IRM del 11/05/2012. IRM ponderada en T1, axial, posterior al contraste, que muestra la distribución del contraste Gd-DTPA y – presumiblemente - PVS-RIPO en el cerebro.

Fig. 5 (anteriormente Fig. 15). IRM del 06/06/2012. IRM ponderada en T1, axial, posterior al contraste, que muestra la estabilidad de la enfermedad.

Fig. 6 (anteriormente Fig. 16). IRM del 09/07/2012. IRM ponderada en T1, axial, posterior al contraste, reveló preocupaciones por la progresión de la enfermedad.

Fig. 7 (anteriormente Fig. 17). Escáner 18-FDG PET del 11/07/12. Los resultados sugieren la ausencia de actividad hipermetabólica en el área de interés en la IRM.

Descripción detallada de la invención

Los inventores han desarrollado un constructo vírico para usar en seres humanos. Anteriormente, los preparados de grado de laboratorio del constructo vírico se han probado en cultivo celular y en modelos animales. Pero estas pruebas nos son suficientes para atribuir ningún efecto al constructo vírico en sí mismo, más que a otros elementos en los preparados de grado de laboratorio, en bruto. Además, como se sabe bien en la técnica, el cultivo celular y los modelos animales no son predictivos de la eficacia en seres humanos.

Puesto que el poliovirus es un agente de enfermedad potencial, deben tomarse precauciones extra para asegurar que los agentes que provocan la enfermedad no se introducen en los sujetos. Usando buenos procedimientos de fabricación y purificaciones, se fabricó un preparado que era lo suficientemente puro para permitir la introducción en seres humanos en un ensayo.

Puede usarse cualquier técnica para administrar de forma directa el preparado al tumor. La administración directa no depende de la vasculatura sanguínea para acceder al tumor. El preparado puede pintarse en la superficie del tumor, inyectarse en el tumor, instilarse en o al sitio del tumor durante cirugía, infundirse en el tumor por medio de un catéter, etc. Una técnica particular que puede usarse es la distribución mejorada por convección.

Cualquier tumor humano puede tratarse, incluyendo tumores tanto pediátricos como de adultos. El tumor puede estar en cualquier órgano, por ejemplo, cerebro, próstata, mama, pulmón, colon y recto. Diversos tipos de tumores pueden ser tratados, incluyendo, por ejemplo, glioblastoma, meduloblastomas, carcinoma, adenocarcinoma, etc. Otros ejemplos de tumores incluyen, carcinoma adrenocortical, cáncer anal, cáncer de apéndice, astrocitoma de grado I (anaplásico), astrocitoma de grado II, astrocitoma de grado III, astrocitoma de grado IV, tumor teratoide/rabdoide atípico del sistema nervioso central, carcinoma de células basales, cáncer de vejiga, sarcoma de mama, cáncer de bronquios, carcinoma broncoalveolar, cáncer del cuello del útero, craneofaringioma, cáncer de endometrio, cáncer uterino endometrial, ependimoblastoma, ependimoma, cáncer de esófago, estesioneuroblastoma, sarcoma de Ewing, tumor de células germinales extracraneales, tumor de células germinales extragonadales, cáncer del conducto biliar extrahepático, histiocitoma fibroso, cáncer de vesícula biliar, cáncer gástrico, tumor carcinoide gastrointestinal, tumor del estroma gastrointestinal, tumor trofoblástico gestacional, tumor trofoblástico gestacional, glioma, cáncer de cabeza y cuello, cáncer hepatocelular, colangiocarcinoma hiliar, cáncer hipofaríngeo, melanoma intraocular, tumor de células de los islotes, sarcoma de Kaposi, histiocitosis de células de Langerhans, carcinoma de pulmón no diferenciado de células grandes, cáncer de laringe, cáncer de labios, adenocarcinoma de pulmón, histiocitoma fibroso maligno, meduloepitelioma, melanoma, carcinoma de células de Merkel, mesotelioma, neoplasia endocrina, cáncer de la cavidad nasal, cáncer nasofaríngeo, neuroblastoma, cáncer de boca, cáncer orofaríngeo, osteosarcoma, carcinoma de las células claras del ovario, cáncer epitelial del ovario, tumor de células germinales del ovario, cáncer de páncreas, papilomatosis, cáncer del seno paranasal, cáncer paratiroideo, cáncer de pene, cáncer de faringe, tumor del parénquima pineal, pineoblastoma, tumor de pituitaria, blastoma pleuropulmonar, cáncer de células renales, cáncer del tracto respiratorio con cambios en el cromosoma 15, retinoblastoma, rabdomiosarcoma, cáncer de glándulas salivares, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de intestino delgado, sarcoma del tejido blando, carcinoma de células escamosas, cáncer de pulmón de células no pequeñas escamosas, cáncer del cuello escamoso, tumor neuroectodérmico primitivo supratentorial, tumor neuroectodérmico primitivo supratentorial, cáncer de testículos, cáncer de garganta, carcinoma tímico, timoma, cáncer de tiroides, cáncer de la pelvis renal, cáncer de uretra, sarcoma uterino, cáncer vaginal, cáncer de la vulva y tumor de Wilms.

De acuerdo con la invención reivindicada, los pacientes se estratifican en base a la expresión de NECL5. Esto puede probarse al nivel de ARN o proteína, usando sondas, cebadores o anticuerpos, por ejemplo. La expresión de NECL5 guía la decisión de tratar o no tratar con el poliovirus quimérico de la presente invención. La expresión de NECL5 puede usarse también para guiar la agresividad del tratamiento, que incluye la dosis, frecuencia y duración de los tratamientos.

Los regímenes de tratamiento pueden incluir, además de la distribución del constructo de poliovirus quimérico, eliminación quirúrgica del tumor, reducción quirúrgica del tumor, quimioterapia, terapia biológica, radioterapia. Estas modalidades son los planes de tratamiento en muchos estados de enfermedad, y el paciente no necesita que se deniegue el plan de tratamiento. El poliovirus quimérico puede administrarse antes, durante o después del plan de tratamiento. El poliovirus quimérico puede administrarse después del fallo del plan de tratamiento.

Los solicitantes han encontrado que el preparado farmacéutico clínico del poliovirus quimérico tiene una admirable estabilidad y homogeneidad genética. Esto es particularmente ventajoso ya que el poliovirus se conoce por ser altamente mutable tanto en cultivo como en reservorios biológicos naturales. Puede usarse cualquier ensayo adecuado para la estabilidad y homogeneidad genética. Un ensayo para la estabilidad implica examinar la incapacidad para crecer a 39,5 grados C. Otro ensayo implica la secuenciación masiva. Aún otro ensayo implica examinar la neurovirulencia en primates.

Aunque los solicitantes no desean estar atados por ningún mecanismo de acción particular, se cree que múltiples mecanismos pueden contribuir a su eficacia. Estos incluyen lisis de células cancerígenas, reclutamiento de células inmunes y especificidad por células cancerígenas. Además, el virus está neuro-atenuado.

La descripción anterior generalmente describe la presente invención. Una comprensión más completa puede obtenerse por referencia a los siguientes ejemplos específicos que se proporcionan en esta memoria solo con el propósito de ilustración, y no pretenden limitar el alcance de la invención.

Ejemplo 1

Modelos de tumor animal. Un ensayo de eficacia dirigido por un fármaco nuevo en investigación (IND) de PVS-RIPO se realizó en el modelo de xenoinjerto de HTB-15 GBM en ratones atímicos. El PVS-RIPO (del lote clínico) se administró a la dosis de partida máxima aprobada por la FDA, "ajustada al ratón" [la dosis de partida máxima aprobada por la FDA (10e8 TCID) se ajustó para el tamaño de tumor reducido en ratones (a 6,7x10e6 TCID)]. La distribución imitó la ruta clínica prevista, es decir, infusión intratumoral lenta. En estas condiciones, el PVS-RIPO indujo la regresión tumoral completa en todos los animales después de 15 días (Fig. 8A). Mientras el virus se recuperaba de los tumores tratados hasta el día 10, los niveles fueron modestos como mucho, indicando que la muerte directa de células tumorales víricas sola no puede explicar el efecto del tratamiento (Fig. 8B).

La evidencia a partir de los modelos de tumor animal sugiere que la inoculación intratumoral de PVS-RIPO provoca la muerte directa de células tumorales inducida por el virus y provoca una potente respuesta inmunológica del huésped contra el tumor infectado/muerto (3, 7, 10). La respuesta a la infusión de virus se caracteriza por una fuerte respuesta inflamatoria local, que lleva a la infiltración inmune del tumor. Finalmente la lenta respuesta del tejido a la infusión de PVS-RIPO lleva a la muerte de la masa tumoral y su sustitución por una cicatriz.

Ejemplo 2

Ensayos clínicos. El IND núm. 14.735 "Dose-finding and Safety Study of PVSRIPO Against Recurrent Glioblastoma" se aprobó por la FDA el 19 de junio de 2011 y se aprobó por IRB el 27 de octubre de 2011. Un ensayo clínico en fase I/II en pacientes con glioblastoma (GBM) recurrente (NCT01491893) está actualmente inscribiendo pacientes.

Dos sujetos humanos se han tratado hasta ahora con PVS-RIPO por el protocolo aprobado por IRB. Los descubrimientos preliminares del primer sujeto se describen en el Ejemplo 3.

Ejemplo 3

Descubrimientos preliminares con el primer sujeto humano. El paciente es una estudiante de enfermería mujer de 21 años diagnosticada con un GBM frontal derecho (OMS grado IV). Se diagnosticó la primera vez en 06/2011, a la edad de 20 años, después de un historial de fuertes dolores de cabeza y un tratamiento sin éxito para una infección del seno sospechada. La formación de imágenes del cerebro se obtuvo el 17/06/11 y mostró una gran masa frontal derecha, que medía ~5 x 6 cm. Sufrió una resección subtotal de la masa frontal derecha el 22/06/11, con patología que confirmaba el GBM (OMS grado IV). Dada la juventud de la paciente, su excelente estado de rendimiento y la resección tumoral subtotal, se decidió tratarla de forma agresiva con una combinación de seis semanas de terapia de radiación con quimioterapia con Temodar simultánea a 75 mg/m^2 por boca de forma diaria y bevacizumab (agente antiangiogénico) administrado cada 2 semanas. La paciente completó seis semanas de tratamiento el 18/09/11. El 03/10/11, la paciente inició la terapia adyuvante con una quimioterapia con Temodar de cinco día, mensual, además de bevacizumab 10 mg/kg cada dos semanas.

El 16/04/12, la paciente se presentó a la clínica después de haber experimentado su primer ataque generalizado, que ocurrió mientras dormía. Para entonces, había completado seis meses de la combinación de Temodar y bevacizumab. Ella había atribuido el ataque al creciente estrés en la escuela, ya que estaba completando un grado para ser una enfermera oncológica pediátrica, a pesar de su diagnóstico de GBM y el tratamiento de quimioterapia en curso. La IRM cerebral obtenida ese día mostró la recurrencia del tumor, con un nuevo aumento nodular a lo largo del aspecto medio de la cavidad de resección (Fig. 12).

Se le ofreció a la paciente múltiples opciones de tratamiento, pero eligió seguir el ensayo clínico con PVS-RIPO. Después de su primer ataque generalizado, se inició con Keppra, pero olvidó tomarlo de vez en cuando y por esto y la recurrencia del tumor conocida, la paciente experimentó un segundo ataque generalizado mientras dormía el 06/05/12. Volvió a su condición neurológica inicial y se la preparó para inscribirse en el protocolo.

Se obtuvo una IRM de seguimiento el 09/05/2012 (Fig. 13), antes de que el paciente experimentara la infusión de PVS-RIPO el 11/05/12 con la dosis de partida máxima aprobada por la FDA (10e8) mediante el método de distribución clínica previsto (infusión intratumoral, mejorada por convección, de 3 mL de suspensión del virus que contiene el contraste Gd-DTPA durante 6 hs; véase el Ejemplo 4) y no experimentó complicaciones neurológicas u otras complicaciones relacionadas con esto.

Una IRM obtenida inmediatamente después de completarse la infusión documenta la distribución del infundido (Fig. 14).

Nuestro equipo de investigación estudió a la paciente en una base semanal y se la vio en la clínica dos semanas después de la infusión, en cuyo momento ella negó cualquier síntoma neurológico nuevo, recurrencia de ataques, fatiga, falta de aire o debilidad. Fue evaluada de nuevo en la clínica el 07/6/12 y sus condiciones físicas y neurológicas permanecían normales. La IRM cerebral obtenida en esa visita mostró estabilidad de la enfermedad (Fig. 15).

Se vio a la paciente en la clínica el 09/7/12. Una vez más, ella negó cualquier nuevo síntoma neurológico, incluyendo la ausencia de cualquier actividad de ataque recurrente desde el ataque observado el 06/5/12, antes de la infusión de PVS-RIPO. También informó que su humor era bueno, que estaba contenta con su progreso en la escuela de enfermería, sintiendo que es capaz de centrarse en la escuela mucho mejor desde después de su infusión. También estaba excitada por su mudanza con dos compañeras de piso y por el hecho de que es capaz de hacer ejercicio de forma regular. Su IRM cerebral obtenida ese día mostró un efecto de masa ligeramente aumentado y mínimo aumento en la mejora lineal superior, respecto a la progresión de la enfermedad (Fig. 16).

En vista de los cambios radiográficos preocupantes sin empeoramiento clínico, se decidió obtener un escáner 18-FDG PET. El escáner 18-FDG PET demostró actividad hipometabólica en el área de interés en la IRM, sugestivo de un proceso necrótico (efecto de respuesta al tratamiento; Fig. 17). El escáner PET del 09/07 sugiere la ausencia de tumor viable. Después de la charla con la paciente y su madre, se decidió continuar para seguir a la paciente desde un punto de vista clínico y radiográfico.

En los chequeos del 27/08 y 22/10 la paciente negó cualquier síntoma neurológico nuevo, incluyendo la ausencia de cualquier actividad de ataque desde el ataque del 06/5/12 (antes de la infusión de PVS-RIPO). La paciente informa de función cognitiva/memoria mejorada, función motora (ejercicio). Como la del 26/10, la paciente está neurológicamente normal.

Debido a la presentación radiográfica favorable el 27/08, no se ordenó un escáner PET. La paciente se hizo un nuevo escáner el 22/10 y hubo una respuesta radiográfica cuantificable.

Una superposición de IRM/PET demuestra la ausencia de señal desde el área general de la recurrencia tumoral.

Ejemplo 4

Infusión por convección. Se usa el sistema de flujo BrainLab iPlan de forma pre-operativa para planear trayectorias del catéter en base a las distribuciones predichas usando la información obtenida a partir de una IMR pre-operativa.

Esta invención usa un mM de gadolinio, junto con albúmina de suero humano marcada con ^{124}I a un trazador sustituto para identificar la distribución del poliovirus. Esto podría usarse además para otras infusiones de fármaco. El gadolinio y la albúmina radio-marcada se co-infunde con el fármaco y se usan varias secuencias de IRM y formación de imágenes PET para cuantificar la distribución.

El volumen entero del agente a distribuir se pre-cargará en una jeringa por el farmacéutico de investigación y se conectará al catéter en condiciones estériles en la sala de operaciones o la UCIN justo antes del comienzo de la infusión. Debido a la complejidad de la programación de todos los componentes necesarios para la infusión (tiempo de la sala de operaciones, tiempo de farmacia y citas de radiología), se ha construido una ventana de +1 día al estudio para la infusión del fármaco de estudio. Esto significa que se deja que la infusión comience al día siguiente después de la biopsia/colocación del catéter. Esto se considerará aún “día 0” con respecto al protocolo y el tiempo de los sucesos posteriores. En el momento de la inyección del virus, los fármacos de emergencia, incluyendo epinefrina y difenhidramina estarán disponibles y el estado neurológico, saturación de oxígeno y ritmo cardiaco se monitorizarán. La infusión de fármaco se dará en la Unidad de Cuidados Intensivos Neuro-Quirúrgicos (UCIN) de manera que todas las demás instalaciones de emergencia estarán disponibles. Los pacientes se tratarán con un antibiótico profiláctico tal como nafcilina, una cefalosporina de segunda generación o vancomicina empezando con la inducción de anestesia para la colocación del catéter.

En base a nuestra propia experiencia, los informes publicados anteriormente (19) y los ensayos aprobados por IRB y FDA que usan técnicas de infusión similares (IRB núm. 4774-03-4R0), se infundirá a los pacientes a una velocidad de 500 µL/h. Una bomba de infusión Medfusion 3500 se pre-programará a una velocidad de distribución de 500 µL/h. El agente (que estará en un volumen total de 10 mL para justificar el “espacio muerto” de 3,3723 mL en el sistema de infusión) se cargará en una jeringa de 20 mL en la bomba de la jeringa al arranque inicial para evitar cualquier interrupción en la infusión. La cantidad total del inóculo distribuido al paciente será de 3 mL. El catéter por si mismo (30 cm de longitud, 1 mm de diámetro interior) no puede precargarse con suspensión de virus. Por lo tanto, los ~250 µL iniciales de infusión serán de solución salina libre de conservante en el “espacio muerto” del catéter permanente. Para justificar esto, la bomba de infusión se programará para la distribución de 3,250 mL. La infusión se realizará usando una bomba de infusión de jeringa Medfusion 3500 (Medex, Inc., Duluth, GA). El procedimiento de inyección del virus se completará en 6,5 h. El catéter se quitará inmediatamente después de la distribución de PVSRIPO.

El catéter de infusión (PIC 030) y el tubo de infusión (PIT 400) se suministrarán por Sophysa, Inc. (Crown Point, IN). El kit de catéter de infusión es un catéter de extremo abierto, claro, de 30 cm (1,0 mm DI/2,0 mm DE) con marcas de 1 cm durante 20 cm. El catéter viene con un estilete de acero inoxidable de 30 cm, un cierre luer hembra dentado con tapa y un trócar de acero inoxidable. El kit de tubos de infusión consiste en un conector con llave de paso de tres vías

con filtro de aire, 4 m de tubo microbore con válvula anti-sifón, tapón rojo con ventilación y una tapa del cierre luer blanca. Los productos del catéter se envasan de forma estéril y no pirogénica y se prevén para un único uso (una vez) solamente. La infusión se realizará usando una bomba de infusión por jeringa Medfusion 3500 (Medex, Inc., Duluth, GA).

Referencias

1. Castriconi R, A Daga, A Dondero, G Zona, PL Poliani, *et al*. 2009. NK cells recognize and kill human glioblastoma cells with stem cell-like properties. J Immunol 182:3530-39.

2. de Breyne S, Y Yu, A Unbehaun, TV Pestova, CU Hellen. 2009. Direct functional interaction of initiation factor eIF4G with type 1 internal ribosomal entry sites. Proc Natl Acad Sci USA 106:9197-202.

3. Dobrikova EY, T Broadt, J Poiley-Nelson, X Yang, G Soman, *et al*. 2008. Recombinant oncolytic poliovirus eliminates glioma in vivo without genetic adaptation to a pathogenic phenotype. Mol Ther 16:1865-72.

4. Dobrikova EY, C Goetz, RW Walters, SK Lawson, JO Peggins, *et al*. 2012. Attenuation of neurovirulence, biodistribution, and shedding of a poliovirus:rhinovirus chimera after intrathalamic inoculation in Macaca fascicularis. J Virol 86:2750-9.

5. Erickson BM, NL Thompson, DC Hixson. 2006. Tightly regulated induction of the adhesion molecule necl-5/CD155 during rat liver regeneration and acute liver injury. Hepatology 43:325-34.

6. Goetz C, E Dobrikova, M Shveygert, M Dobrikov, M Gromeier. 2011. Oncolytic poliovirus against malignant glioma. Future Virol 6:1045-58.

7. Goetz, C, RG Everson, L Zhang, M Gromeier. 2010. MAPK signal-integrating kinase controls cap-independent translation and cell type-specific cytotoxicity of an oncolytic poliovirus. Mol Ther 18:1937-46.

8. Gromeier M, L Alexander, E Wimmer. 1996. Internal ribosomal entry site substitution eliminates neurovirulence in intergeneric poliovirus recombinants. Proc Natl Acad Sci USA 93:2370-5.

9. Gromeier M, B Bossert, M Arita, A Nomoto, E Wimmer. 1999. Dual stem loops within the poliovirus internal ribosomal entry site control neurovirulence. J Virol 73:958-64.

10. Gromeier M, S Lachmann, MR Rosenfeld, PH Gutin, E Wimmer. 2000. Intergeneric poliovirus recombinants for the treatment of malignant glioma. Proc Natl Acad Sci USA 97:6803-8.

11. Gromeier M, D Solecki, DD Patel, E Wimmer. 2000. Expression of the human poliovirus receptor/CD155 gene during development of the central nervous system: implications for the pathogenesis of poliomyelitis. Virology 273:248-57.

12. Iwasaki A, R Welker, S Mueller, M Linehan, A Nomoto, *et al*. 2002. Immunofluorescence analysis of poliovirus receptor expression in Peyer's patches of humans, primates, and CD155 transgenic mice: implications for poliovirus infection. J Infect Dis 186:585-92.

13. Joshi S, S Kaur, AJ Redig, K Goldsborough, K David, *et al*. 2009. Type I IFN-dependent activation of Mnk1 and its role in the generation of growth inhibitory responses. Proc Natl Acad Sci USA 106:12097-102.

14. Masson D, A Jarry, B Baury, P Blanchardie, C Laboisse, *et al*. 2001. Overexpression of the CD155 gene in human colorectal carcinoma. Gut 49:236-40.

15. Merrill MK, G Bernhardt, JH Sampson, CJ Wikstrand, DD Bigner, *et al*. 2004. Poliovirus receptor CD155-targeted oncolysis of glioma. Neuro-oncol 6:208-17.

16. Merrill MK, EY Dobrikova, M Gromeier. 2006. Cell-type-specific repression of internal ribosome entry site activity by double-stranded RNA-binding protein 76. J Virol 80:3147-56.

17. Merrill MK, M Gromeier. 2006. The double-stranded RNA binding protein 76:NF45 heterodimer inhibits translation initiation at the rhinovirus type 2 internal ribosome entry site. J Virol 80:6936-42.

18. Nakai R, Y Maniwa, Y Tanaka, W Nishio, M Yoshimura, *et al*. 2010. Overexpression of Necl-5 correlates with unfavorable prognosis in patients with lung adenocarcinoma. Cancer Sci 101:1326-30.

19. Neplioueva V, EY Dobrikova, N Mukherjee, JD Keene, M Gromeier. 2010. Tissue type-specific expression of the DRBP76 and genome-wide elucidation of its target mRNAs. PloS One 5:e11710.

20. Ochiai H, SA Campbell, GE Archer, TA Chewning, E Dragunsky, *et al*. 2006. Targeted therapy for glioblastoma multiforme neoplastic meningitis with intrathecal delivery of an oncolytic recombinant poliovirus. Clin Can Res 12:1349-54.

21. Ochiai H, SA Moore, GE Archer, T Okamura, TA Chewning, *et al*. 2004. Treatment of intracerebral neoplasia and neoplastic meningitis with regional delivery of oncolytic recombinant poliovirus. Clin Can Res 10:4831-8.

22. Takai Y, J Miyoshi, W Ikeda, H Ogita. 2008. Nectins and nectin-like molecules: roles in contact inhibition of cell movement and proliferation. Nat Rev Mol Cell Biol 9:603-15.

23. Toyoda H, J Yin, S Mueller, E Wimmer, J Cello. 2007. Oncolytic treatment and cure of neuroblastoma by a novel attenuated poliovirus in a novel poliovirus-susceptible animal model. Cancer Res 67:2857-64.

24. Wahid R, MJ Cannon, M Chow. 2005. Dendritic cells and macrophages are productively infected by poliovirus. J Virol 79:401-9.

REIVINDICACIONES

1. Un constructo de poliovirus quimérico que comprende una cepa Sabin tipo I de poliovirus con un sitio interno de entrada al ribosoma (IRES) del rinovirus humano 2 (HRV2) en la región no traducida 5' de dicho poliovirus entre la forma de trébol de dicho poliovirus y el marco de lectura abierta de dicho poliovirus, para usar en el tratamiento de un ser humano que alberga un tumor sólido que expresa NECL5 (proteína tipo nectina 5), en donde el constructo se va a administrar directamente al tumor en el ser humano.

2. El constructo de poliovirus quimérico para usar según la reivindicación 1 en donde el constructo de poliovirus quimérico se va a administrar por distribución mejorada por convección.

3. El constructo de poliovirus quimérico para usar según la reivindicación 1 en donde:

(1) el tumor sólido es un glioblastoma;

(2) el tumor sólido es un tumor de próstata;

(3) el tumor sólido es un meduloblastoma;

(4) el tumor sólido es un tumor de mama;

(5) el tumor sólido es un tumor de pulmón; o

(6) el tumor sólido es un tumor colorectal.

4. El constructo de poliovirus quimérico para usar según la reivindicación 1 en donde la administración es intracerebral.

5. El constructo de poliovirus quimérico para usar según la reivindicación 1 en donde la administración es por infusión intracerebral con distribución mejorada por convección.

6. El constructo de poliovirus quimérico para usar según la reivindicación 5 en donde la administración está guiada de forma estereotáctica.

7. El constructo de poliovirus quimérico para usar según la reivindicación 1 en donde:

(1) el ser humano es un adulto, y que recibe opcionalmente quimioterapia simultánea o en serie; o

(2) el ser humano es un niño, y que recibe opcionalmente radioterapia simultánea o en serie.

8. El constructo de poliovirus quimérico para usar según la reivindicación 1 en donde el tumor sólido se ha sometido a eliminación quirúrgica antes de la administración del constructo.

9. El constructo de poliovirus quimérico para usar según la reivindicación 1 o la reivindicación 6 en donde antes de la administración se ensaya el tumor sólido para la expresión de NECL5.

10. Un preparado farmacéutico clínico de un constructo de poliovirus quimérico, que comprende una suspensión de una cepa Sabin tipo I de poliovirus con un sitio interno de entrada al ribosoma (IRES) del rinovirus humano 2 (HRV2) en la región sin traducir 5' de dicho poliovirus entre la forma de trébol de dicho poliovirus y el marco de lectura abierta de dicho poliovirus, y el Gd-DTPA de contraste para la infusión intratumoral.

11. El preparado farmacéutico clínico según la reivindicación 10 que comprende además albúmina de suero humano radiomarcada con ^{124}I.

12. El preparado farmacéutico clínico según la reivindicación 10 o la reivindicación 11, para usar en el tratamiento de un ser humano que alberga un tumor sólido, en donde el preparado farmacéutico clínico se va a administrar por medio de infusión mejorada por convección a través de un catéter intratumoral sencillo, y en donde una dosis del constructo de poliovirus se administra en 6,5 horas.

13. El preparado farmacéutico clínico para usar según la reivindicación 12, en donde:

(1) el tumor es un tumor cerebral;

(2) el tumor es un glioblastoma multiforme;

(3) el tumor es un tumor pancreático;

(4) el tumor es un tumor de próstata;

(5) la dosis se distribuye durante un periodo de 6 horas;

(6) el tumor expresa NECL5; o

(7) antes de la administración el tumor sólido se ensaya para la expresión de NECL5.

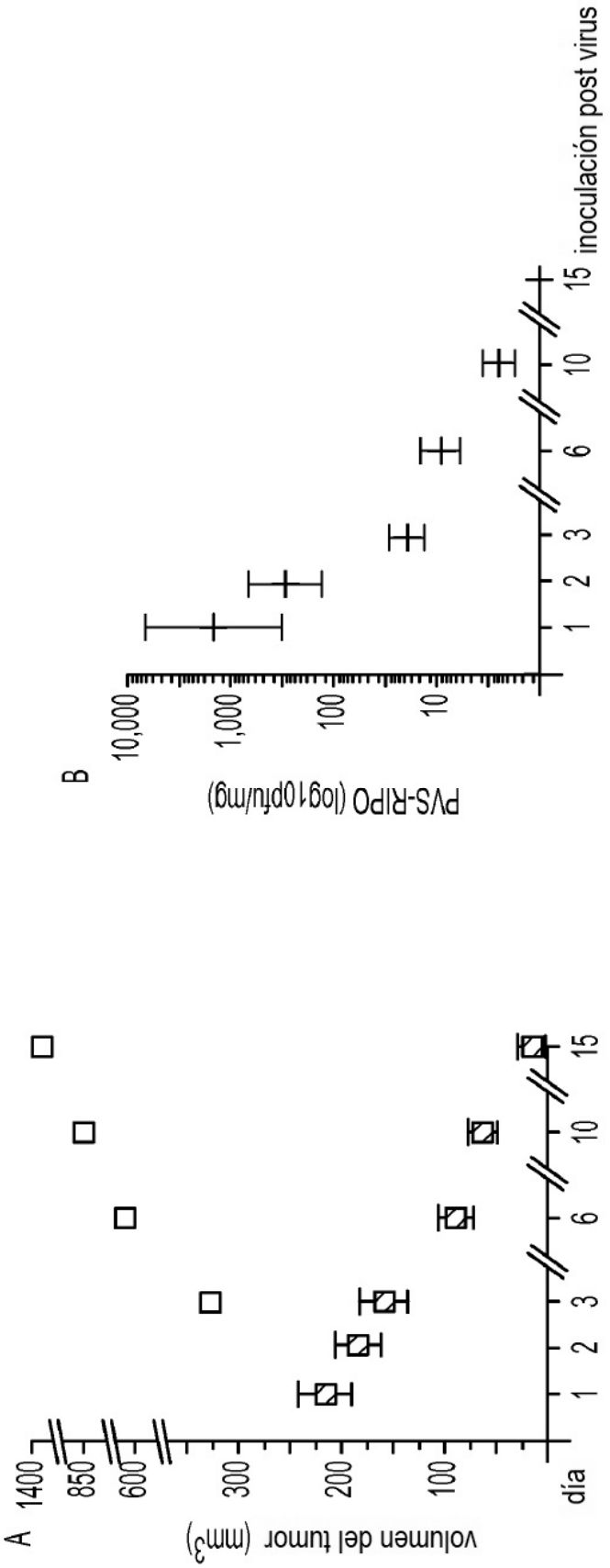
A
volumen del tumor (mm^3)
1400
850
600
300
200
100
día
1 2 3 6 10 15
B
PVS-RIPO (log10pfu/mg)
10,000
1,000
100
10
1 2 3 6 10 15
inoculación post virus

FIG. 1A y 1B

Fig. 2

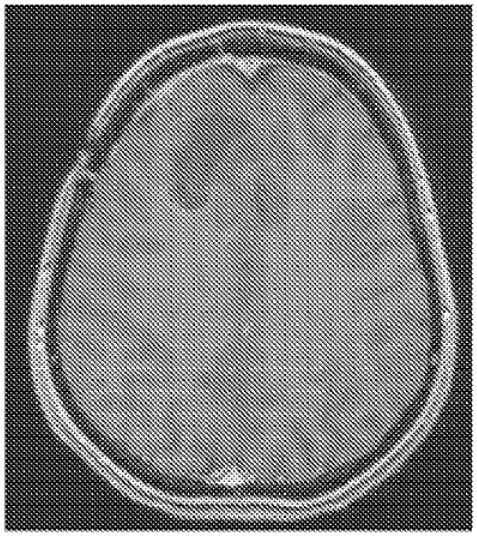

Fig. 3

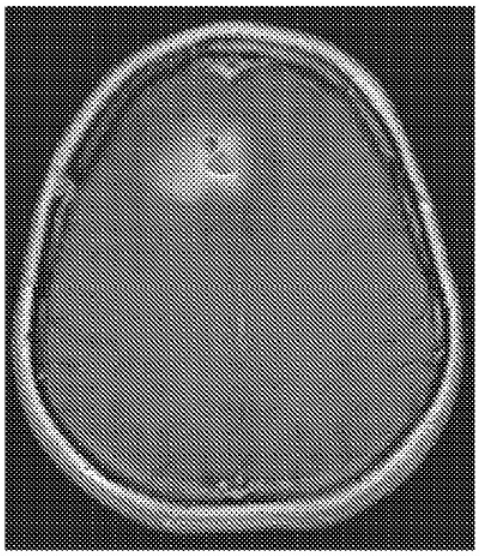

Fig. 4

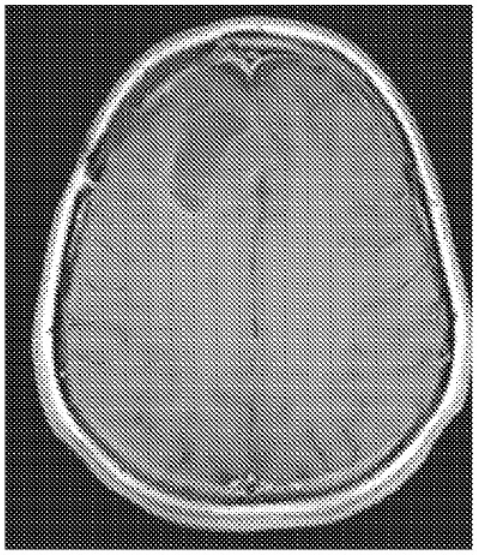

Fig. 5

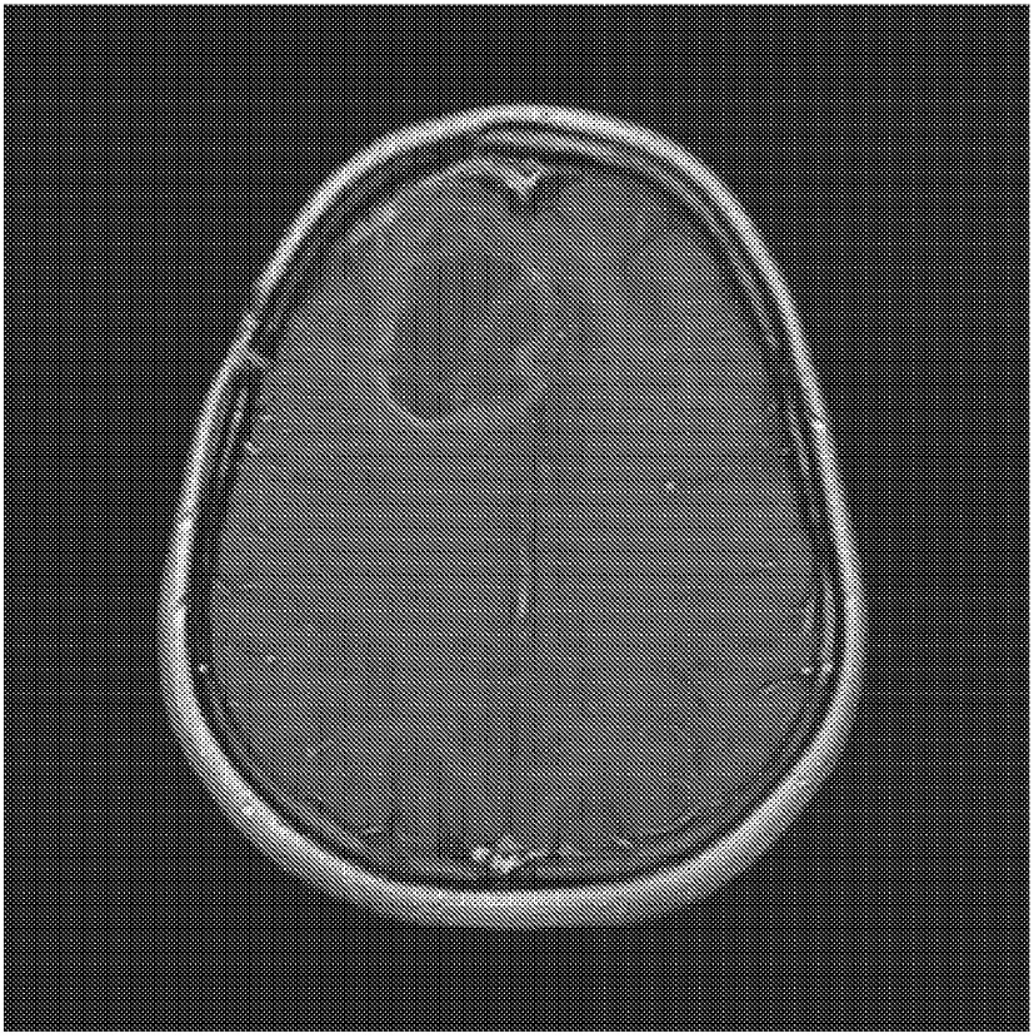

Fig. 6

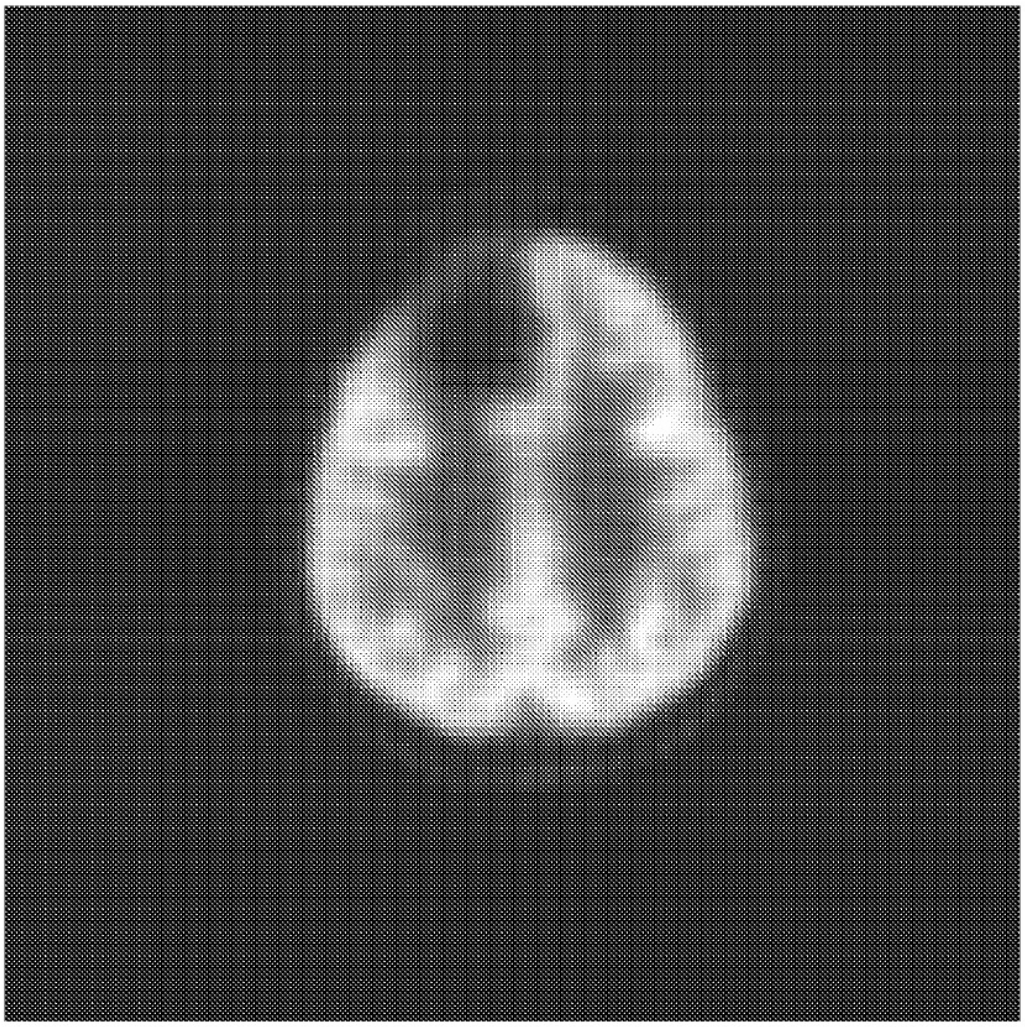

Fig. 7