



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 367 726**

51 Int. Cl.:
C12N 5/0783 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08805044 .8**

96 Fecha de presentación : **03.10.2008**

97 Número de publicación de la solicitud: **2198014**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **23.06.2010**

54 Título: **Células NKT no convencionales para su uso en terapia contra el cáncer.**

30 Prioridad: **05.10.2007 EP 07301434**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
08.11.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
08.11.2011

73 Titular/es: **INSERM (Institut National de La Sante et de la Recherche Scientifique)**
101 rue de Tolbiac
75654 Paris Cédex 13, FR

72 Inventor/es: **Marie, Julien**

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 367 726 T3

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

Células NKT no convencionales para su uso en terapia contra el cáncer.

La invención se refiere al campo de la terapia celular. Más precisamente, la invención proporciona un subconjunto de células NKT para controlar el crecimiento tumoral.

5 Antecedentes de la invención

El factor de crecimiento transformante beta (TGF β) es una citocina polipeptídica secretada que pertenece a una amplia familia que incluye TGF β , BMP y activinas. Las tres formas de TGF β , concretamente TGF β 1, TGF β 2, y TGF β 3, secretadas a diferentes niveles por la mayoría de los tipos de células, sirven como reguladores positivos y negativos de programas proliferativos y de diferenciación (Letterio y Roberts, 1998, Gorelik y Flavell 2000). Los animales con deficiencia o bien de TGF β 2 o bien de TGF β 3 mueren durante la embriogénesis, mientras que la privación de TGF β 1 se asocia con miocardiopatía y trastornos del sistema inmunitario que conducen a la muerte de los animales antes de las tres semanas de edad. La señalización de TGF β implica la participación de un receptor ampliamente expresado compuesto por dos subunidades, T β RI y T β RII. Tras unirse a su receptor, TGF β induce la actividad cinasa del dominio intracelular de la subunidad T β RII común, que a su vez fosforila el dominio de cinasa de la subunidad TRI. Tras otra sesión de fosforilación catalítica, esta última facilita la regulación dependiente de Smad de la transcripción génica y activa varias otras rutas de señalización de una manera independiente de Smad (MAPK, Wnt/beta-catenina, PI3K, etc) (Derynck y Zhang, 2003). Una vez fosforiladas por el receptor TRI, las proteínas Smad asociadas al receptor (R-Smad), Smad2 y Smad3, interaccionan con Smad común (Co-Smad) Smad4. El complejo Smad2/3/4 se acumula entonces en el interior del núcleo, se une al ADN y activa la transcripción de genes diana (Massagué 2005). Recientemente, se ha descrito el factor intermedio transcripcional 1 gamma (TIF1 γ) como un componente de unión selectivo de Smad2/3 fosforilado, garantizando una ruta de señalización independiente de Smad4 (He *et al.* 2006).

TGF β es un factor clave en la transformación tumoral. De hecho, la respuesta de señalización de TGF β se ve afectada en la gran mayoría de los de los tumores como resultado de mutaciones que afectan a los receptores de TGF β , transductores de señal Smad, o por una pérdida selectiva de respuestas de genes citostáticos, diferenciativos o apoptóticos aguas abajo (Levy L, *et al.* 2006). En modelos animales, la alteración de la señalización de TGF β a menudo da como resultado neoplasia (Chang H, *et al.* 2002). Durante la progresión tumoral, TGF β se considera un "arma de doble filo". En los estadios iniciales de la tumorigénesis, actúa directamente sobre células cancerosas para suprimir la excrecencia tumoral. A medida que progresa el tumor, TGF β estimula la progresión tumoral mediante su actividad tanto en células cancerosas en sí mismas (por ejemplo en la transición epitelial a mesenquimal o EMT) como en células estromales no malignas, tales como en angiogénesis o modificación de la matriz extracelular permitiendo la invasión y metástasis. Otro efecto pro-oncogénico de TGF β , ampliamente examinado en numerosos estudios oncológicos, es su capacidad para suprimir el sistema inmunitario y de este modo permitir a las células tumorales escapar a la inmunidad de linfocitos T anticancerígenos.

El TGF β provoca un empeoramiento directo de la proliferación y activación de células T, reprimiendo sus funciones y su capacidad para eliminar células potencialmente peligrosas (Letterio y Roberts 1998, Gorelik y Flavell 2000). Cuando se exponen a tumores que producen TGF β , ratones cuyas células T se han vuelto resistentes a TGF β mediante la expresión de un transgén de receptor de TGF β negativo dominante pueden preparar una respuesta inmunitaria, eliminar el tumor, y sobrevivir. Además, experimentos de transferencia adoptiva han demostrado que los linfocitos T citotóxicos (CTL) son responsables centralmente del proceso de aclaramiento del tumor. Los CTL activados utilizan normalmente dos rutas principales dependientes del contacto para destruir objetivos. Una es la ruta de exocitosis de gránulos. Cuando un CTL activado reconoce una célula tumoral, la proteína de formación de poros de membrana, perforina, media el suministro de proteasas inductoras de apoptosis granzima A o B en el interior de la célula diana. El segundo mecanismo dependiente del contacto, las rutas de ligando Fas-FasL (FasL), activa la muerte de células diana mediante la liberación de citocromo c y la activación de caspasas. Adicionalmente, se secretan mediadores solubles incluyendo TNF- α e interferón γ (IFN γ) e inducen la citotoxicidad de la célula diana. Recientemente se demostró que la delección exclusiva y específica de T β RII en células T, o la neutralización TGF β , *in vivo* dan como resultado la adquisición de un programa de actividad citotóxica en células T mediante la sobreexpresión de FasL, granzima A y B, perforina, TNF- α e IFN γ (Thomas *et al.* 2005, Marie *et al.* 2006). Más precisamente, la ausencia de señalización de TGF β en células T induce la generación de un subconjunto de células T que también expresan marcadores de linfocitos citolíticos naturales (NK) (KIR, KAR, Karap, NKG2D...). A diferencia de los linfocitos T citolíticos naturales (NKT) convencionales, que reconocen complejos lipídicos de CD1d, este subconjunto de células reconoce, como las células T, complejos peptídicos de MHC (Marie *et al.* 2006).

Sumario de la invención

Los inventores han mostrado ahora que este subconjunto de células NKT, denominadas NKT no convencionales (nc-NKT), tiene una capacidad única para controlar el crecimiento tumoral.

En este documento se describen células NKT independientes de CD1d, para su uso en un método para el tratamiento de tumores en pacientes.

- 5 Un objeto de la invención es, por tanto, el uso de células NKT independientes de CD1d, para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de un tumor en un paciente.

Dichas células NKT independientes de CD1d pueden obtenerse (a) cultivando una población de células T en condiciones que suprimen la ruta de señalización de TGF β , y (b) seleccionando las células que presentan al menos un marcador de NK.

- 10 La composición farmacéutica controla ventajosamente el crecimiento tumoral.

Leyendas de las figuras

- 15 La figura 1 muestra el análisis de tejido pancreático. Ratones PDX-CRE⁺ Kras^{+/-} P16^{-/-} de 3 semanas, que desarrollan tumores pancreáticos masivos cuando tienen 2 semanas de edad, recibieron una única inyección i.p. de 2x10⁵ células nc NKT ("tratados con células nc NKT") o de medio ("no tratados"). Tres semanas después se realizó un análisis histológico. Se usaron cinco animales por grupo. Se muestran animales sanos como comparación. La observación muestra que, tras la inyección, la estructura de los canales pancreáticos vuelve sustancialmente a la normalidad.

La figura 2 es un gráfico que representa el % de supervivencia de células PKP16 tras el cultivo con diferentes concentraciones de células nc NKT o de linfocitos T.

- 20 Descripción detallada de la invención

Definiciones

Las "células NKT independientes de CD1d" consisten en un subconjunto de células T que expresan un receptor de células T (TCR), marcadores NK, no reconocen complejos lipídicos de CD1d pero reconocen complejos peptídicos de MHC.

- 25 En ratones normales, esta población representa menos del 2% de las células T totales del bazo y alcanza el 20% cuando se les priva de señalización de TGF β .

Este subconjunto de células T, descrito en Marie *et al* 2006, puede generarse a partir de células T vírgenes tras su activación y bloqueo de la ruta de señalización de TGF- β . Las células nc NKT, además de los marcadores NK, expresan grandes cantidades de FasL, perforina, granzimas, IFN- γ y TNF- α , y son altamente citotóxicas.

- 30 El paciente que va a tratarse puede ser cualquier mamífero (incluyendo seres humanos, primates, caballos, reses, roedores, ganado ovino, felinos, caninos, etc), de cualquier edad o sexo. Preferiblemente el paciente es un ser humano, que puede ser un hombre o una mujer, un adulto, o un niño.

En el contexto de la invención, el término "tratar" o "tratamiento" significa invertir, atenuar o inhibir el progreso o la invasividad del tumor.

- 35 Producción de las células nc NKT

En una realización preferida, las células nc NKT pueden obtenerse mediante diferenciación a partir de linfocitos T. Son preferiblemente de origen humano, preferiblemente del paciente o de donantes sanos. Pueden prepararse a partir de cualquier muestra biológica, tal como sangre, médula ósea o sangre del cordón umbilical. Las muestras biológicas pueden ser normales o patológicas.

- 40 Por ejemplo, pueden aislarse células mononucleares de sangre periférica humanas (CMSP) mediante centrifugación por gradiente de densidad. Entonces se reducen los monocitos mediante adhesión y centrifugación diferencial para obtener linfocitos de sangre periférica (LSP). Para obtener células T purificadas, se reducen las células B y los monocitos de las CMSP. Las poblaciones de células pueden purificarse usando un clasificador celular magnético AutoMACS y perlas magnéticas (Miltenyi Biotec) y/o un clasificador celular ARIA, FACSVantage, (BD Biosciences).
- 45 La pureza de la población es preferiblemente superior al 90%, más preferiblemente superior al 95%, aún más

preferiblemente superior al 97%, que puede verificarse mediante citometría de flujo, por ejemplo usando el anticuerpo conjugado anti-CD3 humano.

Entonces se obtienen células NKT independientes de CD1d

a. cultivando la población de células T en condiciones que suprimen la ruta de señalización de TGFβ, y

5 b. seleccionando las células que presentan al menos un marcador NK.

El medio de cultivo empleado en la etapa (a) puede ser un medio convencional, siempre y cuando no contenga o no esté complementado con TGFβ.

Puede emplearse AIM V® (GIBCO), una calidad terapéutica líquida de medio libre de suero, con fines terapéuticos.

10 En un análisis de expresión génica, pueden cultivarse células T en RPMI 1640 complementado con FCS al 10%, L-glutamina 200 mM, piruvato de sodio 1 mM, Hepes 10 mM, penicilina/estreptomicina 100 U/ml, y 2-mercaptoetanol (RP-10) 5×10^{-5} M.

La población de células T en (a) se cultiva en presencia de un inhibidor de señalización de TGFβ, por ejemplo un anticuerpo anti-TGFβ o un inhibidor de TGFβ. Se revisan ejemplos de inhibidores de señalización de TGFβ en Muller y Scherle, 2006, o Kaminska *et al*, 2005.

15 Los anticuerpo anti-TGFβ incluyen Lerdelimumab y Metelimumab (Cambridge Antibody Technology).

El término "inhibidor de TGFβ" incluye moléculas pequeñas que inhiben el receptor de TGFβ tipo I, y/o las rutas de señalización de TGFβ, tales como SB-505214, que es clorhidrato de 2-(5-benzo[1.3]dioxol-5-il-2-terc-butil-3H-imidazol-4-il)-6-metilpiridina (GlaxoSmithKline), SD-208 (Johnson&Johnson/Scios), o LYS80276 (Lilly).

20 Adicionalmente puede usarse un oligonucleótido antisentido anti-TGFβ, tal como AP-12009 o AP-11014 (Antisense Pharma).

El periodo de tiempo en el que se cultivan las células T depende, al menos en parte, del medio de cultivo y de la matriz. Normalmente, la etapa (a) de cultivo dura aproximadamente una semana.

El cultivo de las células se detiene cuando han proliferado suficientemente y se han diferenciado en células nc NKT.

25 Entonces se clasifican las células nc NKT, por ejemplo seleccionando las células T que presentan marcadores NK, por ejemplo NKG2A, NKG2C, NKG2E, NKG2D, CD94, o DX5 y/o que no reconocen tetrámeros GalCer-CD1d.

Por ejemplo, pueden emplearse procedimientos inmunológicos para recuperar el tipo de célula deseado, por ejemplo usando citometría de flujo con anticuerpos anti-marcador unidos a perlas magnéticas.

Terapia

30 La composición farmacéutica que contiene las células NKT independientes de CD1d se encuentra preferiblemente en una forma adecuada para su inyección intraperitoneal, intravenosa o para su inyección en el sitio del tumor.

Las células NKT independientes de CD1d son preferiblemente autólogas con respecto al paciente.

La composición farmacéutica es particularmente útil para tratar tumores malignos, es decir, cánceres de cualquier tipo. Más particularmente, la composición farmacéutica es útil para ralentizar, limitar o invertir el crecimiento del tumor.

35 El tumor es una proliferación anómala de células, que pueden ser malignas o no.

No se necesita ninguna restricción antigénica, por tanto puede tratarse cualquier tumor.

En una realización preferida, el tumor es un cáncer sólido. Ejemplos de cánceres sólidos incluyen cáncer de pulmón, riñón, vejiga, hígado, páncreas, colon, piel, cerebro, ovarios, cuello uterino y de mama.

En otra realización, el tumor es una hemopatía maligna. En ese caso, las células NKT independientes de CD1d son

alogénicas con respecto al paciente.

El siguiente ejemplo ilustra la invención sin limitar su alcance.

Ejemplo

1. Capacidad de nc-NKT para controlar el crecimiento tumoral en un modelo de adenocarcinoma pancreático

5 Métodos

Los inventores tratan la capacidad de nc-NKT para controlar el crecimiento tumoral y cómo el TGF- β producido por el tumor controla la homeostasia de células nc-NKT. El adenocarcinoma pancreático (PaCa) aparece como un modelo de elección puesto que la expresión potenciada de TGF β se correlaciona con grado tumoral y supervivencia disminuida (Friess H, 1993). PaCa representan más del 85% de las neoplasias pancreáticas. Pese a una incidencia bastante baja (1/10.000) en comparación con otros tumores, PaCa representa la cuarta causa principal de muerte por cáncer. En seres humanos, la progresión tumoral de PaCa se caracteriza por la aparición, en el interior de los conductos pancreáticos, de lesiones displásicas precancerosas de grados crecientes, PanINs 1/2A/2B/3 (neoplasia pancreática intraepitelial.). Estas lesiones preceden a la aparición del tumor invasivo maligno (PaCa). Se observan mutaciones recurrentes a lo largo de todo el proceso de progresión tumoral en seres humanos (Bardeesy y Depinho 2002). Las mutaciones que activan Kras son las primeras mutaciones detectadas. En aproximadamente un tercio de de las PanINs de grado bajo y en prácticamente todos los PaCa. Se describen mutaciones de pérdida de función Ink4A/Arf en la mayoría de los tumores de grado medio (después de Kras) y en el 80-95% de PaCa (Aguirre *et al*, 2003). La activación de Kras en el interior del páncreas (tecnología Cre-lox) de ratones transgénicos da como resultado lesiones precancerosas. En asociación con la inactivación de Ink4A/ARF-KO, la activación de Kras conduce a la formación de lesiones malignas agresivas (Aguirre, A. J., 2003.). En este trabajo, los inventores usaron ratones mutantes Kras-CA como modelo de lesiones precancerosas de PaCa y ratones doblemente mutantes Kras-CA x Ink4A/ARF-KO como modelo de lesiones cancerosas PaCa avanzadas. La ubicación pancreática de los tumores se realizó criando o bien animales Kras-CA^{lox/lox} o bien animales Kras-CA^{lox/lox} x Ink4A/ARF^{lox/lox} con Pdx-CRE. Estos modelos representativos de los dos estadios del desarrollo de PaCa, premaligno y de cáncer establecido, ofrecen una potente herramienta para analizar la actividad antitumoral de células nc NKT.

Se obtuvieron células nc NKT a partir de ratones privados de T β R2 en células T tal como se describe en Marie *et al* 2006. En resumen, las células nc NKT o bien se obtuvieron a partir de ratones que presentaban una delección de T β R2 específica y selectivamente en células T o bien silenciando *in vitro* el gen de T β R2 en linfocitos T vírgenes.

Resultados (figura 1)

Los inventores notificaron que las células nc NKT pueden destruir una línea celular con una eficacia mejor que sus equivalentes de linfocitos T. Puesto que las nc NKT, muestran signos característicos de células NK, los inventores investigaron si la ausencia de MHC-I en la célula conduce a la activación de sus funciones citotóxicas, como para las células NK. Sus datos demuestran que de manera similar a las células NK, las células nc NKT pueden destruir células YAC-I (MHC-I^{-/-}). Por tanto, la actividad citotóxica de células nc NKT supuso el reconocimiento específico de TCR/MHC usado por CTL y también se produce en ausencia de MHC-I como para las células NK. Puesto que las células nc NKT pueden destruir células MHC-I^{-/-}, una característica común de numerosas células cancerosas, los inventores analizaron la capacidad de las células nc NKT para eliminar tumores en el organismo. Se inyectaron i.p. células Nk o nc NKT purificadas o bien en animales Pdx-CRE x Kras- CA^{lox/lox} de 7-8 semanas de edad o bien en ratones Pdx-CRE x Kras-CA^{lox/lox} x Ink4A/ARF^{lox/lox} de 3 semanas de edad. Tres semanas más tarde se realizó un análisis histológico del páncreas. Las lesiones de PaCa precanceroso en ratones Pdx-CRE x Kras-CA^{lox/lox} tratados con nc-NKT o bien no podían detectarse o bien se observaron ligeramente, mientras que permanecieron en animales tratados con células NK. Sorprendentemente, en ratones Pdx-CRE x Kras-CA^{lox/lox} x Ink4A/ ARF^{lox/lox} a los que se les inyectaron nc-NKT, las lesiones de PaCa establecidas se redujeron altamente en comparación con las de los animales tratados con células NK. Estas observaciones demuestran la capacidad única de este subconjunto de células T descrito en el presente documento, células nc NKT, para controlar el crecimiento tumoral.

Se obtuvieron células 2. PKP16 mediante tratamiento de adenocarcinoma pancreático aislado a partir de ratones PDX-CRE⁺ Kras^{+/-} P16^{-/-} de 3 semanas de edad con collagenasa y dispasa y después se cultivaron con RPMI 1640, complementado con suero bovino fetal al 5%, L-glutamina, y penicilina-estreptomomicina siguiendo condiciones de cultivo celular clásicas. En la confluencia se dividió el cultivo celular. Se usaron células tras 20 divisiones, que no mostraron presencia de fibroblastos, para los experimentos. Se cultivaron conjuntamente 10⁶ células PKP16 durante 6 horas con diferentes concentraciones de células ncNKT o linfocitos T, y se monitorizó su supervivencia mediante citometría de flujo, usando anexina V y tinción 7-AAD. Los resultados (figura 2) muestran que las células ncNKT presentan una alta eficacia para destruir células tumorales derivadas directamente de adenocarcinoma en comparación con los linfocitos T.

Bibliografía

Aguirre AJ, Bardeesy N, Sinha M, Lopez L, Tuveson DA, Homer J, Redston MS, Depinho RA. Activated Kras and Ink4a/Arf deficiency cooperate to produce metastatic pancreatic ductal adenocarcinoma. *Genes Dev*, 2003, 17:3112-3126.

- 5 Bardeesy N & Depinho RA. Pancreatic cancer biology and genetics. *Nat.Rev.Cancer*, 2002, 2: 897-909.

Chang, H., Brown, C. W., and Matzuk, M. M. (2002). Genetic analysis of the mammalian transforming growth factor-beta superfamily. *Endocr Rev* 23, 787-823.

Derynck, R., and Zhang, Y. E. (2003). Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGFbeta family signalling. *Nature* 425, 577-584.

- 10 Friess, H., Yamanaka, Y., Buchler, M., Ebert, M., Beger, H. G., Gold, L. I., and Korc, M. (1993). Enhanced expression of transforming growth factor beta isoforms in pancreatic cancer correlates with decreased survival. *Gastroenterology* 105, 1846-1856.

Gorelik, L., and Flavell, R. A. (2000). Abrogation of TGF-beta signaling in T cells leads to spontaneous T cell differentiation and autoimmune disease. *Immunity* 12, 171-181.

- 15 He W, Dorn DC, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Moore MA, Massague J. Hematopoiesis Controlled by Distinct TIF1 gamma and Smad4 Branches of the TGFbeta Pathway. *Cell*, 2006, 125:929-941

Kaminska B, Wesolowska A, Danilkiewicz M. (2005). TGF beta signalling and its role in tumour pathogenesis. *Acta Biochim Pol.* 52(2):329-37.

- 20 Letterio, J. J., and Roberts, A. B. (1998). Regulation of immune responses by TGF-beta. *Annu Rev Immunol* 16, 137-161.

Levy L & Hill CS. Smad4 dependency defines two classes of transforming growth factor beta (TGF-β) target genes and distinguishes TGF-β-induced epithelial-mesenchymal transition from its antiproliferative and migratory responses. *Mol Cell Biol*, 2005, 25:8108-8125.

- 25 Marie, J. C., Letterio, J. J., Gavin, M., and Rudensky, A. Y. (2005). TGF-beta1 maintains suppressor function and Foxp3 expression in CD4+CD25+ regulatory T cells. *J Exp Med* 201, 1061-1067.

Marie JC, Liggitt D, Rudensky AY(2006). Cellular mechanisms of fatal early-onset autoimmunity in mice with the T cell-specific targeting of transforming growth factor-beta receptor. *Immunity*. 25(3): 441-54.

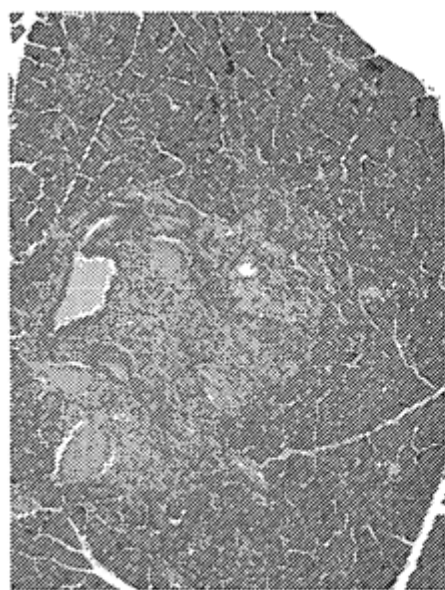
Massague, J., Andres, J., Attisano, L., Cheifetz, S., Lopez-Casillas, F., Ohtsuki, M., and Wrana, J. L. (1992). TGF-beta receptors. *Mol Reprod Dev* 32, 99-104.

- 30 Muller AJ, Scherle PA (2006). *Nat Rev Cancer*. 6(8): 613-25. Targeting the mechanisms of tumoral immune tolerance with small-molecule inhibitors.

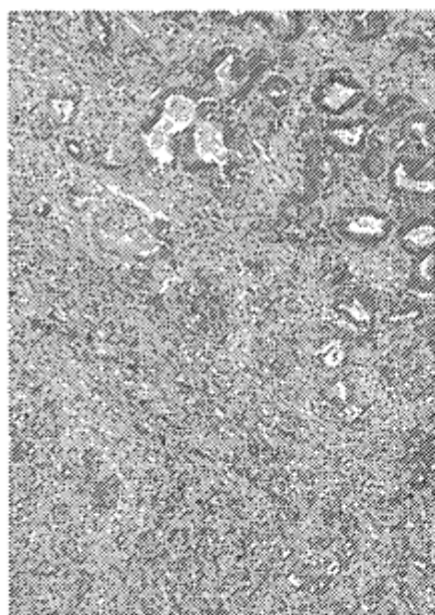
Thomas, D. A., and Massague, J. (2005). TGF-beta directly targets cytotoxic T cell functions during tumor evasion of immune surveillance. *Cancer Cell* 8, 369-380.

REIVINDICACIONES

1. Uso de células NKT independientes de CD1d, para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de un tumor en un paciente.
- 5 2. Uso según la reivindicación 1, en el que dichas células NKT independientes de CD1d expresan FasL, perforina, granzimas e IFN- γ .
3. Uso según la reivindicación 1 ó 2, en el que dichas células NKT independientes de CD1d se obtienen
 - a. cultivando una población de células T en condiciones que suprimen la ruta de señalización de TGF β , y
 - b. seleccionando las células que presentan al menos un marcador NK.
- 10 4. Uso según la reivindicación 3, en el que la población de células T en (a) se cultiva en presencia de un anticuerpo anti-TGF β .
5. Uso según la reivindicación 3, en el que la población de células T en (a) se cultiva en presencia de un inhibidor de TGF β .
6. Uso según la reivindicación 3, en el que el marcador NK se selecciona del grupo que consiste en NKG2A, NKG2C, NKG2E, NKG2D, CD94, y DX5.
- 15 7. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que dichas células NKT independientes de CD1d son autólogas con respecto al paciente.
8. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que la composición farmacéutica es adecuada para su inyección intravenosa o intraperitoneal.
9. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el tumor es un cáncer sólido.
- 20 10. Uso según la reivindicación 9, en el que el tumor se selecciona del grupo que consiste en cáncer de pulmón, riñón, vejiga, hígado, páncreas, colon, piel, cerebro, ovarios, cuello uterino y de mama.
11. Uso según la reivindicación 1, en el que el tumor es una hemopatía maligna, y dichas células NKT independientes de CD1d son alogénicas con respecto al paciente.
- 25 12. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que la composición farmacéutica limita o invierte el crecimiento tumoral.

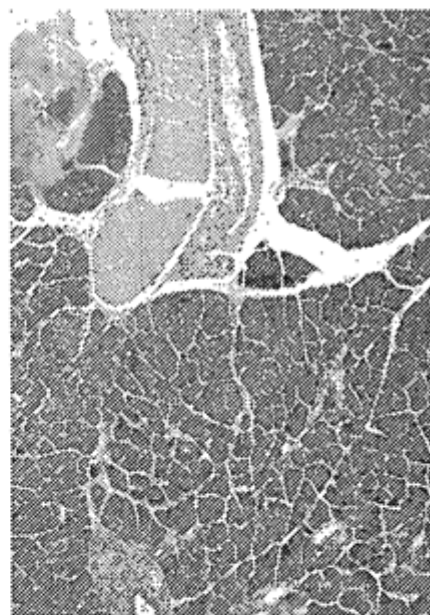


Tratados con células nc NKT



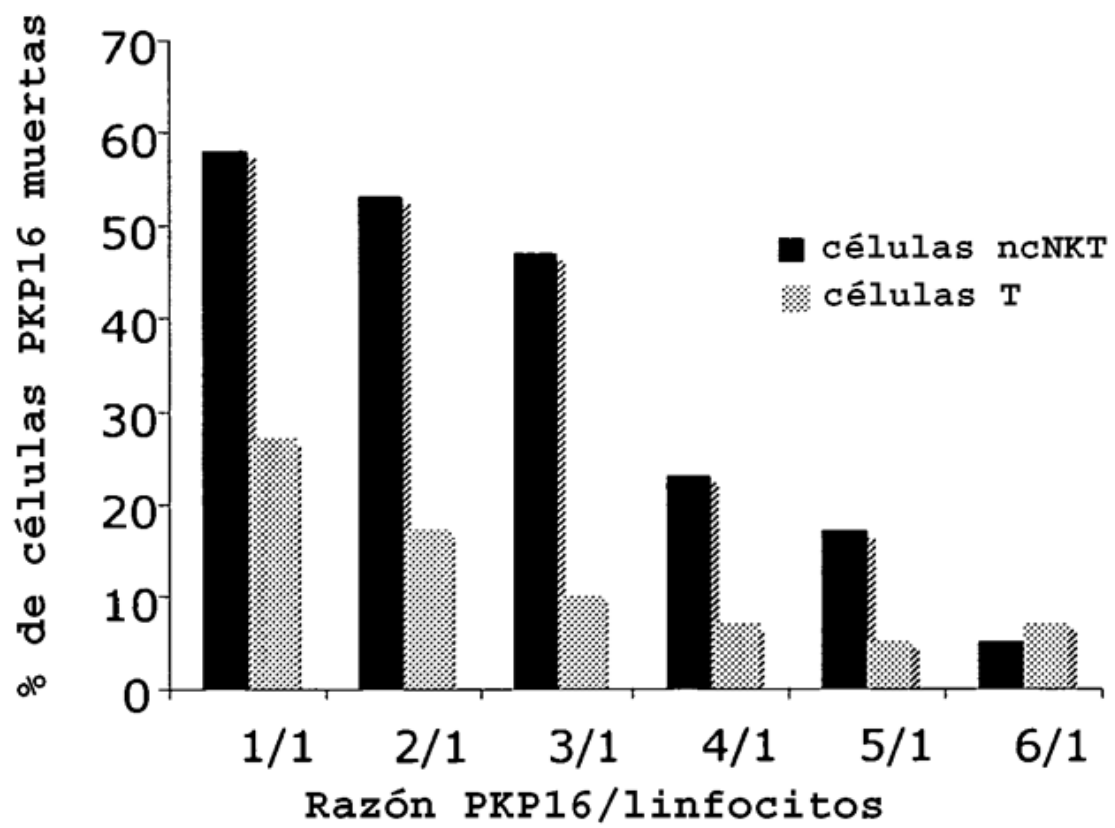
Sin tratar

Animales
con tumores



Animales
sanos

Figura 1

**Figura 2**