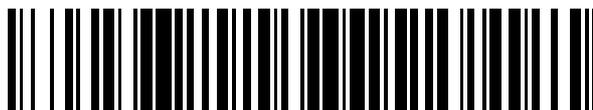


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 454 990**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.11.2006 E 06836816 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.01.2014 EP 1940461**

54 Título: **Quimioterapia e inmunoterapia simultáneas**

30 Prioridad:

**02.11.2005 US 732741 P**

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

**14.04.2014**

73 Titular/es:

**DUKE UNIVERSITY (50.0%)  
M454 Davison Building, Duke University Medical  
Center  
Durham, NC 27710, US y  
UNIVERSITY OF TEXAS M.D. ANDERSON  
CANCER CENTER (50.0%)**

72 Inventor/es:

**SAMPSON, JOHN H.;  
BIGNER, DARELL D.;  
HEIMBERGER, AMY y  
MITCHELL, DUANE**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 454 990 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**

Quimioterapia e inmunoterapia simultáneas

**5 Campo técnico de la invención**

La presente invención se refiere al área de inmunoterapia del cáncer. En particular, se refiere a mejorar la respuesta a vacunas tumorales.

**10 Antecedentes de la invención**

A pesar de la resección quirúrgica agresiva, la radioterapia enfocada en dosis altas, y la quimioterapia, los pacientes diagnosticados de GBM tienen una supervivencia media de menos de 15 meses después de la diagnosis (Stupp et al., Optimal role of temozolomide in the treatment of glioma malignos. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2005 May; 5(3):198-206). El fracaso de la terapia puede atribuirse, al menos en parte, a un índice terapéutico relativamente estrecho de manera que los intentos de aumento escalonado de la dosis dan lugar a una toxicidad sistémica o neurológica limitante de la dosis. El uso de inmunoterapia ha sido prometedor para el posible tratamiento de estos tumores pero, hasta hace poco, unos cuantos han demostrado una eficacia clínica. Diversos ensayos clínicos, con pacientes seleccionados, que implican la vacunación de pacientes con glioma con células dendríticas (CD) y, o bien péptidos eluidos con ácido (Ashkenazi et al., A selective impairment of the IL-2 system in lymphocytes of patients with glioblastomas: increased level of soluble IL-2R and reduced protein tyrosine phosphorylation. *Neuroimmunomodulation.* 1997; Kolenko et al., Tumor-induced suppression of T lymphocyte proliferation coincides with inhibition of Jak3 expression and IL-2 receptor signaling: role of soluble products from human renal cell carcinomas. *J Immunol.* 15 sep. 1997; 159(6):3057-67; Liau et al., Dendritic cell vaccination in glioblastoma patients induces systemic and intracranial T-cell responses modulated by the local central nervous system tumor microenvironment. *Clin Cancer Res.* 1 de agosto 2005 (15):5515-25), o un péptido específico de antígeno (Heimberger AB, Archer GE, et al., Dendritic cells pulsed with a tumor-specific peptide induce long-lasting immunity and are effective against murine intracerebral melanoma. *Neurosurgery.* *Ene.* 2002; 50(1):158-64; análisis 164-6) han resultado esperanzadoras al aumentar el tiempo de supervivencia medio a un intervalo de 20 a 31 meses. Así mismo, en un ensayo clínico de fase II completado recientemente que utilizó un enfoque inmunoterapéutico específico de antígeno, el tiempo de progresión (TTP, por sus siglas en inglés) en pacientes con GBM se retrasó a 15 meses, lo que contrasta notablemente con el protocolo que consiste en radioterapia y temozolomida que tenía un TTP de 7 meses (Stupp et al., 2005, supra), y la supervivencia media fue de 29 meses (Heimberger et al, *J Transl Med.* 19 oct 2005; 3:38 The natural history of EGFR and EGFRvIII in glioblastoma patients.). De forma acumulativa, estos ensayos de inmunoterapia sugieren que, a pesar de la inmunosupresión intrínseca de pacientes con glioma maligno, pueden generarse respuestas inmunitarias eficaces. Sin embargo, existe una reticencia a no tratar a los pacientes que padecen GBM con alguna forma de quimioterapia dado el protocolo recientemente establecido y el pronóstico global precario.

40 Existe una necesidad continua en la materia de desarrollar métodos mejores para tratar tumores en general y glioblastomas en particular.

**Sumario de la invención**

45 Se proporciona un método para tratar un tumor en un sujeto según se define en las reivindicaciones adjuntas.

Estas y otras realizaciones que resultarán obvias para los expertos en la materia una vez leídas las especificaciones, proporcionan a la materia métodos adicionales para tratar tumores refractarios al tratamiento.

**50 Descripción detallada de la invención**

La administración simultánea de quimioterapia e inmunoterapia se ha considerado una contraindicación por la preocupación de que la linfopenia inducida por quimioterapia eliminaría la eficacia terapéutica de la inmunoterapia. Se ha demostrado que la temozolomida es una quimioterapia efectiva para los pacientes con gliomas malignos y que eliminar este agente en los pacientes con glioblastoma (GBM) para tratar con inmunoterapia es discutible. A pesar del dogma convencional, los inventores demuestran que tanto la quimioterapia como la inmunoterapia pueden proporcionarse simultáneamente sin negar los efectos de la inmunoterapia. De hecho, la linfopenia inducida por quimioterapia puede actuar efectivamente de modo sinérgico con una vacuna peptídica. Si bien los solicitantes no desean vincularse a ninguna teoría en particular relativa al mecanismo de acción, la sinergia observada puede ser menos importante que la inhibición de células Treg o el hecho de no recuperar células Treg, lo que permite un aumento de linfocitos T CD8<sup>+</sup> citotóxicos efectoros. Existen otros mecanismos que también pueden participar.

La "EGFRvIII" o "Mutación del Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico III" es una forma mutante conocida del Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico. Véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos N° 6.503.503.; véanse también las patentes de Estados Unidos Nos 6.900.221, 6.673.602, 6.479.286 y 6.129.915. La mutación que causa la producción de la proteína VIII se suele caracterizar por una supresión en fase específica de

tumor de 801 pares de bases del dominio extracelular que divide un codón y produce una glicina nueva en el punto de unión.

El "péptido EGFRvIII", según se utiliza en el presente documento, se refiere a un péptido de longitud adecuada, es decir, al menos 10 o 12 aminoácidos, y hasta 16, 20 o 30 aminoácidos, que abarca el punto de unión mutado de la correspondiente proteína EGFRvIII. Algunos ejemplos incluyen, a modo meramente enunciativo, H-LF-EKKGNYVVDHS-OH, o "PEP-3." El péptido EGFRvIII puede venir del (o corresponder en secuencia al) EGFRvIII de cualquier especie de mamífero, pero es preferentemente de ser humano. En las SEC ID Nos: 6 a 9 se muestran secuencias de tipo silvestre específicas de EGFR.

"Proteína portadora", según se utiliza en el presente documento, se refiere a una proteína que no posee una alta homología con una proteína encontrada en la especie que está recibiendo una composición de la invención y suscita una respuesta inmunitaria. Una proteína posee una alta homología si es idéntica al 75 % como mínimo, más preferentemente idéntica al 85 % como mínimo, o idéntica al 90 % como mínimo, a una proteína determinada por cualquier algoritmo matemático conocido utilizado para la comparación de dos secuencias de aminoácidos (véase, por ejemplo, Karlin y Altschul, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 2264-2268; Karlin y Altschul, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 5873-5877; Torellis y Robotti, 1994, Comput. Appl. Biosci. 10: 3-5; y Pearson y Lipman, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. 85: 2444-8). Preferentemente, la identidad porcentual de las dos secuencias de aminoácidos se determina mediante búsquedas de proteínas BLAST con el programa XBLAST, puntuación=50, longitud de palabra=3. Algunos ejemplos de proteínas vehículo heterólogas incluyen, a modo meramente enunciativo, KLH, PhoE, mLT, TraT, o gD del virus BhV-1. Véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos nº 6.887.472. Dichas proteínas vehículo pueden conjugarse o se al antígeno tumoral directamente o mediante un segmento engarzador intermedio, tal como una cadena de uno o más (por ejemplo, 2, 4, 6) aminoácidos intermedios (por ejemplo, un resto CYS intermedio), de acuerdo con las técnicas conocidas.

La "KLH" o "hemocianina de lapa californiana" es una proteína vehículo conocida con la que puede conjugarse otra proteína de acuerdo con las técnicas conocidas. Véase, por ejemplo la patente de Estados Unidos Nº 6.911.204.

"Adyuvante", según se utiliza en el presente documento, se refiere a cualquiera de una clase distinta de compuestos que mejoran la eficacia terapéutica de una vacuna que se administra simultáneamente con el adyuvante. En algunas realizaciones el adyuvante es un factor de crecimiento hematopoyético tal como GM-CSF. Algunos ejemplos habituales de adyuvantes incluyen, a modo meramente enunciativo, emulsiones de hidróxido, fosfato u óxido de aluminio, de aceite en agua o de agua en aceite basadas en, por ejemplo, un aceite mineral tal como Bayol Fo o Marcol 52TM, o un aceite vegetal tal como acetato de vitamina E, saponinas, BCG, *M vaccae*, toxoide tetánico, toxoide diftérico, *Bordetella pertussis*, interleucina 2, interleucina 12, interleucina 4, interleucina 7, Adyuvante Completo de Freund, Adyuvante Incompleto de Freund, y un adyuvante no específico. Véase, por ejemplo la patente de Estados Unidos Nº 6.699.483.

Los "factores de crecimiento hematopoyético" o "FCH" son conocidos. Véase, por ejemplo la patente de Estados Unidos Nº 6.863.885. En general, los FCH son citocinas glucoproteínas que regulan la proliferación y diferenciación de células progenitoras hematopoyéticas. Los factores de crecimiento hematopoyético que se pretenden utilizar en la presente invención pueden seleccionarse del grupo G-CSF (factor estimulante de colonias de granulocitos), SCF (factor de células madre), GM-CSF (factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos), IL-1 (interleucina-1), IL-3, IL-6, IL-8, IL-11, IL-12, LIF (factor inhibidor de la leucemia), FGF-beta (factor de crecimiento de fibroblastos beta), FLT3, o una combinación de los mismos. Estos factores de crecimiento pueden adquirirse (por ejemplo, en R&D Systems, Minneapolis, MN) o prepararse siguiendo procedimientos establecidos generalmente en la materia y en publicaciones que describen los factores. Así mismo, el factor de crecimiento hematopoyético puede ser una forma modificada del factor o una proteína de fusión de factores de crecimiento hematopoyético seleccionada del grupo GCSF, SCF, GM-CSF, IL-1, IL-3, IL-6, IL-8, IL-11, IL-12, LIF, FGF-beta, y FLT3. Los FCH incluyen factores de crecimiento modificados (por ejemplo muteínas) y proteínas de fusión, que pueden prepararse de acuerdo con métodos conocidos en la materia. Véase, por ejemplo (Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2ª Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989). Los factores de crecimiento hematopoyético que estimulan la función de macrófagos, tales como GM-CSF, se prefieren específicamente. Estos pueden utilizarse como adyuvantes.

La "radioterapia de haz externo" puede realizarse proyectando un haz de rayos X de alta energía al lugar en el que se encuentra el tumor del paciente. El haz se genera fuera del paciente y se dirige al lugar del tumor. No se colocan fuentes radioactivas dentro del organismo del paciente. Esto se puede utilizar junto con cualquier otra etapa del tratamiento de acuerdo con la invención.

"Tratar", según se utiliza en el presente documento, se refiere a cualquier tipo de tratamiento o prevención que aporte un beneficio a un sujeto que padece una enfermedad o en riesgo de desarrollar la enfermedad, incluida una mejoría en la afección del sujeto (por ejemplo en uno o varios síntomas), un retraso en el avance de la enfermedad, un retraso en la aparición de los síntomas o una ralentización en el avance de los síntomas, etc. Como tal, el término "tratamiento" también incluye el tratamiento profiláctico del sujeto para prevenir la aparición de los síntomas.

Según se utilizan en el presente documento, no se pretende que "tratamiento" y "prevención" impliquen la cura o la eliminación completa de los síntomas. Más bien se refieren a cualquier tipo de tratamiento que aporte un beneficio a un paciente que padece una enfermedad, incluida una mejoría en la afección del paciente (por ejemplo en uno o varios síntomas), un retraso en el avance de la enfermedad, etc.

"Cantidad eficaz para el tratamiento", según se utiliza en el presente documento, significa una cantidad de vacuna que es suficiente para producir un efecto deseable en un paciente que padece un cáncer, tal como glioblastoma, incluida una mejoría en la afección del paciente (por ejemplo en uno o varios síntomas), un retraso en el avance de la enfermedad, etc.

Los sujetos que necesitan tratamiento mediante los métodos descritos en el presente documento incluyen sujetos que padecen glioblastoma o astrocitoma, así como sujetos que padecen otros tumores o cánceres sólidos, como los de pulmón, colon, mama, cerebro, hígado, próstata, bazo, músculos, ovarios, páncreas, cabeza y cuello, piel (incluido el melanoma), etc. Los sujetos que necesitan tratamiento incluyen, específicamente, sujetos que padecen un tumor, tal como un tumor cerebral, que exprese EGFRvIII. El tumor puede ser un tumor primario, un tumor metastásico, o un tumor recurrente. Los sujetos que van a tratarse mediante los métodos de la invención incluyen, específicamente, sujetos que padecen un tumor que exprese EGFRvIII, incluidos gliomas, fibrosarcomas, osteosarcomas, melanoma, tumor de Wilms, carcinoma de colon, carcinomas de mama y pulmón, y carcinomas escamosos. Los sujetos que van a tratarse mediante la presente invención incluyen, más específicamente, sujetos que padecen tumores o cánceres cerebrales, tales como glioblastomas, especialmente el glioblastoma multiforme, y el astrocitoma quístico.

La presente invención se refiere principalmente al tratamiento de sujetos humanos, incluidos sujetos masculinos y femeninos, y sujetos neonatales, infantiles, juveniles, adolescentes, adultos y geriátricos, pero la invención también puede realizarse en sujetos animales, especialmente en sujetos mamíferos tales como ratones, ratas, perros, gatos, ganado y caballos con fines veterinarios, y con fines de análisis y desarrollo de medicamentos.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden prepararse de acuerdo con técnicas conocidas. Habitualmente, los agentes activos se incluyen en un vehículo farmacológicamente aceptable. Puede utilizarse diversos vehículos acuosos, por ejemplo agua, agua tamponada, solución salina al 0,9 %, glicina al 0,3 %, ácido hialurónico, etc. Estas composiciones se pueden esterilizar mediante técnicas convencionales reconocidas, o se pueden filtrar de manera estéril. Las soluciones acuosas resultantes pueden envasarse para su uso tal cual, o liofilizarse, combinándose la preparación liofilizada con una solución estéril antes de su administración. Las composiciones pueden incluir sustancias auxiliares farmacológicamente aceptables necesarias para aproximarse a condiciones fisiológicas, tales como agentes tamponantes, agentes de ajuste de tonicidad, agentes humectantes, etc., por ejemplo, acetato de sodio, lactato de sodio, cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de calcio, monolaurato de sorbitán, oleato de trietanolamina, etc.

Las composiciones y los métodos de la invención pueden incluir la administración de uno o varios coadyuvantes. Algunos coadyuvantes adecuados incluyen, a modo meramente enunciativo: (1) sales de aluminio (alum), tales como hidróxido de aluminio, fosfato de aluminio, sulfato de aluminio, etc.; (2) formulaciones de emulsiones de aceite en agua (con o sin otros agentes inmunoestimuladores específicos tales como muramilo péptidos (véase a continuación) o componentes de la pared celular bacteriana), tales como, por ejemplo (a) MF59 (Publicación N<sup>o</sup> WO 90/14837 del PCT), que contenga escualeno al 5 %, Tween 80 al 0,5 %, y Span 85 al 0,5 % formulado en partículas submicrónicas, (b) SAF, que contenga escualeno al 10 %, Tween 80 al 0,4 %, polímero L121 bloqueado con plurónico al 5 %, y thr-MDP (véase a continuación) o bien microfluidizado en una emulsión submicrónica o agitado vorticialmente para generar una emulsión mayor que el tamaño de las partículas, y (c) sistema adyuvante RibiTM (RAS), (Ribi Immunochem, Hamilton, MT.) que contenga escualeno al 2 %, Tween 80 al 0,2 %, y uno o varios componentes de la pared celular bacteriana del grupo consistente en monofosforil lípido A (MPL), dimicolato de trehalosa (TDM), y esqueleto de la pared celular (CWS), preferentemente MPL+CWS (DetoxTM) (para una exposición más detallada de las emulsiones de aceite en agua submicrónicas adecuadas para su uso en el presente documento, véase la Publicación n<sup>o</sup> WO 99/30739 del PCT, publicada el 24 de junio de 1999); (3) pueden utilizarse saponinas adyuvantes, tales como StimulonTM (Cambridge Bioscience, Worcester, MA) o partículas generadas de las mismas tales como ISCOM (complejos inmunoestimulantes); (4) Adyuvante Completo de Freund (CF A) y Adyuvante Incompleto de Freund (IF A); (5) citocinas, tales como interleucinas (IL-1, IL-2, etc.), factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF), factor de necrosis tumoral (TNF), etc.; (6) mutantes desintoxicados de una toxina bacteriana que produce ADP-ribosilación tal como una toxina colérica (CT), una toxina tosferínica (PT), o una toxina termolábil (LT) de E. coli, especialmente LT-K63 (en la que la lisina se sustituye por el aminoácido de tipo silvestre en la posición 63) LT-R72 (en la que la arginina se sustituye por el aminoácido de tipo silvestre en la posición 72), CT-SI09 (en la que la serina se sustituye por el aminoácido de tipo silvestre en la posición 109), adyuvantes derivados de la familia de moléculas CpG, dinucleótidos CpG y oligonucleótidos sintéticos que comprenden motivos CpG (véase, por ejemplo Krieg et al., Nature, 374:546 (1995) y Davis et al., J. Immunol., 160:870-876 (1998)) y PT-K9/GI29 (en la que la lisina se sustituye por el aminoácido de tipo silvestre en la posición 9 y la glicina se sustituye en la posición 129) (véase, por ejemplo las Publicaciones n<sup>o</sup> W093/13202 y W092/19265 del PCT); (7) otras sustancias que actúan como agentes inmunoestimulantes para mejorar la efectividad de la composición. Véase, por ejemplo la patente de Estados Unidos N<sup>o</sup> 6.534.064; y (8) otros ligandos para receptores tipo Toll además de

adyuvantes CpG y RIBI, tales como la flagelina bacteriana (un adyuvante efectivo para linfocitos T CD4+; véase *IJ Immunol.* 169: 3914-9 (Oct. 2002).

5 Los agentes activos pueden administrarse mediante cualquier procedimiento adecuado desde el punto de vista médico, por ejemplo administración intravenosa o intraarterial normal, inyección en el líquido cefalorraquídeo. En determinados casos, es beneficiosa la administración intradérmica, intracavitaria, intratecal o la administración directa al tumor o a una arteria que suministra sangre al tumor. En los casos en que el tumor o parte del mismo se haya extirpado previamente mediante cirugía, se pueden administrar los agentes del tratamiento en el lugar del tumor (y, especialmente, en una cavidad cerrada o "cavidad de resección" en el lugar del tumor) mediante una  
10 inyección directa o mediante un depósito implantado previamente.

La dosis de los agentes activos dependerá, entre otras cosas, de la afección del sujeto, la categoría o el tipo específico del cáncer que está siendo objeto de tratamiento, la vía de administración, la naturaleza del agente terapéutico utilizado, y la sensibilidad del tumor al agente terapéutico específico.

15 En general, la dosis del antígeno o vacuna del tumor, tal como EGFRvIII, incluida cualquier proteína portadora o péptido conjugado a la misma, oscilará entre 10, 100 o 500 µg y 2 o 3 mg por sujeto, en cada dosis. Las dosis pueden administrarse en una sola ocasión, incluyendo opcionalmente dosis de seguimiento o "refuerzo" (por ejemplo una, dos o tres dosis de seguimiento o "refuerzo" administradas a intervalos de entre una y tres semanas).  
20 Obsérvese que, si se desea, las dosis pueden dividirse mediante la administración en lugares de inyección diferentes, para reducir efectos secundarios tales como respuestas locales. En los casos en los que la formulación contenga tanto el antígeno tumoral unido (o "conjugado") a la proteína portadora como el antígeno tumoral libre de la proteína portadora, la dosis calculada puede incluir la cantidad del antígeno tumoral unido y libre, y de la proteína portadora.

25 En general, la dosis del adyuvante, tal como GM-CSF, también oscilará entre 10 o 20 µg y 500 µg, o 1 o 2 mg por sujeto, administrada en una pauta igual o diferente a la de la dosis del antígeno tumoral. Cuando se administran en la misma pauta, el adyuvante puede administrarse en el mismo transportador que el antígeno tumoral. Cuando no se combinan en el mismo transportador, la dosis del adyuvante solamente tiene que administrarse de una forma suficientemente próxima en el tiempo a la dosis del antígeno tumoral para potenciar su eficacia (por ejemplo en una o dos horas; el mismo día; etc.).  
30

La temozolomida, en forma de dosificación oral en cápsulas de 5 mg, 20 mg, 100 mg, y 250 mg, está disponible en el comercio con el nombre TEMODAR™ de Schering Corporation, Kenilworth NJ 07033 (EE. UU.).  
35

La temozolomida puede prepararse en formulaciones farmacéuticamente aceptables de una forma similar a la descrita anteriormente, en una formulación igual o diferente que contenga la vacuna tumoral, por ejemplo, el péptido EGFRvBI.

40 En una realización preferida, la temozolomida se administra en un ciclo de dosis diarias durante 3, 4, 5, 6 o 7 días consecutivos. Una dosis diaria adecuada puede oscilar entre 50, 100 o 150 mg/m<sup>2</sup> por dosis, y 200, 250 o 300 mg/m<sup>2</sup> por dosis. Este ciclo puede repetirse, por ejemplo cada dos, tres, cuatro o cinco semanas, hasta un total de 6, 8 o 10 ciclos. La primera dosis en el primer ciclo de temozolomida puede administrarse en cualquier momento que resulte adecuado. En algunas realizaciones, la primera dosis de temozolomida se administra hasta entre dos y  
45 cuatro semanas antes de la administración de la vacuna terapéutica; en algunas realizaciones la primera dosis de temozolomida se administra al menos dos, cuatro o seis semanas después de la administración de la vacuna terapéutica. Otras pautas de administración pueden incluirse en los casos en que también se estén aplicando al sujeto tratamientos terapéuticos adicionales, tales como radioterapia de haz externo.

50 Opcionalmente, el sujeto también puede recibir radioterapia de haz externo. Por ejemplo, la radioterapia de haz externo puede utilizarse en tumores cerebrales tales como el glioblastoma. La radioterapia de haz externo es conocida y puede llevarse a cabo de acuerdo con técnicas conocidas. El haz puede generarse por cualquier medio apropiado, incluidos los aceleradores lineales médicos y las unidades de haces externas de Cobalto 60. La fuente de radiación puede instalarse en un brazo que rota alrededor del paciente de manera que un área diana dentro del  
55 paciente se irradia desde distintas direcciones. Antes de la irradiación el tratamiento se suele planificar en un ordenador que utiliza algoritmos que estimulan los haces de radiación y permiten al personal médico diseñar la terapia de haz. Para los expertos en la materia, muchas variaciones de radioterapia externa que pueden utilizarse para llevar a cabo la presente invención serán obvias a primera vista. Véanse, por ejemplo las patentes de Estados Unidos Nos 6.882.702, 6.879.659, 6.865.253, 6.863.704, 6.826.254, 6.792.074, 6.714.620, y 5.528.650.

60 La terapia de haz externo se administra preferentemente en una serie de sesiones de acuerdo con técnicas conocidas, comenzando las sesiones preferentemente entre dos y cuatro semanas después de la administración de la vacuna terapéutica. Por ejemplo, la radioterapia de haz externo puede administrarse 3, 4, 5, 6 o 7 días a la semana, durante un período de cuatro, cinco, seis o siete semanas, a una dosis diaria de 0,5 o 1 Gy, hasta 2 o 3 Gy, hasta que se administre la dosis total deseada (por ejemplo 30 o 40 Gy, hasta 50 o 60 Gy).  
65

La dosis administrada puede ser en un área que incluya un margen de tejido normal (por ejemplo margen de ~1, 2 o 3 cm en todas las direcciones) alrededor del tumor, o donde el tumor o parte del mismo haya sido extirpado previamente mediante cirugía, alrededor del lugar del tumor.

5 Cuando se utiliza la radioterapia de haz externo, el paciente puede recibir una pauta de administración adicional del agente quimioterapéutico, distinta de la descrita anteriormente, a una dosis algo menor, durante el ciclo de la radioterapia. Por ejemplo, el paciente puede recibir dosis diarias del agente quimioterapéutico, por ejemplo, agente alquilante en una cantidad que oscila entre 25 o 50 mg/m<sup>2</sup> por dosis y 100 o 125 mg/m<sup>2</sup> por dosis diariamente durante el ciclo de la terapia de haz externo.

10 Algunos ejemplos de antígenos tumoral que pueden utilizarse como vacunas antitumorales incluyen, a modo meramente enunciativo, quinasa dependiente de ciclina 4; β-catenina; Caspasa-8; MAGE-1; MAGE-3; tirosinasa; idiotipo Ig de superficie; receptor Her-2/neu; MUC-1; HPV E6 y E7; idiotipo CD5 CAMPATH-1, CD20; glucoproteína de superficie celular CEA, mucina-1; carbohidrato de superficie celular Lewis<sup>x</sup>; CA-125; receptor del factor de crecimiento epidérmico; p185HER2; IL-2R; FAP-α; tenascina; y metaloproteinasas. EGFRvIII es ilustrativo de antígenos tumorales específicos. Las células que expresan estos antígenos también pueden utilizarse como vacunas. Preferentemente se destruyen las células antes de la administración. Las células pueden fraccionarse para utilizar como vacuna una fracción enriquecida para el antígeno tumoral. Estos antígenos son meramente ilustrativos y no se pretende que abarquen a la totalidad de los numerosos antígenos útiles conocidos en la materia o que pueden utilizarse.

15 Los múltiples sistemas de modelos preclínicos han demostrado que la disminución de subconjuntos de células inmunitarias puede anular la eficacia de distintos tipos de enfoques inmunoterapéuticos (Heimberger et al., 2003) que indican que la quimioterapia administrada durante las fases efectoras de la inmunoterapia puede resultar perjudicial para la eficacia. Sin embargo, esto no impide la utilización de estos agentes juntos cuando se programan adecuadamente para minimizar los efectos anteriormente mencionados. Además, si bien los solicitantes no desean vincularse a ninguna teoría en particular relativa al mecanismo de acción, la disminución de determinadas células efectoras, tales como las Treg, puede ser un resultado muy deseable de la quimioterapia con un aumento de la eficacia inmunoterapéutica o puede promover un perfil de citocina deseable para un adecuado control tumoral.

20 La divulgación anterior describe la presente invención de forma general. Todas las referencias desveladas en el presente documento se incorporan expresamente a modo de referencia. Puede obtenerse una visión más completa consultando los siguientes ejemplos específicos que se proporcionan en el presente documento a efectos meramente ilustrativos, no pretendiéndose que limiten el alcance de la invención.

### 35 EJEMPLO 1

Para ensayar la hipótesis de que la quimioterapia y la inmunoterapia pueden administrarse de forma simultánea, se trató a un paciente con GBM recién diagnosticado utilizando el protocolo, la temozolomida, mientras se le administraba también una vacuna peptídica dirigida a la variante III del factor de crecimiento epidérmico (EGFRvIII) (Heimberger et al., 2006). La amplificación del gen del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), que da lugar a la sobreexpresión del EGFR, un receptor transmembrana de tirosina quinasa (Ekstrand et al., 1991), está asociado al gen EGFR mutante, EGFRvIII (Wikstrand et al., 1997). Trabajos anteriores han demostrado que la amplificación de EGFR es evidente en todas las EGFRvIII con expresión de GBM (Heimberger et al., 2005) y que los GBM que carecen del EGFR amplificado no son positivos para la proteína EGFRvIII (Aldape et al., 2004).

45 En mayo de 2005, se evaluó a un hombre de raza caucásica de 51 años de edad que llevaba tres semanas quejándose de sufrir dolores de cabeza persistentes por las mañanas sin náuseas. Una resonancia magnética (RM) reveló una lesión multilobular que crecía irregularmente con unas medidas de 6,6 x 5,3 x 4,3 en la región anterior del lóbulo temporal derecho. Se dobló hacia arriba la cisura silviana y se produjo un desplazamiento de la línea media de 6 mm. El paciente se sometió a una resección total ordinaria, y la histología demostró un glioblastoma bifásico y un sarcoma maligno. Estos componentes se confirmaron mediante inmunohistoquímica positiva en el componente del glioblastoma con proteína glial fibrilar astrocítica (GFAP) y una abundante producción de reticulina en el componente del sarcoma. Una tinción tricromática confirmó la naturaleza bifásica del tumor. La tinción inmunohistoquímica de los anticuerpos EGFR-528 y EGFRvIII resultó positiva (Heimberger et al., 2005), demostrando la tinción de EGFRvIII una fuerte reactividad difusa, mientras que la tinción de EGFR-528 resultó más focal. El PTEN resultó fuertemente positivo y una reactividad de p53 estuvo presente en más del 30 % de los núcleos tumorales. El gen reparador de ADN metilguanina-ADN metiltransferasa (MGMT) presentó metilación (Hegi et al., 2005).

50 En el período postoperatorio el paciente se sometió a radioterapia de haz externo convencional de 6000 cGy en 30 fracciones. Simultáneamente, se administró temozolomida a 75 mg/m<sup>2</sup> durante la radioterapia (Stupp et al., 2005). Una resonancia magnética tomada al final de la radioterapia fue igual que la anterior y no demostró ninguna prueba de avance. Después, el paciente se sometió a una leucoféresis para obtener suficientes células a efectos de monitorización inmunológica. El paciente recibió tres inyecciones intradérmicas (i.d.) de PEPvIII-3 (LEEKKGNYVVDHC), conjugado con hemocianina de lapa californiana (KLH) a una proporción de 1:1 (p/p)

(PEPvIII-KLH) (500 µg/inmunización) con factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) (142 µg/inmunización) cada dos semanas durante un intervalo de 6 semanas (la fase de inducción). Posteriormente, se sometió a una segunda leucoféresis a efectos de monitorización inmunológica. En este punto, el paciente comenzó ciclos de mantenimiento de temozolomida de 150 mg/m<sup>2</sup> en el día 1-5. A partir del día 19 de cada ciclo, se monitorizaron recuentos sanguíneos completos en días alternos hasta que aparecieron pruebas de recuperación del nadir de recuento de leucocitos. En la recuperación del nadir, el paciente recibió la vacuna i.d., habitualmente el día 23 (intervalo = 19-25) de su ciclo de 28 días.

#### EJEMPLO 2

Los ensayos de hipersensibilidad de tipo retardada (DTH) frente a antígenos de recuerdo comunes y los componentes de la vacuna se evaluaron antes del comienzo de las vacunas, después de la 3<sup>a</sup> vacuna y una vez al mes durante su ciclo de mantenimiento el día 26. Antes del comienzo de la vacuna y después del final de la radiación y la temozolomida simultánea, el paciente solamente mostró reacción a la *Candida* y no mostró ninguna reacción de DTH a los componentes de la vacuna, PEPvIII o KLH. Sin embargo, después de la 3<sup>a</sup> vacunación, el paciente empezó a responder al componente KLH de la vacuna. Después de la 10<sup>a</sup> vacunación, y mientras estaba recibiendo la temozolomida simultánea, empezó a reaccionar al componente PEPvIII de la vacuna. A modo de comparación, de los pacientes que recibieron la vacuna sin temozolomida en ciclos (n=22), menos del 15 % llegaron a mostrar reacción al componente PEPvIII. Después del seguimiento y la administración más recientes de la 14<sup>a</sup> vacunación, el paciente mostró una induración importante (16 x 15 mm) en el lugar de DTH de PEPvIII, lo cual indicaría que la temozolomida no influyó negativamente en el desarrollo de las respuestas de DTH en este paciente en particular.

#### EJEMPLO 3

Para determinar si se indujeron las respuestas humorales específicas de PEPvIII, se extrajo suero del paciente una vez al mes y se conservó a -20 °C antes del análisis en un ensayo de Dynabead® del PEPvIII. El PEPvIII o el dominio extracelular del EGFRvIII (EGFRvIII-ECD) se unieron covalentemente a las microesferas magnéticas que se utilizaron para capturar anticuerpos específicos del suero del paciente (Invitrogen, Carlsbad, CA) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Todas las muestras de suero se diluyen inicialmente al 1:10 con solución salina tamponada con fosfato (PBS) + albúmina de suero bovino (BSA) al 0,5 % y se analizan por triplicado. Para determinar la especificidad, se preincubó un grupo de muestra adicional durante 15 minutos con 500ng del péptido PEPvIII para bloquear cualquier anti-PEPvIII que se obtendría gracias a las Dynabeads conjugadas con el PEPvIII. Los patrones del anticuerpo anti-PEPvIII quimérico humano-murino (81-0,11ng/ml) se procesan con cada ensayo junto con controles positivos (muestra del paciente ACT4) y negativos (suero de donante normal). El citómetro de flujo se normalizó con microperlas PE-FACS y Dynabeads de PEPvIII sin reaccionar. Antes de la administración de la vacuna, no hubo respuestas humorales detectables al EGFRvIII. Después de la vacunación, se produjo un incremento notable en las respuestas de IgG al EGFRvIII a una intensidad media de fluorescencia (IMF) de 13 y las respuestas humorales se han mantenido a pesar de la administración de la temozolomida.

#### EJEMPLO 4

Para determinar si las respuestas citotóxicas de CD8<sup>+</sup> se indujeron al PEPvIII, se estimularon las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) del paciente obtenidas de cada leucoféresis y las PBMC mensuales con toxoide tetánico (QYIKANSKFI-GITE) (SEC ID NO: 5) (10µg/ml) (control positivo), PEP-1 (HDTVYCVKGNKELE) (SEC ID NO: 4) (10µg/ml) (control negativo), PEPvIII (10µg/ml) (componente de la vacuna), o con KLH (10µg/ml) (componente de la vacuna). Un control negativo incluyó células no estimuladas. Se utilizaron los controles de isotipos correspondientes para cada condición, incluida la secreción de interferón  $\gamma$  (IFN). Todos los pocillos se incubaron durante 6 h a 37 °C con Golgiplug™ (Pharmingen, San Diego, CA), un inhibidor del transporte de proteínas que bloquea el proceso de transporte intracelular. Tras la incubación, las células se lavaron y bloquearon para la unión no específica utilizando el anticuerpo anti-CD16 purificado (Pharmingen) y suero de conejo (Pharmingen). Las células se tiñeron para los marcadores de superficie (CD3, CD4, CD8) incubando con el anticuerpo primario o control de isotipo (Pharmingen) adecuado marcado con fluorescencia con isotiocianato de fluoresceína y alofocianina. Después, se fijaron las células con Cytotfix/Cytoperm (BD Biosciences, San José, CA) y a continuación se incubaron con el anticuerpo marcado con ficoeritrina contra IFN- $\gamma$  o el control de isotipo. Tras la tinción, las células se lavaron y se evaluó un mínimo de  $1 \times 10^5$  eventos seleccionados in vivo mediante citometría de flujo en un citómetro de flujo FACSCalibur utilizando el programa informático Cellquest (BD Immunocytometry systems, San José, CA). Antes de recibir la vacuna el paciente tuvo una respuesta mínima en los controles no estimulados y con el control negativo PEP-1. Después de recibir la vacuna, y durante la administración de la temozolomida, se produjo un aumento de los linfocitos T CD8<sup>+</sup> productores de IFN- $\gamma$  específicos de PEPvIII.

#### EJEMPLO 5

Para caracterizar la respuesta de las diversas poblaciones de linfocitos T durante un ciclo de temozolomida (pauta de 5/21) y la vacuna administrada simultáneamente (día 19 en este ejemplo), se extrajo sangre periférica los días 0, 3, 5, 12, 19, 23, 25 y 26. Mediante el análisis de la citometría de flujo, se investigó el porcentaje de linfocitos T CD8<sup>+</sup>

y los subconjuntos de linfocitos T reguladores CD4+CD25+FoxP3+ durante un ciclo de inmunoterapia. Todos los anticuerpos monoclonales (mAb) conjugados con fluorescencia (PerCP-Cy5.5-CD3, FITC-CD8, APC-CD4 y PE-CD25) se adquirieron en BD Biosciences, salvo el mAb marcado con FITC de FoxP3, que se preparó en eBioscience. La tinción superficial e intracelular de las células de sangre periférica se llevó a cabo de acuerdo con los procedimientos convencionales proporcionados por el fabricante. Los resultados se analizaron mediante el citómetro de flujo FACSCalibur utilizando el programa informático Cellquest Pro (BD Biosciences). A diferencia de la disminución del subconjunto de linfocitos T CD8+, la población de Treg comenzó a aumentar tras la administración de temozolomida durante 3 días y alcanzó su punto más alto (0,9 % del total de linfocitos T CD4+) el día 12. Entonces, las Treg empezaron a disminuir hasta el día 23, mientras que las cifras de linfocitos T CD8+ empezaron a recuperarse. Al final del ciclo, tanto las poblaciones de linfocitos T CD8+ como las de Treg se recuperaron alcanzando niveles anteriores al tratamiento. La vacunación dio lugar a un aumento de linfocitos T citotóxicos CD8+ durante un período de Tregs disminuido relativo.

#### EJEMPLO 6

Durante los últimos 15 meses, el paciente se sometió a un examen físico completo y a una resonancia magnética (RM) cerebral a intervalos de dos meses. Su examen ha permanecido estable y con la RM no se ha podido demostrar ninguna prueba de recurrencia. Trabaja a tiempo completo sin discapacidad y tiene un estado funcional de Karnofsky (KPS) del 100 % y una puntuación del mini examen del estado mental de 30/30. Su examen neurológico es completamente normal.

Este informe sugiere que la administración simultánea de quimioterapia e inmunoterapia puede ser posible si se supervisa la programación de los tratamientos cuidadosamente. En el caso presentado, existen varios descubrimientos que indican que la administración conjunta de la temozolomida no ha afectado a la eficacia de la vacuna PEPvIII-KLH. En primer lugar, el paciente aún no ha evolucionado a los 15 meses del seguimiento. Esta fue la media de TTP para los pacientes (n=22) que solamente recibieron terapia basada en vacunación. En consecuencia, la eficacia clínica no parece haberse efectuado en comparación con pacientes que no recibieron la temozolomida administrada simultáneamente. El paciente desarrolló respuestas de DTH al componente PEPvIII de la vacuna, incluso mientras recibía temozolomida, mientras que solamente el 15 % de los pacientes que recibían la vacuna aislada desarrollaron este tipo de respuestas. Además, el área de reactividad de DTH al PEPvIII ha seguido aumentando con vacunaciones posteriores. En tercer lugar, las respuestas específicas de IgG al PEPvIII se indujeron después de la 3ª vacunación y se han mantenido mientras se recibe la temozolomida simultánea. En cuarto lugar, los linfocitos T CD3+CD8+ productores de IFN-γ específicos de PEP-3 inducidos no parecen disminuir durante los ciclos de temozolomida administrada simultáneamente, pero parecen aumentar durante la temozolomida administrada simultáneamente. Por último, se ha hecho un seguimiento de las poblaciones de linfocitos T CD8+ y Treg durante un único ciclo de tratamiento y se ha averiguado que parece haber una ventana de sensibilidad de efectores T (linfocitos T CD8+) con una relativa disminución de Treg. En consecuencia, la administración simultánea de temozolomida y vacuna no parece disminuir las respuestas inmunitarias inducidas, del modo que se ha descrito.

El uso de la reducción de linfomas para aumentar las respuestas inmunológicas se ha descrito tanto en sistemas de modelos murinos (Berenson et al., 1975; Cheever et al., 1980; North, 1982) como en pacientes de cáncer humanos (Dudley et al., 2002; Dudley et al., 2005). Se han propuesto múltiples mecanismos como responsables de estas respuestas antitumorales mejoradas. La reducción de linfomas puede eliminar la competencia en la superficie de células presentadoras de antígenos (Kedl et al., 2000), aumentar la disponibilidad de citocinas, tales como IL-7 y IL-15, que aumentan la actividad de los linfocitos T (Gattinoni et al., 2005) y disminuir las Treg inhibitorias inmunitarias (Anthony et al., 2005). La quimioterapia también podría aumentar posiblemente la sensibilidad inmunológica mejorando la sensibilización y presentación inmunitaria (Nowak et al., 2002), mejorando la expresión antigénica (Aquino et al., 1998), y mejorando los objetivos de erradicación inmunitaria (Ciusani et al., 2002). Cuando se administra una vacunación durante el nadir de temozolomida, se propone la hipótesis de que podría haber una respuesta efectora mejorada. Dichas respuestas efectoras pueden ser menos importantes que un retraso en la recuperación de las Treg, lo cual permite una mayor expansión clonotípica que la que se hubiera observado sin la temozolomida. Esto se observó ciertamente durante un ciclo de quimioinmunoterapia monitorizado en este paciente en particular. El retraso en la recuperación de las Treg con respecto a los linfocitos T efectoras no es sorprendente teniendo en cuenta las funciones fisiológicas normales de las respuestas celulares inmunitarias. Con el fin de generar una respuesta inmunitaria, sería necesario activar los efectores T, proliferarlos y mediar su respuesta. Si esto sigue sin comprobarse por mecanismos homeostáticos tales como las Treg, la proliferación de linfocitos T no dejará de aumentar. En consecuencia, el retraso de la respuesta de las Treg permitiría respuestas inmunitarias eficaces, pero con una modulación/regulación a la negativa final de esta respuesta.

En conclusión, esta descripción de caso sugiere que la administración conjunta de quimioterapia e inmunoterapia no puede ser perjudicial.

#### Referencias

Hatano, M., J. Eguchi, et al. (2005). "EphA2 as a glioma-associated antigen: a novel target for glioma vaccines." *Neoplasia* 7(8): 717-22.

Liu, G., J. S. Yu, et al. (2004). "AIM-2: a novel tumor antigen is expressed and presented by human glioma cells." *J Immunother* 27(3): 220-6.

5 Liu, M., B. Dai, et al. (2006). "FoxM1B is overexpressed in human glioblastomas and critically regulates the tumorigenicity of glioma cells." *Can Res* 66(7): 3593-3602.

Xie, D., Y. X. Zeng, et al. (2006). "Expression of cytoplasmic and nuclear survivin in primary and secondary human glioblastoma." *Br J Cancer* 94(1): 108-114.

10 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Sampson, John  
Bigner, Darell  
Heimberger, Amy  
15 Mitchell, Duane

<120> QUIMIOTERAPIA E INMUNOTERAPIA SIMULTÁNEAS

<130> 000250.00039

20 <150> 60/732741  
<151> 02-11-2005

<160> 9

25 <170> FastSEQ para Windows Versión 4.0

<210> 1  
<211> 14  
30 <212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 1

35 Leu Glu Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Val Val Thr Asp His Ser  
1 5 10

<210> 2  
<211> 13  
40 <212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 2

45 Leu Glu Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Val Val Thr Asp His  
1 5 10

<210> 3  
<211> 14  
50 <212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 3

55 Leu Glu Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Val Val Thr Asp His Cys  
1 5 10

<210> 4  
<211> 14  
60 <212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 4

ES 2 454 990 T3

His Asp Thr Val Tyr Cys Val Lys Gly Asn Lys Glu Leu Glu  
1 5 10

5  
<210> 5  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
  
<400> 5

10  
Gln Tyr Ile Lys Ala Asn Ser Lys Phe Ile Gly Ile Thr Glu  
1 5 10

15  
<210> 6  
<211> 1210  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
  
<400> 6

ES 2 454 990 T3

Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala  
 1 5 10 15  
 Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln  
 20 25 30  
 Gly Thr Ser Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe  
 35 40 45  
 Leu Ser Leu Gln Arg Met Phe Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn  
 50 55 60  
 Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys  
 65 70 75 80  
 Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val  
 85 90 95  
 Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Met Tyr  
 100 105 110  
 Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn  
 115 120 125  
 Lys Thr Gly Leu Lys Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu  
 130 135 140  
 His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu  
 145 150 155 160  
 Ser Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Ser Ser Asp Phe Leu Ser Asn Met  
 165 170 175  
 Ser Met Asp Phe Gln Asn His Leu Gly Ser Cys Gln Lys Cys Asp Pro  
 180 185 190  
 Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Ala Gly Glu Glu Asn Cys Gln  
 195 200 205  
 Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser Gly Arg Cys Arg  
 210 215 220  
 Gly Lys Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys  
 225 230 235 240  
 Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Arg Lys Phe Arg Asp  
 245 250 255  
 Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro  
 260 265 270  
 Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly  
 275 280 285  
 Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His  
 290 295 300  
 Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu  
 305 310 315 320  
 Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val  
 325 330 335  
 Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn  
 340 345 350  
 Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp  
 355 360 365  
 Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr  
 370 375 380  
 Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu  
 385 390 395 400  
 Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp

				405					410					415	
Leu	His	Ala	Phe	Glu	Asn	Leu	Glu	Ile	Ile	Arg	Gly	Arg	Thr	Lys	Gln
			420					425					430		
His	Gly	Gln	Phe	Ser	Leu	Ala	Val	Val	Ser	Leu	Asn	Ile	Thr	Ser	Leu
		435					440					445			
Gly	Leu	Arg	Ser	Leu	Lys	Glu	Ile	Ser	Asp	Gly	Asp	Val	Ile	Ile	Ser
		450				455					460				
Gly	Asn	Lys	Asn	Leu	Cys	Tyr	Ala	Asn	Thr	Ile	Asn	Trp	Lys	Lys	Leu
465					470					475				480	
Phe	Gly	Thr	Ser	Gly	Gln	Lys	Thr	Lys	Ile	Ile	Ser	Asn	Arg	Gly	Glu
				485					490					495	
Asn	Ser	Cys	Lys	Ala	Thr	Gly	Gln	Val	Cys	His	Ala	Leu	Cys	Ser	Pro
			500					505					510		
Glu	Gly	Cys	Trp	Gly	Pro	Glu	Pro	Arg	Asp	Cys	Val	Ser	Cys	Arg	Asn
		515					520					525			
Val	Ser	Arg	Gly	Arg	Glu	Cys	Val	Asp	Lys	Cys	Asn	Leu	Leu	Glu	Gly
		530				535					540				
Glu	Pro	Arg	Glu	Phe	Val	Glu	Asn	Ser	Glu	Cys	Ile	Gln	Cys	His	Pro
545					550					555				560	
Glu	Cys	Leu	Pro	Gln	Ala	Met	Asn	Ile	Thr	Cys	Thr	Gly	Arg	Gly	Pro
				565					570					575	
Asp	Asn	Cys	Ile	Gln	Cys	Ala	His	Tyr	Ile	Asp	Gly	Pro	His	Cys	Val
			580					585					590		
Lys	Thr	Cys	Pro	Ala	Gly	Val	Met	Gly	Glu	Asn	Asn	Thr	Leu	Val	Trp
		595					600					605			
Lys	Tyr	Ala	Asp	Ala	Gly	His	Val	Cys	His	Leu	Cys	His	Pro	Asn	Cys
	610					615					620				
Thr	Tyr	Gly	Cys	Thr	Gly	Pro	Gly	Leu	Glu	Gly	Cys	Pro	Thr	Asn	Gly
625					630					635				640	
Pro	Lys	Ile	Pro	Ser	Ile	Ala	Thr	Gly	Met	Val	Gly	Ala	Leu	Leu	Leu
				645					650					655	
Leu	Leu	Val	Val	Ala	Leu	Gly	Ile	Gly	Leu	Phe	Met	Arg	Arg	Arg	His
			660					665					670		
Ile	Val	Arg	Lys	Arg	Thr	Leu	Arg	Arg	Leu	Leu	Gln	Glu	Arg	Glu	Leu
		675					680					685			
Val	Glu	Pro	Leu	Thr	Pro	Ser	Gly	Glu	Ala	Pro	Asn	Gln	Ala	Leu	Leu
		690				695					700				
Arg	Ile	Leu	Lys	Glu	Thr	Glu	Phe	Lys	Lys	Ile	Lys	Val	Leu	Gly	Ser
705					710					715				720	
Gly	Ala	Phe	Gly	Thr	Val	Tyr	Lys	Gly	Leu	Trp	Ile	Pro	Glu	Gly	Glu
				725					730					735	
Lys	Val	Lys	Ile	Pro	Val	Ala	Ile	Lys	Glu	Leu	Arg	Glu	Ala	Thr	Ser
			740					745					750		
Pro	Lys	Ala	Asn	Lys	Glu	Ile	Leu	Asp	Glu	Ala	Tyr	Val	Met	Ala	Ser
		755					760					765			
Val	Asp	Asn	Pro	His	Val	Cys	Arg	Leu	Leu	Gly	Ile	Cys	Leu	Thr	Ser
		770				775					780				
Thr	Val	Gln	Leu	Ile	Thr	Gln	Leu	Met	Pro	Phe	Gly	Cys	Leu	Leu	Asp
785					790					795				800	
Tyr	Val	Arg	Glu	His	Lys	Asp	Asn	Ile	Gly	Ser	Gln	Tyr	Leu	Leu	Asn
				805					810					815	
Trp	Cys	Val	Gln	Ile	Ala	Lys	Gly	Met	Asn	Tyr	Leu	Glu	Asp	Arg	Arg
			820					825					830		
Leu	Val	His	Arg	Asp	Leu	Ala	Ala	Arg	Asn	Val	Leu	Val	Lys	Thr	Pro
		835					840					845			
Gln	His	Val	Lys	Ile	Thr	Asp	Phe	Gly	Leu	Ala	Lys	Leu	Leu	Gly	Ala
		850				855					860				
Glu	Glu	Lys	Glu	Tyr	His	Ala	Glu	Gly	Gly	Lys	Val	Pro	Ile	Lys	Trp
865					870					875				880	
Met	Ala	Leu	Glu	Ser	Ile	Leu	His	Arg	Ile	Tyr	Thr	His	Gln	Ser	Asp
				885					890					895	
Val	Trp	Ser	Tyr	Gly	Val	Thr	Val	Trp	Glu	Leu	Met	Thr	Phe	Gly	Ser
			900					905					910		
Lys	Pro	Tyr	Asp	Gly	Ile	Pro	Ala	Ser	Glu	Ile	Ser	Ser	Ile	Leu	Glu

		915						920					925				
Lys	Gly	Glu	Arg	Leu	Pro	Gln	Pro	Pro	Ile	Cys	Thr	Ile	Asp	Val	Tyr		
	930					935					940						
Met	Ile	Met	Val	Lys	Cys	Trp	Met	Ile	Asp	Ala	Asp	Ser	Arg	Pro	Lys		
945				950					955						960		
Phe	Arg	Glu	Leu	Ile	Ile	Glu	Phe	Ser	Lys	Met	Ala	Arg	Asp	Pro	Gln		
				965					970					975			
Arg	Tyr	Leu	Val	Ile	Gln	Gly	Asp	Glu	Arg	Met	His	Leu	Pro	Ser	Pro		
			980					985					990				
Thr	Asp	Ser	Asn	Phe	Tyr	Arg	Ala	Leu	Met	Asp	Glu	Glu	Asp	Met	Asp		
		995					1000					1005					
Asp	Val	Val	Asp	Ala	Asp	Glu	Tyr	Leu	Ile	Pro	Gln	Gln	Gly	Phe	Phe		
	1010					1015					1020						
Ser	Ser	Pro	Ser	Thr	Ser	Arg	Thr	Pro	Leu	Leu	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala		
1025				1030				1035							1040		
Thr	Ser	Asn	Asn	Ser	Thr	Val	Ala	Cys	Ile	Asp	Arg	Asn	Gly	Leu	Gln		
				1045				1050						1055			
Ser	Cys	Pro	Ile	Lys	Glu	Asp	Ser	Phe	Leu	Gln	Arg	Tyr	Ser	Ser	Asp		
			1060					1065					1070				
Pro	Thr	Gly	Ala	Leu	Thr	Glu	Asp	Ser	Ile	Asp	Asp	Thr	Phe	Leu	Pro		
		1075					1080					1085					
Val	Pro	Glu	Tyr	Ile	Asn	Gln	Ser	Val	Pro	Lys	Arg	Pro	Ala	Gly	Ser		
	1090					1095					1100						
Val	Gln	Asn	Pro	Val	Tyr	His	Asn	Gln	Pro	Leu	Asn	Pro	Ala	Pro	Ser		
1105				1110					1115						1120		
Arg	Asp	Pro	His	Tyr	Gln	Asp	Pro	His	Ser	Thr	Ala	Val	Gly	Asn	Pro		
				1125					1130					1135			
Glu	Tyr	Leu	Asn	Thr	Val	Gln	Pro	Thr	Cys	Val	Asn	Ser	Thr	Phe	Asp		
			1140					1145					1150				
Ser	Pro	Ala	His	Trp	Ala	Gln	Lys	Gly	Ser	His	Gln	Ile	Ser	Leu	Asp		
		1155					1160					1165					
Asn	Pro	Asp	Tyr	Gln	Gln	Asp	Phe	Phe	Pro	Lys	Glu	Ala	Lys	Pro	Asn		
	1170					1175					1180						
Gly	Ile	Phe	Lys	Gly	Ser	Thr	Ala	Glu	Asn	Ala	Glu	Tyr	Leu	Arg	Val		
1185					1190				1195						1200		
Ala	Pro	Gln	Ser	Ser	Glu	Phe	Ile	Gly	Ala								
				1205				1210									

<210> 7  
 <211> 628  
 5 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 7

Met	Arg	Pro	Ser	Gly	Thr	Ala	Gly	Ala	Ala	Leu	Leu	Ala	Leu	Leu	Ala		
1				5					10						15		
Ala	Leu	Cys	Pro	Ala	Ser	Arg	Ala	Leu	Glu	Glu	Lys	Lys	Val	Cys	Gln		
			20					25					30				
Gly	Thr	Ser	Asn	Lys	Leu	Thr	Gln	Leu	Gly	Thr	Phe	Glu	Asp	His	Phe		
		35					40					45					
Leu	Ser	Leu	Gln	Arg	Met	Phe	Asn	Asn	Cys	Glu	Val	Val	Leu	Gly	Asn		
50						55					60						
Leu	Glu	Ile	Thr	Tyr	Val	Gln	Arg	Asn	Tyr	Asp	Leu	Ser	Phe	Leu	Lys		
65				70					75						80		
Thr	Ile	Gln	Glu	Val	Ala	Gly	Tyr	Val	Leu	Ile	Ala	Leu	Asn	Thr	Val		
			85					90					95				
Glu	Arg	Ile	Pro	Leu	Glu	Asn	Leu	Gln	Ile	Ile	Arg	Gly	Asn	Met	Tyr		
			100					105					110				
Tyr	Glu	Asn	Ser	Tyr	Ala	Leu	Ala	Val	Leu	Ser	Asn	Tyr	Asp	Ala	Asn		
		115					120					125					
Lys	Thr	Gly	Leu	Lys	Glu	Leu	Pro	Met	Arg	Asn	Leu	Gln	Glu	Ile	Leu		
	130					135					140						
His	Gly	Ala	Val	Arg	Phe	Ser	Asn	Asn	Pro	Ala	Leu	Cys	Asn	Val	Glu		

10

145					150					155					160
Ser	Ile	Gln	Trp	Arg	Asp	Ile	Val	Ser	Ser	Asp	Phe	Leu	Ser	Asn	Met
				165					170					175	
Ser	Met	Asp	Phe	Gln	Asn	His	Leu	Gly	Ser	Cys	Gln	Lys	Cys	Asp	Pro
			180					185						190	
Ser	Cys	Pro	Asn	Gly	Ser	Cys	Trp	Gly	Ala	Gly	Glu	Glu	Asn	Cys	Gln
		195					200						205		
Lys	Leu	Thr	Lys	Ile	Ile	Cys	Ala	Gln	Gln	Cys	Ser	Gly	Arg	Cys	Arg
	210					215						220			
Gly	Lys	Ser	Pro	Ser	Asp	Cys	Cys	His	Asn	Gln	Cys	Ala	Ala	Gly	Cys
	225				230					235					240
Thr	Gly	Pro	Arg	Glu	Ser	Asp	Cys	Leu	Val	Cys	Arg	Lys	Phe	Arg	Asp
				245					250						255
Glu	Ala	Thr	Cys	Lys	Asp	Thr	Cys	Pro	Pro	Leu	Met	Leu	Tyr	Asn	Pro
			260					265					270		
Thr	Thr	Tyr	Gln	Met	Asp	Val	Asn	Pro	Glu	Gly	Lys	Tyr	Ser	Phe	Gly
		275					280					285			
Ala	Thr	Cys	Val	Lys	Lys	Cys	Pro	Arg	Asn	Tyr	Val	Val	Thr	Asp	His
	290					295					300				
Gly	Ser	Cys	Val	Arg	Ala	Cys	Gly	Ala	Asp	Ser	Tyr	Glu	Met	Glu	Glu
	305				310					315					320
Asp	Gly	Val	Arg	Lys	Cys	Lys	Lys	Cys	Glu	Gly	Pro	Cys	Arg	Lys	Val
				325					330						335
Cys	Asn	Gly	Ile	Gly	Ile	Gly	Glu	Phe	Lys	Asp	Ser	Leu	Ser	Ile	Asn
			340					345					350		
Ala	Thr	Asn	Ile	Lys	His	Phe	Lys	Asn	Cys	Thr	Ser	Ile	Ser	Gly	Asp
		355				360						365			
Leu	His	Ile	Leu	Pro	Val	Ala	Phe	Arg	Gly	Asp	Ser	Phe	Thr	His	Thr
	370				375						380				
Pro	Pro	Leu	Asp	Pro	Gln	Glu	Leu	Asp	Ile	Leu	Lys	Thr	Val	Lys	Glu
	385				390					395					400
Ile	Thr	Gly	Phe	Leu	Leu	Ile	Gln	Ala	Trp	Pro	Glu	Asn	Arg	Thr	Asp
				405					410						415
Leu	His	Ala	Phe	Glu	Asn	Leu	Glu	Ile	Arg	Gly	Arg	Thr	Lys	Gln	
			420					425					430		
His	Gly	Gln	Phe	Ser	Leu	Ala	Val	Val	Ser	Leu	Asn	Ile	Thr	Ser	Leu
		435					440					445			
Gly	Leu	Arg	Ser	Leu	Lys	Glu	Ile	Ser	Asp	Gly	Asp	Val	Ile	Ile	Ser
	450					455					460				
Gly	Asn	Lys	Asn	Leu	Cys	Tyr	Ala	Asn	Thr	Ile	Asn	Trp	Lys	Lys	Leu
	465				470					475					480
Phe	Gly	Thr	Ser	Gly	Gln	Lys	Thr	Lys	Ile	Ile	Ser	Asn	Arg	Gly	Glu
				485					490						495
Asn	Ser	Cys	Lys	Ala	Thr	Gly	Gln	Val	Cys	His	Ala	Leu	Cys	Ser	Pro
			500					505					510		
Glu	Gly	Cys	Trp	Gly	Pro	Glu	Pro	Arg	Asp	Cys	Val	Ser	Cys	Arg	Asn
		515					520					525			
Val	Ser	Arg	Gly	Arg	Glu	Cys	Val	Asp	Lys	Cys	Asn	Leu	Leu	Glu	Gly
	530					535					540				
Glu	Pro	Arg	Glu	Phe	Val	Glu	Asn	Ser	Glu	Cys	Ile	Gln	Cys	His	Pro
	545				550					555					560
Glu	Cys	Leu	Pro	Gln	Ala	Met	Asn	Ile	Thr	Cys	Thr	Gly	Arg	Gly	Pro
				565					570						575
Asp	Asn	Cys	Ile	Gln	Cys	Ala	His	Tyr	Ile	Asp	Gly	Pro	His	Cys	Val
			580					585					590		
Lys	Thr	Cys	Pro	Ala	Gly	Val	Met	Gly	Glu	Asn	Asn	Thr	Leu	Val	Trp
		595					600					605			
Lys	Tyr	Ala	Asp	Ala	Gly	His	Val	Cys	His	Leu	Cys	His	Pro	Asn	Cys
	610					615					620				
Thr	Tyr	Gly	Ser												
															625

<210> 8  
 <211> 405  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 8

ES 2 454 990 T3

```

Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala
 1      5      10      15
Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln
 20      25      30
Gly Thr Ser Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe
 35      40      45
Leu Ser Leu Gln Arg Met Phe Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn
 50      55      60
Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys
 65      70      75      80
Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val
 85      90      95
Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Met Tyr
 100     105     110
Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn
 115     120     125
Lys Thr Gly Leu Lys Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu
 130     135     140
His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu
 145     150     155     160
Ser Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Ser Ser Asp Phe Leu Ser Asn Met
 165     170     175
Ser Met Asp Phe Gln Asn His Leu Gly Ser Cys Gln Lys Cys Asp Pro
 180     185     190
Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Ala Gly Glu Glu Asn Cys Gln
 195     200     205
Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser Gly Arg Cys Arg
 210     215     220
Gly Lys Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys
 225     230     235     240
Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Arg Lys Phe Arg Asp
 245     250     255
Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro
 260     265     270
Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
 275     280     285
Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
 290     295     300
Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu
 305     310     315     320
Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val
 325     330     335
Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn
 340     345     350
Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp
 355     360     365
Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr
 370     375     380
Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu
 385     390     395     400
Ile Thr Gly Leu Ser
 405

```

<210> 9  
 <211> 405  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
  
 <400> 9

5

ES 2 454 990 T3

Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala  
 1 5 10 15  
 Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln  
 20 25 30  
 Gly Thr Ser Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe  
 35 40 45  
 Leu Ser Leu Gln Arg Met Phe Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn  
 50 55 60  
 Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys  
 65 70 75 80  
 Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val  
 85 90 95  
 Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Met Tyr  
 100 105 110  
 Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn  
 115 120 125  
 Lys Thr Gly Leu Lys Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu  
 130 135 140  
 His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu  
 145 150 155 160  
 Ser Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Ser Ser Asp Phe Leu Ser Asn Met  
 165 170 175  
 Ser Met Asp Phe Gln Asn His Leu Gly Ser Cys Gln Lys Cys Asp Pro  
 180 185 190  
 Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Ala Gly Glu Glu Asn Cys Gln  
 195 200 205  
 Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser Gly Arg Cys Arg  
 210 215 220  
 Gly Lys Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys  
 225 230 235 240  
 Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Arg Lys Phe Arg Asp  
 245 250 255  
 Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro  
 260 265 270  
 Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly  
 275 280 285  
 Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His  
 290 295 300  
 Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu  
 305 310 315 320  
 Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val  
 325 330 335  
 Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn  
 340 345 350  
 Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp  
 355 360 365  
 Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr  
 370 375 380  
 Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu  
 385 390 395 400  
 Ile Thr Gly Leu Ser  
 405

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Un péptido EGFRvIII y temozolomida o una sal de la misma farmacéuticamente aceptable para su uso en el tratamiento de un tumor en un sujeto, en donde el péptido EGFRvIII comprende de 10 a 30 aminoácidos de la proteína EGFRvIII y abarca el punto de unión de empalme mutado de la proteína EGFRvIII.
2. El péptido EGFRvIII y la temozolomida para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el péptido EGFRvIII y la temozolomida se encuentran en distintas formulaciones.
- 10 3. El péptido EGFRvIII y la temozolomida para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el péptido EGFRvIII es un componente de una vacuna antitumoral.
4. El péptido EGFRvIII y la temozolomida para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el péptido EGFRvIII está conjugado con hemocianina de lapa californiana (KLH).
- 15 5. El péptido EGFRvIII y la temozolomida para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1, 3 y 4, en donde el péptido EGFRvIII es para administrar simultáneamente con GM-CSF.
- 20 6. El péptido EGFRvIII y la temozolomida para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el péptido EGFRvIII tiene la secuencia H- LEEKKGNYVVDHS-OH (SEC ID NO: 1).
7. El péptido EGFRvIII y la temozolomida para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el péptido EGFRvIII tiene la secuencia LEU-GLU- GLU-LYS-LYS-GLY-ASN-TYR-VAL-VAL-THR-ASP-HIS (SEC ID NO: 2).
- 25 8. El péptido EGFRvIII y la temozolomida para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el péptido EGFRvIII tiene la secuencia LEU-GLU-GLU-LYS-LYS-GLY-ASN-TYR-VAL-VAL-THR-ASP-HIS-CYS (SEC ID NO: 3), y en donde la KLH está conjugada con el resto de CYS.
- 30 9. El péptido EGFRvIII y la temozolomida para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el péptido EGFRvIII está conjugado con la KLH con un reticulante heterobifuncional.
10. El péptido EGFRvIII y la temozolomida para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en donde el reticulante heterobifuncional es sulfosuccinimidil 6-[31'(2-piridilditio)-propionamido] hexanoato.
- 35 11. El péptido EGFRvIII y la temozolomida para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el tumor es un glioma maligno.
12. El péptido EGFRvIII y la temozolomida para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el tumor es un astrocitoma.
- 40 13. El péptido EGFRvIII y la temozolomida para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el tumor es un tumor de pulmón.
14. El péptido EGFRvIII y la temozolomida para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el tumor es un tumor de mama.
- 45 15. El péptido EGFRvIII y la temozolomida para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el tumor es un cáncer de cabeza y cuello.
- 50 16. El péptido EGFRvIII y la temozolomida para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la vacuna antitumoral comprende adicionalmente un antígeno aislado.
17. El péptido EGFRvIII y la temozolomida para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la vacuna antitumoral comprende adicionalmente células tumorales destruidas.
- 55 18. El péptido EGFRvIII y la temozolomida para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la vacuna antitumoral comprende adicionalmente una fracción de células tumorales.
- 60 19. Un péptido EGFRvIII para su uso en combinación con temozolomida o una sal de la misma farmacéuticamente aceptable para tratar un tumor en un sujeto, en donde el péptido EGFRvIII comprende de 10 a 30 aminoácidos de proteína EGFRvIII y abarca el punto de unión de empalme mutado de la proteína EGFRvIII.
- 65 20. El péptido EGFRvIII para su uso de acuerdo con la reivindicación 19, en donde el péptido EGFRvIII tiene la secuencia LEU-GLU-GLU-LYS-LYS-GLY-ASN-TYR-VAL-VAL-THR-ASP-HIS-CYS (SEC ID NO: 3) y en el que la KLH está conjugada con el resto de CYS.

21. El péptido EGFRvIII para su uso de acuerdo con la reivindicación 19, en donde el tumor es un glioma maligno.