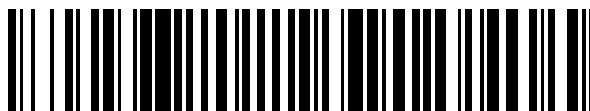


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 502 541**

51 Int. Cl.:

A61K 39/395 (2006.01)

A61K 31/454 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.09.2010 E 10815436 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.07.2014 EP 2476438**

54 Título: **Medicamento que incluye una composición de anticuerpos unida específicamente al receptor 4 de quimiocina CC humana (CCR4)**

30 Prioridad:

10.09.2009 JP 2009209218

11.09.2009 US 241558 P

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

03.10.2014

73 Titular/es:

KYOWA HAKKO KIRIN CO., LTD. (100.0%)

1-6-1, Ohtemachi Chiyoda-ku

Tokyo 100-8185, JP

72 Inventor/es:

ISHII, TOSHIHIKO y

ASANO, MIYOKO

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 502 541 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

Medicamento que incluye una composición de anticuerpos unida específicamente al receptor 4 de quimiocina CC humana (CCR4)

5

Antecedentes de la invención**Campo técnico**

10 En la presente memoria se da a conocer una composición farmacéutica, que comprende una composición de anticuerpos que se une específicamente al receptor 4 de quimiocina CC humana (en adelante también denominada CCR4) y por lo menos un medicamento.

Antecedentes de la técnica

15

El pronóstico del linfoma de linfocitos T es muy pobre y no existe ningún agente terapéutico que muestre suficiente eficacia farmacológica. Es conocido que el receptor 4 de quimiocina CC humana se expresa en algunos tipos de linfoma de linfocitos T, incluyendo la leucemia/linfoma de linfocitos T adultos y el linfoma de linfocitos T cutáneos (literatura no de patente nº 1 y nº 2). Por lo tanto, una composición farmacéutica que comprende una composición de anticuerpos que se une específicamente a CCR4 puede ser una composición farmacéutica eficaz para tratar los tumores de linfocitos T que expresan CCR4 (literatura de patentes nº 1, nº 2 y nº 3). Ito *et al.* (Cancer Immunol. Immunother. 58:1195-1206, 2009) describen un anticuerpo monoclonal anti-CCR4 defucosilado e informan de un potente efecto antitumoral mediado por ADCC en el modelo de ratón NOD/Shi-scid, IL-2Ry^{null}. Niwa *et al.* (Cancer Research 62:2127-2133, marzo de 2004) describen una IgG1 anti-receptor 4 de quimiocina CC quimérica defucosilada con una ADCC incrementada, que muestra una potente actividad terapéutica contra la leucemia y el linfoma de linfocitos T. El documento nº US2003/0175273 describe un anticuerpo injertado de CDR humano contra la región extracelular de CCR4 humano, que presenta actividad citotóxica.

30 La lenalidomida es un agente terapéutico estándar para el mieloma múltiple y se han llevado a cabo ensayos clínicos en enfermedades, incluyendo un linfoma de linfocitos T con el fin de expandir las indicaciones (literatura no de patentes nº 3). La lenalidomida es un agente denominado inmunomodulador que presenta actividad inmunoestimuladora (literatura no de patentes nº 4) y es conocido que de hecho incrementa la actividad de ADCC de un anticuerpo terapéutico, tal como el anticuerpo anti-CD20 y el anticuerpo anti-CD40 (literaturas no de patente nº 5 y nº 6). El documento nº WO2008/019378 describe métodos para tratar el mieloma utilizando terapias de combinación basadas en anticuerpos anti-CS1. El documento nº WO2000/058021 describe la utilización de anticuerpos anti-CD33 en las terapias del cáncer. Wu *et al.* (ASH Annual Meeting Abstracts) 110:resumen 4885, 2007) informa de que los autores han demostrado anteriormente que en un sistema de ADCC *in vitro*, la lenalidomida era capaz de incrementar la función de las células NK humanas y de los monocitos en respuesta al rituximab.

40

Listado de referencias

Literatura de patentes

Literatura de patentes nº 1: WO01/64754

45 Literatura de patentes nº 2: WO03/18635

Literatura de patentes nº 3: WO2005/057341

Literatura no de patentes

Literatura no de patentes nº 1: Clinical Cancer Research 9:3625, 2003.

50 Literatura no de patentes nº 2: J. Invest. Dermatol. 119:1405, 2002.

Literatura no de patentes nº 3: Clin. Lymphoma Myeloma suppl. 5:S187, 2008.

Literatura no de patentes nº 4: J. Clin. Oncol. 26:1544, 2008.

Literatura no de patentes nº 5: Clin. Cancer Res. 11:5984, 2005.

55 Literatura no de patentes nº 6: Br. J. Haematol. 144:848, 2009.

Sumario de la invención**Problema técnico**

60 Un objetivo de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo recombinante contra CCR4 y por lo menos un medicamento, es decir, la lenalidomida, y una composición farmacéutica para administrar un anticuerpo recombinante contra CCR4 y por lo menos un medicamento, es decir, la lenalidomida, en combinación. Sin embargo, no existe ninguna terapia de combinación de lenalidomida y un anticuerpo terapéutico aprobada para la práctica clínica. Además, no existe ningún informe sobre el efecto en combinación de un anticuerpo anti-CCR4 y la lenalidomida en el linfoma de linfocitos T.

65

La presente invención se define en las reivindicaciones adjuntas. Las materias que no se encuentran comprendidas en el alcance según las reivindicaciones no forman parte de la presente invención.

Solución al problema

5

La presente invención se refiere a (1) a (6) a continuación:

10

[1]. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo recombinante que se une específicamente al receptor 4 de la quimiocina CC humana (CCR4) y lenalidomida, en la que el anticuerpo comprende la región determinante de complementariedad (CDR) 1, CDR2 y CDR3 de una región variable de cadena pesada de una molécula de anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos representadas por SEC ID nº 5, nº 6 y nº 7, respectivamente, y CDR1, CDR2 y CDR3 de una región variable de cadena ligera de un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos representadas por SEC ID nº 8, nº 9 y nº 10, respectivamente, para la utilización en un método de tratamiento del linfoma de linfocitos T.

15

[2]. La composición farmacéutica para la utilización según [1], en la que el anticuerpo recombinante que se une específicamente a CCR4 y la lenalidomida deben administrarse en combinación.

20

[3]. La composición farmacéutica para la utilización según [2], en la que el anticuerpo recombinante que se une específicamente CCR4 y la lenalidomida deben administrarse simultáneamente o secuencialmente.

25

[4]. La composición farmacéutica para la utilización según [1] a [3], en la que el anticuerpo recombinante es un anticuerpo que presenta una elevada citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos.

30

[5]. La composición farmacéutica para la utilización según [1] a [4], en la que el anticuerpo recombinante es un anticuerpo humanizado.

[6]. La composición farmacéutica para la utilización según cualquiera de entre [1] y [5], en la que, en el anticuerpo humanizado, la región variable de cadena pesada de una molécula de anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos representadas por SEC ID nº 11 y la región variable de cadena ligera de una molécula de anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos representadas por SEC ID nº 12.

También se da a conocer en la presente memoria:

35

(1) Una composición farmacéutica, que comprende un anticuerpo recombinante que se une específicamente al receptor 4 de la quimiocina CC humana (CCR4) y lenalidomida.

40

(2) Una composición farmacéutica para administrar un anticuerpo recombinante que se une específicamente a CCR4 y lenalidomida en combinación.

(3) La composición farmacéutica descrita en (2), anteriormente, en la que la composición farmacéutica para administrar en combinación es una composición farmacéutica para la administración simultánea o secuencial.

45

(4) La composición farmacéutica descrita en cualquiera de (1) a (3) anteriormente, en la que la composición farmacéutica es un agente antitumoral.

(5) La composición farmacéutica descrita en (4), anteriormente, en la que el tumor es un tumor que expresa CCR4.

50

(6) La composición farmacéutica descrita en (5), anteriormente, en la que el tumor que expresa CCR4 es linfoma de linfocitos T.

(7) La composición farmacéutica descrita en cualquiera de (1) a (6), anteriormente, en la que el anticuerpo recombinante es un anticuerpo que presenta una elevada citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos.

55

(8) La composición farmacéutica descrita en cualquiera de (1) a (7), anteriormente, en la que el anticuerpo recombinante es un anticuerpo humanizado.

60

(9) La composición farmacéutica descrita en (8), anteriormente, en la que el anticuerpo humanizado comprende la región determinante de complementariedad (en adelante también denominada CDR) 1, CDR2 y CDR3 de una región variable (en adelante también denominada región V) de cadena pesada (en adelante también denominada cadena H) de una molécula de anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos representadas por SEC ID nº 5, nº 6 y nº 7, respectivamente, y CDR1, CDR2 y CDR3 de una región V de cadena ligera (en adelante también denominada cadena L) de un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos representadas por SEC ID nº 8, nº 9 y nº 10, respectivamente, y

65

(10) La composición farmacéutica descrita en (9), anteriormente, en la que, en el anticuerpo humanizado, la región V de cadena H de una molécula de anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos representadas por SEC ID nº 11, y la región V de cadena L de una molécula de anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos representadas por SEC ID nº 12.

5 La presente exposición proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo recombinante contra CCR4 y por lo menos un medicamento y una composición farmacéutica para administrar un anticuerpo recombinante contra CCR4 y por lo menos un medicamento en combinación.

10 Breve descripción de los dibujos

[Figura 1] La figura 1 muestra el efecto de combinación de un anticuerpo anti-CCR4 y lenalidomida en células HH injertadas en ratones SCID. La ordenada muestra un valor V/V0. Las abscisas muestran el número de días. ●, □, ▲ y X indican los valores V/V0 medios de un grupo de control negativo, un grupo en el que se ha administrado KM8760 únicamente, un grupo en el que se ha administrado lenalidomida únicamente, y un grupo en el que se ha administrado KM8760 y lenalidomida en combinación, respectivamente.

[Figura 2] La figura 2 muestra el efecto de combinación de un anticuerpo anti-CCR4 y lenalidomida sobre las células HH injertadas en ratones SCID. La ordenada muestra un valor V/V0. Las abscisas muestran el número de días tras el inicio de la administración. ○, ▲, ■ y X indican los valores V/V0 medios de un grupo de control negativo (administración de medio), un grupo en el que se ha administrado KM8760 únicamente, un grupo en el que se ha administrado lenalidomida únicamente y un grupo en el que se ha administrado KM8760 y lenalidomida en combinación, respectivamente.

[Figura 3A] La figura 3A muestra la actividad de ADCC de KM8760 utilizando células PBMC_h y HH como células efectoras y células diana, respectivamente. La ordenada muestra la tasa de citotoxicidad (% de lisis) y las abscisas muestran la concentración de anticuerpo (μmoles/l). ○, ●, △ y ■ indican la tasa de citotoxicidad media (número de muestras N=3), medidas utilizando las células efectoras tratadas sin lenalidomida y 0,1 μmoles/l, 1 μmoles/l y 10 μmoles/l de lenalidomida, respectivamente, durante un día.

[Figura 3B] La figura 3B muestra la actividad de ADCC de KM8760 al utilizar las células PBMC_h y HH como células efectoras y células diana, respectivamente. La ordenada muestra la tasa de citotoxicidad (% de lisis) y las abscisas muestran la concentración de anticuerpo (μmoles/l). ○, ●, △ y ■ indican la tasa de citotoxicidad media (número de muestras N=3), medidas utilizando las células efectoras tratadas sin lenalidomida y 0,1 μmoles/l, 1 μmoles/l y 10 μmoles/l de lenalidomida, respectivamente, durante tres días.

[Figura 3C] La figura 3C muestra la actividad de ADCC de KM8760 al utilizar las células PBMC_h y HH como células efectoras y células diana, respectivamente. La ordenada muestra la tasa de citotoxicidad (% de lisis) y las abscisas muestran la concentración de anticuerpo (μmoles/l). ○, ●, △ y ■ indican la tasa de citotoxicidad media (número de muestras N=3), medidas utilizando las células efectoras tratadas sin lenalidomida y 0,1 μmoles/l, 1 μmoles/l y 10 μmoles/l de lenalidomida, respectivamente, durante cinco días.

Descripción de las formas de realización

45 Entre los ejemplos de la composición farmacéutica de la presente exposición se incluye una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo recombinante contra CCR4 y por lo menos un medicamento, y una composición farmacéutica para administrar un anticuerpo recombinante contra CCR4 y por lo menos un medicamento en combinación.

50 En la presente memoria, la composición farmacéutica que comprende un anticuerpo recombinante contra CCR4 y por lo menos un medicamento puede ser un fármaco de combinación en el que se mezcla cada componente del medicamento, o una composición farmacéutica para administrar simultánea o secuencialmente un anticuerpo recombinante que se une específicamente a CCR4 y por lo menos un medicamento en combinación, tras preparar cada medicamento separadamente. Entre los ejemplos del fármaco de combinación en el que se mezcla cada componente del medicamento se incluyen un anticuerpo de fusión en el que se une por lo menos un medicamento a un anticuerpo recombinante que se une específicamente a CCR4.

60 La composición farmacéutica para administrar un anticuerpo recombinante contra CCR4 y por lo menos un medicamento en combinación puede ser una composición farmacéutica para administrar simultánea o secuencialmente un anticuerpo recombinante que se une específicamente a CCR4 y por lo menos un medicamento en combinación, tras preparar cada medicamento separadamente, o un fármaco de combinación en el que se mezcla cada componente del medicamento. Entre los ejemplos del fármaco de combinación en el que se mezcla cada componente del medicamento se incluyen un anticuerpo de fusión en el que se une por lo menos un medicamento a un anticuerpo recombinante que se une específicamente a CCR4.

65

Además, dichos medicamentos pueden administrarse simultánea o secuencialmente en un paciente tras ajustar un kit farmacéutico que comprende cada medicamento, o administrar tras la mezcla dichos medicamentos.

En el caso de que un anticuerpo recombinante que reacciona específicamente con CCR4 y por lo menos un medicamento se administren simultáneamente, el orden de administración no se encontrará limitado. El anticuerpo recombinante que se une específicamente a CCR4 puede administrarse en un paciente antes o después de administrar por lo menos un medicamento. El término "secuencialmente" se refiere a que un anticuerpo recombinante y por lo menos un medicamento se administran uno después del otro dentro de un marcado temporal de manera que estos medicamentos puedan actuar terapéuticamente dentro del mismo marco temporal.

Entre los ejemplos del anticuerpo recombinante que se une específicamente a CCR4 se incluyen un anticuerpo recombinante que reacciona específicamente con una región extracelular del CCR4 humano. Entre ellos, resulta preferido un anticuerpo recombinante que no muestre reactividad con una plaqueta sanguínea humana y un anticuerpo recombinante que presente una elevada citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (en adelante también denominada actividad ADCC).

La referencia a un anticuerpo que no muestra reactividad con una plaqueta sanguínea humana tal como se utiliza en la presente memoria significa que el anticuerpo no reacciona sustancialmente con una plaqueta sanguínea humana. Concretamente se refiere a que no se observa reactividad mediante la medición con un citómetro de flujo.

Además, el anticuerpo en la presente exposición incluye un anticuerpo que reacciona específicamente con preferentemente la región que comprende las posiciones 1 a 39, 98 a 112, 176 a 206 o 271 a 284 de la secuencia de aminoácidos representada por SEC ID nº 1, más preferentemente la región que comprende las posiciones 2 a 29 (SEC ID nº 2) en la secuencia de aminoácidos representada por SEC ID nº 1, todavía más preferentemente la región que comprende las posiciones 12 a 29 (SEC ID nº 3) de la secuencia de aminoácidos representada por SEC ID nº 1, y particularmente preferentemente la región que comprende las posiciones 13 a 25 (SEC ID nº 4) en la secuencia de aminoácidos representada por SEC ID nº 1. Además, entre los ejemplos se incluye además un anticuerpo que reacciona específicamente con un epítipo que es reconocido por un anticuerpo monoclonal de unión a CCR4 que es producido por un hibridoma KM2160 (FERM nº BP-10090) dado a conocer en el documento WO2005/053741.

Además, el anticuerpo en la presente exposición incluye un anticuerpo que es producido por células resistentes a una lectina que reconoce una estructura de cadena sacárida en la que la posición 1 de fucosa se encuentra unida a la posición 6 de N-acetilglucosamina en el extremo reductor mediante un enlace α en una cadena sacárida unida mediante enlaces N-glucósido de tipo complejo (documentos WO 02/31140, WO 03/58118 y WO 03/85107).

Entre los ejemplos del anticuerpo recombinante se incluyen un anticuerpo humanizado y un anticuerpo humano.

Entre los ejemplos del anticuerpo humanizado se incluyen un anticuerpo quimérico humano y un anticuerpo injertado con CDR humana.

El anticuerpo quimérico humano se refiere a un anticuerpo que comprende la región V de cadena H (en adelante también denominada HV o VH) de un anticuerpo de un animal no humano, y la región V de cadena L (en adelante también denominada LV o VL) de un anticuerpo de un animal no humano, y la región C de cadena H (en adelante denominada CH) de un anticuerpo humano y la región C de cadena L (en adelante denominada CL) de un anticuerpo humano. Como los animales no humanos puede utilizarse cualquier animal, tal como un ratón, una rata, un hámster y un conejo, con la condición de que pueda prepararse una célula de hibridoma a partir del animal.

El anticuerpo quimérico humano de la presente invención puede ser producido mediante la obtención de ADNc codificante de VH y VL de un anticuerpo procedente de un hibridoma de un animal no humano capaz de producir un anticuerpo monoclonal derivado de un animal no humano que se une específicamente a CCR4, insertarlo en un vector de expresión para las células animales que presentan genes codificantes de CH de anticuerpo humano y de CL de anticuerpo humano, construyendo de esta manera un vector para la expresión de un anticuerpo quimérico humano y después introducir el vector en una célula hospedadora para expresar el anticuerpo.

Puede utilizarse cualquier CH de un anticuerpo quimérico humano, con la condición de que pertenezca a una inmunoglobulina humana (en adelante denominada Ig_h), aunque resultan preferidas las pertenecientes a la clase IgG_h, y también puede utilizarse cualquiera de entre las subclases pertenecientes a IgG, tales como γ 1, γ 2, γ 3 y γ 4. Además, como CL de un anticuerpo quimérico humano, pueden utilizarse los de clase κ o clase λ .

El anticuerpo quimérico humano de la presente invención incluye un anticuerpo quimérico humano que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 de VH que comprende las secuencias de aminoácidos representadas por SEC ID nº 5, nº 6 y nº 7, respectivamente, y CDR1, CDR2 y CDR3 de VL que comprende las secuencias de aminoácidos representadas por SEC ID nº 8, nº 9 y nº 10, respectivamente. Más concretamente, entre los ejemplos se incluyen un anticuerpo quimérico humano en el que las secuencias de aminoácidos de VH y VL son las secuencias de aminoácidos representadas por SEC ID nº 11 y nº 12, respectivamente.

Entre los ejemplos específicos se incluyen un anticuerpo quimérico humano en el que VH comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEC ID nº 11, CH comprende la secuencia de aminoácidos de la subclase IgG1 de un anticuerpo humano, VL comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEC ID nº 12 y CL comprende la secuencia de aminoácidos de clase κ de un anticuerpo humano. Entre los ejemplos se incluyen el anticuerpo quimérico humano anti-CCR4 KM2760, dado a conocer en el documento nº WO 01/64754.

Un anticuerpo injertado con CDR humana se refiere a un anticuerpo en el que las secuencias de aminoácidos de CDR de VH y VL de un anticuerpo derivado de un animal no humano se injertan en los sitios apropiados en VH y VL de un anticuerpo humano.

El anticuerpo injertado con CDR humana de la presente invención puede producirse mediante la construcción de ADNc codificantes de regiones V en los que las secuencias de aminoácidos de las CDR de VH y VL de un anticuerpo derivado de un animal no humano que se une específicamente a CCR4 se injertan en marcos (en adelante denominados "FR") de VH y VL de un anticuerpo humano arbitrario, insertando los ADNc resultantes en un vector de expresión para células animales que presentan ADN codificantes de CH y CL de un anticuerpo humano, respectivamente, con el fin de construir un vector de expresión de anticuerpo injertado con CDR humana e introducir el vector de expresión en una célula animal para inducir la expresión.

Como método para seleccionar las secuencias de aminoácidos de los FR de VH y VL de un anticuerpo humano, pueden utilizarse cualesquiera de los derivados de anticuerpos humanos. Entre los ejemplos del método de selección se incluyen las secuencias de aminoácidos de los FR de VH y VL de los anticuerpos humanos registrados en una base de datos tal como Protein Data Bank, y las secuencias de aminoácidos comunes a cada subgrupo de FR de VH y VL de anticuerpos humanos (Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services, 1991).

Como CH del anticuerpo de la presente invención puede utilizarse cualquier CH, con la condición de que pertenezca a Ig_h y resultan preferidos los de la clase IgG_h. Además, puede utilizarse cualquiera de las subclases pertenecientes a la clase IgG, tales como γ1, γ2, γ3 y γ4. Además, puede utilizarse como CL del anticuerpo injertado con CDR humana, los pertenecientes a la clase κ o a la clase λ.

Entre los ejemplos del anticuerpo injertado con CDR humana de la presente invención se incluyen un anticuerpo quimérico humano en el que CDR1, CDR2 y CDR3 de VH del anticuerpo comprenden las secuencias de aminoácidos representadas por SEC ID nº 5, nº 6 y nº 7, respectivamente, y/o CDR1, CDR2 y CDR3 de VL comprenden las secuencias de aminoácidos representadas por SEC ID nº 8, nº 9 y nº 10, respectivamente.

Además, como el anticuerpo injertado con CDR humana de la presente invención se incluye un anticuerpo injertado con CDR humana en el que VH comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEC ID nº 11 y VL comprende la secuencia de aminoácidos representada por SEC ID nº 12.

Un anticuerpo humano originalmente se refiere a un anticuerpo que existe naturalmente en el cuerpo humano y también incluye un anticuerpo obtenido de una biblioteca fágica de anticuerpos humanos o de un animal transgénico productor de anticuerpos humanos, que se prepara basándose en las recientes técnicas avanzadas de ingeniería genética, ingeniería celular e ingeniería del desarrollo.

Con respecto al anticuerpo existente naturalmente en el cuerpo humano, se aíslan linfocitos sanguíneos periféricos, se infectan con, por ejemplo, virus EB para la inmortalización y clonación, de manera que pueden cultivarse los linfocitos productos del anticuerpo, y el anticuerpo puede purificarse a partir del cultivo.

La biblioteca fágica de anticuerpos humanos es una biblioteca en la que se inserta el gen de anticuerpo de una célula B humana en un gen fágico con el fin de expresar fragmentos de anticuerpo tales como Fab y scFv sobre la superficie del fago.

Para desarrollar la biblioteca puede utilizarse una biblioteca en la que se introduce artificialmente una mutación. Puede recuperarse a partir de la biblioteca un fago que presente una actividad de unión a antígeno deseada, utilizando una actividad de unión a un sustrato que presenta un antígeno inmovilizado sobre el mismo a modo de índice. El fragmento de anticuerpo puede convertirse adicionalmente en una molécula de anticuerpo humana que comprende dos cadenas H de longitud completa y dos cadenas L de longitud completa mediante un método de ingeniería de proteínas.

El animal transgénico producto de anticuerpo humano se refiere a un animal en el que se incorpora en las células un gen de anticuerpo humano. Entre los ejemplos del animal transgénico productor de anticuerpo humano se incluyen un ratón transgénico producto de anticuerpo humano que se prepara mediante la introducción de un gen de anticuerpo humano en una célula ES de ratón, el injerto de la célula ES en un embrión en etapa temprana del ratón y el desarrollo del mismo.

En la presente invención, el caso en el que la fucosa no se encuentra unida a N-acetilglucosamina en el extremo reductor en la cadena sacárida se refiere a que la fucosa no se encuentra sustancialmente unida. Una composición de anticuerpos en la que la fucosa no se encuentra sustancialmente unida se refiere concretamente a una composición de anticuerpos en un grado en que la fucosa no se detecta sustancialmente siguiendo el análisis conocido de las cadenas sacáridas (documentos WO 02/31140 y WO 03/85107).

El grado en el que la fucosa no se detecta sustancialmente se refiere a que el contenido de fucosa es inferior al límite de detección. Una composición de anticuerpos recombinantes en la que la fucosa no se encuentra unida a N-acetilglucosamina en los extremos reductores de todas las cadenas sacáridas presenta la actividad ADCC más elevada.

La proporción de cadenas sacáridas en las que la fucosa no se encuentra unida a N-acetilglucosamina en el extremo reductor en las cadenas sacáridas contenidas en la composición que comprende una molécula de anticuerpo que presenta cadenas sacáridas unidas mediante enlaces N-glucósido complejas en la región Fc puede determinarse mediante los métodos analíticos siguientes.

Entre los ejemplos del método analítico se incluyen un método en el que se liberan las cadenas sacáridas de la molécula de anticuerpo utilizando un método conocido, tal como la hidrazinólisis o la digestión enzimática [Biochemical Experimentation Methods 23 - Method for Studying Glycoprotein Sugar Chain (Japan Scientific Societies Press), editado por Reiko Takahashi, 1989], la cadena sacárida liberada se somete a marcado de fluorescencia o marcado con isótopos radioactivos y después las cadenas sacáridas marcadas se separan mediante cromatografía. Además, las cadenas sacáridas liberadas también pueden analizarse utilizando el método HPAED-PAD (J. Liq. Chromatogr. 6:1577, 1983).

El transformante productor de la composición de anticuerpos recombinantes que se une específicamente a CCR4 de la presente invención puede obtenerse mediante la introducción, en una célula animal, de un vector de expresión de composición de anticuerpos recombinantes en el que se insertan ADN codificantes de una región variable y una región constante de una molécula de anticuerpo.

El vector de expresión de composición de anticuerpos recombinantes puede construirse tal como se indica a continuación (documentos WO 02/31140 y WO 03/85107).

Cada uno de los ADN anteriormente indicados codificantes de CH y CL se introduce en un vector de expresión en una célula animal con el fin de producir un vector de expresión para la célula animal.

Entre los vectores de expresión para la célula animal se incluyen pAGE107 (solicitud de patente japonesa no examinada publicada nº 22979/91; Miyaji H. *et al.*, Cytotechnology 3:133-140, 1990), pAGE103 (Mizukami T. e Itoh S., J. Biochem. 101:1307-1310, 1987), pHSG274 (Brady G. *et al.*, Gene 27:223-232, 1984), pKCR (O'Hare K. *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:1527-1531, 1981), pSG1 β d2-4 (Miyaji H. *et al.*, Cytotechnology 4:173-180, 1990). Entre los promotores e intensificadores utilizados para el vector de expresión para la célula animal se incluyen el promotor e intensificador tempranos de SV40 (Mizukami T. e Itoh S., J. Biochem. 101:1307-1310, 1987), el promotor de LTR y el intensificador del virus de la leucemia de ratón de Moloney (Kuwana Y. *et al.*, Biochem. Biophys. Res. Commun. 149:960-968, 1987), el promotor de la cadena H de inmunoglobulina (Mason J.O. *et al.*, Cell 41:479-487, 1985) y el intensificador de la misma (Gillies S.D. *et al.*, Cell 33:717-728, 1983).

El vector para la expresión de la composición de anticuerpos recombinantes puede ser de un tipo en el que los genes codificantes de la cadena H y la cadena L se encuentran en vectores separados o de un tipo en el que ambos genes se encuentran en el mismo vector (tipo tándem). Con respecto a la facilidad de construcción de un vector de expresión de composición de anticuerpos recombinantes, la facilidad de introducción en células animales y el equilibrio entre las cantidades de expresión de las cadenas H y L de un anticuerpo en las células animales, resulta más preferido un tipo tándem del vector para la expresión de la composición de anticuerpos recombinantes (Shitara K. *et al.*, J. Immunol. Methods 167:271-278, 1994). El vector de tipo tándem para la expresión de la composición de anticuerpos recombinantes incluye pKANTEX93 (documento WO 97/10354), pEE18 (Bentley K.J. *et al.*, Hybridoma 17:559-567, 1998).

Se clonan los ADNc codificantes de VH y VL de los anticuerpos para diversos antígenos cadena arriba de los ADN codificantes de CH y CL del vector construido para la expresión de una composición de anticuerpos recombinantes, construyendo de esta manera un vector de expresión de composición de anticuerpos recombinantes.

Entre los métodos para introducir el vector de expresión en una célula hospedadora se incluye la electroporación (solicitud de patente japonesa no examinada publicada nº 257891/90; Miyaji H. *et al.*, Cytotechnology 3:133-140, 1990).

La célula hospedadora productora de la composición de anticuerpos recombinantes de la presente invención puede ser cualquier célula hospedadora que se utilice generalmente en la producción de una proteína recombinante, tal como una célula animal, una célula vegetal o un microorganismo.

Entre las células hospedadoras productoras de la composición de anticuerpos recombinantes de la presente invención se incluyen una célula CHO derivada de un tejido de ovario de hámster chino, una línea celular de mieloma de rata YB2/3HL.P2.G11.16Ag.20, una línea celular de mieloma de ratón NS0, una célula de mieloma de ratón SP2/0-Ag14, una célula BHK derivada de un tejido de riñón de hámster sirio, la línea celular Namalwa de leucemia humana, una célula de hibridoma producida mediante la utilización de una célula de mieloma y cualquier célula B, una célula de hibridoma producida con una célula B obtenida mediante la inmunización con un antígeno de un animal no humano transgénico producido mediante la utilización de una célula madre embrionaria o una célula de huevo fertilizado y cualquier célula de mieloma, una célula de hibridoma producida con la célula de mieloma anteriormente indicada y una célula B obtenida mediante la inmunización con un antígeno de un animal no humano transgénico producido mediante la utilización de una célula madre embrionaria o una célula de huevo fertilizado.

La célula hospedadora capaz de expresar una composición de anticuerpos recombinantes que presenta una elevada actividad ADCC incluye una célula hospedadora resistente a una lectina que reconoce una estructura de cadena sacárida en la que la posición 1 de fucosa se encuentra unida a la posición 6 de N-acetilglucosamina en el extremo reductor mediante enlace α en la cadena sacárida unida mediante enlaces N-glucósido de tipo complejo, tal como una célula hospedadora capaz de producir una composición de anticuerpos que comprende una molécula de anticuerpo que presenta cadenas sacáridas unidas mediante enlaces N-glucósido de tipo complejo en la región Fc, en la que la proporción de cadenas sacáridas en las que la fucosa no se encuentra unida a N-acetilglucosamina en el extremo reductor de las cadenas sacáridas de entre el total de cadenas sacáridas unidas mediante enlaces N-glucósido de tipo complejo que se unen a la región Fc contenida en la composición es de 20% o superior. Entre los ejemplos se incluyen células en las que la actividad de por lo menos una proteína indicada a continuación se encuentra reducida o anulada, tal como (a) a (c) a continuación:

(a) un enzima relacionado con la síntesis de un nucleótido-azúcar intracelular, la GDP-fucosa,

(b) un enzima relacionado con la modificación de una cadena sacárida en la que la posición 1 de fucosa se encuentra unida a la posición 6 de N-acetilglucosamina en el extremo reductor mediante enlace α en una cadena sacárida unida mediante enlaces N-glucósido de tipo complejo,

(c) una proteína relacionada con el transporte de un nucleótido-azúcar intracelular, la GDP-fucosa, hasta el aparato de Golgi (documentos WO 02/31140 y WO 03/85107).

La célula hospedadora anteriormente indicada preferentemente es una célula hospedadora en la que se anula un gen codificante de la α 1,6-fucosiltransferasa en la célula hospedadora (documentos WO 02/31140 y WO 03/85107).

El enzima relacionado con la síntesis de un nucleótido de azúcar intracelular, la GDP-fucosa, puede ser cualquier enzima, con la condición de que sea un enzima relacionado con la síntesis del nucleótido-azúcar intracelular, como fuente de suministro de fucosa a una cadena sacárida.

El enzima relacionado con la síntesis de un nucleótido-azúcar intracelular, la GDP-fucosa, incluye un enzima que presenta influencia sobre la síntesis del nucleótido-azúcar intracelular, la GDP-fucosa.

El nucleótido-azúcar intracelular, la GDP-fucosa, es suministrado mediante una ruta de síntesis *de novo* o una ruta de síntesis de rescate. De esta manera, se incluyen todos los enzimas relacionados con las rutas de síntesis en el enzima relacionado con la síntesis de un nucleótido-azúcar intracelular, la GDP-fucosa.

El enzima relacionado con la ruta de síntesis *de novo* de un nucleótido-azúcar intracelular, la GDP-fucosa, incluye GDP-manosa 4,6-deshidratasa (en adelante denominada "GMD"), GDP-ceto-6-desoximanosa-3,5-epimerasa y 4,6-reductasa (en adelante denominada "Fx").

El enzima relacionado con la ruta de síntesis de rescate de un nucleótido-azúcar intracelular, la GDP-fucosa, incluye GDP-beta-L-fucosa pirofosforilasa (en adelante denominada "GFPP") y fucocinasa.

Como enzima que presenta una influencia sobre la síntesis de un nucleótido-azúcar intracelular, la GDP-fucosa, también se incluye un enzima que presenta una influencia sobre la actividad del enzima relacionado con la ruta de síntesis del nucleótido-azúcar intracelular, la GDP-fucosa indicada anteriormente, y un enzima que presenta una influencia sobre la estructura de sustancias como el sustrato del enzima.

El enzima relacionado con la modificación de una cadena sacárida en la que la posición 1 de fucosa se encuentra unida con la posición 6 de N-acetilglucosamina en el extremo reductor mediante enlace α en una cadena sacárida de enlaces N-glucósido de tipo complejo incluye cualquier enzima con la condición de que sea un enzima relacionado con la reacción de unión de la posición 1 de fucosa con la posición 6 de N-acetilglucosamina en el extremo reductor mediante enlace α en la cadena sacárida unida mediante enlaces N-glucósido de tipo complejo.

El enzima relacionado con la reacción de unión de la posición 1 de fucosa con la posición 6 de N-acetilglucosamina en el extremo reductor mediante enlace α en la cadena sacárida unida mediante enlaces N-glucósido de tipo

complejo incluye un enzima que presenta influencia sobre la reacción de unión de la posición 1 de fucosa a la posición 6 de N-acetilglucosamina en el extremo reductor mediante enlace α en la cadena sacárida unida mediante enlaces N-glucósido de tipo complejo. Entre los ejemplos se incluye α 1,6-fucosiltransferasa y α -L-fucosidasa.

- 5 Además, el enzima relacionado con la reacción de unión de la posición 1 de fucosa con la posición 6 de N-acetilglucosamina en el extremo reductor mediante enlace α en la cadena sacárida unida mediante enlaces N-glucósido de tipo complejo incluye un enzima que presenta una influencia sobre la actividad del enzima relacionado con la reacción de unión de la posición 1 de fucosa con la posición 6 de N-acetilglucosamina en el extremo reductor mediante enlace α en la cadena sacárida unida mediante enlaces N-glucósido de tipo complejo y un enzima que
10 presenta una influencia sobre la estructura de sustancias tales como el sustrato del enzima.

La proteína relacionada con el transporte de un nucleótido-azúcar intracelular, la GDP-fucosa, hasta el aparato de Golgi puede ser cualquier proteína con la condición de que sea una proteína relacionada con el transporte del nucleótido-azúcar intracelular, la GDP-fucosa, al aparato de Golgi, o una proteína que presente una influencia sobre
15 la reacción para el transporte del nucleótido-azúcar intracelular, la GDP-fucosa, hasta el aparato de Golgi.

La proteína relacionada con el transporte del nucleótido-azúcar intracelular, la GDP-fucosa, hasta el aparato de Golgi incluye un transportador de la GDP-fucosa.

- 20 Además, la proteína que presenta una influencia sobre la reacción para el transporte del nucleótido-azúcar intracelular, la GDP-fucosa, hasta el aparato de Golgi incluye una proteína que presenta una influencia sobre la actividad de la proteína anteriormente indicada relacionada con el transporte del nucleótido-azúcar intracelular, la GDP-fucosa, hasta el aparato de Golgi o presenta una influencia sobre la expresión del mismo.

- 25 El método para obtener una célula en la que la actividad enzimática anteriormente indicada se encuentra reducida o anulada puede ser cualquier método, con la condición de que sea un método para reducir o anular la actividad enzimática objetiva. Entre los ejemplos se incluyen (a) a (e) a continuación:

- (a) una técnica de alteración génica con diana en un gen codificante del enzima,
30 (b) una técnica para introducir un mutante dominante negativo de un gen codificante del enzima,
(c) una técnica para introducir una mutación en el enzima,
(d) una técnica para inhibir la transcripción o la traducción de un gen codificante del enzima,
(e) una técnica para seleccionar una línea celular resistente a una lectina que reconoce una estructura de cadena
35 sacárida en la que la posición 1 de fucosa se encuentra unida a la posición 6 de N-acetilglucosamina en el extremo reductor mediante enlace α en una cadena sacárida unida mediante enlaces N-glucósido (documentos WO 02/31140 y WO 03/85107).

Como lectina que reconoce una estructura de cadena sacárida en la que la posición 1 de fucosa se encuentra unida a la posición 6 de N-acetilglucosamina en el extremo reductor mediante enlace α en una cadena unida mediante
40 enlaces N-glucósido, puede utilizarse cualquier lectina capaz de reconocer la estructura de cadena sacárida. Entre los ejemplos específicos se incluyen la lectina de lenteja LCA (aglutinina de lenteja derivada de *Lens culinaris*), la lectina de guisante PSA (lectina de guisante derivada de *Pisum sativum*), la lectina de haba VFA (aglutinina derivada de *Vicia faba*), la lectina AAL de *Aleuria aurantia* (lectina derivada de *Aleuria aurantia*).

45 La célula resistente a una lectina se refiere a una célula en la que el crecimiento no se encuentra inhibido por la presencia de una lectina a una concentración eficaz. La concentración eficaz es una concentración superior a la concentración que no permite el crecimiento normal de una célula antes de la modificación del genoma (en adelante también denominada línea celular parental). La concentración eficaz preferentemente es igual a la concentración que no permite el crecimiento normal de una célula previamente a la modificación del genoma, más preferentemente
50 2 a 5 veces, más preferentemente 10 veces, todavía más preferentemente 20 o más veces la concentración que no permite el crecimiento normal de una célula antes de la modificación del gen genómico.

La concentración eficaz de lectina que no inhibe el crecimiento puede determinarse apropiadamente según cada
55 línea celular. Habitualmente es de entre 10 μ g/ml y 10 mg/ml, preferentemente de entre 0,5 mg/ml y 2,0 mg/ml.

En la composición farmacéutica en la presente exposición, entre los ejemplos de por lo menos un medicamento se incluye un agente inmunomodulador, tal como lenalidomida y actimida.

60 Existe la preocupación de que el medicamento anteriormente indicado pueda producir efectos advesos en el caso de que el medicamento se administre solo en un cuerpo vivo a una dosis elevada. Sin embargo, en la presente invención, el medicamento anteriormente indicado puede administrarse a una dosis baja mediante la combinación del medicamento anteriormente indicado con un anticuerpo recombinante que se une específicamente a CCR4.

65 Por lo tanto, la utilización del medicamento anteriormente indicado y el anticuerpo en combinación puede reducir los efectos adversos, así como mostrar un efecto terapéutico suficiente. Además, es raro que el estado patológico se cure únicamente con el medicamento anteriormente indicado y muchos pacientes experimentan una recaída. En la

presente invención, puede esperarse un efecto terapéutico superior mediante la combinación del medicamento anteriormente indicado con un anticuerpo recombinante que se une específicamente a CCR4.

5 La composición farmacéutica de la presente invención puede combinarse con los otros medicamentos o métodos siguientes.

10 Entre los ejemplos de los medicamentos o métodos anteriormente indicados se incluyen fármacos para la quimioterapia multifármaco, tal como la terapia CHOP, que combina ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisolona; la terapia de tipo CHOP, tal como la terapia THP-COP, que combina la pirarrubicina en lugar de la doxorubicina; la terapia EPOCH, que añade etopósido a la terapia CHOP; la terapia ESHAP, que combina etopósido, cisplatino, metilprednisolona y citarabina; la terapia LSG15, que combina vincristina, ciclofosfamida, doxorubicina, prednisolona, ranimustina, vindesina, etopósido y carboplatino; la terapia LSG15 modificada (también denominada terapia mLSG15), que combina vincristina, etopósido, carboplatino, citarabina y metotrexato; la terapia ABVD, que combina doxorubicina, bleomicina, vinblastina y dacarbacina, y los fármacos con dianas moleculares.

15 Entre los ejemplos de fármacos con dianas moleculares se incluyen un análogo de nucleótido, un anticuerpo monoclonal, un inhibidor de histona desacetilasa (inhibidor HDAC), un análogo del ácido fólico, un inhibidor de señales y un inhibidor del proteasoma.

20 Entre los ejemplos de los análogos del ácido fólico se incluyen gemcitabina, cladribina, fludarabina, pentostatina, forodesina y pralatrexato.

25 Entre los ejemplos de los anticuerpos monoclonales se incluyen alemtuzumab, bevacizumab, SGN-30, iratumumab, zanolimumab, sipilizumab y denileukin difitox.

Entre los ejemplos de los inhibidores HDAC se incluyen el vorinostat, el belinostat, el panobinostat y la romidepsina.

Entre los ejemplos de inhibidores de señales se incluyen la enzastaurina.

30 Entre los ejemplos de los inhibidores del proteasoma se incluyen el bortezomib.

35 En la composición farmacéutica de la presente invención, entre los ejemplos de por lo menos un medicamento se incluyen gemcitabina, cladribina, fludarabina, pentostatina, forodesina, alemtuzumab, bevacizumab, SGN-30, iratumumab, zanolimumab, sevirumab, denileukin difitox, vorinostat, belinostat, panobinostat, romidepsina, pralatrexato, enzasutaurina y bortezomib, y la combinación de dichos medicamentos.

La composición farmacéutica de la presente exposición puede aplicarse a cualquier tumor que expresa CCR4 con independencia del tipo de cáncer. Entre los ejemplos del tumor se incluyen el tumor orgánico hematopoyético.

40 Entre los ejemplos de tumor orgánico hematopoyético se incluyen la leucemia aguda, la leucemia crónica, la enfermedad no hodgkiniana y la enfermedad de Hodgkin (o linfoma de Hodgkin).

Entre los ejemplos de leucemia aguda se incluyen la leucemia linfática aguda.

45 Entre los ejemplos de leucemia crónica se incluyen la leucemia linfática crónica y similares.

Entre los ejemplos de enfermedad no hodgkiniana se incluyen la leucemia/linfoma linfoblástico de precursores de linfocitos T, el tumor de linfocitos T maduros y el tumor de células NK.

50 Entre los ejemplos de tumor de linfocitos T maduros y tumor de células NK se incluyen la leucemia prolinfocítica de linfocitos T, la leucemia linfocítica granular grande de linfocitos T, el síndrome de Sézary, células NK leucémicas del linfoma extranodal de células NK/T (de tipo nasal), la micosis fungoide, el linfoma de células grandes anaplásico de tipo cutáneo primario, el linfoma de linfocitos T de tipo paniculitis subcutánea, el linfoma de linfocitos T de tipo enteropatía, el linfoma de linfocitos T $\gamma\delta$ hepatoesplénico, el linfoma de linfocitos T angioinmunoblástico, el linfoma de linfocitos T periféricos (no específico), el linfoma de células grandes anaplásico (ALK-positivo, ALK-negativo) y la leucemia/linfoma de linfocitos T adultos.

60 Entre los ejemplos de linfoma de Hodgkin se incluyen el linfoma de Hodgkin de linfocitos-predominante nodular y el linfoma de Hodgkin clásico. Entre los ejemplos de linfoma de Hodgking clásico se incluyen el linfoma de Hodgkin de esclerosis nodular, el linfoma de Hodgkin clásico rico en linfocitos, el linfoma de Hodgkin de celularidad mixta y el linfoma de Hodgkin con empobrecimiento de linfocitos.

65 Entre los ejemplos de la terapia que puede llevarse a cabo en combinación con la administración de la composición farmacéutica de la presente invención se incluyen la cirugía, la transfusiones de sangre, la inmunoterapia, la terapia biológica, la terapia de radiación y otras terapias no farmacológicas. Sin embargo, los ejemplos no se encuentran limitados a los anteriores.

El efecto de la composición farmacéutica de la presente invención puede examinarse mediante la medición de una actividad antitumoral *in vivo* utilizando modelos animales.

5 Entre los ejemplos de los modelos animales se incluyen modelos de xenoinjerto obtenidos mediante el trasplante de una línea celular en cultivo derivada de un tejido de cáncer humano en ratones. Los modelos de xenoinjerto pueden obtenerse mediante el trasplante de una línea celular de cáncer humano en diversas regiones de ratones inmunodeficientes, tales como ratones SCID, por ejemplo por vía subcutánea, intracutánea, intraperitoneal o intravenosa.

10 El efecto de la composición farmacéutica de la presente invención puede evaluarse mediante la comparación de un efecto de la administración del anticuerpo por sí solo o un efecto de la administración del agente solo con un efecto de la composición farmacéutica de la presente invención mediante la utilización de los modelos animales mencionados anteriormente.

15 La composición farmacéutica de la presente invención puede administrarse sola como agente terapéutico. Sin embargo, preferentemente se mezcla con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables y después se proporciona como preparación farmacéutica producida mediante cualquier método bien conocido en el campo técnico de las preparaciones farmacéuticas.

20 Resulta preferido administrar la composición farmacéutica por la vía que resulte más eficaz para el tratamiento. Entre las vías de administración adecuadas se incluyen la administración oral y la administración parenteral, tal como la administración intraoral, la administración intratraqueal, la administración intrarrectal, la administración subcutánea, la administración intramuscular y la administración intravenosa. En el caso de una preparación de proteínas resulta preferida la administración intravenosa.

25 Entre los ejemplos de las preparaciones para la administración se incluyen espray, cápsulas, comprimidos, gránulos, jarabe, emulsión, supositorios, inyección, pomada y cinta.

30 Entre los ejemplos de las preparaciones adecuadas para la administración oral se incluyen emulsiones, jarabes, cápsulas, comprimidos, polvos y gránulos.

35 Pueden prepararse preparaciones líquidas, tales como emulsiones y jarabes, utilizando, como aditivos, agua, azúcares tales como la sacarosa, el sorbitol y la fructosa, glicoles tales como el polietilenglicol y el propilenglicol, aceites tales como el aceite de sésamo, el aceite de oliva y el aceite de soja, antisépticos tales como los p-hidroxibenzoatos, y saborizantes tales como el saborizante de fresa y el saborizante de menta.

40 Pueden prepararse cápsulas, comprimidos, polvos o gránulos utilizando, como aditivos, excipientes tales como la lactosa, la glucosa, la sacarosa y el manitol, agentes desintegrantes tales como el almidón y el alginato sódico, lubricantes tales como el estearato de magnesio y el talco, ligantes tales como el alcohol polivinílico, la hidroxipropilcelulosa y la gelatina, surfactantes tales como los ésteres de ácido graso, y plastificadores tales como la glicerina.

45 Entre los ejemplos de las preparaciones farmacéuticas adecuadas para la administración parenteral se incluyen las inyecciones, los supositorios y los esprays.

Pueden prepararse inyecciones, por ejemplo utilizando vehículos que comprenden una solución salina, una solución de glucosa o una mezcla de las mismas, etc.

50 Pueden prepararse supositorios, por ejemplo utilizando vehículos tales como manteca de cacao, grasa hidrogenada y ácido carboxílico.

55 Pueden prepararse esprays utilizando vehículos que no estimulan la membrana mucosa oral o de las vías respiratorias del receptor y que pueden dispersar la composición farmacéutica en forma de partículas finas para facilitar la absorción de la misma.

60 Entre los ejemplos específicos de los vehículos se incluyen la lactosa y la glicerina. También resulta posible preparar aerosoles y polvos secos según las propiedades de la composición y los vehículos utilizados. Durante la preparación de dichas preparaciones parenterales también pueden añadirse los aditivos anteriormente indicados para las preparaciones orales.

65 La dosis o la frecuencia de administración varían según el efecto terapéutico deseado, la vía de administración, el periodo de tratamiento, la edad y el peso corporal. Sin embargo, resulta preferido que la dosis del anticuerpo para un adulto sea generalmente de entre 0,01 y 5 mg/kg por dosis. Resulta preferido que el medicamento administrado con el anticuerpo sea igual o inferior al administrado solo en la práctica clínica en combinación.

Ejemplo 1

Efecto antitumoral proporcionado mediante la administración de anticuerpo anti-CCR4 y lenalidomida en combinación (1)

5 Se suspendieron células HH (linfoma de linfocitos T cutáneo, ATCC nº CRL-2105) en una solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco sin cloruro de calcio ni cloruro de magnesio (PBS, fabricado por Invitrogen) a una densidad de 1×10^7 células/ml y 100 μ l de la suspensión se trasplantaron en la piel ventral de ratones SCID (obtenidas de Nippon Crea, machos). Siete días después del trasplante celular se midió con un calibrador el diámetro tumoral y se
10 calculó el volumen tumoral utilizando la fórmula siguiente:

(fórmula) Volumen tumoral=diámetro menor x diámetro menor x diámetro mayor x 0,5

15 Se seleccionaron los individuos con un volumen tumoral comprendido en el intervalo de entre 41 y 93 mm³ y se agruparon de manera que el volumen tumoral medio fuese igual. A continuación, se formaron los grupos de administración A a D siguientes. Se definió el día del agrupamiento como día 0.

- A. Grupo de control negativo: administración de medio
- B. Grupo en el que se administró sólo KM8760: 20 mg/kg administrados los días 0, 7 y 14.
- C. Grupo en el que se administró sólo lenalidomida: 1 mg/kg administrado cada día los días 0 a 13.
- 20 D. Grupo en el que se administró KM8760 y lenalidomida en combinación: se administró el agente respectivo siguiendo el mismo régimen y la misma dosis que los grupos en los que se habían administrado los agentes respectivos solos.

25 Se llevó a cabo el experimento en grupos constituidos por ocho ratones. Se diluyó KM8760 con solución salina (fabricada por Otsuka Pharmaceutical) y la solución obtenida se administró en la vena de la cola. Se suspendió la lenalidomida en solución salina que contenía 0,5% de metilcelulosa y la solución obtenida se administró por vía intraperitoneal. Se midió el volumen tumoral a lo largo del tiempo. Se evaluó el efecto antitumoral mediante la comparación de los valores medios (V/V0) obtenidos mediante la división del volumen tumoral en cada día de
30 medición por el volumen tumoral el día 0 en cada grupo.

En la figura 1 se muestra el cambio cronológico de los valores medios de V/V0 en cada grupo. Tal como se muestra en la figura 1, la administración de KM8760 y de lenalidomida en combinación mostró un efecto superior de supresión del crecimiento que la administración de lenalidomida sola o el anticuerpo solo.

35 En la Tabla 1 se muestran los resultados de la prueba de diferencias significativas (ANOVA unidireccional, prueba de Dunnett) en la comparación con el grupo de control negativo. Además, en el caso de que $p < 0,05$, el valor se consideró que mostraba una diferencia significativa y se muestra con un "*" en la tabla.

Tabla 1

		Valor de p					
		Día 4	Día 7	Día 10	Día 14	Día 18	Día 21
ANOVA unidireccional		0,390	0,101	0,039*	0,007*	0,005*	0,006*
Dunnett	vs. KM8760	0,751	0,071	0,119	0,070	0,034*	0,046*
	vs. Lenalidomida	0,965	0,763	0,950	0,670	0,159	0,261
	vs. grupo de administración de combinación	0,503	0,144	0,037*	0,003*	0,001*	0,002*

40 Tal como se muestra en la Tabla 1, no se observan diferencias significativas entre el grupo de administración del agente individual solo y el grupo de control negativo el día 10. Sin embargo, se observó una diferencia significativa entre el grupo de administración de combinación y el grupo de control negativo.

45 En la Tabla 2 se muestra un valor (T/C) obtenido dividiendo V/V0 de cada grupo por V/V0 del grupo de control negativo. En la tabla, "*" se refiere al caso en que el valor real de T/C es menor que el valor teórico.

Tabla 2

		T/C						
		Día 0	Día 4	Día 7	Día 10	Día 14	Día 17	Día 21
KM8760		1,000	0,910	0,764	0,750	0,691	0,652	0,639
Lenalidomida		1,000	1,041	0,918	0,948	0,875	0,750	0,766
Grupo de administración de combinación (valor teórico)		1,000	0,948	0,701	0,712	0,604	0,489	0,489
(valor real)		1,000	0,870*	0,800	0,684*	0,520*	0,487*	0,450*

Tal como se muestra en la Tabla 2, en comparación con el valor T/C teórico esperable de un simple efecto aditivo de una combinación de KM8760 y lenalidomida, es decir, un valor obtenido mediante la multiplicación de los T/C de los grupos de administración de cada agente solo, el T/C real del grupo de administración de combinación mostró valores inferiores a los valores teóricos los días 4, 10, 14, 17 y 21.

A partir de lo expuesto anteriormente, se ha descubierto que la administración de KM8760 y lenalidomida en combinación presenta un efecto antitumoral superior a la administración de cada uno de los agentes solo.

Ejemplo 2

Efecto antitumoral proporcionado por la administración de anticuerpo anti-CCR4 y lenalidomida en combinación (2)

Se suspendieron células HH (línea celular de linfoma de linfocitos T cutáneo, ATCC nº CRL-2105) en solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco sin cloruro de calcio ni cloruro de magnesio (PBS, fabricado por Invitrogen) a una densidad de 2×10^8 células/ml y se trasplantaron 100 µl de la suspensión en la piel ventral de ratones SCID (obtenidos de Nippon Crea, machos). Siete días después del trasplante celular, se midió el diámetro tumoral con un calibrador y se calculó el volumen tumoral utilizando la fórmula siguiente:

(fórmula) Volumen tumoral=diámetro menor x diámetro menor x diámetro mayor x 0,5

Se seleccionaron los individuos que presentaban un volumen tumoral comprendido en el intervalo de entre 51 y 79 mm³ y se agruparon de manera que la media de volumen tumoral fuese igual. A continuación, se formaron los grupos de administración A a D siguientes. Se definió el día del agrupamiento como día 0.

- A. Grupo de control negativo: administración de medio
- B. Grupo en el que se administró sólo KM8760: 20 mg/kg administrados los días 0, 7, 14 y 21.
- C. Grupo en el que se administró sólo lenalidomida: 1 mg/kg administrado cada día los días 0 a 13.
- D. Grupo en el que se administró KM8760 y lenalidomida en combinación: se administró el agente respectivo siguiendo el mismo régimen y la misma dosis que los grupos en que se habían administrado los agentes respectivos solos.

Se llevó a cabo el experimento en grupos constituidos por doce ratones. Se diluyó KM8760 con solución salina (fabricada por Otsuka Pharmaceutical) y la solución obtenida se administró en la vena de la cola. Se suspendió la lenalidomida en solución salina que contenía 0,5% de metilcelulosa y se administró el diluyente por vía intraperitoneal. Se midió el volumen tumoral a lo largo del tiempo. Se evaluó el efecto antitumoral mediante la comparación de los valores medios (V/V0) obtenidos mediante la división del volumen tumoral en cada día de medición por el volumen tumoral el día 0 en cada grupo.

En la figura 2 se muestra el cambio cronológico de los valores medios de V/V0 en cada grupo. Tal como se muestra en la figura 2, la administración de KM8760 y de lenalidomida en combinación mostró un efecto superior de supresión del crecimiento que la administración de lenalidomida sola o el anticuerpo solo.

En la Tabla 3 se muestran los resultados de la prueba de diferencias significativas (prueba de Steel-Dwass) en la comparación de cada grupo en el que se había administrado el agente respectivo solo y el grupo de administración combinada. Además, en el caso de que $p < 0,05$, el valor se consideró que mostraba una diferencia significativa y se muestra con un '*' en la tabla.

Tabla 3

	Día 0	Día 4	Día 7	Día 10	Día 14	Día 19	Día 21	Día 24	Día 28
Prueba de Kruskal-Wallis	1,00	0,02	0,00	0,00	0,00	<0,0001	0,00	0,00	0,00
Prueba de Steel-Dwass									
KM8760 vs. Lenalidomida	na	0,29	0,01	0,00	0,03	0,00	0,02	0,03	0,04
KM8760 vs. grupo de administración de combinación	na	0,17	0,11	0,59	0,12	0,04*	0,04*	0,10	0,08
Lenalidomida vs. grupo de administración de combinación	na	0,02*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*	0,00*

Tal como se muestra en la Tabla 3, se observó una diferencia significativa entre el grupo de administración de lenalidomida sola y el grupo de administración de combinación en todos los puntos. Se demostró una diferencia significativa entre el grupo de administración de KM8760 solo y el grupo de administración de combinación los días 19 y 21.

5 En la Tabla 4 se muestra el valor (T/C) obtenido al dividir V/V0 de cada grupo por V/V0 del grupo de control negativo. En la tabla, * se refiere al caso en que el valor real de T/C es inferior al valor teórico.

Tabla 4

	T/C								
	Día 0	Día 4	Día 7	Día 10	Día 14	Día 19	Día 21	Día 24	Día 28
Grupo de control negativo	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
KM8760	1,00	0,89	0,71	0,62	0,54	0,54	0,54	0,55	0,53
Lenalidomida	1,00	1,05	0,92	0,93	0,75	0,90	0,88	0,95	0,95
Grupo de administración de combinación (Valor real)	1,00	0,77*	0,60*	0,56*	0,43	0,36*	0,37*	0,37*	0,36*
(Valor teórico)	1,00	0,94	0,66	0,58	0,41	0,49	0,47	0,52	0,50

10 Tal como se muestra en la Tabla 4, en comparación con un valor T/C teórico esperable de un simple efecto aditivo de una combinación de KM8760 y lenalidomida, es decir un valor obtenido mediante la multiplicación de los T/C de los grupos de administración de los agentes respectivos solos, el T/C real del grupo de administración de combinación mostró valores inferiores a los valores teóricos en todos los puntos excepto los del día 14.

A partir de expuesto anteriormente, se ha descubierto que la administración de KM8760 y lenalidomida presenta un efecto antitumoral superior a la administración de cada uno de los agentes individualmente.

20 **Ejemplo 3**

Incremento de la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) mediante el tratamiento con lenalidomida y anticuerpo anti-CCR4 en combinación

25 Se obtuvieron células mononucleares (PBMC_h) a partir de sangre periférica procedente de adultos sanos mediante centrifugación en gradiente de densidad utilizando Ficoll-paque (fabricado por GE Healthcare). Las PBMC_h obtenidas se suspendieron en medio RPMI1640 que contenía 10% de FBS y 1% de solución de penicilina/estreptomicina (fabricada por Nacalai Tesque) (en adelante denominada medio). Se añadió lenalidomida a la suspensión, proporcionando una concentración final de 0,1, 1 ó 10 µmoles/l. La suspensión obtenida se incubó a 30 37°C durante uno, tres o cinco días. Tras la incubación, se lavaron las PBMC_h una vez con el medio y las células lavadas se ajustaron para proporcionar una densidad de aproximadamente 5x10⁶ células/ml utilizando el medio. Las células obtenidas se utilizaron como células efectoras.

35 Tras mezclar 1x10⁶ células HH en aproximadamente 100 µl y 20 µl de solución de ⁵¹Cr (NEZ030, fabricada por Perkin-Elmer), la solución mezclada se incubó a 37°C durante 2 a 4 horas de manera que las células HH se marcasen radioactivamente. Tras lavar tres veces con el medio las células HH marcadas radioactivamente, las células lavadas se ajustaron para proporcionar una densidad de aproximadamente 2x10⁵ células/ml. Las células obtenidas se utilizaron como las células diana.

40 Utilizando el medio se ajustó KM8760 para preparar concentraciones de 0,03, 0,3 o 3 µg/ml. Las soluciones obtenidas se utilizaron como soluciones de anticuerpo.

45 En una placa de fondo en U de 96 pocillos, se mezclaron 50 µl de cada una de células efectoras, células diana y solución de anticuerpo (células efectoras:células diana=25:1, concentración final de anticuerpo=0,01, 0,1 o 1 µg/ml) y se incubaron a 37°C durante 4 horas. Tras centrifugar la placa, se transfirieron 50 µl del sobrenadante a una placa Luma (fabricada por Perkin-Elmer) y se secó. A continuación, se midieron las CPM utilizando un contador de centelleo líquido para microplacas (TopCount, fabricado por Perkin-Elmer). Las CPM son el número de pulsos por minuto. Se calculó la tasa de citotoxicidad (% de lisis) utilizando la fórmula siguiente:

50
$$\% \text{ de lisis} = \frac{\text{CPM de muestra} - \text{CPM espontánea}}{\text{CPM máxima} - \text{CPM espontánea}} \times 100$$

Se obtuvieron las CPM espontáneas en ausencia de células efectoras y anticuerpo y las CPM máximas se obtuvieron mediante la adición de 1% de NP-40 en lugar de las células efectoras en ausencia del anticuerpo.

5 Se muestra el resultado en la figura 3. Tal como se muestra en la figura 3, la actividad de ADCC resultó claramente incrementada por el tratamiento de lenalidomida.

La presente solicitud se basa en la solicitud japonesa nº 2009-209218, presentada el 10 de septiembre de 2009 y la solicitud de patente US provisional nº 61/241.558, presentada el 11 de septiembre de 2009.

10 **Aplicabilidad industrial**

La presente exposición puede proporcionar una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo recombinante contra CCR4 y por lo menos un medicamento, y una composición farmacéutica para la administración en combinación de un anticuerpo recombinante contra CCR4 y por lo menos un medicamento.

15 Texto libre del listado de secuencias

SEC ID nº 4 - Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
SEC ID nº 5 - Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
20 SEC ID nº 6 - Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
SEC ID nº 7 - Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
SEC ID nº 8 - Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
SEC ID nº 9 - Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
SEC ID nº 10 - Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
25 SEC ID nº 11 - Descripción de secuencia artificial: péptido sintético
SEC ID nº 12 - Descripción de secuencia artificial: péptido sintético

Listado de secuencias

30 <110> Kyowa Hakko Kirin Co., Ltd.

<120> Composición farmacéutica que comprende una composición de anticuerpos que se une específicamente a CCR4

35 <130> 155022 m13/n17

<140> EP 10815436.0
<141> 2010-09-09

40 <150> JP 2009-209218
<151> 2009-09-10

<150> US 61/241.558
<151> 2009-09-11

45 <160> 12

<170> PatentIn Ver. 2.1

50 <210> 1
<211> 360
<212> PRT
<213> Homo sapiens

55 <400> 1

ES 2 502 541 T3

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

<210> 2
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400>

5

10

ES 2 502 541 T3

Asn Pro Thr Asp Ile Ala Asp Thr Thr Leu Asp Glu Ser Ile Tyr Ser
 1 5 10 15

Asn Tyr Tyr Leu Tyr Glu Ser Ile Pro Lys Pro Cys
 20 25

5 <210> 3
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 3

Asp Glu Ser Ile Tyr Ser Asn Tyr Tyr Leu Tyr Glu Ser Ile Pro Lys
 1 5 10 15

10 Pro Cys
 <210> 4
 <211> 15
 <212> PRT
 15 <213> Homo sapiens
 <220>
 <223> Péptido sintético

20 <400> 4

Asp Glu Ser Ile Tyr Ser Asn Tyr Tyr Leu Tyr Glu Ser Ile Pro
 1 5 10 15

25 <210> 5
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <220>
 30 <223> Péptido sintético
 <400> 5

Asn Tyr Gly Met Ser
 1 5

35 <210> 6
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 40 <220>
 <223> Péptido sintético
 <400> 6

Thr Ile Ser Ser Ala Ser Thr Tyr Ser Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

50 <210> 7
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <220>
 <223> Péptido sintético
 55 <400> 7

	His Ser Asp Gly Asn Phe Ala Phe Gly Tyr
	1 5 10
5	<210> 8 <211> 16 <212> PRT <213> Mus musculus
10	<220> <223> Péptido sintético
	<400> 8
	Arg Ser Ser Arg Asn Ile Val His Ile Asn Gly Asp Thr Tyr Leu Glu
	1 5 10 15
15	<210> 9 <211> 7 <212> PRT <213> Mus musculus
20	<220> <223> Péptido sintético
	<400> 9
25	Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
	1 5
30	<210> 10 <211> 9 <212> PRT <213> Mus musculus
35	<220> <223> Péptido sintético
	<400> 10
	Phe Gln Gly Ser Leu Leu Pro Trp Thr
	1 5
40	<210> 11 <211> 119 <212> PRT <213> Secuencia artificial
45	<220> <223> Péptido sintético
	<400> 11

ES 2 502 541 T3

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

<210> 12
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

<400> 12

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

15

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición farmacéutica que comprende un anticuerpo recombinante que se une específicamente al receptor 4 de la quimiocina CC humana (CCR4) y lenalidomida, en la que el anticuerpo comprende la región determinante de complementariedad (CDR) 1, CDR2 y CDR3 de una región variable de cadena pesada de una molécula de anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos representadas por SEC ID nº 5, nº 6 y nº 7, respectivamente, y CDR1, CDR2 y CDR3 de una región variable de cadena ligera de un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos representadas por SEC ID nº 8, nº 9 y nº 10, respectivamente, para su utilización en un método de tratamiento del linfoma de linfocitos T.
- 10 2. Composición farmacéutica para su utilización según la reivindicación 1, en la que el anticuerpo recombinante que se une específicamente a CCR4 y la lenalidomida deben administrarse en combinación.
- 15 3. Composición farmacéutica para su utilización según la reivindicación 2, en la que el anticuerpo recombinante que se une específicamente a CCR4 y la lenalidomida deben administrarse simultáneamente o secuencialmente.
- 20 4. Composición farmacéutica para su utilización según las reivindicaciones 1 a 3, en la que el anticuerpo recombinante es un anticuerpo que presenta una elevada citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos.
- 25 5. Composición farmacéutica para su utilización según las reivindicaciones 1 a 4, en la que el anticuerpo recombinante es un anticuerpo humanizado.
6. Composición farmacéutica para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que, en el anticuerpo humanizado, la región variable de cadena pesada de una molécula de anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos representadas por SEC ID nº 11 y la región variable de cadena ligera de una molécula de anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos representadas por SEC ID nº 12.

Fig. 1

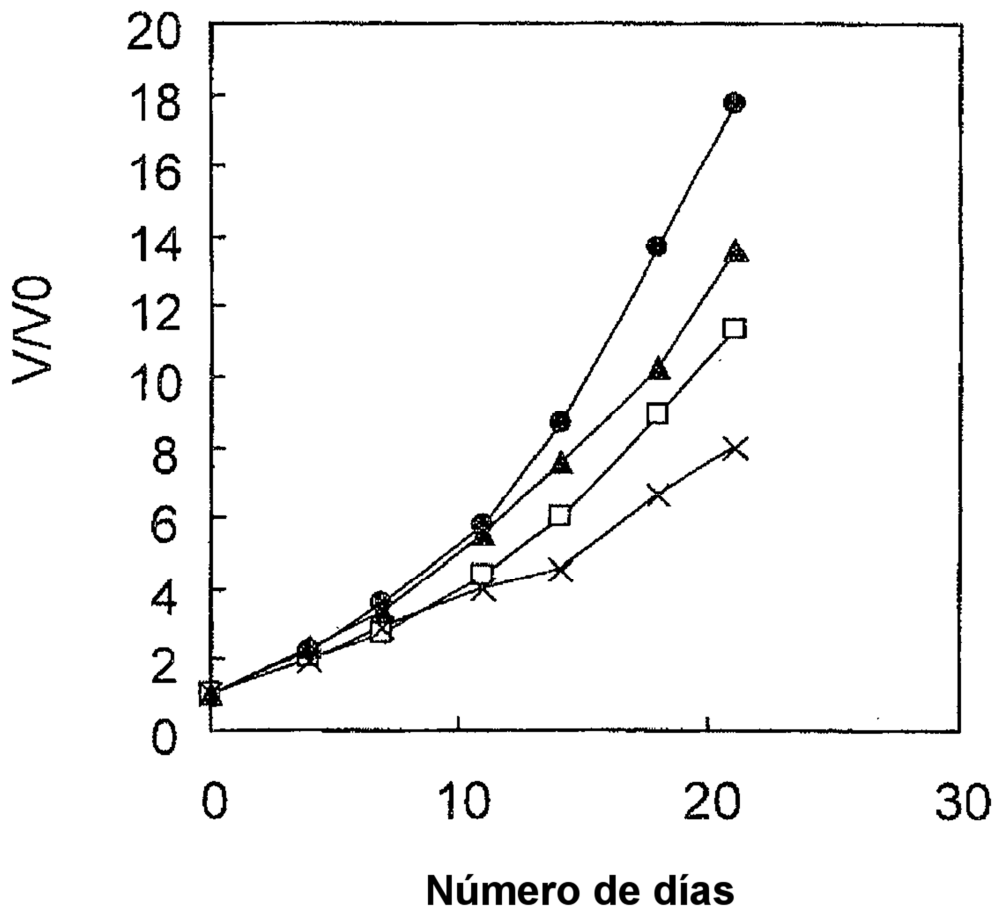


Fig. 2

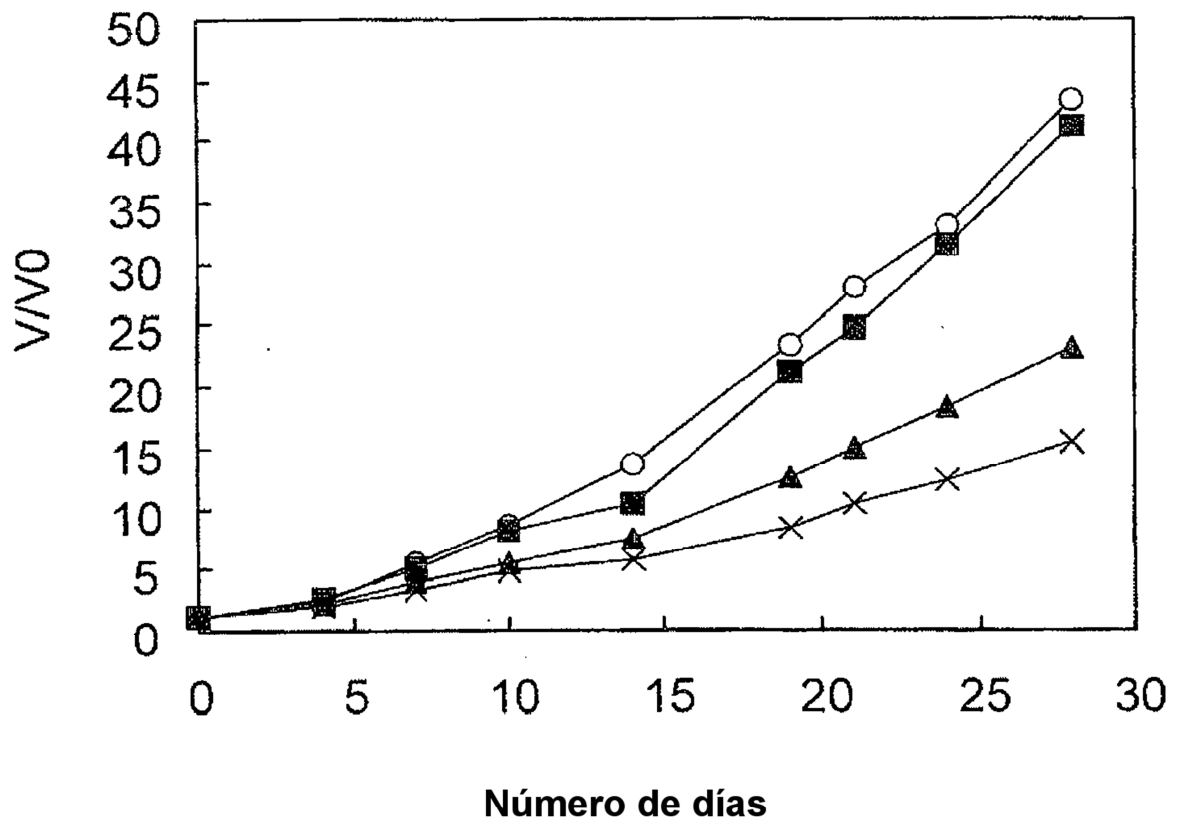


Fig. 3A

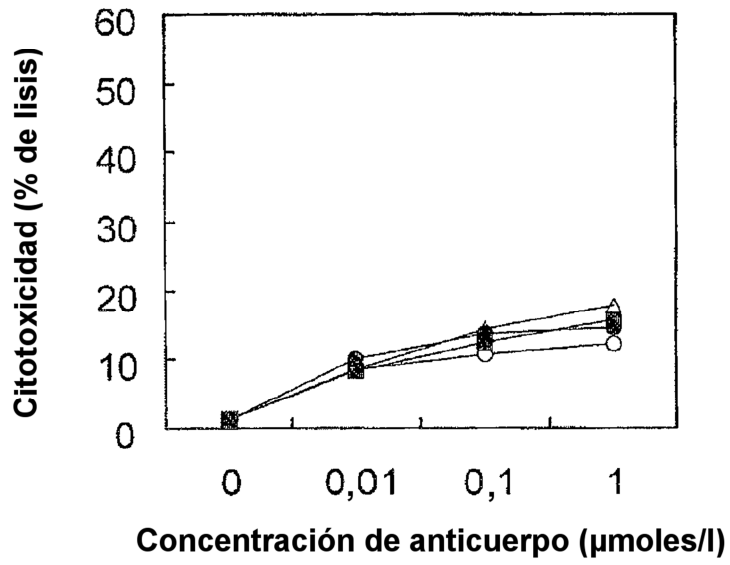


Fig. 3B

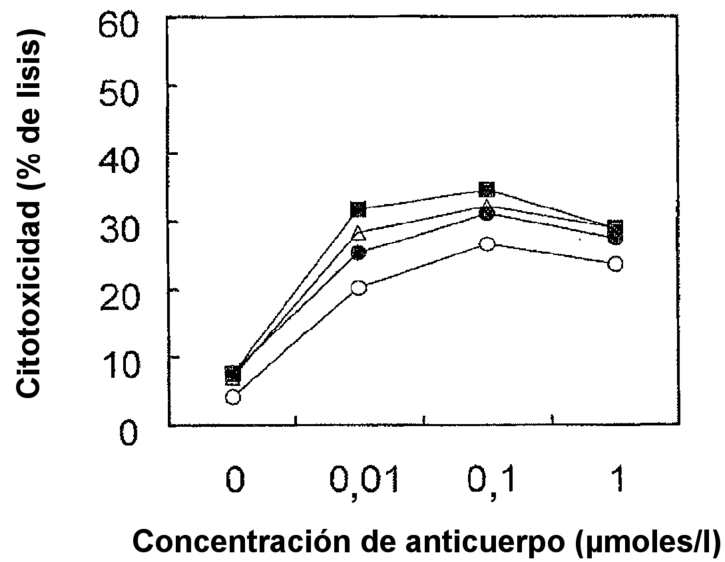


Fig. 3C

