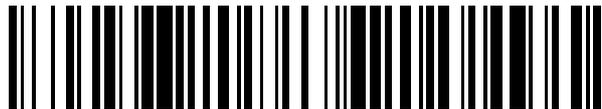


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 534 752**

51 Int. Cl.:

C12N 15/12	(2006.01)	A61P 43/00	(2006.01)
A61K 31/7088	(2006.01)	C07K 14/47	(2006.01)
A61K 35/76	(2015.01)	C07K 16/18	(2006.01)
A61K 38/00	(2006.01)		
A61K 39/00	(2006.01)		
A61K 39/39	(2006.01)		
A61K 39/395	(2006.01)		
A61K 48/00	(2006.01)		
A61P 35/00	(2006.01)		
A61P 37/04	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.12.2005 E 05814555 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.02.2015 EP 1835027**

54 Título: **Nuevo péptido antigénico contra el cáncer y utilización del mismo**

30 Prioridad:

07.12.2004 JP 2004353820

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

27.04.2015

73 Titular/es:

**TORAY INDUSTRIES, INC. (100.0%)
1-1, NIHONBASHI-MUROMACHI 2-CHOME
CHUO-KU, TOKYO 103-8666, JP**

72 Inventor/es:

OKANO, FUMIYOSHI

74 Agente/Representante:

DURÁN MOYA, Carlos

ES 2 534 752 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

Nuevo péptido antigénico contra el cáncer y utilización del mismo

5 Sector técnico

La presente invención se refiere a proteínas específicas para cánceres humanos, péptidos parciales de las mismas y sus utilidades. La presente invención se refiere además a células T activadas estimuladas e inducidas por los péptidos, a células presentadoras de antígenos que contienen complejos entre los péptidos y moléculas HLA, a anticuerpos contra los péptidos y a productos farmacéuticos que contienen los péptidos.

Técnica anterior

15 Los cánceres son la causa más común de muerte entre todas las causas de muerte. Las terapias para los mismos son principalmente el tratamiento quirúrgico en combinación con radioterapia y quimioterapia. A pesar de los desarrollos de nuevos procedimientos quirúrgicos y el descubrimiento de nuevos agentes contra el cáncer en los últimos años, los resultados del tratamiento de los cánceres no han mejorado mucho en la actualidad a excepción de algunos tipos de cáncer.

20 En los últimos años, debido al desarrollo en la biología molecular y la inmunología del cáncer, se han identificado antígenos del cáncer reconocidos por células T citotóxicas reactivas con los cánceres, así como los genes que codifican los antígenos del cáncer, y han aumentado las expectativas para inmunoterapias específicas de antígeno (véase la bibliografía que no es de patente 1). En 1991, Boon y otros del Instituto Ludwig en Bélgica aislaron el antígeno MAGE 1 de melanoma humano reconocido por células T positivas en CD8 mediante un procedimiento de clonación de la expresión de ADNc que utiliza una línea celular autóloga de cáncer y células T reactivas al cáncer (véase la bibliografía que no es de patente 2). Después del artículo de Boon, se han aislado antígenos reconocidos por células T positivas en CD8, tales como la tirosinasa (véase la bibliografía que no es de patente 3), MART1/MelanA (véase la bibliografía que no es de patente 4) y gp100 (véase la bibliografía que no es de patente 5).

30 En inmunoterapia, para reducir los efectos secundarios, se desea que la proteína reconocida como el antígeno sea una que exista en una pequeña cantidad en células normales y que exista en una cantidad en exceso en células cancerosas. Además, se desea que la proteína antigénica contenga, además de la región del péptido que puede inducir a las células T citotóxicas específicas de antígeno que atacan directamente el tumor que expresa el antígeno, una región del péptido que puede inducir a las células T auxiliares específicas de antígeno que ayudan en la actividad de las células T citotóxicas.

40 Recientemente, se sugirió la posibilidad de que YKL-40 pueda utilizarse como un marcador tumoral en suero asociado con tumor cerebral maligno humano. Se ha descrito que esta proteína se expresa en exceso en la mayoría de los tumores cerebrales malignos humanos y no se expresa de manera sustancial en los tejidos cerebrales normales (véase la bibliografía que no es de patente 6).

Bibliografía que no es de patente 1: Tsuyoshi AKIYOSHI, "Japanese Journal of Cancer and Chemotherapy", 1997, volumen 24, páginas 551-519

Bibliografía que no es de patente 2: Bruggen P. y otros, Science, 254: 1.643-1.647 (1991)

45 Bibliografía que no es de patente 3: Robbins P.F. y otros, Cancer Res., 54: 3.124-3.126 (1994)

Bibliografía que no es de patente 4: Kawakami Y. y otros, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91 (9): 3.515-3.519 (1994)

Bibliografía que no es de patente 5: Kawakami Y. y otros, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91: 6.458-6.462 (1994)

Bibliografía que no es de patente 6: Meena K. y otros, Cancer Res, 62: 4.364-4.368 (2002)

50 Descripción de la invención

Problemas que la invención intenta resolver

55 Un objetivo de la presente invención es dar a conocer un nuevo péptido útil como un agente terapéutico y/o un agente profiláctico para un cáncer o cánceres. Otro objetivo de la presente invención es dar a conocer la utilización del péptido como un agente terapéutico y/o un agente profiláctico para un cáncer o cánceres y como un agente para el tratamiento de células presentadoras de antígeno. Todavía otro objetivo de la presente invención es dar a conocer una célula presentadora de antígeno aislada que contiene un complejo entre el péptido y una molécula HLA, y una célula T aislada que se une de manera selectiva al complejo entre el péptido y la molécula HLA, así como sus utilidades como un agente terapéutico y/o un agente profiláctico para un cáncer o cánceres.

Medios para resolver los problemas

65 Los presentes inventores descubrieron que los péptidos parciales existentes en regiones específicas en la YKL-40 descrita anteriormente que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEC ID NO: 2 son presentados por las células presentadoras de antígeno, y tienen la capacidad (actividad inductora de la inmunidad) de activar y proliferar

células T citotóxicas específicas a las mismas, de manera que los péptidos son útiles para el tratamiento y/o la prevención de cánceres, y las células presentadoras de antígeno que entran en contacto con el péptido y las células T que entran en contacto con las células presentadoras de antígeno son útiles para el tratamiento y/o la prevención de cánceres, completando así la presente invención.

5 Es decir, la presente invención da a conocer un péptido, tal como se describe en la reivindicación 1, para utilizar en un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención de cánceres.

10 Además, la presente invención da a conocer un agente para utilizar en un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención de cánceres, tal como se describe en la reivindicación 4.

De manera adicional, la presente invención da a conocer una célula presentadora de antígeno aislada para utilizar en un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención de cánceres, tal como se describe en la reivindicación 7.

15 Finalmente, la presente invención se refiere a un agente para utilizar en un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención de cánceres, tal como se describe en la reivindicación 8.

Efectos de la invención

20 Mediante la presente invención, se dieron a conocer nuevos péptidos útiles para el tratamiento y/o la prevención de cánceres, y para la inducción de células presentadoras de antígeno y células T para las mismas, así como diversas utilidades de los péptidos en el sector de la medicina. Tal como se describirá en concreto en los ejemplos siguientes, las células T positivas en CD8 activadas por el péptido de la presente invención muestran una actividad citotóxica excelente contra células cancerosas que expresan YKL-40. Por lo tanto, los péptidos de la presente
25 invención son útiles para el tratamiento y/o la prevención de cánceres mediante su administración a seres humanos, o mediante la administración de células T a seres humanos, las cuales fueron activadas por los péptidos.

Descripción breve de la invención

30 La figura 1 muestra que las células T positivas en CD8 específicas de péptido reconocen el complejo entre el péptido y HLA-A0201 y producen IFN- γ .

La figura 2 muestra la actividad citotóxica de las células T positivas en CD8 específicas de péptido contra células cancerosas.

35 La figura 3 muestra que las células T positivas en CD4 específicas de péptido reconocen el complejo entre el péptido y HLA-DRB1*04 y producen IFN- γ .

La figura 4 muestra que las células T positivas en CD4 específicas de péptido reaccionan con células dendríticas que engloban el lisado de células cancerosas, y proliferan.

La figura 5 muestra que las células T positivas en CD8 específicas de péptido reconocen el complejo entre el péptido y HLA-A0201 y producen IFN- γ .

40 La figura 6 muestra la actividad citotóxica de células T positivas en CD8 específicas de péptido contra células cancerosas.

La figura 7 muestra la actividad citotóxica de células T positivas en CD8 específicas de péptido contra células cancerosas.

45 Modo óptimo de llevar a cabo la invención

Tal como se describe anteriormente, como péptido de la presente invención, se enumera en primer lugar el péptido no tiene menos de 7 aminoácidos consecutivos de la región de aa202-211 en la SEC ID NO: 2 en el LISTADO DE SECUENCIAS, cuyo péptido tiene una actividad de inducción de la inmunidad (en lo sucesivo denominado por
50 conveniencia como "péptido parcial inductor de la inmunidad").

El símbolo "aa" significa en el presente documento el número del residuo de aminoácido contado desde el extremo N-terminal de la secuencia de aminoácidos. Por ejemplo, "aa10" significa que el residuo de aminoácido es el décimo residuo de aminoácido contado desde el extremo N-terminal, y la "región de aa10-19" significa la región que consiste
55 en 10 residuos de aminoácidos desde el décimo residuo de aminoácido contado desde el extremo N-terminal hasta el decimonoveno residuo de aminoácido. El término "actividad inductora de la inmunidad" significa la capacidad de activar y proliferar las células T reactivas con células cancerosas que expresan YKL-40. Más concretamente, el término significa que la capacidad de producir IFN- γ y/o la actividad citotóxica contra células cancerosas que expresan YKL-40 de las células T estimuladas con un péptido, que se miden mediante los procedimientos descritos en detalle en los ejemplos siguientes, son más elevadas que las de la célula T de control no estimulada con el péptido, y la célula T estimulada con el péptido prolifera mejor que la célula T de control no estimulada con el péptido. La proliferación se puede confirmar mediante observación visual, contando el número de células bajo el microscopio, citometría de flujo, captación de timidina marcada con tritio en las células, o similares. La medición de la capacidad de producir IFN- γ , empleada en los siguientes ejemplos se describe, por ejemplo, en J. Immunol., 154,
65 pág. 2257, 1995, y la medición de la actividad citotóxica se basa en un procedimiento conocido llamado ensayo de

liberación de ⁵¹Cr descrito en Int. J. Cancer, 58: pág. 317, 1994.

En los péptidos que tienen las secuencias de aminoácidos mostradas en las SEC ID NO: 3 a SEC ID NO: 19, respectivamente, la SEC ID NO, la secuencia de aminoácidos y la posición de los mismos en la SEC ID NO: 2 de cada uno de los péptidos se muestran en la tabla 1 a continuación. En la presente invención, el término "que tiene la secuencia de aminoácidos" significa que los residuos de aminoácidos se alinean en ese orden. De este modo, por ejemplo, el término "péptido que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEC ID NO: 3" significa el péptido que tiene un tamaño de 17 aminoácidos, cuya secuencia de aminoácidos es Phe Gly Ser Gln Arg Phe Ser Lys Ile Ala Ser Asn Thr Ser Gln Arg. Además, el "péptido que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEC ID NO: 3" también puede denominarse como el "péptido de la SEC ID NO: 3" para abreviar.

Tabla 1

SEC ID NO:	Secuencia	Posición (aa)
3	Phe Gly Ser Gln Arg Phe Ser Lys Ile Ala Ser Asn Thr Gln Ser Arg Arg	101-117
4	Ser Ile Met Thr Tyr Asp Phe His Gly Ala	202-211
5	Gln Leu Ala Gly Ala Met Val Trp Ala	345-353
6	Ala Leu Ser Ala Gly Lys Val Thr Ile	177-185
7	Val Gly Tyr Asp Asp Gln Glu Ser Val	326-334
8	Phe Leu Cys Thr His Ile Ile Tyr Ser	49- 57
9	Ser Val Lys Ser Lys Val Gln Tyr Leu	333-341
10	His Ile Ile Tyr Ser Phe Ala Asn Ile	53- 61
11	Lys Leu Val Met Gly Ile Pro Thr Phe	253-261
12	Gln Leu Ala Gly Ala Met Val Trp Ala Leu	345-354
13	Arg Leu Gly Ala Pro Ala Ser Lys Leu Val	246-255
14	Thr Leu Ile Lys Glu Met Lys Ala Glu Phe	152-161
15	Phe Leu Cys Thr His Ile Ile Tyr Ser Phe	49- 58
16	Phe Val Val Leu Val Leu Leu Gln Cys Cys	10- 19
17	Val Thr Leu Tyr Gly Met Leu Asn Thr Leu	74- 83
18	Val Gly Gly Trp Asn Phe Gly Ser Gln Arg Phe Ser Lys Ile Ala Ser Asn Thr Gln Ser Arg Arg	96-117

Cada uno de los péptidos que tiene la misma secuencia de aminoácidos que la del péptido de la presente invención descrito anteriormente, excepto que se han sustituido, eliminado y/o insertado de uno a varios residuos de aminoácidos, cuya secuencia tiene una identidad no inferior al 80%, de manera preferente, no inferior al 90% con la secuencia del péptido original, y que el péptido tiene actividad inductora de la inmunidad y que tiene de 7 a 30 residuos de aminoácidos (en lo sucesivo denominado por conveniencia "péptido modificado inductor de la inmunidad"), también se puede utilizar para el tratamiento y/o la prevención de cánceres o similares y se encuentran dentro del alcance de la presente invención. El término "identidad" de las secuencias de aminoácidos significa en el presente documento el valor calculado mediante la alineación de los dos polipéptidos, de manera que el número de residuos de aminoácidos coincidentes es el máximo (se insertan un espacio o espacios según sea necesario), y dividiendo el número de residuos de aminoácidos no coincidentes por el número de residuos de aminoácidos de la secuencia de longitud completa (en los casos en los que el número de residuos de aminoácidos totales es diferente entre las dos secuencias, el número de los residuos de aminoácidos de la secuencia más corta). Dicho cálculo de la identidad puede conseguirse fácilmente mediante un software conocido, tal como BLAST. Los 20 tipos de aminoácidos que constituyen las proteínas de origen natural se pueden clasificar en grupos, cada uno de los cuales tiene propiedades similares, es decir, en aminoácidos neutros con cadenas laterales que tienen baja polaridad (Gly, Ile, Val, Leu, Ala, Met, Pro), aminoácidos neutros que tienen cadenas laterales hidrófilas (Asn, Gln, Thr, Ser, Tyr, Cys), aminoácidos ácidos (Asp, Glu), aminoácidos básicos (Arg, Lys, His) y aminoácidos aromáticos (Phe, Tyr, Trp). Se sabe que, en la mayoría de los casos, las sustituciones de aminoácidos dentro del mismo grupo no cambian las propiedades de los péptidos. Por lo tanto, en los casos en que el residuo o residuos de aminoácidos de los péptidos parciales inductores de la inmunidad de la presente invención descritos anteriormente están sustituidos, la probabilidad de que se mantenga la actividad inductora de la inmunidad puede elevarse mediante la realización de la sustitución o sustituciones dentro del mismo grupo.

El péptido de la presente invención (el péptido parcial inductor de la inmunidad o el péptido modificado inductor de la inmunidad) como secuencia parcial (es decir, los péptidos de la presente invención a los que se unen otro péptido en un extremo terminal o en ambos extremos terminales de los mismos), que tiene de 8 a 31 residuos de aminoácidos y tiene actividad inductora de la inmunidad (en lo sucesivo también denominado por conveniencia como "péptido añadido inductor de la inmunidad"), también se utiliza para el tratamiento y/o la prevención de cánceres o similares y se encuentran dentro del alcance de la presente invención.

Los péptidos de la presente invención se pueden sintetizar fácilmente mediante un procedimiento convencional utilizando un sintetizador de péptidos disponible comercialmente.

Tal como se describirá en concreto en los ejemplos siguientes, el péptido de la presente invención muestra actividad inductora de la inmunidad. Más particularmente, las células T estimuladas con el péptido de la presente invención muestran actividad citotóxica para las células cancerosas que expresan YKL-40, y proliferan. Por lo tanto, mediante la administración del péptido de la presente invención al cuerpo de un ser vivo, se consigue el tratamiento y/o la prevención de un cáncer o cánceres. De este modo, la presente invención da a conocer un agente terapéutico y/o un agente profiláctico para el cáncer o cánceres, que comprende como ingrediente eficaz el péptido de la presente invención.

Los cánceres para ser reconocidos por el agente terapéutico y/o el agente profiláctico de la presente invención son los cánceres que expresan YKL-40, y entre los ejemplos de los mismos incluyen tumor cerebral; carcinoma de células escamosas de cabeza, cuello, pulmón, útero y esófago; melanoma; adenocarcinoma de pulmón y útero; y cáncer de estómago. Los pacientes a tratar son mamíferos y, son particularmente preferentes, los seres humanos.

Aunque el agente terapéutico y/o el agente profiláctico que contiene como ingrediente eficaz el péptido de la presente invención se puede administrar por vía oral o por vía parenteral, son preferentes las administraciones parenterales, tales como intramuscular, subcutánea, intravenosa e intraarterial. La dosis puede ser cualquier dosis, siempre y cuando la dosis sea eficaz para el tratamiento y/o la prevención de un cáncer o cánceres, y puede seleccionarse de manera apropiada dependiendo del síntoma, propósito de la utilización y así sucesivamente. Habitualmente, la dosis es de 0,0001 mg a 1000 mg, de manera preferente, de 0,001 mg a 1000 mg, y esta dosis se administra, de manera preferente, una vez durante varios días a una vez durante varios meses.

El agente terapéutico y/o el agente profiláctico que contiene como ingrediente eficaz el péptido de la presente invención se puede formular utilizando un portador o portadores farmacéuticamente aceptables y/o un diluyente o diluyentes adecuados para cada modo de administración. Los procedimientos de formulación y diversos portadores para los mismos son bien conocidos en el sector de la formulación de productos farmacéuticos. Entre los ejemplos de los portadores o diluyentes farmacéuticamente aceptables se incluyen soluciones tampón, tales como soluciones tampón fisiológicas; vehículos (tales como sacarosa, lactosa, almidón de maíz, fosfato de calcio, sorbitol y glicina); y, de manera opcional, también pueden mezclarse un aglutinante o aglutinantes (tales como jarabe, gelatina, goma arábiga, sorbitol, cloruro de polivinilo y tragacanto) y/o un lubricante o lubricantes (tales como estearato de magnesio, polietilenglicol, talco y sílice). Los modos de administración incluyen preparaciones orales, tales como comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos y jarabes; y preparaciones parenterales, tales como inhalantes, soluciones de inyección, supositorios y soluciones. Estas preparaciones pueden formularse mediante procedimientos generalmente conocidos.

El agente terapéutico y/o el agente profiláctico que contiene como ingrediente eficaz el péptido de la presente invención pueden estar en la forma de una vacuna. En este caso, la vacuna contiene, de manera preferente, un adyuvante además del ingrediente eficaz. Los adyuvantes aportan un reservorio del antígeno (fuera de las células o en los macrófagos), activan los macrófagos y aumentan la respuesta inmunológica mediante la estimulación de una clase específica de linfocitos. En la técnica se conoce un conjunto de tipos de adyuvantes. Entre los ejemplos específicos de los adyuvantes se incluyen MPL (SmithKline Beecham) y homólogos del liposacárido Re 595 de Salmonella minnesota obtenidos después de la purificación y la hidrólisis ácida del lipopolisacárido; QS21 (SmithKline Beecham), saponina QA-21 pura purificada a partir de la extracción de Quillaja saponaria; DQS21 descrito en el documento WO96/33739 (SmithKline Beecham); QS-7, QS-17, QS-18 y QS-L1 (So y otros 10, "Molecules and cells", 1997, volumen 7, págs. 178-186); adyuvante incompleto de Freund; adyuvante completo de Freund; vitamina E; Montanide; alumbre; oligonucleótidos CpG (véase, por ejemplo, Kreig y otros 7, "Nature", volumen 374, págs. 546-549); y varias emulsiones de agua en aceite preparadas a partir de aceites biodegradables, tales como escualeno y/o tocoferol. De manera preferente, el péptido se administra después de mezclarse con la combinación de DQS21/MPL. La proporción de DQS21 con respecto a MPL es habitualmente aproximadamente de 1:10 a 10:1, de manera preferente, aproximadamente de 1:5 a 5:1, de manera más preferente, aproximadamente de 1:1. Habitualmente, para la administración a seres humanos, DQS21 y MPL existen en una preparación de vacuna en una cantidad de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 100 µg. En la técnica se conocen otros adyuvantes y se pueden utilizar en la presente invención (por ejemplo, véase Goding, "Monoclonal Antibodies: Principles and Practice" ("Anticuerpos monoclonales: principios y práctica"), segunda edición, 1986). Los procedimientos para la preparación de mezclas de un péptido y adyuvante son bien conocidos por los expertos en el sector de la vacunación.

También se pueden administrar otros factores que estimulan la respuesta inmune del paciente. Por ejemplo, son útiles otras citocinas para el protocolo de vacunación como resultado de propiedades estimulantes de linfocitos. Entre los ejemplos de las mismas se incluyen la interleucina-12 (IL-12), GM-CSF, IL-18 y ligando Flt3, que se ha observado que inducen la acción profiláctica de las vacunas. Cuando se administra la composición terapéutica de la presente invención, la composición se administra en forma de formulación farmacéuticamente aceptable. Dicha formulación puede contener de manera rutinaria una sal en una concentración farmacéuticamente aceptable, agente tampón, portador antiséptico, miscible, inmunoadyuvante, por ejemplo, un adyuvante y citocina, y, de manera opcional, otros agonistas terapéuticos.

Tal como se muestra en concreto en los ejemplos siguientes, al poner en contacto el péptido de la presente invención con células presentadoras de antígeno *in vitro*, se puede hacer que las células presentadoras de antígeno presenten el péptido de la presente invención. De este modo, la presente invención también da a conocer un agente para el tratamiento de células presentadoras de antígeno, que comprende el péptido de la presente invención descrito anteriormente. En el presente documento, como células presentadoras de antígeno, se pueden utilizar, de manera preferente, células dendríticas y/o células B, que tienen moléculas HLA de clase I o HLA de clase II. Las diversas moléculas HLA de clase I y HLA de clase II han sido identificadas y son bien conocidas. Entre los ejemplos de moléculas HLA de clase I se incluyen HLA-A, HLA-B y HLA-C, de manera más específica, HLA-A1, HLA-A0201, HLA-A0204, HLA-A0205, HLA-A0206, HLA-A0207, HLA-A11, HLA-A24, HLA-A31, HLA-A6801, HLA-B7, HLA-B8, HLA-B2705, HLA-B37, HLA-Cw0401, HLA-Cw0602 y similares. Entre los ejemplos de moléculas HLA de clase II se incluyen HLA-DR, HLA-DQ y HLA-DP.

Las células dendríticas o células B que tienen moléculas HLA de clase I o HLA de clase II se pueden preparar a partir de sangre periférica mediante un procedimiento bien conocido. Por ejemplo, las células dendríticas específicas de tumor se pueden inducir mediante la inducción de células dendríticas de la médula ósea, sangre del cordón umbilical o sangre periférica del paciente utilizando el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) e IL-3 (o IL-4), y añadiendo un péptido relacionado con el tumor al sistema de cultivo. Mediante la administración de una cantidad eficaz de dichas células dendríticas, se puede inducir una respuesta deseada para el tratamiento de cánceres. En cuanto a las células a utilizar, se puede utilizar la médula ósea o la sangre de cordón umbilical donados de un individuo sano, o médula ósea, sangre periférica o similar del propio paciente. La utilización de células autólogas del paciente es altamente segura y se espera que se eviten efectos secundarios graves. La sangre periférica o la médula ósea puede ser o una muestra fresca, una muestra almacenada en frío o una muestra congelada. En cuanto a la sangre periférica, se puede cultivar sangre completa o se puede separar y cultivar el componente de leucocito solo, y éste último es eficaz y preferente. Además, entre el componente de leucocito, se pueden separar las células mononucleares. En los casos en los que las células se originan a partir de médula ósea o sangre de cordón umbilical, las células completas que constituyen la médula ósea pueden cultivarse, o las células mononucleares pueden separarse y cultivarse. En la sangre periférica o el componente de leucocito de la misma, o en células de médula ósea, están contenidas células mononucleares, células madre hematopoyéticas o células dendríticas inmaduras o células positivas en CD4 y similares. En cuanto a la citocina a utilizar, el procedimiento de producción de la misma no está limitado y se puede utilizar citocina de origen natural o recombinante o similar, siempre y cuando se haya confirmado su seguridad y actividad fisiológica. De manera preferente, se utiliza una preparación confirmada por tener la calidad médica en una cantidad mínima necesaria. La concentración de la citocina o citocinas a añadir no está limitada, siempre y cuando las células dendríticas sean inducidas, y, normalmente, la concentración total de la citocina o citocinas es, de manera preferente, aproximadamente de 10 a 1000 ng/ml, de manera más preferente, aproximadamente de 20 a 500 ng/ml. El cultivo puede llevarse a cabo utilizando un medio bien conocido utilizado habitualmente para el cultivo de leucocitos. La temperatura de cultivo no está limitada, siempre y cuando se consiga la proliferación de los leucocitos, y la más preferente, es aproximadamente de 37°C que es la temperatura corporal del ser humano. El medio atmosférico durante el cultivo no está limitado, siempre y cuando se consiga la proliferación de leucocitos, y es preferente que fluya el 5% de CO₂. El periodo de cultivo no está limitado, siempre y cuando se induzca el número necesario de células, y habitualmente es de 3 días a 8 semanas. En cuanto a los aparatos utilizados para la separación y el cultivo de las células, se pueden utilizar aparatos apropiados, de manera preferente, aquellos cuya seguridad cuando se aplica a utilizaciones médicas ha sido confirmada, y cuyas operaciones son estables y simples. De manera particular, en cuanto al aparato para el cultivo de células, no sólo se pueden utilizar los recipientes generales, tales como placa de Petri, matraz y botella, sino también un recipiente de tipo capa, un recipiente con múltiples etapas, botella rotatoria, botella de tipo giratorio, recipiente de cultivo de tipo bolsa, columna de fibra hueca y similares.

La puesta en contacto el péptido de la presente invención con las células presentadoras de antígeno *in vitro* puede llevarse a cabo mediante un procedimiento bien conocido, y se describe en concreto en los ejemplos siguientes. Es decir, se puede llevar a cabo mediante el cultivo de las células en un medio de cultivo que contiene el péptido de la presente invención. La concentración del péptido en el medio no está limitada, y habitualmente es aproximadamente de 1 µg/ml a 100 µg/ml, de manera preferente, aproximadamente de 5 µg/ml a 20 µg/ml. La densidad celular durante el cultivo no está limitada y habitualmente es aproximadamente de 10³ células/ml a 10⁷ células/ml, de manera preferente, de 5 x 10⁴ células/ml a 5 x 10⁶ células/ml. El cultivo puede llevarse a cabo según un procedimiento convencional, y, de manera preferente, se lleva a cabo, a 37°C en atmósfera de CO₂ al 5%.

Mediante el cultivo de las células presentadoras de antígeno en presencia del péptido descrito anteriormente, el

péptido se incorpora en moléculas HLA de las células presentadoras de antígeno, y se presenta en las superficies de las células presentadoras de antígeno. La presente invención también da a conocer una célula presentadora de antígeno aislada que comprende el complejo entre el péptido de la presente invención y la molécula HLA. Dicha célula presentadora de antígeno presenta el péptido a las células T *in vivo* o *in vitro* e induce y prolifera células T citotóxicas específicas para el péptido.

Mediante la puesta en contacto las células presentadoras de antígeno que comprenden el complejo entre el péptido de la presente invención y la molécula HLA con células T, se pueden inducir y proliferar células T citotóxicas específicas para el péptido. Esto puede llevarse a cabo mediante cultivo simultáneo de las células presentadoras de antígeno descritas anteriormente y células T en un medio líquido. Por ejemplo, se puede conseguir mediante la suspensión de las células presentadoras de antígeno en un medio líquido, la colocación de la suspensión en recipientes, tales como pocillos de una microplaca, la adición a los mismos de células T y el cultivo de las células. La proporción de mezcla de las células presentadoras de antígeno con respecto a las células T en el cultivo simultáneo no está limitada y es habitualmente aproximadamente de 1:1 a 1:100, de manera preferente, aproximadamente de 1:5 a 1:20 con respecto al número de células. La densidad de las células presentadoras de antígeno suspendidas en el medio líquido no está limitada y habitualmente es aproximadamente de 100 a 10.000.000 de células/ml, de manera preferente, aproximadamente de 10.000 a 1.000.000 de células/ml. El cultivo simultáneo se lleva a cabo, de manera preferente, a 37°C en una atmósfera de CO₂ al 5% de acuerdo con el procedimiento convencional. El tiempo de cultivo no está limitado y generalmente es de 2 días a 3 semanas, de manera preferente, aproximadamente de 4 días a 2 semanas. El cultivo simultáneo se lleva a cabo, de manera preferente, en presencia de una o más interleucinas, tales como IL-2, IL-6, IL-7 e IL-12. En este caso, la concentración de IL-2 e IL-7 es habitualmente aproximadamente de 5 U/ml a 20 U/ml, la concentración de IL-6 es habitualmente aproximadamente de 500 U/ml a 2.000 U/ml, y la concentración de IL-12 es habitualmente aproximadamente de 5 ng/ml a 20 ng/ml, pero las concentraciones de las interleucinas no se limitan a las mismas. El cultivo simultáneo descrito anteriormente se puede repetir de una a varias veces añadiendo células presentadoras de antígeno nuevas. Por ejemplo, una operación de descartar el sobrenadante de cultivo después del cultivo simultáneo y la adición de una suspensión de células presentadoras de antígeno nuevas para la realización adicional del cultivo simultáneo se puede repetir de una a varias veces. Las condiciones de cada cultivo simultáneo pueden ser las mismas que las descritas anteriormente. En la presente memoria, la operación de añadir el péptido de la presente invención al medio de cultivo de las células presentadoras de antígeno a efectos de hacer que las células presentadoras de antígeno presenten el péptido en sus superficies se puede denominar "pulsar las células con el péptido". La operación de poner en contacto las células presentadoras de antígeno que presentan el péptido de la presente invención con las células T se puede denominar "estimular las células T con el péptido".

Mediante el cultivo simultáneo descrito anteriormente, se inducen y proliferan las células T citotóxicas específicas para el péptido. La presente invención también da a conocer dicha célula T aislada que se une de manera selectiva al complejo entre el péptido de la presente invención y la molécula HLA.

Dado que las células presentadoras de antígeno descritas anteriormente que presentan el péptido de la presente invención también pueden inducir y proliferar las células T citotóxicas específicas para el péptido *in vivo*, se consigue el tratamiento y/o la prevención de cánceres mediante la administración de las células presentadoras de antígeno. Además, dado que las células T que se unen de manera selectiva al complejo entre el péptido de la presente invención y la molécula HLA muestran actividad citotóxica contra las células cancerosas que expresan YKL-40, también se consigue el tratamiento y/o la prevención de cánceres mediante la administración de las células T al cuerpo de un ser vivo. De este modo, la presente invención también da a conocer un producto farmacéutico y un agente terapéutico y/o un agente profiláctico para el cáncer o cánceres, que comprende como ingrediente eficaz la célula presentadora de antígeno de la presente invención descrita anteriormente; así como un producto farmacéutico y un agente terapéutico y/o un agente profiláctico para el cáncer o cánceres que comprende como ingrediente eficaz la célula T de la presente invención descrita anteriormente. Entre los ejemplos de los cánceres a tratar se incluyen, obviamente, los cánceres descritos anteriormente que se pueden tratar mediante el agente terapéutico y/o el agente profiláctico para el cáncer o cánceres que comprende como ingrediente eficaz el péptido de la presente invención.

Las células presentadoras de antígeno o células T que se administran al cuerpo de un ser vivo son, de manera preferente, aquellas preparadas mediante el tratamiento de las células presentadoras de antígeno o células T con el péptido de la presente invención tal como se describe anteriormente, cuyas células presentadoras de antígeno o células T se recogen del paciente a tratar a efectos de evitar la respuesta inmunitaria en el cuerpo que ataca a estas células como un cuerpo extraño.

El agente terapéutico y/o el agente profiláctico para el cáncer o cánceres que comprende como ingrediente eficaz las células presentadoras de antígeno y/o células T se administra, de manera preferente, a través de una vía de administración parenteral, tal como administración intravenosa o intraarterial. La dosis se selecciona de manera apropiada dependiendo de los síntomas, el propósito de administración y similares, y habitualmente es de 1 célula a 10.000.000.000.000 de células, de manera preferente, de 1.000.000 de células a 1.000.000.000 de células. Esta dosis se administra, de manera preferente, una vez por varios días a varios meses. La formulación puede ser, por ejemplo, una suspensión de las células en solución salina fisiológica tamponada y se pueden utilizar simultáneamente otro agente o agentes contra el cáncer, citocina o citocinas, y similares. Además, también se

pueden añadir uno o más aditivos bien conocidos en el sector de la formulación de productos farmacéuticos.

En un ejemplo a continuación, dado que se demostró que las células T estimuladas con el péptido de la presente invención muestran actividad citotóxica contra células cancerosas que expresan YKL-40, se puede administrar YKL-40 al cuerpo de un ser vivo como un agente para inducir inmunidad específica del cáncer. De este modo, la presente invención da a conocer un agente inductor de la inmunidad específico del cáncer que comprende como ingrediente eficaz una proteína que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEC ID NO: 2 o una proteína que tiene una actividad inductora de la inmunidad, cuya proteína tiene una secuencia de aminoácidos con una identidad no inferior al 80% con la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEC ID NO: 2. En este caso, la vía de administración al cuerpo de un ser vivo, la dosis de administración, la formulación y similares pueden ser las mismas que con el agente terapéutico y/o el agente profiláctico descritos anteriormente que comprenden como ingrediente eficaz el péptido descrito anteriormente.

La presente invención se describirá a continuación de manera más concreta mediante ejemplos.

Ejemplo 1: Inducción de células T positivas en CD8 reactivas con el epítipo peptídico originado a partir de YKL-40

(1) La información sobre la secuencia de aminoácidos de la proteína YKL-40 humana se obtuvo de GenBank. Para la predicción del motivo de unión a HLA-A0201, se analizó la secuencia de aminoácidos de la proteína YKL-40 humana mediante un programa informático para la predicción utilizando el software conocido BIMAS (disponible en http://bimas.dcrf.nih.gov/molbio/hla_bind/), y se seleccionaron los péptidos que se predijeron que se unían a la molécula HLA de clase I.

(2) Se recogió sangre periférica de un donante sano positivo en HLA-A0201 y se recubrió un medio de separación de linfocitos (Organon/Teknika, Durham, NC), y el producto resultante se centrifugó a 1.500 rpm a temperatura ambiente durante 20 minutos. Se recuperó una fracción que contenía PBMC y se lavó 3 veces (o más) con tampón de fosfato frío para obtener células mononucleares de sangre periférica (PBMC). Las PBMC obtenidas se suspendieron en 20 ml de medio AIM-V (Life Technologies, Inc., Grand Island, NY), y se adhirieron a un matraz de cultivo (Falcon) a 37°C en CO₂ al 5% durante 2 horas. Las células que no se adhirieron se utilizaron para la preparación de células T y las células adheridas se utilizaron para la preparación de células dendríticas.

Por otro lado, las células adheridas se cultivaron en medio AIM-V en presencia de IL-4 (1.000 U/ml) y GM-CSF (1.000 U/ml). Seis días más tarde, el medio se reemplazó por medio AIM-V complementado con IL-4 (1.000 U/ml), GM-CSF (1.000 U/ml), IL-6 (1000 U/ml, Genzyme, Cambridge, MA), IL-1β (10 ng/ml, Genzyme, Cambridge, MA) y TNF-α (10 ng/ml, Genzyme, Cambridge, MA). Se continuó el cultivo durante otros 2 días y la población de células obtenida que no se adhirieron se utilizó como células dendríticas.

(3) Las células dendríticas preparadas de este modo se suspendieron en medio AIM-V a una densidad celular de 1 x 10⁶ células/ml. Cada uno de los péptidos seleccionados se añadió a una concentración de 10 µg/ml, y las células se cultivaron en una placa de 96 pocillos a 37°C en CO₂ al 5% durante 4 horas. Después del cultivo, las células dendríticas se irradiaron con rayos X (3.000 rad), se lavaron con medio AIM-V, se suspendieron en medio AIM-V que contenía suero AB humano al 10% (Nabi, Miami, FL), IL-6 (1.000 U/ml) e IL-12 (10 ng/ml, Genzyme, Cambridge, MA), se colocaron en los pocillos de una placa de 24 pocillos con una población de 1 x 10⁵ células/pocillo. La población de células T preparada se añadió a los pocillos con una población de 1 x 10⁶ células/pocillo, y las células se cultivaron a 37°C en CO₂ al 5%. Siete días más tarde, se descartó cada sobrenadante de cultivo y las células se trataron con cada uno de los péptidos de la misma manera que se describe anteriormente. Después de la irradiación con rayos X, las células dendríticas se suspendieron en medio AIM-V que contenía suero AB humano al 10% (Nabi, Miami, FL), IL-7 (10 U/ml, Genzyme, Cambridge, MA) e IL-2 (10 U/ml, Genzyme, Cambridge, MA) (densidad celular: 1 x 10⁵ células/ml), y las células se colocaron en los pocillos de una placa de 24 pocillos con una población de células de 1 x 10⁵ células/pocillo y se cultivaron posteriormente. Las mismas operaciones se repitieron de 4 a 6 veces en un intervalo de 7 días, y se recuperaron las células T inducidas. La inducción de células T positivas en CD8 se confirmó mediante citometría de flujo.

Ejemplo 2

Determinación del epítipo antigénico de células T citotóxicas originadas a partir de YKL-40, que estimula las células T positivas en CD8 y positivas en HLA-A0201

(1) Entre las células T en los pocillos, que se estimularon tal como se describe anteriormente, se confirmó mediante el recuento del número de células bajo el microscopio que las células T estimuladas por el péptido que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEC ID NO: 3, que está fuera del alcance de la presente invención, habían proliferado. Para examinar la especificidad de estas células T al péptido de SEC ID NO: 3, se añadieron 5 x 10³ células T a 5 x 10⁴ células T2 (referencia y fuente de suministro: Salter RD y otros, Immunogenetics, 21: 235-246 (1985), adquiridas de ATCC) (cultivadas en medio AIM-V complementado con cada péptido a un nivel de 10 µg/ml, a 37°C en CO₂ al 5% durante 4 horas) pulsadas con el péptido, que expresaban moléculas HLA-A0201, y las células se cultivaron en una placa de 96 pocillos en medio AIM-V que contenía suero AB humano al 10% durante 24 horas. Se recuperó el sobrenadante después del cultivo y se midió la cantidad de producción de IFN-γ mediante ELISA.

Como resultado, se confirmó la producción prominente de IFN- γ en el sobrenadante del cultivo en el pocillo de células T2 pulsadas con el péptido de SEC ID NO: 3, en comparación con el sobrenadante de cultivo de células T2 que no se pulsaron (figura 1). De este modo, se demostró que el péptido de SEC ID NO: 3 es un epítipo peptídico de células T que tiene la capacidad de estimular y proliferar de manera específica las células T positivas en CD8 y positivas en HLA-A0201. De manera similar, 14 tipos de péptidos que se muestran en las SEC ID NO: 4 a SEC ID NO: 17 tienen la capacidad de estimular y proliferar de manera específica las células T positivas en CD8 y positivas en HLA-A0201 y de inducir la producción de IFN- γ (figura 5).

En la figura 1, el resultado indicado por el número de referencia -1- en la ordenada muestra el resultado del péptido que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEC ID NO: 3. El resultado indicado por el número de referencia -2- muestra el resultado del péptido LQCCSAYKL (SEC ID NO: 19) que es uno de los péptidos originados a partir de YKL-40, pero fuera del alcance de la presente invención (ejemplo comparativo 1). El resultado indicado por el número de referencia -3- muestra el resultado del caso en el que las operaciones descritas anteriormente se realizaron sin añadir el péptido (ejemplo comparativo 2). En la figura 5, los resultados indicados con los números de referencia -12- a -25- en el eje de abscisas indican los resultados de los péptidos que tienen las secuencias de aminoácidos mostradas en las SEC ID NO: 4 a SEC ID NO: 17, respectivamente. El resultado indicado por el número de referencia -26- en el eje de abscisas muestra el resultado del péptido de SEC ID NO: 19, que es uno de los péptidos originados a partir de YKL-40, pero fuera del alcance de la presente invención (ejemplo comparativo 3), y el resultado indicado por el número de referencia -27- en el eje de abscisas muestra el resultado del caso en el que las operaciones descritas anteriormente se realizaron sin añadir el péptido (ejemplo comparativo 4).

(2) A continuación, se examinó si el péptido de SEC ID NO: 3 que está fuera del alcance de la presente invención es presentado o no en la molécula HLA-A0201 en células tumorales que son positivas en HLA-A0201 y expresan YKL-40, y si las células T positivas en CD8 estimuladas con este péptido pueden dañar o no las células tumorales que son positivas en HLA-A0201 y expresan YKL-40. En un tubo de centrifuga de 50 ml, se recogieron 10^5 células de T98G (referencia y fuente de suministro: Stein GH y otros, J. Cell Physiol, 99: 43-54 (1979), adquiridas de ATCC), que son una línea celular de tumor cerebral maligno que se había confirmado que expresaba YKL-40, y se añadieron a las mismas 100 mCi de cromo 51, seguido de incubación a 37°C durante 2 horas. Las células resultantes se lavaron 3 veces con medio AIM-V que contenía suero AB humano al 10% y, a continuación, se añadió a los pocillos de una placa de 96 pocillos con una base en forma de V en una población de 10^3 células/pocillo. A los pocillos, se añadieron, respectivamente, 10^5 , 5×10^4 , $2,5 \times 10^4$ y $1,25 \times 10^4$ células T positivas en HLA-A0201 y positivas en CD8 estimuladas con el péptido de SEC ID NO: 3, suspendidas en medio AIM-V que contenía suero AB humano al 10%, y las células se cultivaron a 37°C en CO₂ al 5% durante 4 horas. Después del cultivo, se calculó la actividad citotóxica de las células T positivas en CD8 estimuladas con el péptido de SEC ID NO: 3 midiendo la cantidad de cromo 51 en el sobrenadante de cultivo que se liberó de las células tumorales dañadas. Como resultado, se demostró que las células T positivas en HLA-A0201 y positivas en CD8 estimuladas con el péptido tenían una actividad citotóxica contra T98G (figura 2). De este modo, se demostró que el péptido de SEC ID NO: 3, que está fuera del alcance de la presente invención, se presenta en la molécula HLA-A0201 en células tumorales que son positivas en HLA-A0201 y expresan YKL-40, y que el péptido tiene la capacidad de inducir las células T positivas en CD8 que pueden dañar dichas células tumorales. De manera similar, las células T positivas en HLA-A0201 y positivas en CD8 estimuladas con los 14 tipos de péptidos que se muestran en las SEC ID NO: 4 a SEC ID NO: 17, respectivamente, presentaban actividad citotóxica contra T98G (figura 6). Además, las células T positivas en HLA-A0201 y positivas en CD8 estimuladas con los 15 tipos de péptidos que se muestran en las SEC ID NO: 3 a SEC ID NO: 17, respectivamente, presentaban actividad citotóxica contra U87 MG (Beckman G y otros, Hum. Hered., 21:238-241 (1971), adquirida de ATCC), que es otra línea celular de tumor cerebral maligno que se había confirmado que expresa YKL-40 en la misma (figura 7).

La actividad citotóxica se determinó, tal como se describe anteriormente, mediante la mezcla de 10^5 células T positivas en CD8 estimuladas e inducidas con cada uno de los péptidos de la presente invención y 10^3 células de las líneas celulares de tumor cerebral maligno T98G o U87 MG a las que se les incorporó cromo 51; el cultivo del producto resultante durante 4 horas; la medición de la cantidad de cromo 51 liberado al medio de cultivo después del cultivo; y el cálculo de la actividad citotóxica según la siguiente ecuación*:

*Ecuación: Actividad citotóxica (%) = (Cantidad de cromo 51 liberado de T98G o U87 MG cuando se añadieron células T positivas en CD8)/(Cantidad de cromo 51 liberado de las células diana a las que se añadió ácido clorhídrico 1 N) x 100

En la figura 6, los resultados indicados por los números de referencia -28- a -41- en el eje de abscisas muestran los resultados de los péptidos que se muestran en las SEC ID NO: 4 a SEC ID NO: 17, respectivamente. Además, el resultado indicado por el número de referencia -42- en el eje de abscisas muestra el resultado del péptido de SEC ID NO: 19, que es uno de los péptidos originados a partir de YKL-40, pero fuera del alcance de la presente invención (ejemplo comparativo 5), y el resultado indicado por el número de referencia -43- en el eje de abscisas muestra el resultado del caso en el que las operaciones descritas anteriormente se realizaron sin añadir el péptido (ejemplo comparativo 6). En la figura 7, los resultados indicados por los números de referencia -44- a -58- en el eje de abscisas muestran los resultados de los péptidos que se muestran en las SEC ID NO: 3 a SEC ID NO: 17, respectivamente. Además, el resultado indicado por el número de referencia -59- en el eje de abscisas muestra el

resultado del péptido de SEC ID NO: 19, que es uno de los péptidos originados a partir de YKL-40, pero fuera del alcance de la presente invención (ejemplo comparativo 7), y el resultado indicado por el número de referencia -60- en el eje de abscisas muestra el resultado del caso en el que las operaciones descritas anteriormente se realizaron sin añadir el péptido (ejemplo comparativo 8).

5

Ejemplo 3

Inducción de células T positivas en CD4 reactivas con el epítipo peptídico originado a partir de YKL-40

10 (1) Para la predicción del epítipo antigénico de células T positivas en CD4, se analizó la secuencia de aminoácidos de la proteína YKL-40 humana mediante 3 programas informáticos para la predicción, es decir, el algoritmo SYFPEITHI (Rammensee y otros 4 "Inmunogenetics", 1999, volumen 50, págs. 213-219); algoritmo ProPred, Singh y otro, "Bioinformatics", 2001, volumen 17, págs. 1236-1237); y el algoritmo RANKPEP (Reche y otros 2, "Human Immunology", y se seleccionaron los péptidos que se predijeron que se enlazaban a la molécula HLA de clase II.

15

(2) Se recogió sangre periférica de un donante sano positivo en HLA-DRB 1*04 y se recubrió un medio de separación de linfocitos (OrganonpTeknika, Durham, NC), y el producto resultante se centrifugó a 1.500 rpm a temperatura ambiente durante 20 minutos. Se recuperó una fracción que contenía PBMC y se lavó 3 veces (o más) con tampón de fosfato frío para obtener células mononucleares de sangre periférica (PBMC). Las PBMC obtenidas se suspendieron en 20 ml de medio AIM-V (Life Technologies, Inc., Grand Island, NY), y se adhirieron a un matraz de cultivo (Falcon) a 37°C en CO₂ al 5% durante 2 horas. Las células que no se adhirieron se utilizaron para la preparación de células T y las células adheridas se utilizaron para la preparación de células dendríticas.

20

Por otro lado, las células adheridas se cultivaron en medio AIM-V en presencia de IL-4 (1.000 U/ml) y GM-CSF (1.000 U/ml). Seis días más tarde, el medio se reemplazó por medio AIM-V complementado con IL-4 (1.000 U/ml), GM-CSF (1.000 U/ml), IL-6 (1000 U/ml, Genzyme, Cambridge, MA), IL-1β (10 ng/ml, Genzyme, Cambridge, MA) y TNF-α (10 ng/ml, Genzyme, Cambridge, MA). Se continuó el cultivo durante otros 2 días y la población de células obtenida que no se adhirieron se utilizó como células dendríticas.

25

30 (3) Las células dendríticas preparadas de este modo se suspendieron en medio AIM-V a una densidad celular de 1 x 10⁶ células/ml. Cada uno de los péptidos seleccionados se añadió a una concentración de 10 mg/ml, y las células se cultivaron en una placa de 96 pocillos a 37°C en CO₂ al 5% durante 4 horas. Después del cultivo, las células dendríticas se irradiaron con rayos X (3.000 rad), se lavaron con medio AIM-V, se suspendieron en medio AIM-V que contenía suero AB humano al 10% (Nabi, Miami, FL), IL-6 (1.000 U/ml) e IL-12 (10 ng/ml, Genzyme, Cambridge, MA), y se colocaron en los pocillos de una placa de 24 pocillos con una población de 1 x 10⁵ células/pocillo. La población de células T preparada se añadió a los pocillos con una población de 1 x 10⁵ células/pocillo, y las células se cultivaron a 37°C en CO₂ al 5%. Siete días más tarde, se descartó cada sobrenadante de cultivo y las células se trataron con cada uno de los péptidos de la misma manera que se describe anteriormente. Después de la irradiación con rayos X, las células dendríticas se suspendieron en medio AIM-V que contenía suero AB humano al 10% (Nabi, Miami, FL) e IL-2 (10 U/ml, Genzyme, Cambridge, MA), y las células se colocaron en los pocillos de una placa de 24 pocillos con una población de células de 1 x 10⁵ células/pocillo y se cultivaron posteriormente. Las mismas operaciones se repitieron de 4 a 6 veces en un intervalo de 7 días, y se recuperaron las células T estimuladas. La inducción de células T positivas en CD4 se confirmó mediante citometría de flujo.

35

40

45 Ejemplo 4

Determinación del epítipo antigénico de células T auxiliares, originadas a partir de YKL-40, que estimula las células T positivas en CD4 y positivas en HLA-DRB 1*04

50 (1) Entre las células T en los pocillos, que se estimularon tal como se describe anteriormente, se confirmó mediante el recuento del número de células bajo el microscopio que las células T estimuladas por el péptido que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEC ID NO: 18, según la presente invención, habían proliferado. Para examinar la especificidad de estas células T al péptido de SEC ID NO: 18, se añadieron 5 x 10³ células T positivas en CD4 a 5 x 10⁴ células T2DR4 que expresaban las moléculas HLA-DRB1*04 pulsadas con el péptido (el péptido se añadió al medio AIM-V en una concentración de 10 µg/ml y las células se cultivaron a 37°C en CO₂ al 5% durante 4 horas), y las células se cultivaron en una placa de 96 pocillos en medio AIM-V que contenía suero AB humano al 10% durante 24 horas. Se recuperó el sobrenadante después del cultivo y se midió la cantidad de producción de IFN-γ mediante ELISA. Como resultado, se produjeron no menos de 1.000 pg/ml de IFN-γ en el sobrenadante de cultivo en el pocillo de células T2DR4 pulsadas con el péptido de SEC ID NO: 18 (figura 3). Por otro lado, en los sobrenadantes de cultivo en los pocillos de células T2DR4 pulsadas con otro péptido y de células T2DR4 que no se pulsaron, respectivamente, apenas se observó producción de IFN-γ (figura 3). De este modo, se demostró que el péptido de SEC ID NO: 18 es un epítipo peptídico de células T que tiene la capacidad de estimular y proliferar de manera específica las células T positivas en CD8 y positivas en HLA-DRB1*04.

55

60

65 En la figura 3, el resultado indicado por el número de referencia -4- en el eje de ordenadas muestra el resultado del péptido que tiene la secuencia de aminoácidos mostrada en la SEC ID NO: 18. Además, el resultado indicado por el

número de referencia -5- muestra el resultado del péptido de SEC ID NO: 19, que es uno de los péptidos originados a partir de YKL-40, pero fuera del alcance de la presente invención (ejemplo comparativo 7). El resultado indicado por el número de referencia -6- muestra el resultado del caso en el que las operaciones descritas anteriormente se realizaron sin añadir el péptido (ejemplo comparativo 8).

5 (2) A continuación, se examinó si este péptido que tiene la capacidad de estimular y proliferar células positivas en HLA-DRB1*04 es o no el epítipo presentado en HLA-DR cuando la proteína YKL-40 se procesa de forma natural en las células presentadoras de antígeno. Se añadió lisado de T98G que es una línea celular de tumor cerebral maligno que se había confirmado que expresaba YKL-40 a células dendríticas inmaduras y las células digirieron el lisado, madurando de este modo las células dendríticas. A continuación, se examinó si las células T estimuladas con el péptido se estimulan o no con estas células dendríticas. Se sometió un residuo celular de $1,5 \times 10^6$ células T98G a un ciclo de congelación-descongelación durante 7 veces utilizando nitrógeno líquido y un baño de agua caliente para preparar un lisado celular. Por otro lado, se recogió sangre periférica de un donante sano positivo en HLA-DRB1*04 y se recubrió un medio de separación de linfocitos, seguido de la centrifugación del producto resultante a 1.500 rpm y se prepararon células dendríticas inmaduras a las que se añadió el péptido de SEC ID NO: 18, y células dendríticas inmaduras a las que se añadió lisado celular (preparado a partir de un residuo celular de $1,5 \times 10^6$ células) de PBMC, respectivamente, y las células se cultivaron en medio AIM-V complementado con IL-4 (1.000 U/ml), GM-CSF (1.000 U/ml) durante 6 días para preparar células dendríticas inmaduras. Cada lisado celular preparado se añadió a 5×10^5 células dendríticas inmaduras y las células se cultivaron en medio AIM-V complementado con IL-4 (1.000 U/ml), GM-CSF (1.000 U/ml), IL-6 (1000 U/ml), IL-1 β (10 ng/ml) y TNF- α (10 ng/ml) a 37°C en CO₂ al 5% durante 2 días. En paralelo, se prepararon células dendríticas inmaduras a las que se añadió el péptido de SEC ID NO: 18, y células dendríticas inmaduras a las que se añadió lisado celular (preparado a partir de un residuo celular de $1,5 \times 10^6$ células) de PBMC, respectivamente, y las células se cultivaron en medio AIM-V complementado con IL-4 (1.000 U/ml), GM-CSF (1.000 U / ml), IL-6 (1.000 U/ml), IL-1 β (10 ng/ml) y TNF- α (10 ng/ml) a 37°C en CO₂ al 5% durante 2 días. Las células dendríticas después del cultivo se irradiaron con rayos X (3.000 rad) y se lavaron con medio AIM-V. A continuación, las células se suspendieron en medio AIM-V que contenía suero AB humano al 10%, y la suspensión se añadió a los pocillos de una placa de 96 pocillos con una población de $3,3 \times 10^4$ células/pocillo. A las células, se añadieron 5×10^4 células T estimuladas con el péptido YKL y las células se cultivaron a 37°C en CO₂ al 5% durante 72 horas. A cada medio de cultivo, se añadió 1 mCi de timidina marcada con tritio a las 48 horas después del comienzo del cultivo. Después del cultivo, se recogieron las células sobre un papel de filtro de vidrio con un recogedor de células, y se midió la captación de la timidina marcada con tritio con un contador de centelleo líquido. Como resultado, tal como se muestra en la figura 4, se confirmó que las células T estimuladas con el péptido de SEC ID NO: 18 proliferaron mediante la estimulación por las células dendríticas a las que se añadió el lisado de células T98G. Además, dado que estas reacciones se inhibieron mediante la adición de un anticuerpo neutralizante contra HLA-DR, se demostró que el péptido de SEC ID NO: 18 es un epítipo resultante del procesamiento natural de la proteína YKL-40 en las células presentadoras de antígeno y presentado en HLA-DR.

En la figura 4, el resultado indicado por el número de referencia -7- en el eje de ordenadas muestra la captación de timidina marcada con tritio por las células T positivas en CD4 obtenidas mediante el cultivo de una mezcla de células dendríticas positivas en HLA-DRB1*04 pulsadas con el péptido de SEC ID NO: 18, que está fuera del alcance de la presente invención, irradiadas con rayos X y células T positivas en CD4 y positivas en HLA-DRB1*04 estimuladas e inducidas por el péptido en medio AIM-V que contenía suero AB humano al 10% durante 48 horas, a continuación, la adición adicional de timidina marcada con tritio, y a continuación, el cultivo de las células durante otras 24 horas. El resultado indicado por el número de referencia -8- muestra la captación de timidina marcada con tritio por las células T positivas en CD4 obtenidas mediante el cultivo de una mezcla de células dendríticas positivas en HLA-DRB1*04 a las que se incorporó el lisado de la línea celular de tumor cerebral maligno T98G e irradiadas con rayos X y células T positivas en CD4 y positivas en HLA-DRB1*04 estimuladas e inducidas por el péptido de SEC ID NO: 18 en medio AIM-V que contenía suero AB humano al 10% durante 48 horas, a continuación, la adición adicional de timidina marcada con tritio, y a continuación, el cultivo de las células durante otras 24 horas. El resultado indicado por el número de referencia -9- muestra la captación de timidina marcada con tritio por las células T positivas en CD4 obtenidas mediante el cultivo de una mezcla de células dendríticas positivas en HLA-DRB1*04 a las que se incorporó el lisado de la línea celular de tumor cerebral maligno T98G e irradiadas con rayos X y células T positivas en CD4 y positivas en HLA-DRB1*04 estimuladas e inducidas por el péptido de SEC ID NO: 18 en medio AIM-V que contenía suero AB humano al 10% y un anticuerpo contra HLA-DR durante 48 horas, a continuación, la adición adicional de timidina marcada con tritio, y a continuación, el cultivo de las células durante otras 24 horas. El resultado indicado por el número de referencia -10- muestra la captación de timidina marcada con tritio por las células T positivas en CD4 obtenidas mediante el cultivo de una mezcla de células dendríticas positivas en HLA-DRB1*04 a las que se incorporó el lisado de células mononucleares de sangre periférica separadas de un donante sano positivo en HLA-DRB1*04 e irradiadas con rayos X y células T positivas en CD4 y positivas en HLA-DRB1*04 estimuladas e inducidas por el péptido de SEC ID NO: 18 en medio AIM-V que contenía suero AB humano al 10% durante 48 horas, a continuación, la adición adicional de timidina marcada con tritio, y a continuación, el cultivo de las células durante otras 24 horas. El resultado indicado por el número de referencia -11- muestra la captación de timidina marcada con tritio por las células T positivas en CD4 obtenidas mediante el cultivo de una mezcla de células dendríticas positivas en HLA-DRB1*04 que se irradiaron con rayos X y células T positivas en CD4 y positivas en HLA-DRB1*04 estimuladas e inducidas por el péptido de SEC ID NO: 18 en medio AIM-V que

contenía suero AB humano al 10% durante 48 horas, a continuación, la adición adicional de timidina marcada con tritio, y a continuación, el cultivo de las células durante otras 24 horas.

Disponibilidad Industrial

5 Los péptidos, según la presente invención, son útiles como ingrediente eficaz de un agente terapéutico y/o un agente profiláctico para un cáncer o cánceres, y son útiles para la inducción de células presentadoras de antígeno o células T que se pueden utilizar como un agente terapéutico y/o un agente profiláctico para un cáncer o cánceres.

10 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> TORAY INDUSTRIES, INC.

15 <120> Nuevos péptidos antigénicos contra el cáncer y utilización de los mismos

<130> 05PF0311-PCT

<160> 19

20 <170> PatentIn version 3.1

<210> 1

25 <211> 1149

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

30 <221> CDS

<222> (1)..(1149)

<400> 1

35	atg ggt gtg aag gcg tct caa aca ggc ttt gtg gtc ctg gtg ctg ctc	48
	Met Gly Val Lys Ala Ser Gln Thr Gly Phe Val Val Leu Val Leu Leu	
	1 5 10 15	
	cag tgc tgc tct gca tac aaa ctg gtc tgc tac tac acc agc tgg tcc	96
	Gln Cys Cys Ser Ala Tyr Lys Leu Val Cys Tyr Tyr Thr Ser Trp Ser	
	20 25 30	
40	cag tac cgg gaa ggc gat ggg agc tgc ttc cca gat gcc ctt gac cgc	144
	Gln Tyr Arg Glu Gly Asp Gly Ser Cys Phe Pro Asp Ala Leu Asp Arg	
	35 40 45	
	ttc ctg tgt acc cac atc atc tac agc ttt gcc aat ata agc aac gat	192
	Phe Leu Cys Thr His Ile Ile Tyr Ser Phe Ala Asn Ile Ser Asn Asp	
45	50 55 60	
	cac atc gac acc tgg gag tgg aat gat gtg acg ctc tac ggc atg ctc	240
	His Ile Asp Thr Trp Glu Trp Asn Asp Val Thr Leu Tyr Gly Met Leu	
	65 70 75 80	
50	aac aca ctc aac aac acg aac ccc aac ctg aag act ctc ttg tct gtc	288
	Asn Thr Leu Asn Asn Thr Asn Pro Asn Leu Lys Thr Leu Leu Ser Val	
	85 90 95	
	gga gga tgg aac ttt ggg tct caa aga ttt tcc aag ata gcc tcc aac	336
	Gly Gly Trp Asn Phe Gly Ser Gln Arg Phe Ser Lys Ile Ala Ser Asn	
	100 105 110	
55	acc cag agt cgc cgg act ttc atc aag tca gta ccg cca ttt ctg cgc	384
	Thr Gln Ser Arg Arg Thr Phe Ile Lys Ser Val Pro Pro Phe Leu Arg	
	115 120 125	
	acc cat ggc ttt gat ggg cgt gac ctt gcc tgg ctc tac cct gga cgg	432
	Thr His Gly Phe Asp Gly Arg Asp Leu Ala Trp Leu Tyr Pro Gly Arg	
60	130 135 140	
	aga gac aaa cac cat ttt acc acc cta atc aag gaa atg aag gcc gaa	480
	Arg Asp Lys His His Phe Thr Thr Leu Ile Lys Glu Met Lys Ala Glu	
	145 150 155 160	
65	ttt ata aag gaa gcc cag cca ggg aaa aag cag ctc ctg ctc agc gca	528
	Phe Ile Lys Glu Ala Gln Pro Gly Lys Lys Gln Leu Leu Leu Ser Ala	
	165 170 175	

ES 2 534 752 T3

	gca	ctg	tct	gcg	ggg	aag	gtc	acc	att	gac	agc	agc	tat	gac	att	gcc	576
	Ala	Leu	Ser	Ala	Gly	Lys	Val	Thr	Ile	Asp	Ser	Ser	Tyr	Asp	Ile	Ala	
				180					185					190			
5	aag	ata	tcc	caa	cac	ctg	gat	ttc	att	agc	atc	atg	acc	tac	gat	ttt	624
	Lys	Ile	Ser	Gln	His	Leu	Asp	Phe	Ile	Ser	Ile	Met	Thr	Tyr	Asp	Phe	
			195					200					205				
	cat	ggc	gcc	tgg	cgt	ggg	acc	aca	ggc	cat	cac	agt	ccc	ctc	agg	cga	672
	His	Gly	Ala	Trp	Arg	Gly	Thr	Thr	Gly	His	His	Ser	Pro	Leu	Arg	Arg	
		210				215					220						
10	ggt	cag	gag	gat	gca	agt	cct	gac	aga	ttc	agc	aac	act	gac	tat	gct	720
	Gly	Gln	Glu	Asp	Ala	Ser	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Asn	Thr	Asp	Tyr	Ala	
		225				230					235					240	
	gtg	ggg	tac	atg	ttg	agg	ctg	ggg	gct	cct	gcc	agt	aag	ctg	gtg	atg	768
	Val	Gly	Tyr	Met	Leu	Arg	Leu	Gly	Ala	Pro	Ala	Ser	Lys	Leu	Val	Met	
				245						250					255		
15	ggc	atc	ccc	acc	ttc	ggg	agg	agc	ttc	act	ctg	gct	tct	tct	gag	act	816
	Gly	Ile	Pro	Thr	Phe	Gly	Arg	Ser	Phe	Thr	Leu	Ala	Ser	Ser	Glu	Thr	
				260					265					270			
20	ggt	gtt	cca	gcg	cca	atc	tca	gga	ccg	gga	att	cca	ggc	cgg	ttc	acc	864
	Gly	Val	Pro	Ala	Pro	Ile	Ser	Gly	Pro	Gly	Ile	Pro	Gly	Arg	Phe	Thr	
			275					280					285				
	aag	gag	gca	ggg	acc	ctt	gcc	tac	tat	gag	atc	tgt	gac	ttc	ctc	cgc	912
	Lys	Glu	Ala	Gly	Thr	Leu	Ala	Tyr	Tyr	Glu	Ile	Cys	Asp	Phe	Leu	Arg	
		290					295					300					
25	gga	gcc	aca	gtc	cat	aga	acc	ctc	ggc	cag	cag	gtc	ccc	tat	gcc	acc	960
	Gly	Ala	Thr	Val	His	Arg	Thr	Leu	Gly	Gln	Gln	Val	Pro	Tyr	Ala	Thr	
		305				310					315					320	
	aag	ggc	aac	cag	tgg	gta	gga	tac	gac	gac	cag	gaa	agc	gtc	aaa	agc	1008
	Lys	Gly	Asn	Gln	Trp	Val	Gly	Tyr	Asp	Asp	Gln	Glu	Ser	Val	Lys	Ser	
				325						330					335		
30	aag	gtg	cag	tac	ctg	aag	gat	agg	cag	ctg	gca	ggc	gcc	atg	gta	tgg	1056
	Lys	Val	Gln	Tyr	Leu	Lys	Asp	Arg	Gln	Leu	Ala	Gly	Ala	Met	Val	Trp	
			340					345					350				
35	gcc	ctg	gac	ctg	gat	gac	ttc	cag	ggc	tcc	ttc	tgc	ggc	cag	gat	ctg	1104
	Ala	Leu	Asp	Leu	Asp	Asp	Phe	Gln	Gly	Ser	Phe	Cys	Gly	Gln	Asp	Leu	
			355					360					365				
	cgc	ttc	cct	ctc	acc	aat	gcc	atc	aag	gat	gca	ctc	gct	gca	acg		1149
	Arg	Phe	Pro	Leu	Thr	Asn	Ala	Ile	Lys	Asp	Ala	Leu	Ala	Ala	Thr		
		370					375					380					
40	<210>	2															
	<211>	383															
	<212>	PRT															
	<213>	Homo sapiens															
45	<400>	2															
	Met	Gly	Val	Lys	Ala	Ser	Gln	Thr	Gly	Phe	Val	Val	Leu	Val	Leu	Leu	
	1				5					10					15		
50	Gln	Cys	Cys	Ser	Ala	Tyr	Lys	Leu	Val	Cys	Tyr	Tyr	Thr	Ser	Trp	Ser	
				20					25					30			
	Gln	Tyr	Arg	Glu	Gly	Asp	Gly	Ser	Cys	Phe	Pro	Asp	Ala	Leu	Asp	Arg	
			35				40						45				
55	Phe	Leu	Cys	Thr	His	Ile	Ile	Tyr	Ser	Phe	Ala	Asn	Ile	Ser	Asn	Asp	
		50				55						60					
	His	Ile	Asp	Thr	Trp	Glu	Trp	Asn	Asp	Val	Thr	Leu	Tyr	Gly	Met	Leu	
	65					70					75				80		
	Asn	Thr	Leu	Asn	Asn	Thr	Asn	Pro	Asn	Leu	Lys	Thr	Leu	Leu	Ser	Val	
				85						90					95		
60	Gly	Gly	Trp	Asn	Phe	Gly	Ser	Gln	Arg	Phe	Ser	Lys	Ile	Ala	Ser	Asn	
				100					105					110			
	Thr	Gln	Ser	Arg	Arg	Thr	Phe	Ile	Lys	Ser	Val	Pro	Pro	Phe	Leu	Arg	
			115					120					125				
65	Thr	His	Gly	Phe	Asp	Gly	Arg	Asp	Leu	Ala	Trp	Leu	Tyr	Pro	Gly	Arg	
		130					135					140					
	Arg	Asp	Lys	His	His	Phe	Thr	Thr	Leu	Ile	Lys	Glu	Met	Lys	Ala	Glu	
					150						155					160	

ES 2 534 752 T3

Phe Ile Lys Glu Ala Gln Pro Gly Lys Lys Gln Leu Leu Leu Ser Ala
 Ala Leu Ser Ala Gly Lys Val Thr Ile Asp Ser Ser Tyr Asp Ile Ala
 5 Lys Ile Ser Gln His Leu Asp Phe Ile Ser Ile Met Thr Tyr Asp Phe
 His Gly Ala Trp Arg Gly Thr Thr Gly His His Ser Pro Leu Arg Arg
 Gly Gln Glu Asp Ala Ser Pro Asp Arg Phe Ser Asn Thr Asp Tyr Ala
 10 Val Gly Tyr Met Leu Arg Leu Gly Ala Pro Ala Ser Lys Leu Val Met
 Gly Ile Pro Thr Phe Gly Arg Ser Phe Thr Leu Ala Ser Ser Glu Thr
 15 Gly Val Pro Ala Pro Ile Ser Gly Pro Gly Ile Pro Gly Arg Phe Thr
 Lys Glu Ala Gly Thr Leu Ala Tyr Tyr Glu Ile Cys Asp Phe Leu Arg
 20 Gly Ala Thr Val His Arg Thr Leu Gly Gln Gln Val Pro Tyr Ala Thr
 Lys Gly Asn Gln Trp Val Gly Tyr Asp Asp Gln Glu Ser Val Lys Ser
 Lys Val Gln Tyr Leu Lys Asp Arg Gln Leu Ala Gly Ala Met Val Trp
 25 Ala Leu Asp Leu Asp Asp Phe Gln Gly Ser Phe Cys Gly Gln Asp Leu
 Arg Phe Pro Leu Thr Asn Ala Ile Lys Asp Ala Leu Ala Ala Thr
 30
 <210> 3
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35
 <400> 3
 Phe Gly Ser Gln Arg Phe Ser Lys Ile Ala Ser Asn Thr Gln Ser Arg
 1 5 10 15
 40
 Arg
 <210> 4
 <211> 10
 45 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 4
 50 Ser Ile Met Thr Tyr Asp Phe His Gly Ala
 1 5 10
 <210> 5
 <211> 9
 <212> PRT
 55 <213> Homo sapiens
 <400> 5
 Gln Leu Ala Gly Ala Met Val Trp Ala
 1 5
 60
 <210> 6
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 65
 <400> 6
 Ala Leu Ser Ala Gly Lys Val Thr Ile
 1 5

<210> 7
 <211> 9
 <212> PRT
 5 <213> Homo sapiens

 <400> 7
 Val Gly Tyr Asp Asp Gln Glu Ser Val
 1 5
 10
 <210> 8
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 15
 <400> 8
 Phe Leu Cys Thr His Ile Ile Tyr Ser
 1 5
 20
 <210> 9
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25
 <400> 9
 Ser Val Lys Ser Lys Val Gln Tyr Leu
 1 5
 30
 <210> 10
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35
 <400> 10
 His Ile Ile Tyr Ser Phe Ala Asn Ile
 1 5
 40
 <210> 11
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 45
 <400> 11
 Lys Leu Val Met Gly Ile Pro Thr Phe
 1 5
 50
 <210> 12
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 55
 <400> 12
 cag ctg gca ggc gcc atg gta tgg gcc ctg
 Gln Leu Ala Gly Ala Met Val Trp Ala Leu
 1 5 10
 60
 <210> 13
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 65
 <400> 13
 Arg Leu Gly Ala Pro Ala Ser Lys Leu Val
 1 5 10
 <210> 14
 <211> 10
 <212> PRT

30

<213> Homo sapiens
 <400> 14
 5 Thr Leu Ile Lys Glu Met Lys Ala Glu Phe
 1 5 10
 <210> 15
 <211> 10
 <212> PRT
 10 <213> Homo sapiens
 <400> 15
 Phe Leu Cys Thr His Ile Ile Tyr Ser Phe
 1 5 10
 15 <210> 16
 <211> 10
 <212> PRT
 20 <213> Homo sapiens
 <400> 16
 Phe Val Val Leu Val Leu Leu Gln Cys Cys
 1 5 10
 25 <210> 17
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 30 <400> 17
 Val Thr Leu Tyr Gly Met Leu Asn Thr Leu
 1 5 10
 35 <210> 18
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 18
 40 Val Gly Gly Trp Asn Phe Gly Ser Gln Arg Phe Ser Lys Ile Ala Ser
 1 5 10 15
 Asn Thr Gln Ser Arg Arg
 20
 45 <210> 19
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 50 <400> 19
 Leu Gln Cys Cys Ser Ala Tyr Lys Leu
 1 5

REIVINDICACIONES

- 5 1. Péptido que comprende no menos de 7 aminoácidos consecutivos en la región de aa202-211 en la SEC ID NO: 2 en el LISTADO DE SECUENCIAS o péptido que comprende la misma secuencia de aminoácidos, a excepción de que uno o varios residuos de aminoácidos están sustituidos, eliminados y/o insertados y cuya secuencia tiene una identidad no inferior al 80% con el péptido que comprende no menos de 7 aminoácidos consecutivos en la región de aa202-211 en la SEC ID NO: 2 en el LISTADO DE SECUENCIAS o péptido que comprende de 8 a 31 residuos de aminoácidos que comprende cualquiera de dichos péptidos como secuencia parcial del mismo, para utilizar en un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención de un cáncer o cánceres, en el que el péptido tiene una actividad inductora de la inmunidad.
- 10
2. Péptido para utilizar, según la reivindicación 1, en el que dicho péptido comprende no menos de 7 aminoácidos consecutivos en la región de aa202-211 en la SEC ID NO: 2 en el LISTADO DE SECUENCIAS.
- 15 3. Péptido para utilizar, según la reivindicación 2, en el que dicho péptido comprende una secuencia de aminoácidos mostrada en la SEC ID NO: 4.
4. Agente para utilizar en un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención de un cáncer o cánceres, en el que el agente comprende un péptido que tiene actividad inductora de la inmunidad y comprende no menos de 7 aminoácidos consecutivos en la región de aa202-211 en la SEC ID NO: 2 en el LISTADO DE SECUENCIAS o un péptido que comprende la misma secuencia de aminoácidos, a excepción de que uno o varios residuos de aminoácidos están sustituidos, eliminados y/o insertados y cuya secuencia tiene una identidad no inferior al 80% con el péptido que comprende no menos de 7 aminoácidos consecutivos en la región de aa202-211 en la SEC ID NO: 2 en el LISTADO DE SECUENCIAS o un péptido que comprende de 8 a 31 residuos de aminoácidos que comprende cualquiera de dichos péptidos como secuencia parcial del mismo.
- 20
- 25
5. Agente para utilizar, según la reivindicación 4, en el que dicho péptido comprende no menos de 7 aminoácidos consecutivos en la región de aa202-211 en la SEC ID NO: 2 en el LISTADO DE SECUENCIAS.
- 30 6. Agente para utilizar, según la reivindicación 5, en el que dicho péptido comprende una secuencia de aminoácidos mostrada en la SEC ID NO: 4.
7. Célula presentadora de antígeno aislada para utilizar en un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención de un cáncer o cánceres, en la que la célula presentadora de antígeno comprende un complejo entre un péptido que tiene actividad inductora de la inmunidad y comprende no menos de 7 aminoácidos consecutivos en la región de aa202-211 en la SEC ID NO: 2 en el LISTADO DE SECUENCIAS o un péptido que comprende la misma secuencia de aminoácidos, a excepción de que uno o varios residuos de aminoácidos están sustituidos, eliminados y/o insertados y cuya secuencia tiene una identidad no inferior al 80% con el péptido que comprende no menos de 7 aminoácidos consecutivos en la región de aa202-211 en la SEC ID NO: 2 en el LISTADO DE SECUENCIAS o un péptido que comprende de 8 a 31 residuos de aminoácidos que comprende cualquiera de dichos péptidos como secuencia parcial del mismo en su superficie, y las moléculas HLA de la célula presentadora de antígeno.
- 35
- 40
- 45 8. Agente para utilizar en un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención de un cáncer o cánceres, en el que el agente comprende una célula presentadora de antígeno que comprende un complejo entre un péptido que tiene actividad inductora de la inmunidad y comprende no menos de 7 aminoácidos consecutivos en la región de aa202-211 en la SEC ID NO: 2 en el LISTADO DE SECUENCIAS o un péptido que comprende la misma secuencia de aminoácidos, a excepción de que uno o varios residuos de aminoácidos están sustituidos, eliminados y/o insertados y cuya secuencia tiene una identidad no inferior al 80% con el péptido que comprende no menos de 7 aminoácidos consecutivos en la región de aa202-211 en la SEC ID NO: 2 en el LISTADO DE SECUENCIAS o un péptido que comprende de 8 a 31 residuos de aminoácidos que comprende cualquiera de dichos péptidos como secuencia parcial del mismo en su superficie, y las moléculas HLA de la célula presentadora de antígeno, y células T.
- 50
- 55

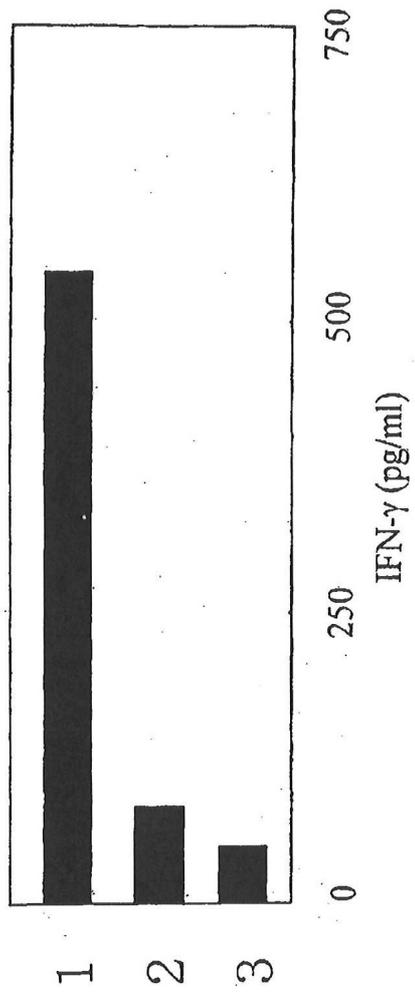


Fig.1

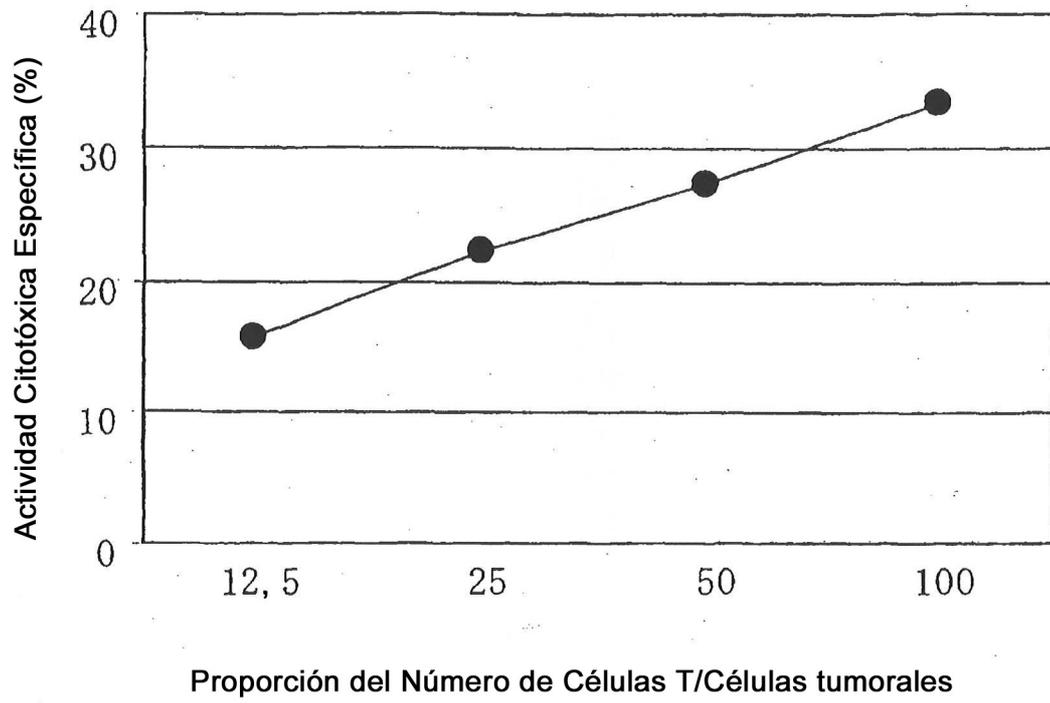


Fig.2

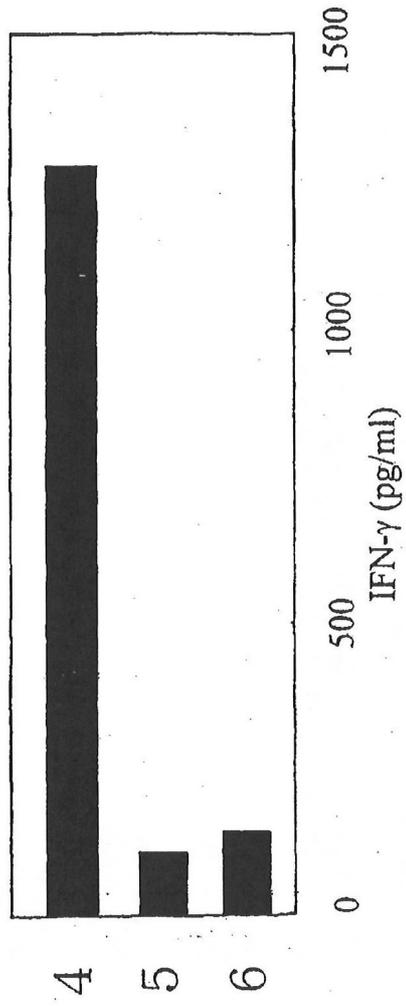


Fig.3

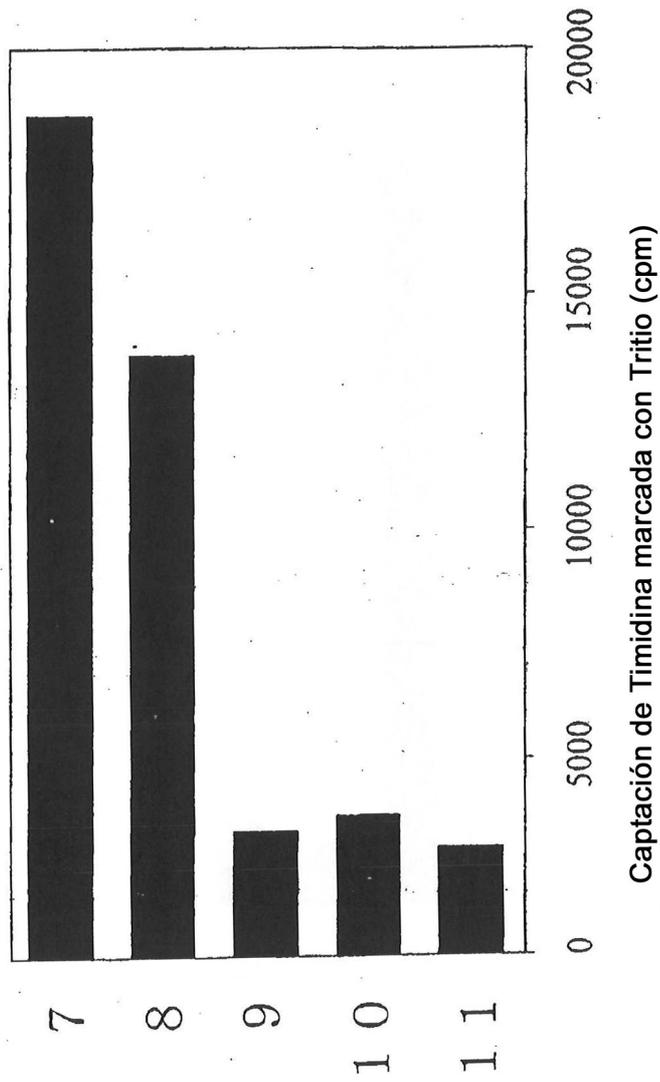


Fig.4

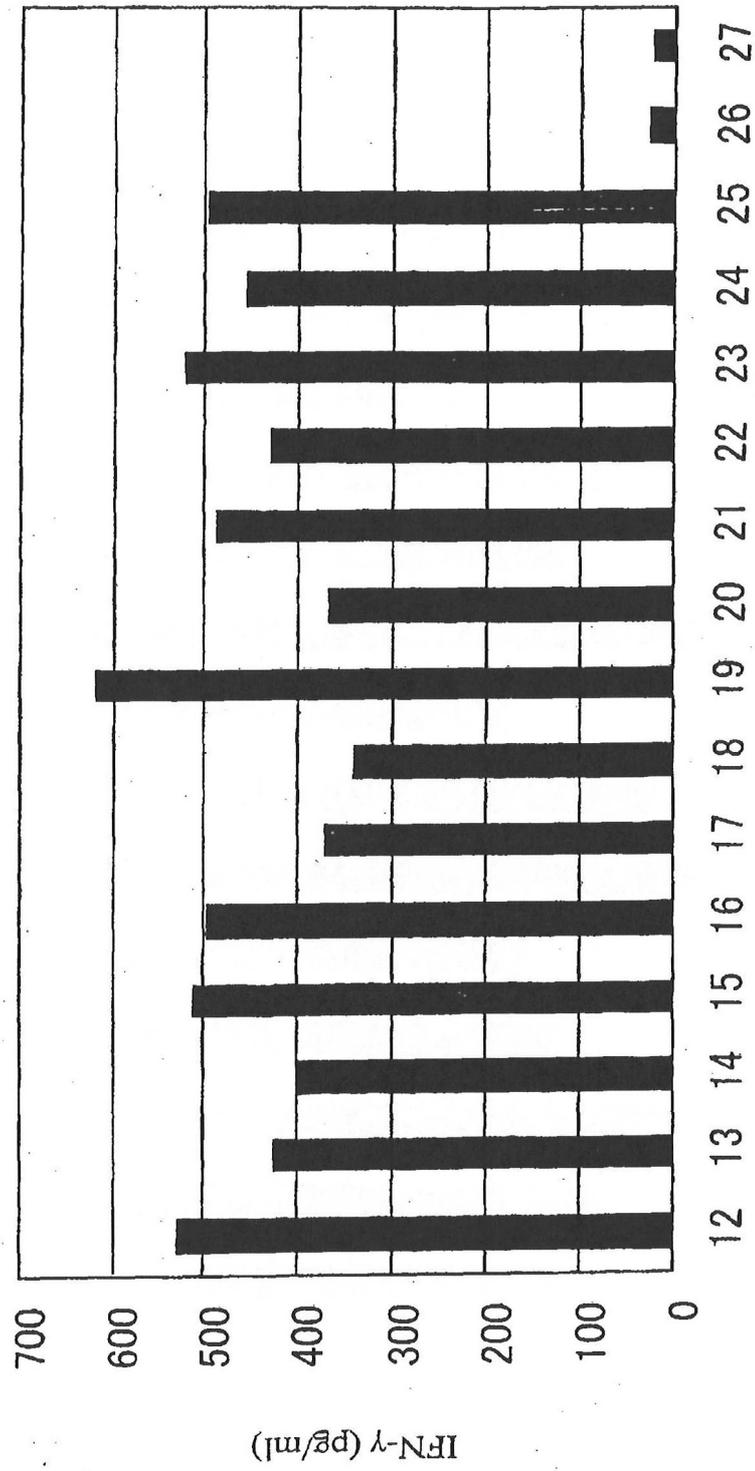


Fig.5

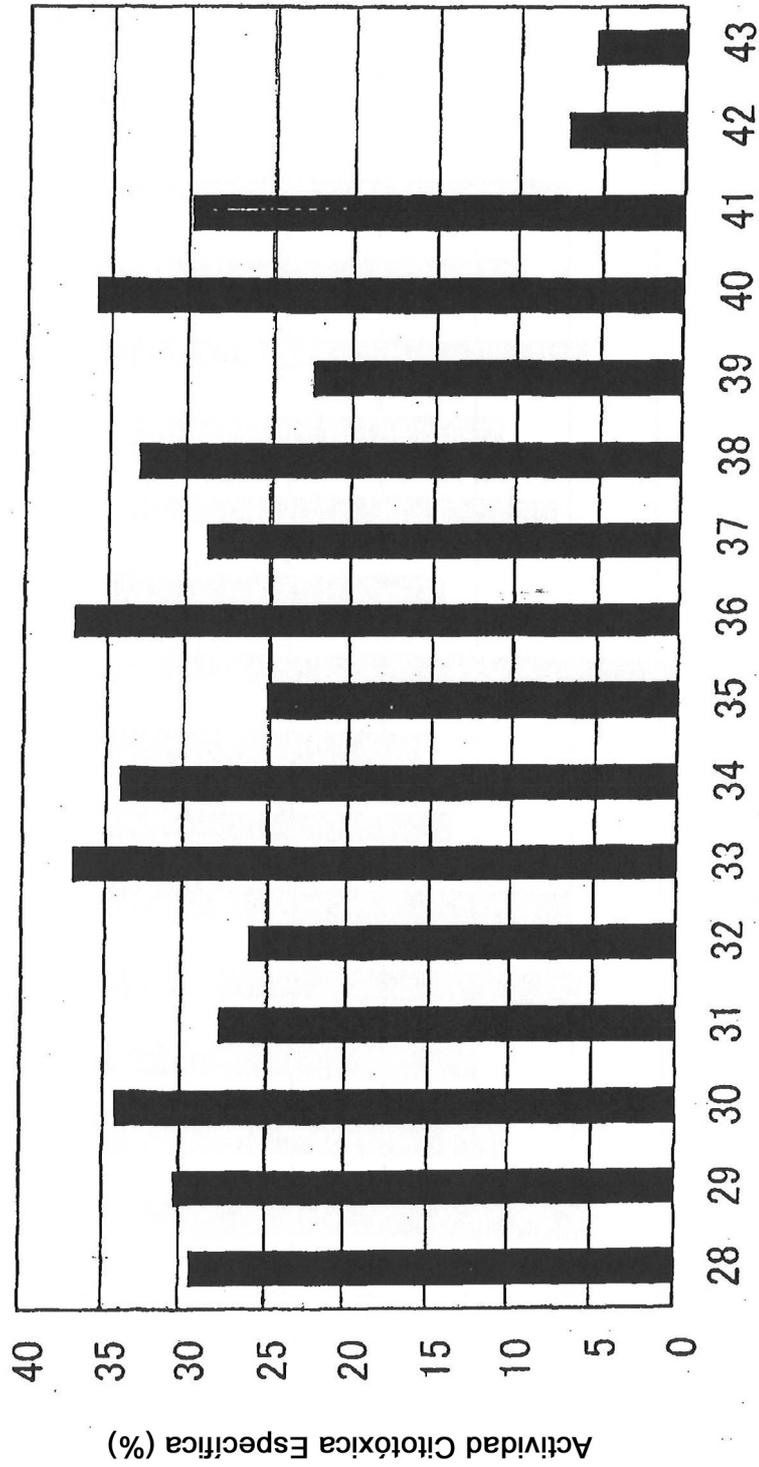


Fig.6

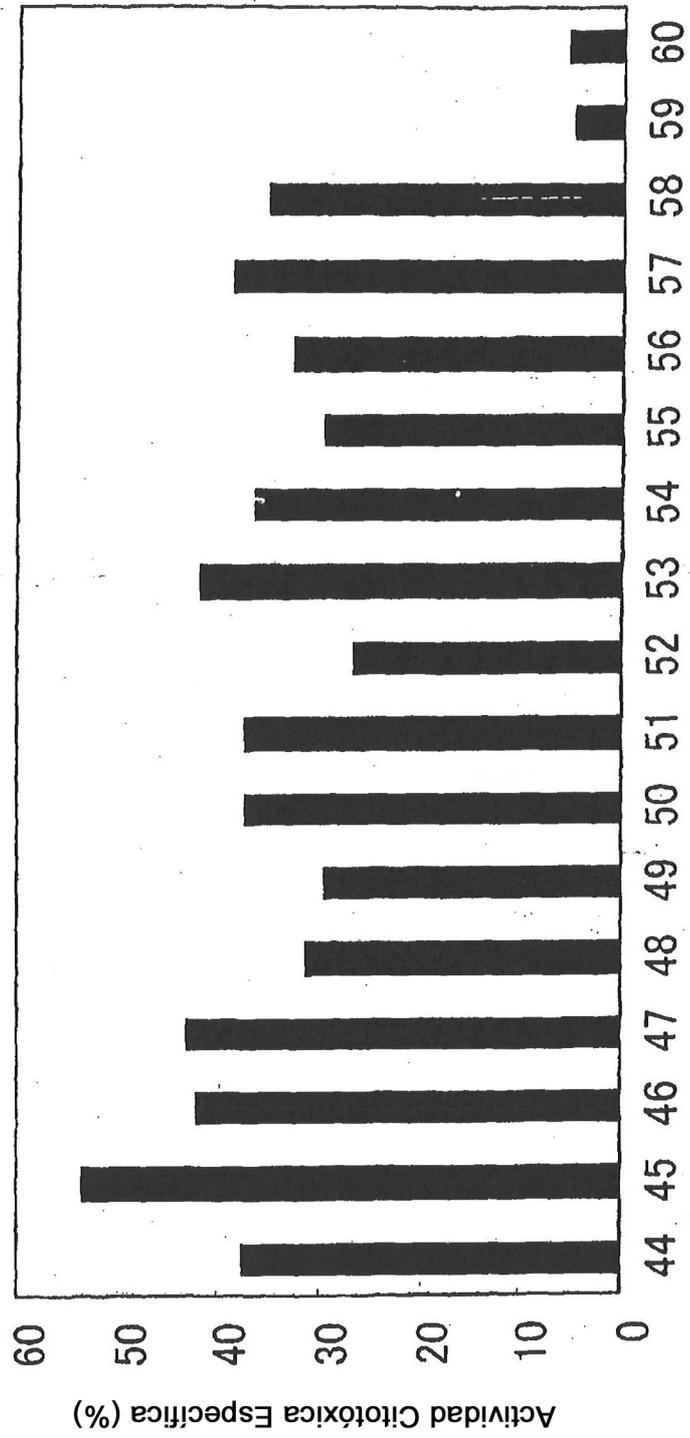


Fig.7