

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 535 437**

51 Int. Cl.:

A61K 31/454 (2006.01)

A61K 31/69 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 38/55 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.08.2007 E 07840746 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.01.2015 EP 2068874**

54 Título: **Métodos para tratar el mieloma múltiple utilizando terapias combinadas basadas en anticuerpos anti-CS1**

30 Prioridad:

07.08.2006 US 836185 P
15.06.2007 US 944262 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.05.2015

73 Titular/es:

ABBVIE BIOTHERAPEUTICS INC. (50.0%)
1500 Seaport Boulevard
Redwood City, CA 94063, US y
DANA-FARBER CANCER INSTITUTE, INC.
(50.0%)

72 Inventor/es:

AFAR, DANIEL;
ANDERSON, KENNETH, C. y
TAI, YU-TZU

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

Observaciones :

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

ES 2 535 437 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

Métodos para tratar el mieloma múltiple utilizando terapias combinadas basadas en anticuerpos anti-CS1

1. Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

5 Esta solicitud reivindica el beneficio bajo 35 USC § 119(e) para las solicitudes con el Núm. de serie. 60/836. 185, presentada el 7 de Agosto de 2006 y 60/944. 262, presentada el 15 de Junio de 2007.

2. Antecedentes

10 El mieloma múltiple ("MM") representa una proliferación maligna de células plasmáticas derivadas de un único clon. Los términos mieloma múltiple y mieloma se utilizan indistintamente para referirse a la misma afección. El tumor por mieloma, sus productos, y la respuesta del anfitrión al mismo dan como resultado diversas disfunciones de órganos y síntomas de dolor o fractura de huesos, insuficiencia renal, susceptibilidad a infecciones, anemia, hipocalcemia, y ocasionalmente anomalías de coagulación, síntomas neurológicos y manifestaciones vasculares de hiperviscosidad. Véase D. Longo, en Harrison's Principles of Internal Medicine 14^a edición, página 713 (McGraw-Hill, Nueva York, 1998). En la actualidad no existe un tratamiento eficaz a largo plazo para el MM. Es una enfermedad maligna de las células plasmáticas, que se manifiesta como hiperproteinemia, anemia, disfunción renal, lesiones óseas, e inmunodeficiencia. El MM es difícil de diagnosticar temprano debido a que puede no haber síntomas en la fase temprana. La enfermedad tiene un curso progresivo con una duración media de supervivencia de seis meses, cuando no se administra ningún tratamiento. La quimioterapia sistémica es el tratamiento principal, y la media actual de supervivencia con quimioterapia es de aproximadamente de tres años, sin embargo menos de 5% viven más de 10 años (Véase Anderson, K. et al., *Annual Meeting Report 1999. Recent Advances in the Biology and Treatment of Multiple Myeloma (1999)*).

15 Si bien se considera que el mieloma múltiple es una enfermedad sensible a los fármacos, casi todos los pacientes con MM que inicialmente responden a la quimioterapia, finalmente, recaen (Véase Anderson, K. et al., *Annual Meeting Report 1999: Recent Advances in the Biology and Treatment of Multiple Myeloma (1999)*). Desde la introducción de la terapia con melfalán y prednisona para el MM, se han sometido a ensayo numerosas quimioterapias con múltiples fármacos incluyendo alcaloides de vinca, antraciclinas, y tratamiento a base de nitrosourea (Véase Case, D C et al., (1977) *Am. J. Med* 63:897 903), pero ha habido pocas mejoras en el resultado en las últimas tres décadas (Véase Case, D C et al., (1977) *Am. J. Med* 63: 897 903; Otsuki, T. et al., (2000) *Cancer Res.* 60:1). Son necesarios nuevos métodos de tratamiento, tales como terapias combinadas que utilizan anticuerpos monoclonales y agentes terapéuticos.

30 3. Compendio

35 La presente invención proporciona el uso de HuLuc63 en la preparación de un primer medicamento, siendo dicho HuLuc63 un anticuerpo IgG₁ humanizado que tiene una región variable de cadena pesada que corresponde al SEQ ID NO: 5 y una región variable de cadena ligera que corresponde al SEQ ID NO: 6, y el uso de lenalidomida en la preparación de un segundo medicamento, dichos medicamentos para su uso en el tratamiento del mieloma múltiple, en donde el primer medicamento se administra simultáneamente, antes o después de la administración del segundo medicamento. La presente invención también proporciona HuLuc63, siendo dicho HuLuc63 un anticuerpo IgG₁ humanizado que tiene una región variable de cadena pesada que corresponde al SEQ ID NO: 5 y una región variable de cadena ligera que corresponde al SEQ ID NO: 6, para uso en el tratamiento del mieloma múltiple, en donde la lenalidomida se va a administrar simultáneamente, antes o después de la administración de HuLuc63.

40 Se describen en la presente memoria composiciones y métodos útiles para explotar las propiedades antitumorales de los anticuerpos anti-CS1. Los anticuerpos anti-CS1 que se pueden utilizar en los métodos y composiciones se describen en las Publicaciones de Patente de los Estados Unidos Núms. 2005/0025763 y 2006/0024296. Los anticuerpos anti-CS1 se dirigen a CS1 (CD2-subgrupo I), que también se conoce como SLAMF7, CRACC, 19A, APEX-1, y FOAP12 (número de acceso Genbank NM_021181.3). CS1, es una glicoproteína que es altamente expresada en muestras de médula ósea de pacientes a los que se ha diagnosticado MM. En estudios tanto *in vitro* como *in vivo*, los anticuerpos anti-CS1 muestran una actividad anti-mieloma significativa (Véanse, *p. ej.*, las Publicaciones de Patente de los Estados Unidos Núms. 2005/0025763 y 2006/0024296). A modo de ejemplo, pero no de limitación, el anticuerpo anti-CS1, HuLuc63 media eficazmente la lisis de las células de mieloma a través de la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) (Véase, *p. ej.*, la Publicación de Patente de los Estados Unidos Núm. 2005/0025763). En un modelo de tumor de mieloma de ratón, el tratamiento con HuLuc63 redujo significativamente la masa tumoral en más de 50% (Véase, *p. ej.*, la Publicación de Patente de los Estados Unidos Núm. 2005/0025763).

55 La presente descripción se refiere a composiciones y métodos para el tratamiento de pacientes con diagnóstico de gammopatía monoclonal de significado incierto (GMSI), mieloma latente, MM asintomático, y MM sintomático, que oscilan entre recién diagnosticados y con recaída/refractarios en la fase tardía. En particular, los métodos descritos en la presente memoria se refieren a la administración de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-CS1, tal como HuLuc63, combinado con uno o más agentes terapéuticos. El anticuerpo anti-CS1 se administra típicamente en una primera composición farmacéutica en forma de infusión intravenosa a dosis que

oscilan de 0,5 a 20 mg/kg, de una vez a la semana a una vez al mes.

Una segunda composición farmacéutica que comprende uno o más agentes terapéuticos, tales como bortezomib y lenalidomida, se puede administrar simultáneamente, antes o después de la administración de un anticuerpo anti-CS1. Dependiendo del agente, la composición se puede administrar por vía oral, intravenosa o subcutánea. Los agentes terapéuticos se pueden utilizar a altas tasas de dosis, a tasas de dosis convencionales y a tasas de dosis reducidas.

En algunos casos, la administración de las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria aumenta la sensibilidad de las células de mieloma múltiple a un agente terapéutico. A modo de ejemplo, pero no de limitación, la inclusión de un anticuerpo anti-CS1 puede intensificar la actividad del agente terapéutico, de manera que se pueden utilizar dosis más bajas en las composiciones y métodos descritos en el presente memoria.

En algunos casos, la administración de las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria logra al menos una de las respuestas beneficiosas definidas por el Grupo Europeo para el Trasplante de Sangre y Médula Ósea (EBMT). Por ejemplo, la administración de las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria puede dar como resultado una respuesta completa, respuesta parcial, respuesta mínima, ningún cambio, o meseta.

4. Breve descripción de las figuras

Las FIGS. 1A-1C representan la lisis mediada por ADCC autóloga de las células de MM tratadas con HuLuc63;

Las FIGS. 2A-2B representan la ADCC inducida por HuLuc63 contra células tumorales de pacientes resistentes a Hsp90 y bortezomib;

Las FIGS. 3A-3B representan la potenciación de la ADCC inducida por HuLuc63 contra células MM cuando las células efectoras se trataron previamente con lenalidomida;

Las FIGS. 4A-4D representan el efecto del pre-tratamiento con bortezomib sobre la ADCC mediada por HuLuc63 in vitro. Se muestran ejemplos de 4 donantes diferentes; y,

Las FIGS. 5A-5B representan el efecto de HuLuc63 y bortezomib en ratones portadores de tumores OPM2.

5. Descripción detallada

Las composiciones descritas en la presente memoria combinan anticuerpos anti-CS1 con uno o más agentes terapéuticos a dosis específicas para potenciar o complementar las actividades anti-mieloma del otro. Los ejemplos de los anticuerpos anti-CS1 adecuados incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos aislados que se unen a una o más de las tres agrupaciones de epítopos identificadas en CS1 y anticuerpos monoclonales producidos por las líneas celulares de hibridoma: Luc2, Luc3, Luc15, Luc22, Luc23, Luc29, Luc32, Luc34, Luc35, Luc37, Luc38, Luc39, Luc56, Luc60, Luc63, Luc69, LucX.1, LucX.2 o Luc90. Estos anticuerpos monoclonales son nombrados como los anticuerpos: Luc2, Luc3, Luc15, Luc22, Luc23, Luc29, Luc32, Luc34, Luc35, Luc37, Luc38, Luc39, Luc56, Luc60, Luc63, Luc69, LucX y Luc90, respectivamente, de aquí en adelante. Las versiones humanizadas se indican mediante el prefijo "hu" (véanse, *p. ej.*, las Publicaciones de Patente de los Estados Unidos Núms. 2005/0025763 y 2006/0024296).

En algunos casos, los anticuerpos anti-CS1 adecuados incluyen anticuerpos aislados que se unen a una o más de las tres agrupaciones de epítopos identificadas en CS1 (SEQ ID NO: 1, Tabla 1 de más abajo; véase, *p. ej.*, la Publicación de Patente de los Estados Unidos Núm. 2006/0024296). Como se describe en La Publicación de Patente de los Estados Unidos Núm. 2006/0024296 y se muestra a continuación en la Tabla 1, los sitios de unión del anticuerpo CS1 se han agrupado en 3 agrupaciones de epítopos:

(1) el epítipo definido por Luc90, que se une a hu50/Mu50 (SEQ ID NO: 2). Este epítipo abarca desde aproximadamente el residuo de aminoácido 23 hasta aproximadamente el residuo de aminoácido 151 de CS1 humana. Este epítipo reside dentro del dominio 1 (dominio V) del dominio extracelular. Este epítipo también es reconocido por Luc34, LucX (incluyendo LucX.1 y LucX.2) y Luc69.

(2) el epítipo definido por Luc38, que se une a mu25/hu75 (SEQ ID NO: 3) y hu50/Mu50 (SEQ ID NO: 81). Este epítipo abarca probablemente desde aproximadamente el residuo de aminoácido 68 hasta aproximadamente el residuo de aminoácido 151 de CS1 humana. Este epítipo también es reconocido por Luc5.

(3) el epítipo definido por Luc 63, que se une a mu75/hu25 (SEQ ID NO: 4). Este epítipo abarca desde aproximadamente el residuo de aminoácido 170 hasta aproximadamente el residuo de aminoácido 227 de CS1 humana. Este epítipo se reside dentro del dominio 2 (dominio C2) de CS1 humana. Este epítipo también es reconocido por Luc4, Luc12, Luc23, Luc29, Luc32 y Luc37.

Los métodos y las composiciones farmacéuticas se abordan con más detalle a continuación, pero típicamente incluyen al menos un anticuerpo anti-CS1 como se ha descrito anteriormente. En algunos casos, las composiciones

farmacéuticas incluyen el anticuerpo anti-CS1 HuLuc63. HuLuc63 es un anticuerpo IgG1 monoclonal recombinante humanizado dirigido a CS1 humana. La secuencia de aminoácidos para la región variable de cadena pesada (SEQ ID NO: 5) y la región variable de cadena ligera (SEQ ID NO: 6) para HuLuc63 se describen en la Publicación de Patente de los Estados Unidos Núm. 2005/0025763 y en la Tabla 1.

5

Tabla 1

SEQ ID NO:	Secuencia de Aminoácidos
SEQ ID NO: 1	<p>Met Ala Gly Ser Pro Thr Cys Leu Thr Leu Ile Tyr Ile Leu Trp Gln Leu Thr Gly Ser Ala Ala Ser Gly Pro Val Lys Glu Leu Val Gly Ser Val Gly Gly Ala Val Thr Phe Pro Leu Lys Ser Lys Val Lys Gln Val Asp Ser Ile Val Trp Thr Phe Asn Thr Thr Pro Leu Val Thr Ile Gln Pro Glu Gly Gly Thr Ile Ile Val Thr Gln Asn Arg Asn Arg Glu Arg Val Asp Phe Pro Asp Gly Gly Tyr Ser Leu Lys Leu Ser Lys Leu Lys Lys Asn Asp Ser Gly Ile Tyr Tyr Val Gly Ile Tyr Ser Ser Ser Leu Gln Gln Pro Ser Thr Gln Glu Tyr Val Leu His Val Tyr Glu His Leu Ser Lys Pro Lys Val Thr Met Gly Leu Gln Ser Asn Lys Asn Gly Thr Cys Val Thr Asn Leu Thr Cys Cys Met Glu His Gly Glu Glu Asp Val Ile Tyr Thr Trp Lys Ala Leu Gly Gln Ala Ala Asn Glu Ser His Asn Gly Ser Ile Leu Pro Ile Ser Trp Arg Trp Gly Glu Ser Asp Met Thr Phe Ile Cys Val Ala Arg Asn Pro Val Ser Arg Asn Phe Ser Ser Pro Ile Leu Ala Arg Lys Leu Cys Glu Gly Ala Ala Asp Asp Pro Asp Ser Ser Met Val Leu Leu Cys Leu Leu Leu Val Pro Leu Leu Leu Ser Leu Phe Val Leu Gly Leu Phe Leu Trp Phe Leu Lys Arg Glu Arg Gln Glu Glu Tyr Ile Glu Glu Lys Lys Arg Val Asp Ile Cys Arg Glu Thr Pro Asn Ile Cys Pro His Ser Gly Glu Asn Thr Glu Tyr Asp Thr Ile Pro His Thr Asn Arg Thr Ile Leu Lys Glu Asp Pro Ala Asn Thr Val Tyr Ser Thr Val Glu Ile Pro Lys Lys Met Glu Asn Pro His Ser Leu Leu Thr Met Pro Asp Thr Pro Arg Leu Phe Ala Tyr Glu Asn Val Ile</p>
SEQ ID NO: 2	<p>Met Ala Gly Ser Pro Thr Cys Leu Thr Leu Ile Tyr Ile Leu Trp Gln Leu Thr Gly Ser Ala Ala Ser Gly Pro Val Lys Glu Leu Val Gly Ser Val Gly Gly Ala Val Thr Phe Pro Leu Lys Ser Lys Val Lys Gln Val Asp Ser Ile</p>

SEQ ID NO:	Secuencia de Aminoácidos
	<p>Val Trp Thr Phe Asn Thr Thr Pro Leu Val Thr Ile Gln Pro Glu Gly Gly Thr Ile Ile Val Thr Gln Asn Arg Asn Arg Glu Arg Val Asp Phe Pro Asp Gly Gly Tyr Ser Leu Lys Leu Ser Lys Leu Lys Lys Asn Asp Ser Gly Ile Tyr Tyr Val Gly Ile Tyr Ser Ser Ser Leu Gln Gln Pro Ser Thr Gln Glu Tyr Val Leu His Val Tyr Glu His Leu Ser Lys Pro Lys Val Thr Ile Asp Arg Gln Ser Asn Lys Asn Gly Thr Cys Val Ile Asn Leu Thr Cys Ser Thr Asp Gln Asp Gly Glu Asn Val Thr Tyr Ser Trp Lys Ala Val Gly Gln Gly Asp Asn Gln Phe His Asp Gly Ala Thr Leu Ser Ile Ala Trp Arg Ser Gly Glu Lys Asp Gln Ala Leu Thr Cys Met Ala Arg Asn Pro Val Ser Asn Ser Phe Ser Thr Pro Val Phe Pro Gln Lys Leu Cys Glu Asp Ala Ala Thr Asp Leu Thr Ser Leu Arg Gly</p>
SEQ ID NO: 3	<p>Met Ala Arg Phe Ser Thr Tyr Ile Ile Phe Thr Ser Val Leu Cys Gln Leu Thr Val Thr Ala Ala Ser Gly Thr Leu Lys Lys Val Ala Gly Ala Leu Asp Gly Ser Val Thr Phe Thr Leu Asn Ile Thr Glu Ile Lys Val Asp Tyr Val Val Trp Thr Phe Asn Thr Phe Phe Leu Ala Met Val Lys Lys Asp Gly Gly Thr Ile Ile Val Thr Gln Asn Arg Asn Arg Glu Arg Val Asp Phe Pro Asp Gly Gly Tyr Ser Leu Lys Leu Ser Lys Leu Lys Lys Asn Asp Ser Gly Ile Tyr Tyr Val Gly Ile Tyr Ser Ser Ser Leu Gln Gln Pro Ser Thr Gln Glu Tyr Val Leu His Val Tyr Glu His Leu Ser Lys Pro Lys Val Thr Met Gly Leu Gln Ser Asn Lys Asn Gly Thr Cys Val Thr Asn Leu Thr Cys Cys Met Glu His Gly Glu Glu Asp Val Ile Tyr Thr Trp Lys Ala Leu Gly Gln Ala Ala Asn Glu Ser His Asn Gly Ser Ile Leu Pro Ile Ser Trp Arg Trp Gly Glu Ser Asp Met Thr Phe Ile Cys Val Ala Arg Asn Pro Val Ser Arg Asn Phe Ser Ser Pro Ile Leu Ala Arg Lys Leu Cys Glu Gly Ala Ala Asp Asp Pro Asp Ser Ser Met Val</p>
SEQ ID NO: 4	<p>Met Ala Arg Phe Ser Thr Tyr Ile Ile Phe Thr Ser Val Leu Cys Gln Leu Thr Val Thr Ala Ala Ser Gly Thr Leu Lys Lys Val Ala Gly Ala Leu Asp Gly Ser Val Thr Phe Thr Leu Asn Ile Thr Glu Ile Lys Val Asp Tyr Val</p>

SEQ ID NO:	Secuencia de Aminoácidos
	<p>Val Trp Thr Phe Asn Thr Phe Phe Leu Ala Met Val Lys Lys Asp Gly Val Thr Ser Gln Ser Ser Asn Lys Glu Arg Ile Val Phe Pro Asp Gly Leu Tyr Ser Met Lys Leu Ser Gln Leu Lys Lys Asn Asp Ser Gly Ala Tyr Arg Ala Glu Ile Tyr Ser Thr Ser Ser Gln Ala Ser Leu Ile Gln Glu Tyr Val Leu His Val Tyr Lys His Leu Ser Arg Pro Lys Val Thr Ile Asp Arg Gln Ser Asn Lys Asn Gly Thr Cys Val Ile Asn Leu Thr Cys Ser Thr Asp Gln Asp Gly Glu Asn Val Thr Tyr Ser Trp Lys Ala Val Gly Gln Ala Ala Asn Glu Ser His Asn Gly Ser Ile Leu Pro Ile Ser Trp Arg Trp Gly Glu Ser Asp Met Thr Phe Ile Cys Val Ala Arg Asn Pro Val Ser Arg Asn Phe Ser Ser Pro Ile Leu Ala Arg Lys Leu Cys Glu Gly Ala Ala Asp Asp Pro Asp Ser Ser Met Val</p>
SEQ ID NO: 5	<p>Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Ala Pro Ser Leu Lys Asp Lys Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Pro Asp Gly Asn Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser</p>
SEQ ID NO: 6	<p>Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Ile Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys</p>

5 A algunas dosis, se observan efectos aditivos; a otras dosis, se observan efectos sinérgicos. En algunas realizaciones, el efecto sinérgico permite administrar uno o más agentes terapéuticos combinados con el anticuerpo anti-CS1 a una dosis reducida, al tiempo que conserva la eficacia. Dado que los efectos secundarios asociados con el uso de estos agentes son dependientes de la dosis, el uso de las composiciones y métodos descritos en la presente memoria puede reducir los efectos secundarios perjudiciales observados en los regímenes de tratamiento convencionales y novedosos utilizados para tratar el MM cuando estos agentes se administran a sus dosis recomendadas.

En otras realizaciones, el efecto sinérgico permite administrar uno o más agentes terapéuticos combinados con el

anticuerpo anti-CS1 a la dosis aprobada, pero con una eficacia mayor que la esperada.

Las composiciones se pueden administrar para el tratamiento de la gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI), el mieloma latente, el MM asintomático, y el MM sintomático, que oscilan entre recién diagnosticados y con recaída/refractarios en la fase tardía. Típicamente, la administración de las composiciones da como resultado una reducción de la proteína M en el suero o la orina de manera que se observa una meseta, ningún cambio, una respuesta mínima, parcial o completa como define el Grupo Europeo de Trasplante de Sangre y Médula Ósea (EBMT).

5.2 Composiciones farmacéuticas

Se proporcionan en la presente memoria composiciones farmacéuticas que son beneficiosas en la reducción de la masa tumoral y/o regresión de crecimiento del tumor, en pacientes con diagnóstico de mieloma múltiple. Los componentes de las composiciones farmacéuticas se abordan con más detalle a continuación, pero típicamente incluyen el anticuerpo anti-CS1, HuLuc63, lenalidomida y uno o más agentes terapéuticos. En algunas realizaciones, los diversos componentes de las composiciones se proporcionan por separado. Por ejemplo, el anticuerpo anti-CS1 se puede proporcionar en una primera composición farmacéutica, y un proporcionar agente terapéutico en una segunda composición. Cuando la composición comprende dos o más agentes terapéuticos, el anticuerpo anti-CS1 se puede proporcionar en una primera composición farmacéutica, se puede proporcionar un agente terapéutico en una segunda composición y se puede proporcionar el otro agente terapéutico en una tercera composición. En otras realizaciones, el anticuerpo anti-CS1 se puede proporcionar en una composición farmacéutica y los agentes terapéuticos se pueden combinar y proporcionar en una segunda composición farmacéutica. En otras realizaciones adicionales, se puede proporcionar una composición, que comprende el anticuerpo anti-CS1 combinado con uno o más agentes terapéuticos.

En realizaciones típicas, el anticuerpo anti-CS1 está presente en una composición farmacéutica a una concentración suficiente para permitir la administración intravenosa de 0,5 mg/kg a 20 mg/kg. En algunas realizaciones, la concentración de HuLuc63 adecuada para su uso en las composiciones y métodos descritos en la presente memoria incluye, pero no se limita a, al menos aproximadamente 0,5 mg/kg, al menos aproximadamente 0,75 mg/kg, al menos aproximadamente 1 mg/kg, al menos aproximadamente 2 mg/kg, al menos aproximadamente 2,5 mg/kg, al menos aproximadamente 3 mg/kg, al menos aproximadamente 4 mg/kg, al menos aproximadamente 5 mg/kg, al menos aproximadamente 6 mg/kg, al menos alrededor de 7 mg/kg, al menos aproximadamente 8 mg/kg, al menos aproximadamente 9 mg/kg, al menos aproximadamente 10 mg/kg, al menos aproximadamente 11 mg/kg, al menos aproximadamente 12 mg/kg, al menos aproximadamente 13 mg/kg, al menos aproximadamente 14 mg/kg, al menos aproximadamente 15 mg/kg, al menos aproximadamente 16 mg/kg, al menos aproximadamente 17 mg/kg, al menos aproximadamente 18 mg/kg, al menos aproximadamente 19 mg/kg, y al menos aproximadamente 20 mg/kg.

Los anticuerpos anti-CS1 se pueden administrar en regímenes de dosificaciones únicas o múltiples. Generalmente, un anticuerpo anti-CS1 se administra durante un período de tiempo de aproximadamente 1 a aproximadamente 24 horas, pero se administra típicamente durante un período de aproximadamente 1 a 2 horas. Las dosificaciones se pueden repetir de aproximadamente 1 a aproximadamente 4 semanas o más, durante un total de 4 o más dosis. Típicamente, las dosificaciones se repiten una vez a la semana, una vez cada dos semanas, o una vez al mes, durante un mínimo de 4 dosis a un máximo de 52 dosis.

La determinación de la dosificación eficaz, el número total de dosis y la duración del tratamiento con el anticuerpo anti-CS1 está bien dentro de las capacidades de los expertos en la técnica, y se puede determinar por medio de un estudio de aumento de la dosis convencional para identificar la dosis máxima tolerada (DMT) (véase, *p. ej.*, Richardson et al, 2002, Blood, 100(9): 3063-3067).

En algunas realizaciones, se administran uno o más agentes terapéuticos combinados con el anticuerpo anti-CS1. Los agentes se pueden administrar simultáneamente, antes o después de la administración del anticuerpo anti-CS1.

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CS1 se administra antes de la administración de los agentes terapéuticos. Por ejemplo, el anticuerpo anti-CS1 se puede administrar aproximadamente de 0 a 60 días antes de la administración de los agentes terapéuticos. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CS1, HuLuc63, se administra de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 1 hora antes de la administración de los agentes terapéuticos, o de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 2 horas antes de la administración de los agentes terapéuticos, o de aproximadamente 2 horas a aproximadamente 4 horas antes de la administración de los agentes terapéuticos, o de aproximadamente 4 horas a aproximadamente 6 horas antes de la administración de los agentes terapéuticos, o de aproximadamente 6 horas a aproximadamente 8 horas antes de la administración de los agentes terapéuticos, o de aproximadamente 8 horas a aproximadamente 16 horas antes de la administración de los agentes terapéuticos, o de aproximadamente 16 horas a 1 día antes de la administración de los agentes terapéuticos, o de aproximadamente 1 a 5 días antes de la administración de los agentes terapéuticos, o de aproximadamente 5 a 10 días antes de la administración de los agentes terapéuticos, o de aproximadamente 10 a 15 días antes de la administración de los agentes terapéuticos, o de aproximadamente 15 a 20 días antes de la administración de los agentes terapéuticos, o de aproximadamente 20 a 30 días antes de la administración de los agentes terapéuticos, o de aproximadamente 30 a 40 días antes de la administración de los agentes terapéuticos, y de aproximadamente 40

a 50 días antes de la administración de los agentes terapéuticos, o de aproximadamente 50 a 60 días antes de la administración de los agentes terapéuticos.

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CS1 se administra simultáneamente con la administración de los agentes terapéuticos.

- 5 En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CS1 se administra después de la administración de los agentes terapéuticos. Por ejemplo, el anticuerpo anti-CS1, HuLuc63, se puede administrar aproximadamente de 0 a 60 días después de la administración de los agentes terapéuticos. En algunas realizaciones, HuLuc63 se administra de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 1 hora después de la administración de los agentes terapéuticos, o de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 2 horas después de la administración de los agentes terapéuticos, o de aproximadamente 2 horas a aproximadamente 4 horas después de la administración de los agentes terapéuticos, o de aproximadamente 4 horas a aproximadamente 6 horas después de la administración de los agentes terapéuticos, o de aproximadamente 6 horas a aproximadamente 8 horas después de la administración de los agentes terapéuticos, o de aproximadamente 8 horas a aproximadamente 16 horas después de la administración de los agentes terapéuticos, o de aproximadamente 16 horas a 1 día después de la administración de los agentes terapéuticos, o de aproximadamente 1 a 5 días después de la administración de los agentes terapéuticos, o de aproximadamente 5 a 10 días tras la administración de los agentes terapéuticos, o de aproximadamente 10 a 15 días después de la administración de los agentes terapéuticos, o de aproximadamente 15 a 20 días después de la administración de los agentes terapéuticos, o desde aproximadamente 30 a 40 días después de la administración de los agentes terapéuticos, y de aproximadamente 40 a 50 días después de la administración de los agentes terapéuticos, o de aproximadamente 50 a 60 días después de la administración de los agentes terapéuticos.

Los agentes terapéuticos se pueden administrar de cualquier manera que se considere apropiada por un médico clínico y se proporcionan típicamente a intervalos de dosificación eficaces generalmente aceptados, tales como los descritos en el Physician Desc Reference, 56^a ed. (2002), Publisher Medical Economics, Nueva Jersey. En otras realizaciones, se puede realizar un aumento de la dosis convencional para identificar la dosis máxima tolerada (DMT) (véase, p. ej., Richardson, et al. 2002, Blood, 100(9): 3063-3067).

En algunas realizaciones, se pueden utilizar dosis menores que la dosis eficaz generalmente aceptada de un agente terapéutico. Por ejemplo, en diversas realizaciones, la composición comprende una dosificación que es menor de aproximadamente 10% a 75% del intervalo de dosis eficaz generalmente aceptado. En algunas realizaciones, se utiliza al menos aproximadamente 10% o menos del intervalo de dosis eficaz generalmente aceptado, al menos aproximadamente 15% o menos, al menos aproximadamente 25%, al menos aproximadamente 30% o menos, al menos aproximadamente 40% o menos, al menos aproximadamente 50% o menos, al menos aproximadamente 60% o menos, al menos aproximadamente 75% o menos, y al menos aproximadamente 90%.

Los agentes terapéuticos se pueden administrar por separado o secuencialmente, o en un cóctel con otros agentes terapéuticos, como se describe a continuación. Los agentes terapéuticos se pueden administrar por vía oral, por vía intravenosa, sistémicamente mediante inyección intramuscular, subcutánea, intratecal o intraperitoneal.

Los ejemplos de los agentes terapéuticos que se pueden utilizar en las composiciones descritas en la presente memoria incluyen, pero no se limitan a, dexametasona, talidomida, melfalán, prednisona, doxorubicina, inyección de doxorubicina·HCl con liposomas, bortezomib, lenalidomida, y/o combinaciones de los mismos.

40 Por consiguiente, en algunas realizaciones, se proporcionan dos composiciones farmacéuticas: una primera que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo anti-CS1, HuLuc63, y una segunda que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de lenalidomida.

Se describen dos composiciones farmacéuticas: una primera que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-CS1, tal como HuLuc63, y una segunda que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de bortezomib.

En algunas realizaciones, se proporcionan al menos dos composiciones farmacéuticas: una primera que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo anti-CS1, HuLuc63, y una segunda que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de lenalidomida y dexametasona.. En algunas realizaciones, la lenalidomida y la dexametasona se proporcionan por separado, de manera que se proporcionan un total de tres composiciones farmacéuticas: una primera que comprende el anticuerpo anti-CS1, HuLuc63, una segunda que comprende lenalidomida, y una tercera que comprende dexametasona.

Se describen al menos dos composiciones farmacéuticas: una primera que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-CS1, tal como HuLuc63 y una segunda que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de bortezomib y dexametasona. El bortezomib y la dexametasona se pueden proporcionar por separado, de tal manera que se proporcionan un total de tres composiciones farmacéuticas: una primera que comprende un anticuerpo anti-CS1, tal como HuLuc63, una segunda que comprende bortezomib, y una tercera que comprende dexametasona.

En algunas realizaciones, se proporcionan al menos dos composiciones farmacéuticas: una primera que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo anti-CS1, HuLuc63, y una segunda que comprende cantidad terapéuticamente eficaz de lenalidomida, bortezomib y dexametasona. En algunas realizaciones, la lenalidomida, el bortezomib y la dexametasona se proporcionan por separado. Siempre que los agentes mantengan su eficacia, se pueden preparar composiciones que comprenden otras combinaciones, dependiendo en parte, de la dosis, ruta de administración, y de si los agentes se proporcionan en una forma sólida, semi-sólida o líquida. Por ejemplo, se pueden preparar un total de tres composiciones: una primera que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-CS1, tal como HuLuc63, una segunda que comprende dexametasona, y una tercera que comprende lenalidomida y bortezomib.

Se describen al menos dos composiciones farmacéuticas: una primera que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-CS1, tal como HuLuc63, y una segunda que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de bortezomib y opcionalmente puede comprender uno o más de los siguientes agentes: talidomida, dexametasona, melfalán, doxorubicina, inyección de doxorubicina-HCl con liposomas, y/o prednisona. Siempre que los agentes mantengan su eficacia, se pueden preparar composiciones que comprenden diversas combinaciones de talidomida, dexametasona, melfalán, doxorubicina, inyección de doxorubicina-HCl liposomas, y prednisona dependiendo en parte, de la dosificación, de la ruta de administración, y de si los agentes se proporcionan en una forma sólida, semisólida o líquida.

Las composiciones farmacéuticas pueden existir en una forma de dosificación sólida, semi-sólida o líquida (*p. ej.*, suspensiones o aerosoles). Típicamente, las composiciones se administran en formas de dosificación unitarias adecuadas para la administración única de cantidades de dosificación precisas. Por ejemplo, los anticuerpos anti-CS1 se pueden envasar en dosificaciones que varían de aproximadamente 1 a 1000 mg. En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-CS1 se pueden envasar en una dosificación de al menos aproximadamente 1 mg, al menos aproximadamente 10 mg, al menos aproximadamente 20 mg, al menos aproximadamente 50 mg, al menos aproximadamente 100 mg, al menos aproximadamente 200 mg, al menos aproximadamente 300 mg, al menos aproximadamente 400 mg, al menos aproximadamente 500 mg, al menos aproximadamente 750 mg, al menos aproximadamente 1000 mg.

Las composiciones también pueden incluir, dependiendo de la formulación deseada, portadores o diluyentes, no tóxicos farmacéuticamente aceptables, que se definen como vehículos comúnmente utilizados para formular composiciones farmacéuticas para la administración animal o humana. El diluyente se selecciona de manera que no afecte a la actividad biológica de la combinación. Los ejemplos de tales diluyentes son agua destilada, solución salina fisiológica, solución de Ringer, solución de dextrosa, y solución de Hank,.

Además, la composición o formulación farmacéutica también puede incluir otros portadores, coadyuvantes, o estabilizadores no inmunogénicos, no tóxicos, no terapéuticos, y similares. Las cantidades eficaces de tales diluyente o vehículo serán aquellas cantidades que son eficaces para obtener una formulación farmacéuticamente aceptable en términos de solubilidad de los componentes, o actividad biológica.

5.3 Métodos

Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria encuentran uso en el tratamiento del MM. Típicamente, las composiciones se pueden usar para tratar la gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI), el mieloma latente, el MM asintomático, y el MM sintomático, que oscilan entre recién diagnosticados y con recaída/refractarios en la fase tardía.

Las composiciones se pueden combinar con otras estrategias de tratamiento, es decir, trasplante autólogo de células madre y trasplante alogénico de células efectoras, para desarrollar una estrategia de tratamiento eficaz, basada en la fase del mieloma que se está tratando (véanse, *p. ej.*, Multiple Myeloma Research Foundation, Multiple Myeloma: Stem Cell Transplantation 1-30 (2004); Patentes de los Estados Unidos Núms. 6.143.292 y 5.928.639, Igarashi, et al. Blood 2004, 104(1): 170-177, Maloney, et al. 2003, Blood, 102(9): 3447-3454, Badros, et al. 2002, J Clin Oncol., 20:1295-1303, Tricot, et al. 1996, Blood, 87(3): 1196-1198).

El sistema de estadificación más ampliamente utilizado desde 1975 ha sido el sistema Durie-Salmon, en el que la fase clínica de la enfermedad (fase I, II, o III) se basa en cuatro mediciones (véase, *p. ej.*, Durie y Salmon, 1975, Cancer, 36:842-854). Estas cuatro mediciones son: (1) los niveles de proteína monoclonal (M) (también conocida como paraproteína) en el suero y/o la orina; (2) el número de lesiones óseas líticas; (3) los valores de hemoglobina; y, (4) los niveles de calcio en suero. Estas tres fases se pueden dividir adicionalmente de acuerdo con la función renal, que se clasifica como A (función renal relativamente normal, valor de creatinina sérica <2,0 mg/dl) y B (función renal anormal, valor de creatinina \geq 2,0 mg/dl). Una nueva alternativa, más simple, es el sistema de estadificación internacional (ISS) (véase, *p. ej.*, Greipp et al. 2003, "Development of an international prognostic index (IPI) for myeloma: report of international myeloma workin group", The Hematology). El ISS se basa en la evaluación de los resultados de dos análisis de sangre, beta₂microglobulina (β_2 -M) y albúmina, que separa a los pacientes en tres grupos de pronóstico, con independencia del tipo de terapia.

La administración de las composiciones farmacéuticas a los intervalos de dosificación y rutas seleccionados logra

típicamente una respuesta beneficiosa como define el Grupo Europeo de Trasplante de Sangre y Médula Ósea (EBMT). La Tabla 2 enumera los criterios del EBMT para la respuesta.

Tabla 2	
Criterios de Respuesta EBMT/IBMTR/ABMTR ¹	
Respuesta Completa	No se detecta proteína M en suero u orina mediante inmunofijación durante un mínimo de 6 semanas y menos de 5% de células plasmáticas en médula ósea
Respuesta Parcial	Reducción >50% del nivel de proteína M en suero y/o reducción de 90% de la excreción de cadena ligera libre en orina o reducción a <200 mg/24 horas durante 6 semanas ²
Respuesta Mínima	Reducción de 25-49% del nivel de proteína M en suero y/o reducción de 50-89% de la excreción de cadena ligera libre en orina que sigue siendo superior a 200 mg/24 horas durante 6 semanas ³
Ningún Cambio	No cumple con los criterios o respuesta mínima o enfermedad progresiva
Meseta	No hay evidencia de daño de órganos o tejidos relacionados con mieloma continuo, <25% de cambio en los niveles de proteína M y excreción de la cadena ligera durante 3 meses
Enfermedad Progresiva	Daño de órganos o tejidos relacionado con el mieloma que continúa a pesar de la terapia o su reaparición en fase de meseta, >25% de aumento del nivel de proteína M suero (>5 g/L) y/o >25% de aumento del nivel de proteína M en orina (>200 mg/24 hrs) y/o >25% de aumento de células plasmáticas en médula ósea (al menos 10% en términos absolutos) ²
Recaída	Reaparición de la enfermedad en pacientes previamente con respuesta completa, incluyendo la detección de paraproteína mediante inmunofijación

¹EBMT: Grupo Europeo para el Trasplante de Sangre y Médula Ósea; IBMTR: Registro Internacional de Trasplantes de Médula Ósea; ABMTR: Registro de Trasplantes Autólogo de Sangre y Médula Ósea.

²Para pacientes solamente con mieloma no secretor, se requiere la reducción de células plasmáticas en médula ósea >50% de número inicial (respuesta parcial) o 25-49% del número inicial (respuesta mínima).

³En el mieloma no secretor, las células plasmáticas en la médula ósea deben aumentar en >25% y al menos 10% en términos absolutos; El examen de RMI puede ser útil en pacientes seleccionados.

5 Otros criterios que se pueden utilizar para medir el resultado de un tratamiento incluyen "respuesta casi completa" y "respuesta parcial muy buena". Una "respuesta casi completa" se define como los criterios para una "respuesta completa" (CR), pero con un ensayo de inmunofijación positivo. Una "respuesta parcial muy buena" se define como una disminución superior a 90% de la proteína M (Véase, *p. ej.*, Múltiple Myeloma Research Foundation, Multiple Myeloma: Treatment Overview 9 (2005)).

10 El grado al cual la administración de las composiciones logra una respuesta en un individuo que manifiesta clínicamente al menos un síntoma asociado con el MM, depende en parte, de la gravedad de la enfermedad, *p. ej.*, Fase I, II o III, y en parte, de si el paciente está recién diagnosticado o tiene MM refractario en fase tardía. Por lo tanto, en algunas realizaciones, la administración de la composición farmacéutica logra una respuesta completa.

En otras realizaciones, la administración de la composición farmacéutica logra una respuesta parcial muy buena o una respuesta parcial.

15 En otras realizaciones, la administración de la composición farmacéutica logra una respuesta mínima,

En otras realizaciones, la administración de la composición farmacéutica impide que la enfermedad progrese, dando como resultado una respuesta clasificada como "sin cambios" o "meseta" por el EBMT.

20 Las rutas de administración y los intervalos de dosificación para las composiciones que comprenden un anticuerpo anti-CS1 y uno o más agentes terapéuticos para el tratamiento de los individuos diagnosticados de MM, se pueden determinar utilizando mecanismo convencionales en las técnicas, tales como un estudio de aumento de la dosis

convencional para identificar el DMT (véase, *p. ej.*, Richardson, et al. 2002, Blood, 100(9): 3063-3067).

Típicamente, los anticuerpos anti-CS1 se administran por vía intravenosa. La administración de los otros agentes terapéuticos descritos en la presente memoria puede ser mediante cualquier medio conocido en la técnica. Tales medios incluyen la administración oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual) o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa e intradérmica) y dependerán en parte, de la forma de dosificación disponible. Por ejemplo, los agentes terapéuticos que están disponibles en un formato de píldora o cápsula se administran típicamente por vía oral. Sin embargo, la administración oral requiere generalmente la administración de una dosis mayor que la administración intravenosa. La determinación de la ruta real de administración que es mejor en un caso concreto está bien dentro de las capacidades de los expertos en la técnica, y en parte, dependerá de la dosis necesaria frente al número de veces que se administre mensualmente que se requiera.

Los factores que afectan a la dosificación seleccionada de un anticuerpo anti-CS y los agentes terapéuticos utilizados en las composiciones y métodos descritos en la presente memoria, incluyen, pero no se limitan a, el tipo de agente, la edad, el peso y el estado clínico del paciente receptor, y la experiencia y el juicio del médico clínico o el profesional que administre la terapia. Generalmente, la dosificación seleccionada será suficiente para no producir cambios, pero preferiblemente da como resultado al menos un cambio mínimo. Una cantidad eficaz de un agente farmacéutico es la que proporciona una respuesta objetivamente identificable, *p. ej.*, mínima, parcial o completa, observada por el médico clínico u otro observador cualificado, y definida por el EBMT.

Generalmente, un se administra anticuerpo anti-CS1, tales como HuLuc63, en forma de una composición separada de la composición o composiciones que comprenden los agentes terapéuticos. Como se ha comentado anteriormente, los agentes terapéuticos se pueden administrar cada uno en forma de una composición separada, o combinados en un cóctel y administrados como una única composición combinada. En algunas realizaciones, las composiciones que comprenden un anticuerpo anti-CS1 y uno o más agentes terapéuticos se administran simultáneamente. En otras realizaciones, se puede administrar un anticuerpo anti-CS1 antes de la administración de la composición o composiciones que comprende el agente o los agentes terapéuticos. En otras realizaciones más, el anticuerpo anti-CS1 se administra después de la administración de la composición o composiciones que comprenden el agente o los agentes terapéuticos.

En las realizaciones en las que el anticuerpo anti-CS1 se administra antes o después de la administración de los agentes terapéuticos, la determinación de la duración entre la administración de un anticuerpo anti-CS1 y la administración de los agentes está dentro de las capacidades de los expertos en la técnica, y en parte, dependerá de la dosis necesaria frente al número de veces que se administre mensualmente que se requiera.

Las dosis de anticuerpos anti-CS1 utilizados en los métodos descritos en la presente memoria típicamente oscilarán entre 0,5 mg/kg y 20 mg/kg. Las dosis óptimas de los agentes terapéuticos son las dosis eficaces generalmente aceptadas, tales como las descritas Physician Desk Reference, 56^a ed. (2002), Publisher Medical Economics, Nueva Jersey. Las dosis óptimas para los agentes que no se describen en Physician Desk Reference se pueden determinar mediante un estudio de aumento de la dosis convencional para identificar el DMT (véase, *p. ej.*, Richardson, et al. 2002, Blood. 100(9): 3063-3067).

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CS1 está presente en una composición farmacéutica a una concentración, o a un porcentaje en peso/volumen, o a una cantidad en peso, adecuados para la administración intravenosa a una tasa de dosificación de al menos aproximadamente 0,5 mg/kg, al menos aproximadamente 0,75 mg/kg, al menos aproximadamente 1 mg/kg, al menos aproximadamente 2 mg/kg, al menos aproximadamente 2,5 mg/kg, al menos aproximadamente 3 mg/kg, al menos aproximadamente 4 mg/kg, al menos aproximadamente 5 mg/kg, al menos aproximadamente 6 mg/kg, al menos aproximadamente 7 mg/kg, al menos aproximadamente 8 mg/kg, al menos aproximadamente 9 mg/kg, al menos aproximadamente 10 mg/kg, al menos aproximadamente 11 mg/kg, al menos aproximadamente 12 mg/kg, al menos aproximadamente 13 mg/kg, al menos aproximadamente 14 mg/kg, al menos aproximadamente 15 mg/kg, al menos aproximadamente 16 mg/kg, al menos aproximadamente 17 mg/kg, al menos aproximadamente 18 mg/kg, al menos aproximadamente 19 mg/kg, y al menos aproximadamente 20 mg/kg.

6. Ejemplos

Ejemplo 1: HuLuc63 combinado con lenalidomida

La lenalidomida es el primero de una nueva clase de fármacos orales contra el cáncer denominados IMiD[®]. Estos derivados inmunomoduladores son químicamente similares a la talidomida pero son más potentes y tienen un perfil de efectos secundarios diferente del de la talidomida. Tienen múltiples mecanismos de acción que afectan tanto a la célula cancerosa como a su microentorno. Se ha demostrado que la lenalidomida induce respuestas inmunitarias, potencia la actividad de las células inmunitarias, e inhibe la inflamación. Por ejemplo, la lenalidomida puede potenciar la activación de las células T y las células NK, inducir la producción de interleuquina 2 e inhibir las citoquinas pro-inflamatorias tales como el factor de necrosis tumoral alfa y la interleuquina 1-beta. Actualmente la lenalidomida combinada con dexametasona está aprobada para tratamiento de 2^a línea del mieloma múltiple.

Análisis de ADCC in vitro: Métodos y Resultados

Se midió la ADCC mediante análisis de liberación de calceína-AM, con una sensibilidad similar al análisis de Cr^{51} tradicional, como se ha descrito previamente. Después de consentimiento informado, se aislaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) incluyendo células efectoras asesinas naturales (NK) a partir de productos de leucoféresis de donantes normales o sangre periférica de pacientes con MM. Se añadieron concentraciones crecientes (0-10 $\mu\text{g/ml}$) de HuLuc63 o de mAb IgG₁ de control de isotipo humano MSL109 a razones de efector:diana (E:D) de 20:1, en un volumen final de 200 μl por pocillo. En algunos experimentos; las células efectoras PBMC fueron pretratadas con lenalidomida durante 3 días a 0,2 μM antes de realizar los análisis de ADCC mediada por HuLuc63. Después de una incubación de 4h, se transfirieron 100 μl de sobrenadantes de cultivo a una placa Black ViewPlate™-96 y se leyeron las unidades de fluorescencia arbitrarias (UFA) en un fluorímetro (Wallac VICTOR2). Este análisis es válido solo si (liberación máxima media de UFA - liberación de control de medio)/(liberación espontánea media de UFA - liberación de control de medio) > 7. El cálculo del % de lisis específica a partir de experimentos por triplicado se realizó utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Lisis Específica} = 100 \times \frac{(\text{liberación experimental media de UFA} - \text{liberación espontánea media de UFA}^1)}{(\text{liberación máxima media de UFA}^2 - \text{liberación espontánea media de UFA})}$$

¹Liberación de calceína-AM por las células diana en ausencia de Ab o células NK.

²Liberación de calceína-AM por las células diana después de la lisis por detergente.

La lisis mediada por HuLuc63 de células MM de pacientes por células efectoras del mismo paciente se midió utilizando un análisis de ADCC. HuLuc63, pero no iso IgG₁, indujo la lisis significativa de células de mieloma autólogas en los pacientes en las muestras de pacientes (FIGS. 1A-1C). También se demostró la lisis de células tumorales autólogas mediada por HuLuc63 en pacientes con MM resistente o refractario a las terapias novedosas anti-MM incluyendo bortezomib y/o 17-AAG (que se dirige a la proteína de choque térmico 90) (FIGS. 2A y 2B). Estos datos sugieren que HuLuc63 se puede dirigir a las células de mieloma de pacientes que han sido diagnosticados recientemente, o resistentes a la norma de fármacos de atención y/o agentes novedosos.

La lisis mediada por HuLuc63 de células de mieloma de paciente por células efectoras PBMC del mismo paciente se midió utilizando un análisis ADCC. Se incubaron células tumorales purificadas para CD138 de un paciente con MM con células efectoras autólogas en presencia de diluciones seriadas de HuLuc63 (símbolos rellenos) o IgG₁ de control de isotipo (símbolos vacíos). Las células efectoras PBMC se incubaron previamente durante 3 días en presencia o ausencia de lenalidomida (0,2 mM) (símbolos cuadrados) o vehículo de control (símbolos circulares), seguido de ADCC mediada por HuLuc63. La ADCC mediada por HuLuc63, pero no iso IgG₁, indujo lisis significativa de células de mieloma autólogas en una muestra de paciente. La pre-incubación de las células efectoras PBMC con lenalidomida aumentó significativamente la actividad ADCC (FIG. 3C). Del mismo modo, el pretratamiento de las células efectoras con lenalidomida aumentó la lisis inducida por HuLuc63 de líneas celulares de mieloma (FIGS. 3A y 3B). Estos resultados proporcionan el marco para una estrategia de tratamiento que combina la lenalidomida con HuLuc63 en el MM.

Ejemplo de referencia 2: HuLuc63 combinado con bortezomib

El bortezomib es un inhibidor del proteasoma potente, específico y reversible. Los proteasomas están presentes en todas las células y funcionan para ayudar a regular el crecimiento celular. La inhibición del proteasoma da como resultado la apoptosis de las células cancerosas. Se ha demostrado que el bortezomib ser particularmente eficaz en la destrucción de células de mieloma y actualmente está aprobado para la terapia de 2^a y 3^a línea del mieloma múltiple. Los datos recientes han demostrado que el tratamiento con bortezomib de las células de mieloma da como resultado una modulación a la baja de la expresión en la superficie celular del MHC de clase I, un inhibidor de la función de NK (Shi et al, Blood (ASH Annual Meeting Abstracts), Noviembre de 2006; 108:3498). La hipótesis es que el tratamiento de células de mieloma con bortezomib las haría más susceptibles a la destrucción mediada por NK y, de este modo, potenciaría la ADCC mediada por HuLuc63. El propósito de este estudio fue examinar si el uso de HuLuc63 combinado con bortezomib proporcionarían un beneficio terapéutico.

Se examinó el efecto de del tratamiento con HuLuc63 y bortezomib sobre la expresión de CS1 en líneas celulares de MM y tumores de xenoinjerto de ratón mediante citometría de flujo e inmunohistoquímica, respectivamente.

Análisis de ADCC in vitro: Métodos y Resultados

Se cosecharon células de mieloma OPM2 en fase semilogarítmica, se suspendieron a una densidad de $1,0 \times 10^6$ células/ml en medio completo (RPMI con FBS al 10%) y se trataron durante la noche con o sin Velcade (10 nM). Las células se recogieron, se lavaron, se resuspendieron a una densidad de 20×10^6 células viables/ml, y se marcaron durante una hora con $\text{Na}_2^{51}\text{Cr}[\text{O}_4]$ de 50 mCi por 10^6 células. Las células marcadas con ^{51}Cr se lavaron, a continuación se añadieron a una placa de poliestireno de 96 pocillos con fondo en V a una densidad celular de 15.000 células por 75 μl de RPMI con un suplemento de FBS al 10% inactivado por calor. Se añadieron HuLuc63 y un anticuerpo de control de isotipo IgG₁ humano MSL-109 a las células diana para una concentración final de

anticuerpo que oscilaba de 0,001 a 10 µg/ml. Las células NK se enriquecieron a partir de la sangre completa de donantes sanos utilizando el cóctel de enriquecimiento de células NK humanas RosetteSep (Stem Cell Technologies). Las células NK enriquecidas se añadieron a las células OPM2 tratadas con Velcade o no tratadas a una razón de 10:1. Después de una incubación de 4 horas a 37°C, las células se centrifugaron y los sobrenadantes se midieron para determinar el ⁵¹Cr liberado. La liberación máxima se determinó a partir de las células diana lisadas con 100 mg/ml de Digitonina. La citotoxicidad celular independiente de anticuerpos (AICC) se determinó utilizando células diana, más medios, más células NK, mientras la lisis espontánea se determinó utilizando células marcadas con ⁵¹Cr más medios sin efectores NK.

El % de Citotoxicidad se calculó como ((muestra - AICC)/(Máximo - AICC) * 100

Se examinó la expresión de la proteína CS1 en la línea celular de mieloma múltiple OPM2 sin cambios significativos en la expresión de CS1 observados antes o después del tratamiento o con HuLuc63, bortezomib o con ambos agentes. A continuación se sometió a ensayo la combinación de HuLuc63 con bortezomib para determinar la actividad anti-mieloma in vitro utilizando análisis de ADCC. Los resultados demostraron que el tratamiento previo con bortezomib aumentaba significativamente la ADCC mediada por HuLuc63 hacia las células OPM2 utilizando células efectoras NK de donantes sanos. Las células OPM2 se trataron previamente con control de vehículo (símbolos cuadrados) o bortezomib (10 nM; símbolos circulares) durante 18 horas y a continuación se sometieron a ADCC mediada por HuLuc63 utilizando células NK humanas de donantes sanos. Se utilizaron HuLuc63 (símbolos rellenos) y anticuerpo de control de isotipo (símbolos vacíos) a dosis que oscilaban de 0,001 a 10 µg/ml. Los resultados demostraron que pre-tratamiento con bortezomib disminuía significativamente la CE₅₀ para la ADCC mediada por HuLuc63 in vitro (FIGS. 4A-4D, Tabla 3).

	Sin Tratamiento	Bortezomib (10 nM)	Valor de p (prueba t)
1	0,0758	0,0106	0,04
2	0,149	0,057	0,05
3	0,103	0,0459	0,004
4	0,0302	0,0207	0,0004

Modelo de ratón de xenoinjerto in vivo: Métodos y Resultados

Se inocularon 1x10⁷ células OPM2 (Colección de Cultivos Tipo Americana) en ratones Icr-Tac:ICR-Prkdc^{scid} hembra de seis a ocho semanas de edad obtenidos de Taconic Farms (Germantown, NY) en el flanco inferior derecho. Se realizaron mediciones con calibre dos veces por semana para calcular el volumen del tumor utilizando la fórmula siguiente: LxWxH/2, en donde L (longitud) es el lado más largo del tumor en el plano del dorso del animal, W (anchura) es la medición más larga perpendicular a la longitud y en el mismo plano y H (altura) se toma en el punto más alto perpendicular con respecto al dorso del animal. Cuando los tumores alcanzaron un tamaño medio de aproximadamente 100 mm³, los animales se asignaron al azar a 3 grupos de 8-10 ratones cada uno y se trataron con 1 mg/kg de anticuerpo administrado por vía intraperitoneal dos veces a la semana durante un total de 6 dosis. Se administró bortezomib por vía intraperitoneal a una dosis de 0,75 mg/kg dos veces a la semana para un total de 6 dosis. El crecimiento tumoral se controló durante un período de 1-2 meses. El trabajo con animales se llevó a cabo bajo las directrices del NIH ("Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio") utilizando los protocolos aprobados por IACUC en PDL BioPharma.

Para examinar el efecto de la terapia combinada HuLuc63 con bortezomib in vivo, los ratones portadores de tumor OPM2 se trataron con dosis subóptimas de HuLuc63 (1 mg/kg), o anticuerpo de control de isotipo dos veces por semana durante tres semanas. El bortezomib se administró dos veces a la semana en 0,75 mg/kg a ratones que recibieron el anticuerpo de control de isotipo o HuLuc63. Los resultados mostraron una actividad anti-tumoral significativa de HuLuc63 solo y combinado con bortezomib (FIG. 5A). Los ratones del grupo de tratamiento combinado exhibieron tumores 40-50% más pequeños de promedio que en el grupo de monoterapia con HuLuc63, y tumores del 60-70% más pequeños que en el grupo con bortezomib.

En un segundo experimento, HuLuc63 se combinó con bortezomib in vivo, utilizando una dosis y un programa de dosificación diferentes para el bortezomib, mientras se mantenía la dosis y el programa de dosificación originales de HuLuc63. Las células OPM2 se inocularon en los flancos de ratones SCID. Cuando los tumores alcanzaron un tamaño medio de aproximadamente 100 mm³, los animales se asignaron al azar a 4 grupos de 15 ratones cada uno y se trataron con 1 mg/kg de anticuerpo administrado por vía intraperitoneal dos veces a la semana para un total de

10 dosis. El bortezomib se administró por vía intraperitoneal a una dosis de 1 mg/kg dos veces durante las semanas 1 y 2, sin tratamiento durante la semana 3, y 1 mg/kg dos veces durante las semanas 4 y 5 para un total de 8 dosis. La intención de este programa de dosificación era imitar lo más exactamente el programa de dosificación de bortezomib en la clínica, donde cada ciclo de tratamiento consiste en 2 semanas de dosificación, con una semana de descanso. El crecimiento tumoral se controló durante un período de 1-2 meses.

Los resultados mostraron una actividad anti-tumoral significativa de HuLuc63 solo, bortezomib solo y HuLuc63 combinado con bortezomib (FIG. 5B). Los ratones del grupo de tratamiento combinado exhibieron tumores significativamente más pequeños que los ratones tratados con cualquier fármaco solo. Los datos indican que bortezomib tiene un efecto sinérgico con HuLuc63 en la actividad anti-tumor de mieloma.

10 Ejemplo de referencia 3: Estudio en Fase 1b, abierto, de aumento de la dosis de HuLuc63 y bortezomib en pacientes con mieloma múltiple después de la primera o segunda recaída

El estudio en Fase 1b, multicéntrico, abierto, de dosis múltiples, de aumento de la dosis propuesto evaluará la combinación de HuLuc63 y bortezomib en pacientes con mieloma múltiple después de primera o segunda recaída. El HuLuc63 se administrará mediante inyección intravenosa (IV) a un máximo de cinco niveles de dosificación que oscilan desde 2,5 mg/kg a 20 mg/kg combinado con una dosis fija de bortezomib IV a 1,0 mg/m². Los pacientes recibirán HuLuc63 cada 10 días y el bortezomib se administrará en ciclos de 21 días (dos veces por semana durante dos semanas (días 1,4, 8,11), seguido de un período de descanso de 10 días (días 12-21)).

Después de 9 semanas de terapia (6 dosis de HuLuc63, 3 ciclos de bortezomib), se evaluarán los criterios del EBMT. Si un paciente tiene una enfermedad progresiva, se interrumpirá el HuLuc63 y se puede retirar o continuar con el bortezomib a discreción del investigador local. Si el paciente ha respondido o tiene enfermedad estable en la Semana 9, la dosificación con HuLuc63 y bortezomib continuará de manera que se completen un total de 24 semanas de tratamiento (16 dosis de HuLuc63, 8 ciclos de bortezomib) o se produzca la progresión de la enfermedad. La dosificación con HuLuc63 y bortezomib continuará hasta que los datos de la visita de la Semana 9 estén disponibles.

25 Los pacientes recibirán HuLuc63 IV una vez cada 10 días, con cada dosis infundida durante 1 hora. El bortezomib se administrará como IVP durante 8 ciclos de tres semanas consistiendo cada ciclo en bortezomib los días 1, 4, 8 y 11, seguido de un período de descanso de diez días (días 11 y 21). Las cohortes de dosificación son las siguientes: 2,5 mg/kg de HuLuc63/1,3 mg/m² de bortezomib; 5 mg/kg de HuLuc63/1,3 mg/m² de bortezomib; 10 mg/kg de HuLuc63/1,3 de mg/m² bortezomib; 15 mg/kg de HuLuc63/1,3 mg/m² de bortezomib; y, 20 mg/kg de HuLuc63/1,3 mg/m² de bortezomib.

HuLuc63 será proporcionado a una concentración de 10 mg/mL en una formulación intravenosa en viales. El bortezomib se proporcionará en forma de una torta o polvo liofilizados de 3,5 mg en un vial de 10 ml, que se reconstituye con 3,5 ml de solución salina normal (0,9%), inyección de cloruro de sodio a 3,5 ml de 1 mg/ml de bortezomib, según el prospecto de Velcade®.

35 Se inscribieron en la prueba aproximadamente 15 a 30 pacientes en 5 cohortes. Cada cohorte comenzará con 3 pacientes. Si no se observa una toxicidad limitante de la dosis (TLD) en el plazo de las primeras 6 semanas de tratamiento en cualquier paciente, se iniciará la inscripción en la siguiente cohorte superior. Si un paciente tiene una TLD, se inscribirán 3 pacientes adicionales en la cohorte. Si ningún otro paciente en la cohorte tiene una TLD, se puede proceder a un aumento a la siguiente cohorte. Si un segundo paciente en una cohorte tiene una TLD, se ha alcanzado la dosis máxima tolerada (DMT).

La toxicidad limitante de la dosis (TLD) se define utilizando los Criterios Comunes de Toxicidad del Instituto Nacional del Cáncer Versión 3.0 (NCI CTCAE v3.0) como la toxicidad hematológica de grado 4 o hiperbilirrubinemia, o una toxicidad de grado 3 en cualquier otro sistema considerado relacionado con HuLuc63 o la combinación de HuLuc63 y bortezomib. Para el aumento de la dosis a la siguiente cohorte, 3 pacientes evaluables deben completar sus primeras 6 semanas (4 dosis de HuLuc63, 2 ciclos de bortezomib). Si se produce una TLD, se inscribirán otros tres pacientes evaluables. Los pacientes se controlarán para determinar la seguridad mediante la evaluación de los eventos adversos clasificados por el NCI CTCAE v3. 0 y los pacientes se controlarán para determinar la actividad clínica utilizando EBMT. La dosis máxima tolerada (DMT) se define como la dosis más alta estudiada para la que la incidencia de TLD es ≤ 33%. La dosis máxima tolerada será HuLuc63 20 mg/kg + bortezomib 1,0 mg/m² si no se observan toxicidades limitantes de la dosis.

Ejemplo 4: Estudio en Fase 1b, multicéntrico, abierto, de aumento de dosis de HuLuc63 y lenalidomida

El estudio en Fase 1b, multicéntrico, abierto, de multidosis, de aumento de la dosis propuesto evaluará la combinación de HuLuc63 y lenalidomida en pacientes con mieloma múltiple después de primera o segunda recaída. Se administrará HuLuc63 mediante inyección intravenosa (IV) en un máximo de cinco niveles de dosis que oscilan de 2,5 mg/kg a 20 mg/kg combinados con una dosis fija de lenalidomida PO a 15 mg. Los pacientes recibirán HuLuc63 cada 7 días y la lenalidomida se administrará en ciclos de 28 días (una vez al día durante 21 días, seguido de un periodo de descanso de 7 días (días 22-28)).

- 5 Después de 8 semanas de terapia (8 dosis de HuLuc63, 2 ciclos de lenalidomida), se evaluarán los criterios del EBMT. Se añadirá dexametasona al régimen a una dosis oral de 40 mg al día los días 1, 8, 15 y 22 de un ciclo de 4 semanas. Si en la semana 12 (12 dosis HuLuc63, 3 ciclos de lenalidomida, 1 ciclo de dexametasona) hay evidencia de enfermedad progresiva, se interrumpirá HuLuc63 y se continuará con lenalidomida y dexametasona hasta 16 semanas a criterio del investigador. Si un paciente tiene una enfermedad estable o mejor, continuará con HuLuc63 hasta la semana 16 (15 dosis totales) o la progresión de la enfermedad. Los criterios del EMBT se evaluarán la semana 16.
- 10 Los pacientes recibirán HuLuc63 IV una vez cada 10 días, con cada dosis infundida durante 1 hora. La lenalidomida se administrará por vía oral diariamente durante 3 semanas, seguido de un período de descanso de una semana de duración. Las cohortes de dosificación son las siguientes: 2,5 mg/kg de HuLuc63/15 mg de lenalidomida; 5 mg/kg de HuLuc63/15 mg de lenalidomida; 10 mg/kg HuLuc63/15 mg de lenalidomida; 15 mg /kg HuLuc63/15 mg de lenalidomida; y, 20 mg/kg de HuLuc63/15 mg de lenalidomida. Después de la semana 8, se añadirá dexametasona a los regímenes anteriores a una dosis oral de 40 mg al día los días 1, 8, 15 y 22 de un ciclo de 4 semanas.
- 15 El HuLuc63 se proporcionará a una concentración de 10 mg/mL en una formulación intravenosa en viales. La lenalidomida se suministrará en forma de cápsulas de 5 mg y 10 mg para la administración oral.
- 20 El la prueba se inscribirán aproximadamente 15 a 30 pacientes en 5 cohortes. Cada cohorte comenzará con 3 pacientes. Si no se observa toxicidad limitante de la dosis (TLD) en el plazo de las primeras 4 semanas de tratamiento en cualquier paciente, la inscripción se iniciará en la siguiente cohorte superior. Si un paciente tiene una TLD, se inscribirán 3 pacientes adicionales en la cohorte. Si ningún otro paciente en la cohorte tiene una TLD, se puede proceder a un aumento a la siguiente cohorte. Si un segundo paciente en una cohorte tiene una TLD, se ha alcanzado la dosis máxima tolerada (DMT).
- 25 La toxicidad limitante de la dosis (TLD) se define utilizando los Criterios Comunes de Toxicidad del Instituto Nacional del Cáncer Versión 3.0 (NCI CTCAE v3.0) como la toxicidad hematológica de grado 4 o hiperbilirrubinemia, o una toxicidad de grado 3 en cualquier otro sistema considerado relacionado con HuLuc63 o la combinación de HuLuc63 y lenalidomida. Para el aumento de la dosis a la siguiente cohorte, 3 pacientes evaluables deben completar sus primeras 4 semanas (4 dosis de HuLuc63, 1 ciclos de lenalidomida). Si se produce una TLD, se inscribirán otros tres pacientes evaluables. Los pacientes se controlarán para determinar la seguridad mediante la evaluación de los eventos adversos clasificados por el NCI CTCAE v3. 0 y los pacientes se controlarán para determinar la actividad clínica utilizando EBMT. La dosis máxima tolerada (DMT) se define como la dosis más alta estudiada para la que la incidencia de TLD es $\leq 33\%$. La dosis máxima tolerada será HuLuc63 20 mg/kg + lenalidomida 15 mg si no se observan toxicidades limitantes de la dosis.
- 30

LISTA DE SECUENCIAS

5 <110> AbbVie Biotherapeutics Inc. Dana-Farber Cancer Institute
 <120> Métodos para tratar el mieloma múltiple utilizando terapias combinadas basadas en anticuerpos anti-CS1
 <140> EP 07840746.7
 <141> 07-08-2007
 10 <150> US 60/836,185
 <151> 07-08-2006
 <150> US 60/944,262
 15 <151> 15-06-2007
 <160> 6
 <170> PatentIn versión 3.2
 20 <210> 1
 <211> 335
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25 <400> 1
 Met Ala Gly Ser Pro Thr Cys Leu Thr Leu Ile Tyr Ile Leu Trp Gln
 1 5 10 15
 Leu Thr Gly Ser Ala Ala Ser Gly Pro Val Lys Glu Leu Val Gly Ser
 20 25 30
 Val Gly Gly Ala Val Thr Phe Pro Leu Lys Ser Lys Val Lys Gln Val
 35 40 45
 Asp Ser Ile Val Trp Thr Phe Asn Thr Thr Pro Leu Val Thr Ile Gln
 50 55 60
 Pro Glu Gly Gly Thr Ile Ile Val Thr Gln Asn Arg Asn Arg Glu Arg
 65 70 75 80
 Val Asp Phe Pro Asp Gly Gly Tyr Ser Leu Lys Leu Ser Lys Leu Lys
 85 90 95
 Lys Asn Asp Ser Gly Ile Tyr Tyr Val Gly Ile Tyr Ser Ser Ser Leu
 100 105 110
 Gln Gln Pro Ser Thr Gln Glu Tyr Val Leu His Val Tyr Glu His Leu
 115 120 125
 Ser Lys Pro Lys Val Thr Met Gly Leu Gln Ser Asn Lys Asn Gly Thr
 130 135 140

ES 2 535 437 T3

Cys Val Thr Asn Leu Thr Cys Cys Met Glu His Gly Glu Glu Asp Val
 145 150 155 160

Ile Tyr Thr Trp Lys Ala Leu Gly Gln Ala Ala Asn Glu Ser His Asn
 165 170 175

Gly Ser Ile Leu Pro Ile Ser Trp Arg Trp Gly Glu Ser Asp Met Thr
 180 185 190

Phe Ile Cys Val Ala Arg Asn Pro Val Ser Arg Asn Phe Ser Ser Pro
 195 200 205

Ile Leu Ala Arg Lys Leu Cys Glu Gly Ala Ala Asp Asp Pro Asp Ser
 210 215 220

Ser Met Val Leu Leu Cys Leu Leu Leu Val Pro Leu Leu Leu Ser Leu
 225 230 235 240

Phe Val Leu Gly Leu Phe Leu Trp Phe Leu Lys Arg Glu Arg Gln Glu
 245 250 255

Glu Tyr Ile Glu Glu Lys Lys Arg Val Asp Ile Cys Arg Glu Thr Pro
 260 265 270

Asn Ile Cys Pro His Ser Gly Glu Asn Thr Glu Tyr Asp Thr Ile Pro
 275 280 285

His Thr Asn Arg Thr Ile Leu Lys Glu Asp Pro Ala Asn Thr Val Tyr
 290 295 300

Ser Thr Val Glu Ile Pro Lys Lys Met Glu Asn Pro His Ser Leu Leu
 305 310 315 320

Thr Met Pro Asp Thr Pro Arg Leu Phe Ala Tyr Glu Asn Val Ile
 325 330 335

<210> 2

<211> 227

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> hu50/mu50: aminoácidos 1-151 de CS1 humano fusionados con aminoácidos 149-224 de CS1 ratón

10

<400> 2

Met Ala Gly Ser Pro Thr Cys Leu Thr Leu Ile Tyr Ile Leu Trp Gln
 1 5 10 15

ES 2 535 437 T3

Leu Thr Gly Ser Ala Ala Ser Gly Pro Val Lys Glu Leu Val Gly Ser
20 25 30

Val Gly Gly Ala Val Thr Phe Pro Leu Lys Ser Lys Val Lys Gln Val
35 40 45

Asp Ser Ile Val Trp Thr Phe Asn Thr Thr Pro Leu Val Thr Ile Gln
50 55 60

Pro Glu Gly Gly Thr Ile Ile Val Thr Gln Asn Arg Asn Arg Glu Arg
65 70 75 80

Val Asp Phe Pro Asp Gly Gly Tyr Ser Leu Lys Leu Ser Lys Leu Lys
85 90 95

Lys Asn Asp Ser Gly Ile Tyr Tyr Val Gly Ile Tyr Ser Ser Ser Leu
100 105 110

Gln Gln Pro Ser Thr Gln Glu Tyr Val Leu His Val Tyr Glu His Leu
115 120 125

Ser Lys Pro Lys Val Thr Ile Asp Arg Gln Ser Asn Lys Asn Gly Thr
130 135 140

Cys Val Ile Asn Leu Thr Cys Ser Thr Asp Gln Asp Gly Glu Asn Val
145 150 155 160

Thr Tyr Ser Trp Lys Ala Val Gly Gln Gly Asp Asn Gln Phe His Asp
165 170 175

Gly Ala Thr Leu Ser Ile Ala Trp Arg Ser Gly Glu Lys Asp Gln Ala
180 185 190

Leu Thr Cys Met Ala Arg Asn Pro Val Ser Asn Ser Phe Ser Thr Pro
195 200 205

Val Phe Pro Gln Lys Leu Cys Glu Asp Ala Ala Thr Asp Leu Thr Ser
210 215 220

Leu Arg Gly
225

<210> 3
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> mu25/hu75: aminoácidos 1-67 de CS1 ratón fusionados con aminoácidos 68-227 de CS1 humano

<400> 3

5

ES 2 535 437 T3

Met Ala Arg Phe Ser Thr Tyr Ile Ile Phe Thr Ser Val Leu Cys Gln
 1 5 10 15

Leu Thr Val Thr Ala Ala Ser Gly Thr Leu Lys Lys Val Ala Gly Ala
 20 25 30

Leu Asp Gly Ser Val Thr Phe Thr Leu Asn Ile Thr Glu Ile Lys Val
 35 40 45

Asp Tyr Val Val Trp Thr Phe Asn Thr Phe Phe Leu Ala Met Val Lys
 50 55 60

Lys Asp Gly Gly Thr Ile Ile Val Thr Gln Asn Arg Asn Arg Glu Arg
 65 70 75 80

Val Asp Phe Pro Asp Gly Gly Tyr Ser Leu Lys Leu Ser Lys Leu Lys
 85 90 95

Lys Asn Asp Ser Gly Ile Tyr Tyr Val Gly Ile Tyr Ser Ser Ser Leu
 100 105 110

Gln Gln Pro Ser Thr Gln Glu Tyr Val Leu His Val Tyr Glu His Leu
 115 120 125

Ser Lys Pro Lys Val Thr Met Gly Leu Gln Ser Asn Lys Asn Gly Thr
 130 135 140

Cys Val Thr Asn Leu Thr Cys Cys Met Glu His Gly Glu Glu Asp Val
 145 150 155 160

Ile Tyr Thr Trp Lys Ala Leu Gly Gln Ala Ala Asn Glu Ser His Asn
 165 170 175

Gly Ser Ile Leu Pro Ile Ser Trp Arg Trp Gly Glu Ser Asp Met Thr
 180 185 190

Phe Ile Cys Val Ala Arg Asn Pro Val Ser Arg Asn Phe Ser Ser Pro
 195 200 205

Ile Leu Ala Arg Lys Leu Cys Glu Gly Ala Ala Asp Asp Pro Asp Ser
 210 215 220

Ser Met Val
 225

<210> 4
 <211> 224
 5 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> mu75/hu25: aminoácidos 1-166 de CS1 ratón fusionados con aminoácidos 170-227 de CS1 humano
 10 <400> 4

ES 2 535 437 T3

Met Ala Arg Phe Ser Thr Tyr Ile Ile Phe Thr Ser Val Leu Cys Gln
 1 5 10 15

Leu Thr Val Thr Ala Ala Ser Gly Thr Leu Lys Lys Val Ala Gly Ala
 20 25 30

Leu Asp Gly Ser Val Thr Phe Thr Leu Asn Ile Thr Glu Ile Lys Val
 35 40 45

Asp Tyr Val Val Trp Thr Phe Asn Thr Phe Phe Leu Ala Met Val Lys
 50 55 60

Lys Asp Gly Val Thr Ser Gln Ser Ser Asn Lys Glu Arg Ile Val Phe
 65 70 75 80

Pro Asp Gly Leu Tyr Ser Met Lys Leu Ser Gln Leu Lys Lys Asn Asp
 85 90 95

Ser Gly Ala Tyr Arg Ala Glu Ile Tyr Ser Thr Ser Ser Gln Ala Ser
 100 105 110

Leu Ile Gln Glu Tyr Val Leu His Val Tyr Lys His Leu Ser Arg Pro
 115 120 125

Lys Val Thr Ile Asp Arg Gln Ser Asn Lys Asn Gly Thr Cys Val Ile
 130 135 140

Asn Leu Thr Cys Ser Thr Asp Gln Asp Gly Glu Asn Val Thr Tyr Ser
 145 150 155 160

Trp Lys Ala Val Gly Gln Ala Ala Asn Glu Ser His Asn Gly Ser Ile
 165 170 175

Leu Pro Ile Ser Trp Arg Trp Gly Glu Ser Asp Met Thr Phe Ile Cys
 180 185 190

Val Ala Arg Asn Pro Val Ser Arg Asn Phe Ser Ser Pro Ile Leu Ala
 195 200 205

Arg Lys Leu Cys Glu Gly Ala Ala Asp Asp Pro Asp Ser Ser Met Val
 210 215 220

- 5 <210> 5
- <211> 119
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <400> 5

ES 2 535 437 T3

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Ala Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Asp Lys Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Pro Asp Gly Asn Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 6

<211> 107

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Ile Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

10

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

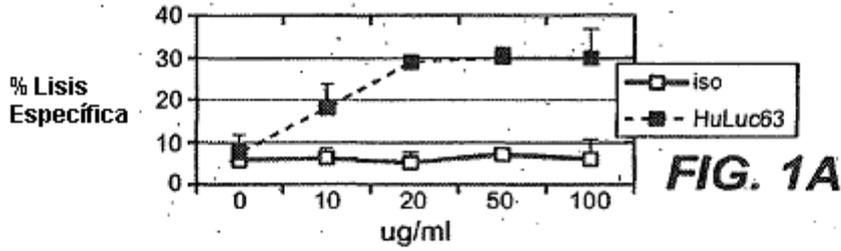
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

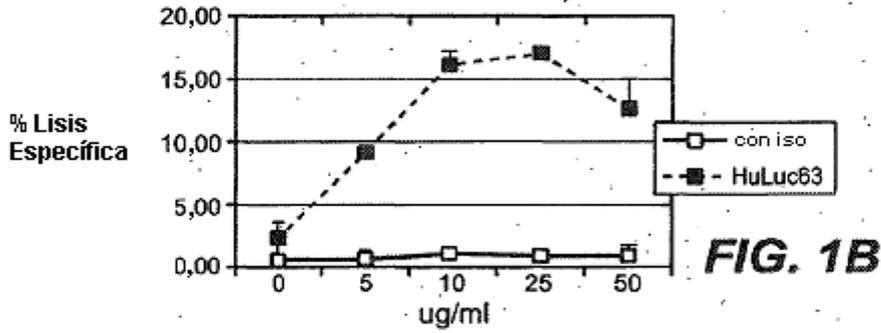
REIVINDICACIONES

- 5 1. El uso de HuLuc63 en la preparación de un primer medicamento, siendo HuLuc63 un anticuerpo IgG₁ humanizado que tiene una región variable de cadena pesada que corresponde al SEQ ID NO: 5 y una región variable de cadena ligera que corresponde al SEQ ID NO: 6, y el uso de lenalidomida en la preparación de un segundo medicamento, dichos medicamentos para uso en el tratamiento del mieloma múltiple, en donde el primera medicamento se administra simultáneamente, antes o después de la administración del segundo medicamento.
2. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el primer medicamento y el segundo medicamento se utilizan con un tercer medicamento que comprende dexametasona.
- 10 3. El uso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde el HuLuc 63 se administra en forma de una infusión intravenosa a una dosificación de 0,5 mg/kg a 20 mg/kg.
4. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la lenalidomida se administra por vía oral a una dosificación de 1 mg/día a 50 mg/día.
- 15 5. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde cada uno del primer medicamento y el segundo medicamento comprende adicionalmente un portador farmacéuticamente aceptable.
6. HuLuc63, siendo dicho HuLuc63 un anticuerpo IgG₁ humanizado que tiene una región variable de cadena pesada que corresponde al SEQ ID NO: 5 y una región variable de cadena ligera que corresponde al SEQ ID NO: 6, para su uso en el tratamiento del mieloma múltiple, en donde la lenalidomida se va a administrar simultáneamente, antes o después de la administración de HuLuc63.
- 20 7. El HuLuc63 y la lenalidomida acuerdo con la reivindicación 6, en donde el HuLuc63 se proporciona en una primera composición farmacéutica y la lenalidomida se proporciona en una segunda composición farmacéutica.
8. El HuLuc63 y la lenalidomida acuerdo con la reivindicación 7, en donde la primera y segunda composiciones farmacéuticas se utilizan adicionalmente combinadas con una tercera composición farmacéutica que comprende dexametasona.
- 25 9. El HuLuc63 y la lenalidomida de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, en donde HuLuc63 se va a administrar en forma de una infusión intravenosa a una dosificación de 0,5 mg/kg a 20 mg/kg.
10. El HuLuc63 y la lenalidomida de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, en donde la lenalidomida se va a administrar por vía oral a una dosificación de 1 mg/día a 50 mg/día.
- 30 11. El HuLuc63 y la lenalidomida de acuerdo con la reivindicación 7 o la reivindicación 8, en donde cada una de la primera composición y la segunda composición comprende adicionalmente un portador farmacéuticamente aceptable.

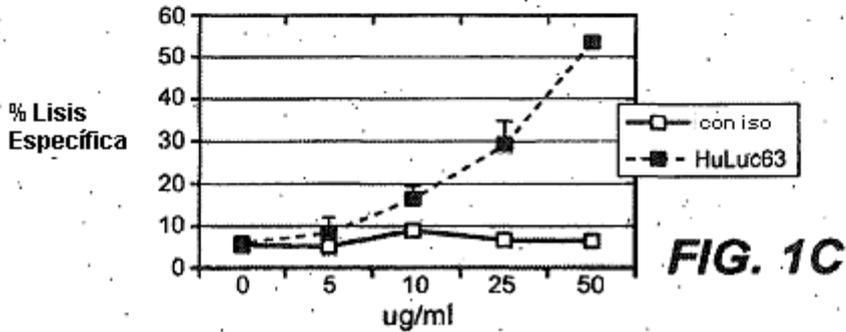
ADCC inducida por HuLuc63 (PBMC BH Frente a Células Tumorales CD138 BH, E/T=10, 50.000 Células Diana Por Pocillo)

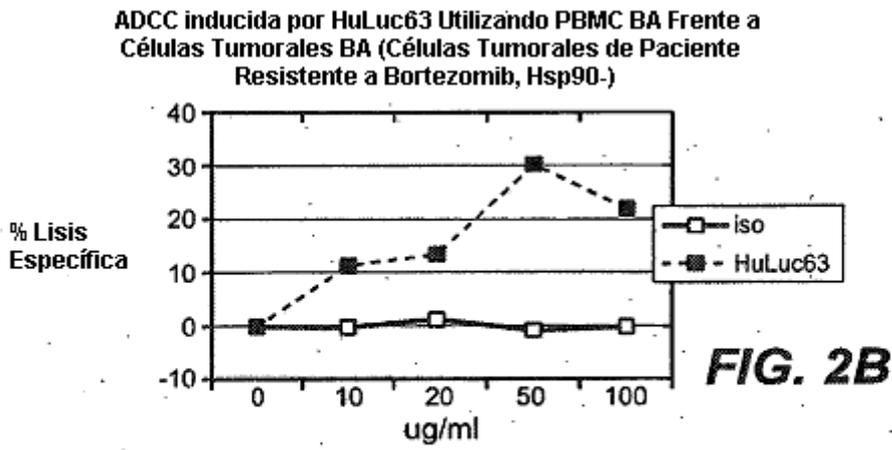
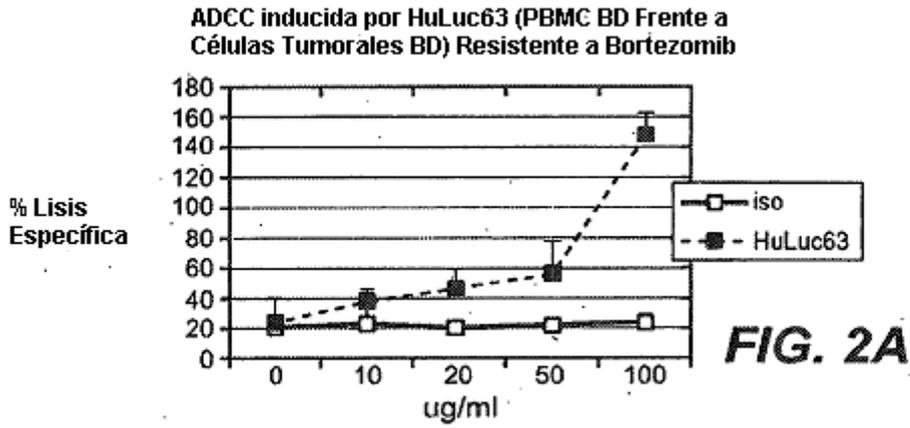


ADCC inducida por HuLuc63 (PBMC BA Frente a Células Tumorales BA)



ADCC inducida por HuLuc63 (PBMC CY Frente a Células Tumorales CY+)





El Pretratamiento con Lenalidomida Potencia la ADCC Inducida por HuLuc63 Frente a Células MM1S

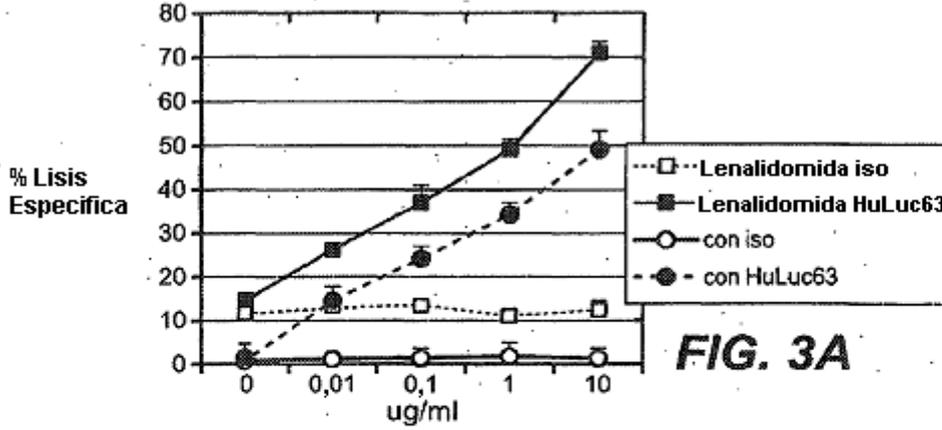


FIG. 3A

La Lenalidomida Aumenta la ADCC inducida por HuLuc63 Frente a Células MM1R

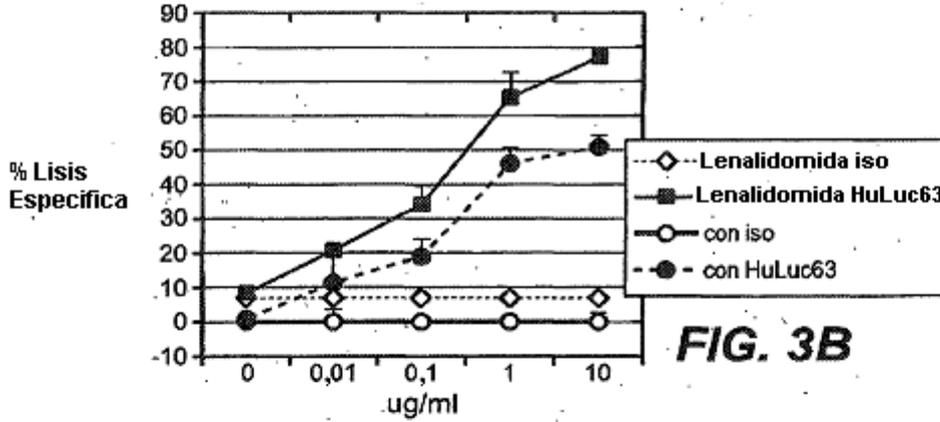


FIG. 3B

La Lenalidomida Potencia la ADCC Inducida por HuLuc63 Frente a Células de Pacientes

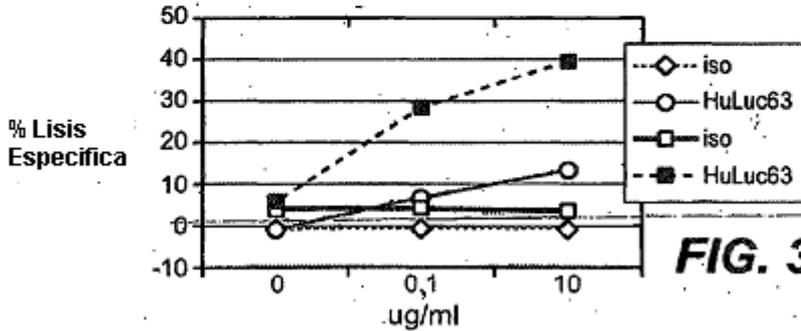
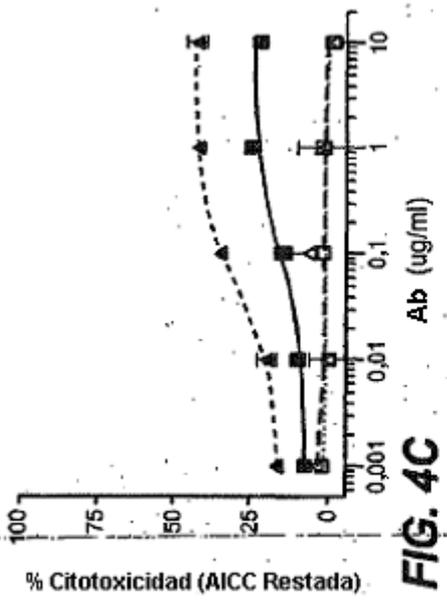
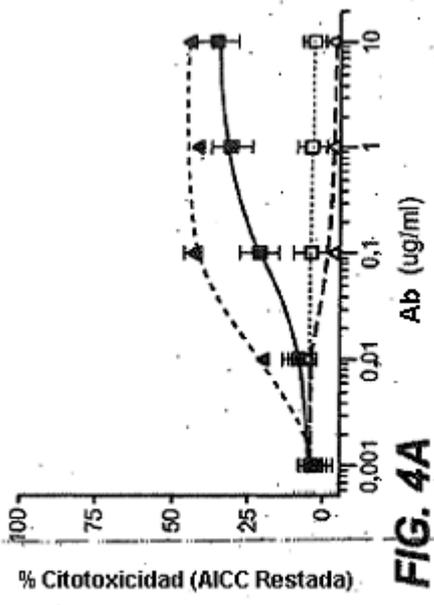
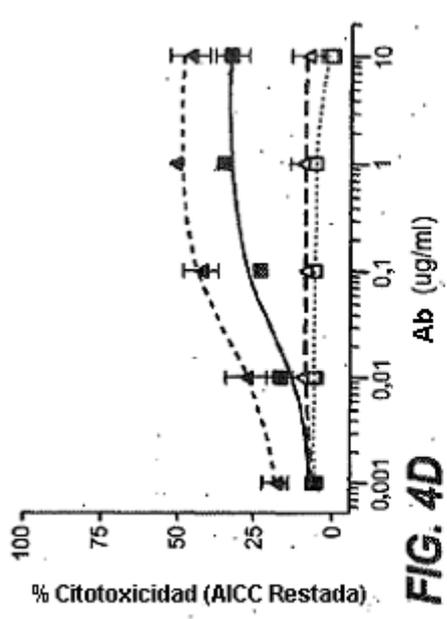
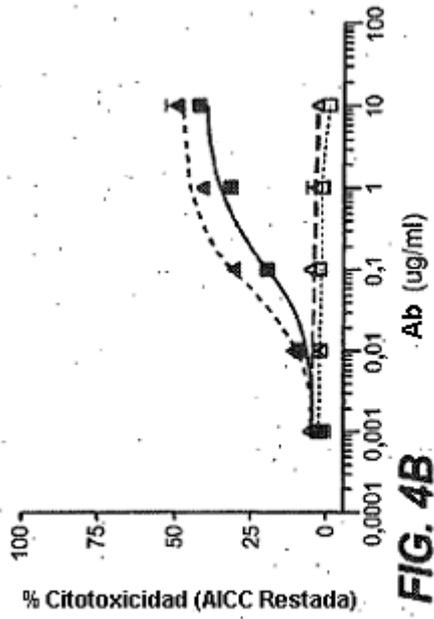


FIG. 3C



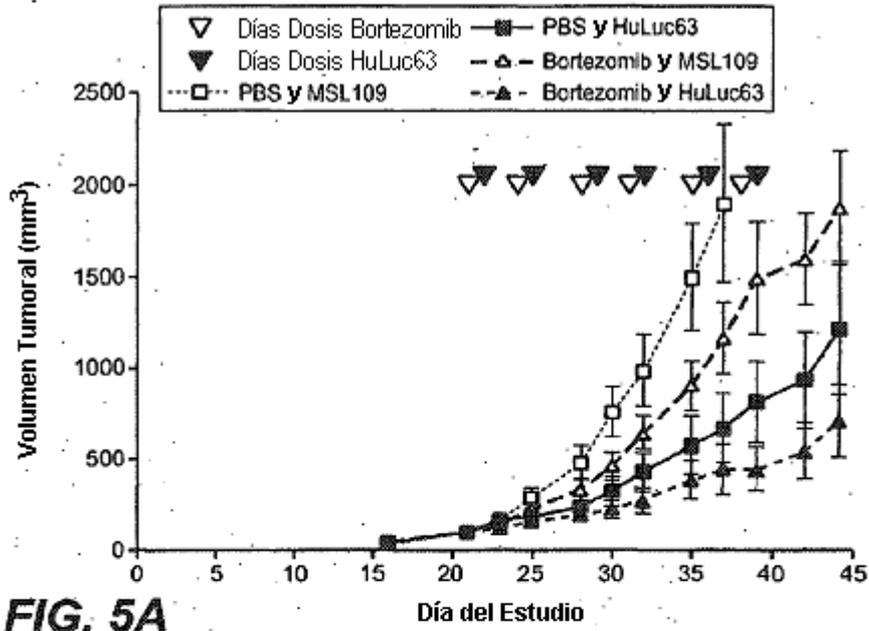


FIG. 5A

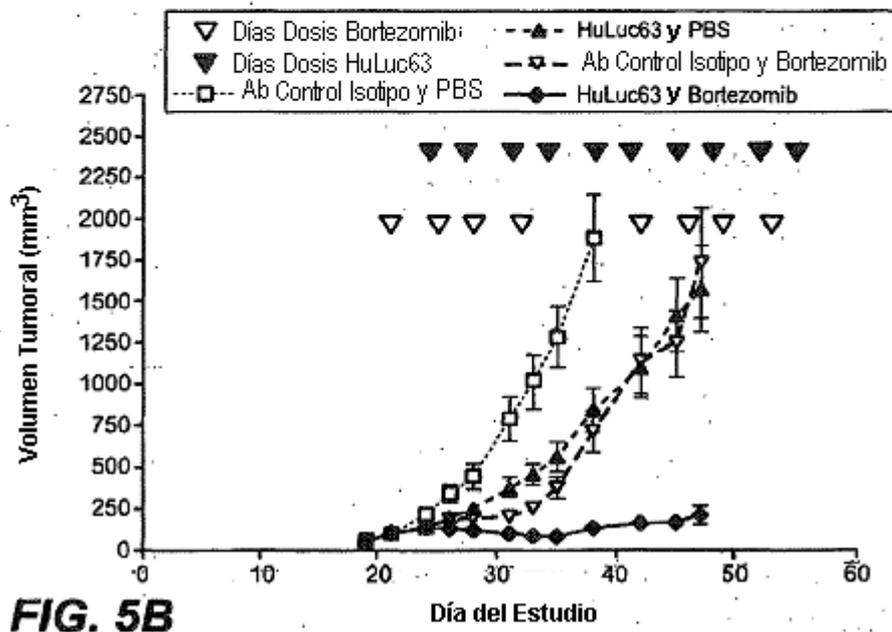


FIG. 5B