

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 584 916**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.05.2010 E 10720014 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.03.2016 EP 2430051**

54 Título: **Composiciones que contienen anticuerpos para tratar enfermedades relacionadas con linfocitos B o T CD5+ HLADR+**

30 Prioridad:

14.05.2009 EP 09305434

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

30.09.2016

73 Titular/es:

INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET DE LA RECHERCHE MÉDICALE (33.3%)

101, rue de Tolbiac

75013 Paris, FR;

UNIVERSITÉ DE BRETAGNE OCCIDENTALE (33.3%) y

CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) (33.3%)

72 Inventor/es:

BOUMSELL, LAURENCE;

LESTER, KARINE;

LOISEL, SÉVERINE;

BERTHOU, CHRISTIAN y

CERRUTI, MARTINE

74 Agente/Representante:

PONTI SALES, Adelaida

ES 2 584 916 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

Composiciones que contienen anticuerpos para tratar enfermedades relacionadas con linfocitos B o T CD5+ HLA-DR+

5

[0001] La presente invención se refiere a composiciones y procedimientos para prevenir y tratar enfermedades relacionadas con linfocitos B o T CD5+ HLA-DR+, tales como malignidades de linfocitos B o T, enfermedades autoinmunitarias, enfermedades por trasplante y rechazos de injertos.

10 **[0002]** El Cúmulo de Diferenciación 5 (CD5) es una glucoproteína de tipo I de 67 kDa, miembro de la superfamilia de receptores scavenger ricos en cisteína (SRCR). El CD5 se encuentra principalmente en los linfocitos T y en un subconjunto de linfocitos T secretores de IgM denominados linfocitos T1. Su función no se ha definido con claridad pero parece que participan en la tolerancia inmunitaria como un regulador de la señalización y activación de receptores de antígenos (TCR/BCR). Recientemente se describió que el ectodominio CD5 interacciona con
15 componentes de pared conservados de células fúngicas. Por otra parte, datos anteriores han implicado al CD5 en la regulación negativa de la señalización de receptores de antígenos de linfocitos mediante la elevación del umbral de estimulación de antígenos. El CD5 protege así los linfocitos B humanos normales de la apoptosis después de estimulación BCR a la vez que reduce la respuesta Ca^{2+} inducida por BCR. También se ha demostrado que el CD5 protege al linfocito T de la activación inducida por muerte celular y apoya la supervivencia de los linfocitos B
20 mediante la estimulación de la producción de IL-10 y al ejercer de forma simultánea una retroalimentación negativa en los episodios de señalización inducidos por BCR que pueden promover la muerte celular. El CD5 está sobreexpresado en LLC y es uno de los parámetros necesarios para el diagnóstico de LLC según los criterios de la OMS. Varios AMc anti-CD5, como los anticuerpos CD5 IgG2a murinos T101 y anti-Leu-1, ya se han probado en pacientes con fines terapéuticos, principalmente en malignidades de linfocitos T. Sin embargo, la respuesta a anti-Leu-1 murino (Miller y col. (1983) Blood 62(5):988-95) y T101 murino, tanto en forma no conjugada (Dillman y col. (1984) J Clin Oncol 2(8):881-891) como conjugada a las toxinas (Hertler y col. (1988) J Biol Response Mod 7(1):97-113) o a radioisótopos (Foss y col. (1998) Clin Cancer Res 4(11):2691-700) produjo un beneficio clínico mitigado o la respuesta tuvo una duración breve.

30 **[0003]** Los anticuerpos monoclonales (AMc) ya se usan con éxito en diferentes tratamientos de cáncer, malignidades hematopoyéticas, enfermedades autoinmunitarias y trasplante. Los AMc pueden usarse en forma de anticuerpos no modificados desnudos o conjugados para elementos radiactivos o toxinas. Los bien conocidos AMc anti-CD20 rituximab (Mabthera, Rituxan) y anti-CD52 alemtuzumab (Campath-1H) han sido estudiados de forma extensa en pacientes en diversas fases clínicas en linfoma no hodgkiniano (LNH) y leucemia linfocítica crónica (LLC)
35 de linfocitos B y en la actualidad han sido ampliamente aprobados no sólo en el tratamiento de las malignidades de linfocitos B sino también para enfermedades autoinmunitarias. Otros AMc dirigidos contra moléculas CD de superficie celular expresados por células tumorales (CD19, CD22, CD23, CD40, CD80, HLA-DR) o con antígenos sobreexpresados en células tumorales (CD71) se encuentran actualmente en fase de ensayo clínico o en desarrollo.

40 **[0004]** El receptor CD71 es una glucoproteína de transmembrana de tipo II de 95 kD también conocida como receptor de transferrina. El CD71 interviene en la captación celular de hierro y en la regulación del crecimiento celular. De forma interesante, diferentes estudios sugieren que el tejido maligno expresa el receptor CD71 en un nivel superior en comparación con su contrapartida normal. Por otra parte, la leucemia linfocítica crónica (LLC) y el LNH presentan una expresión de receptor de transferrina creciente con el estadio de grado clínico del tumor. Entre
45 otros AMc, el anticuerpo IgA monoclonal murino 42/6 dirigido contra CD71 humano demostró potentes efectos citotóxicos en células tumorales hematopoyéticas (Taetle y col. (1983) Int J Cancer 32(3):343-9). Después de los prometedores resultados observados *in vitro*, se llevó a cabo un ensayo clínico en fase I en 27 pacientes con diversos cánceres refractarios y avanzados (Brooks y col. (1995) Clin Cancer Res 1(11):1259-65). El tratamiento de infusiones intravenosas mostró bajos efectos de toxicidad. Sin embargo, debido al rápido aclaramiento del anticuerpo IgA murino, sólo tres pacientes mostraron una respuesta antitumoral parcial. Este hecho subraya la necesidad de anticuerpos de diferentes isotipos, así como AMc humanos, humanizados o quiméricos. Se ha descrito un anticuerpo CD71 quimérico reciente denominado D2C para inducir la apoptosis y la interrupción del ciclo celular en la fase G1 *in vitro* (Qing y col. (2006) Cancer Immunol Immunother 55(9):1111-21).

55 **[0005]** El antígeno leucocitario humano HLA-DR es un antígeno de complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase II que interviene en la presentación de antígenos exógenos para linfocitos T cooperadores CD4+ con el fin de iniciar la respuesta inmunitaria. HLA-DR se expresa en células inmunitarias que incluyen linfocitos B, linfocitos T activados, monocitos y células dendríticas, y a alto nivel en leucemia linfocítica B. Varios estudios mostraron la capacidad de los anticuerpos anti-HLA-DR para inducir la muerte celular *in vitro* y para inhibir el

crecimiento tumoral *in vivo*. Aún existe controversia acerca de si las vías de señalización que conducen a la apoptosis están implicadas con algunos estudios que observan muerte celular directa, mientras que otros se relacionan con la activación de la caspasa por medio de Fas y otros más con una vía independiente de la caspasa.

- 5 **[0006]** Tampoco está claro el grado de especificidad de estos anticuerpos ya que algunos estudios mostraron un efecto selectivo en reposo (Newell y col. (1993) Proc Natl Acad Sci USA 8(1):34-47) o, por el contrario, en linfocitos T activados (Truman y col. (1994) Int Immunol 6(6):887-96) o en células neoplásicas (Vidovic y col. (1998) Cancer Lett 128(2):127-35). Todas estas diferencias en la respuesta podrían ser consecuencia del uso de diferentes anticuerpos (por ejemplo, murinos o humanizados) o del epítipo reconocido (cadena alfa/beta). Se han introducido
 10 dos AMc anti-HLA-DR en ensayos clínicos para el tratamiento de LNH: Lym-1 y Hu1D10. El Lym-1 IgG2a murino radiomarcado mostró resultados preliminares prometedores, con aumento de la supervivencia en pacientes con LNH y con LLC (DeNardo y col. (1997) Cancer 80(12 suppl.): 2706-11). Sin embargo, estos resultados no fueron confirmados. El H1D10 es un anticuerpo humanizado que, al igual que Lym-1, se une a una variante de la cadena HLA-DR. El H1D10 se ha evaluado en pacientes con LNH indolente recidivante o refractario en el que se ha
 15 observado una toxicidad mínima y una respuesta temprana (Brown y col. (2001) Clin Lymphoma 2(3):188-90). Sin embargo, los ensayos clínicos en fase II fueron desalentadores. Recientemente se han evaluado combinaciones de Hu1D10 y rituximab con resultados mitigados (Dunleavy y col. (2005) J Clin Oncol Meeting abstract 23(16 suppl.): 6607).
- 20 **[0007]** El documento EP-1.479.760 desvela un procedimiento para cultivo de células y/o tejidos para una modelización fiel de funciones orgánicas *in vitro*. Se usan diferentes mezclas de anticuerpos que comprenden, por ejemplo, anticuerpos específicos para HLA-DR y CD5, para el análisis de la diferenciación y proliferación de las células obtenidas en este cultivo *in vitro*.
- 25 **[0008]** El documento DE-101-62.870 desvela proteínas de fusión que comprenden al menos un ligando específico de linfocitos B y al menos un dominio que produce daño celular. El ligando específico de linfocitos B es, por ejemplo, CD5, CD28 o CTLA-4.
- [0009]** En consecuencia, un objeto de la presente invención es proporcionar composiciones y procedimientos
 30 alternativos y mejorados para tratar enfermedades relacionadas con linfocitos B o T CD5+ HLA-DR+.

Descripción de la invención

- 35 **[0010]** La presente invención se define en las reivindicaciones 1 a 17.
- [0011]** A este respecto, la presente invención procede del hallazgo de los autores de la invención de que la coinyección de estos anticuerpos anti-HLA-DR y anti-CD5 en ratones a los que previamente se inyectaron células que emulan el LLC-B y el linfoma de células del manto elevaron la supervivencia en los ratones.
- 40 **[0012]** En consecuencia, la presente solicitud desvela al menos una molécula de unión a CD5 y al menos una molécula de unión a HLA-DR para su uso como un medicamento en la prevención o tratamiento de enfermedades relacionadas con linfocitos B o T CD5+ HLA-DR+.
- [0013]** Tal como se pretende en la presente memoria descriptiva, la expresión "molécula de unión a CD5 y
 45 molécula de unión a HLA-DR" puede referirse a dos moléculas distintas, una capaz de unirse a CD5 y la otra capaz de unirse a HLA-DR o a una única molécula capaz de reconocer CD5 y HLA-DR.
- [0014]** Preferentemente, la molécula de unión a CD5 y la molécula de unión a HLA-DR desveladas en la presente solicitud, tras unirse a CD5 y HLA-DR en un linfocito B o T, son responsables de destruir y agotar los
 50 linfocitos B y T en un sujeto y/o de interferir con una o más funciones de los linfocitos B y los linfocitos T, por ejemplo, reduciendo o impidiendo una respuesta humoral desencadenada por el linfocito B o el linfocito T. Las moléculas de unión a CD5 y las moléculas de unión a HLA-DR se usan preferentemente para la depleción de linfocitos B CD5+ (es decir, reducir los niveles de linfocitos B CD5+ circulantes) en un sujeto tratado con las mismas. Esta depleción puede conseguirse por medio de varios mecanismos tales como citotoxicidad mediada por células
 55 dependientes de anticuerpos (ADCC), fagocitosis dependiente de anticuerpos (ADP) y/o citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), inhibición de proliferación celular y/o inducción de muerte celular (por ejemplo, por apoptosis).
- [0015]** Las "moléculas de unión" desveladas en la presente solicitud incluyen notablemente anticuerpos,

péptidos de secuencias naturales o sintéticos y antagonistas de moléculas pequeñas que se unen a CD5 o HLA-DR de moléculas de superficie celular, opcionalmente conjugados o fusionados con un agente citotóxico.

5 **[0016]** Preferentemente, la molécula de unión a CD5 y la molécula de unión a HLA-DR tal como se define anteriormente son anticuerpos dirigidos respectivamente contra CD5 y HLA-DR, más preferentemente anticuerpos monoclonales.

10 **[0017]** También preferentemente, la al menos una molécula de unión a CD5 y al menos una molécula de unión a HLA-DR tal como se define anteriormente puede ser constitutiva de un anticuerpo biespecífico.

15 **[0018]** Preferentemente, estos anticuerpos son específicos respectivamente para CD5 y HLA-DR. Especificidad, tal como se usa en la presente memoria descriptiva, se refiere a la capacidad de un anticuerpo de distinguir entre CD5 o HLA-DR, opcionalmente glucosilados, y otros polipéptidos cualesquiera, basándose en su diferencia estructural, de manera que el reconocimiento en la proteína diana es único en un grado razonable.

20 **[0019]** Tal como se usa en la presente memoria descriptiva los términos "anticuerpo" e "inmunoglobulina" tienen el mismo significado y se usan en el sentido más extenso y cubren específicamente anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos quiméricos, humanizados o humanos, anticuerpos, diacuerpos, anticuerpos multiespecíficos intactos (por ejemplo, anticuerpo biespecíficos) formados a partir de al menos dos anticuerpos intactos y también fragmentos de anticuerpos.

25 **[0020]** Los anticuerpos según la invención pueden producirse mediante cualquier técnica conocida en la materia, tal como, sin limitación, cualquier técnica química, biológica, genética o enzimática, ya sea en solitario o en combinación.

30 **[0021]** Si conoce la secuencia de aminoácidos de un anticuerpo, un experto en la materia puede producir fácilmente dicho anticuerpo, mediante técnicas estándar para la producción de polipéptidos o polipéptidos glucosilados. Por ejemplo, pueden sintetizarse usando un procedimiento en fase sólida bien conocido, usando preferentemente un aparato de síntesis de péptido disponible comercialmente (como el fabricado por Applied Biosystems, California) y según las instrucciones del fabricante.

35 **[0022]** Alternativamente, los anticuerpos de la invención pueden producirse por tecnología de ADN recombinante en un sistema de expresión adecuado. El término "sistema de expresión" significa una célula hospedadora y un vector compatible en condiciones adecuadas, por ejemplo, para la expresión de una proteína codificada por ADN extraño transportado por el vector e introducido en la célula hospedadora. Normalmente, una secuencia de ácidos nucleicos que codifica un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal, de la invención, o un fragmento del mismo, puede incluirse en cualquier vector de expresión adecuado que a continuación puede introducirse en cualquier hospedador eucariota o procariota adecuado que expresará los anticuerpos deseados.

40 **[0023]** En anticuerpos naturales, dos cadenas pesadas están ligadas entre sí por enlaces de disulfuro y cada cadena pesada está ligada a una cadena ligera por un enlace de disulfuro. Existen dos tipos de cadena ligera, lambda (λ) y kappa (κ). Existen cinco clases principales de cadena pesada (o isotipos) que determinan la actividad funcional de un anticuerpo molécula: IgM, IgD, IgG, IgA e IgE. Cada cadena contiene distintos dominios de secuencias. La cadena ligera incluye dos dominios, un dominio variable (VL) y un dominio constante (CL). La cadena
45 pesada incluye cuatro dominios, un dominio variable (VH) y tres dominios constantes (CH1, CH2 y CH3, referidos colectivamente como CH). Las regiones variables de cadenas ligeras (VL) y pesadas (VH) determinan el sitio de unión a antígenos y así el reconocimiento y la especificidad al antígeno. Los dominios de región constante de las cadenas ligeras (CL) y pesadas (CH) confieren importantes propiedades biológicas tales como asociación a cadenas de anticuerpos, secreción, movilidad transplacentaria, unión a complemento y unión a receptores Fc (FcR). El
50 fragmento Fv es la parte en el extremo N del fragmento Fab de una inmunoglobulina y consiste en las partes variables de una cadena ligera y una cadena pesada.

[0024] El término "anticuerpo monoclonal" o "AMc" tal como se usa en la presente memoria descriptiva se refiere a una molécula de anticuerpo de una composición de aminoácidos individual, que se dirige contra un
55 antígeno específico y que puede ser producida por un único clon de linfocitos B o híbridos. Los anticuerpos monoclonales también pueden ser recombinantes, es decir, obtenidos por diseño de proteínas y a continuación producidos en una línea celular de mamífero tal como CHO, NSO, PERC6 o cualquier otra célula después de transfección.

- 5 **[0025]** El término "anticuerpo quimérico" se refiere a un anticuerpo diseñado que comprende un dominio VH y un dominio VL de un anticuerpo obtenido de un animal no humano, en asociación con un dominio CH y un dominio CL de otro anticuerpo, en particular un anticuerpo humano. El animal no humano puede ser un ratón, una rata, un hámster, un conejo o similar.
- 10 **[0026]** La expresión "anticuerpo biespecífico" se refiere a un anticuerpo diseñado que posee dos sitios de unión a antígenos diferentes. En una realización preferida, la presente solicitud desvela que la al menos una molécula de unión a CD5 y al menos una molécula de unión a HLA-DR es un anticuerpo biespecífico que es capaz de unirse a CD5 y a HLA-DR.
- 15 **[0027]** El término "diacuerpos" se refiere a pequeños fragmentos de anticuerpos con dos sitios de unión a antígenos, fragmentos que comprenden un dominio variable de cadena pesada (VH) conectado con un dominio variable de cadena ligera (VL) en la misma cadena de polipéptidos (VH-VL). En general, usando un conector que es demasiado corto para permitir el emparejamiento entre los dos dominios en la misma cadena, los dominios se fuerzan con el par con los dominios de complementariedad de otra cadena y crean dos sitios de unión a antígenos. Preferentemente el diacuerpo es capaz de reconocer el CD5 y el HLA-DR.
- 20 **[0028]** La expresión "anticuerpo humanizado" se refiere preferentemente a anticuerpos en los que las "regiones de determinación de complementariedad" (CDR) estructurales han sido modificadas para comprender la CDR de la inmunoglobulina de un donante de diferente especificidad en comparación con la de la inmunoglobulina primigenia. En una realización preferida, se injerta una CDR de ratón en la región estructural de un anticuerpo humano para preparar el "anticuerpo humanizado". Los anticuerpos de la invención son preferentemente "anticuerpos humanizados".
- 25 **[0029]** La expresión "anticuerpo humano" se refiere preferentemente a anticuerpos totalmente humanos que han sido 1) preparados por inmunización en ratones con un repertorio de genes de inmunoglobulina humana, o 2) preparados por inmunización en varias cepas de ratones inmunodeficientes reconstituidos con células inmunitarias/hematopoyéticas humanas o 3) para anticuerpos humanos aislados a partir de linfocitos B de personas inmunizadas y EBV transformados o 4) por combinación de genes obtenidos de bibliotecas VH y VL humanas.
- 30 **[0030]** La expresión "fragmentos de anticuerpos" comprende una porción de un anticuerpo intacto, preferentemente la región variable o de unión a antígeno del anticuerpo intacto. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen Fv, Fab, F(ab')₂, Fab', dsFv, scFv, sc(Fv)₂, diacuerpos y anticuerpos multispecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpos.
- 35 **[0031]** En una realización, la presente solicitud desvela que la al menos una molécula de unión a CD5 tal como se define anteriormente es un anticuerpo que comprende al menos una CDR cuya secuencia se selecciona entre la SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 2.
- 40 **[0032]** La SEQ ID NO: 1 y la SEQ ID NO: 2 corresponden respectivamente a la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera y la cadena pesada de un anticuerpo anti-CD5.
- 45 **[0033]** En una realización, la presente solicitud desvela que la al menos una molécula de unión a HLA-DR tal como se define anteriormente es un anticuerpo que comprende al menos una CDR cuya secuencia se selecciona entre la SEQ ID NO: 9 o la SEQ ID NO: 10.
- [0034]** La SEQ ID NO: 9 y la SEQ ID NO: 10 corresponden respectivamente a la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera y la cadena pesada de un anticuerpo anti-HLA-DR.
- 50 **[0035]** Como es bien conocido para el experto en la materia, la especificidad del anticuerpo reside en la complementariedad estructural entre el sitio de combinación del anticuerpo y el determinante antigénico. Los sitios de combinación de anticuerpos están formados por restos que proceden principalmente de las regiones de determinación de complementariedad (CDR) o hipervariables. En ocasiones, los restos de regiones no hipervariables o estructurales (FR) influyen en la estructura general del dominio y así en el sitio de combinación. Las regiones de determinación de complementariedad (CDR) se refieren a secuencias de aminoácidos que, en conjunto, definen el sitio de unión y la afinidad y especificidad de la región Fv natural de un sitio de unión a inmunoglobulina natural. Las cadenas ligeras y pesadas de una inmunoglobulina tienen cada una tres CDR, designadas como L-CDR1 (L1), L-CDR2 (L2), L-CDR3 (L3) y H-CDR1 (H1), H-CDR2 (H2), H-CDR3 (H3), respectivamente. Por tanto, un sitio de unión a antígenos incluye seis CDR, que comprenden el conjunto de CDR de cada región V de cadena pesada y ligera.

[0036] La expresión "regiones estructurales" (FR) se refiere a secuencias de aminoácidos interpuestas entre CDR, es decir, a aquellas partes de regiones variables de cadenas ligera y pesada de inmunoglobulinas que se conservan relativamente entre diferentes inmunoglobulinas en una sola especie, tal como se define en IMGT (Lefranc y col. (2009) Nucl. Acids Res 37: D1006-D1012, Brochet y col. (2008) Nucl Acids Res 36: W503-508, Kabat y col. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, National Institutes of Health, Bethesda, Md.).

[0037] Tal como se usa en la presente memoria descriptiva, una "región estructural humana" es una región estructural que presenta una identidad de secuencias de al menos el 85%, el 90%, el 95% o del 100% con la región estructural de un anticuerpo humano de ocurrencia natural.

[0038] Tal como se pretende en la presente memoria descriptiva, la expresión "seleccionado entre la SEQ ID NO: X" significa que la secuencia CDR es una porción de la SEQ ID NO: X. Las secuencias CDR pueden ser identificadas fácilmente por el experto en la materia. En la técnica se conocen numerosos procedimientos tales como el procedimiento IGMT (sistema de información ImMunoGeneTics), descrito en particular por Lefranc y col. ((2009) Nucl. Acids Res 37: D1006-D1012), Brochet y col. ((2008) Nucl Acids Res 36:W503-508) y Kabat y col. ((1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, National Institutes of Health, Bethesda, Md.).

[0039] Por ejemplo, cuando el procedimiento IGMT se aplica a la SEQ ID NO: 1, se identifican las CDR correspondientes a la SEQ ID NO: 3, la SEQ ID NO: 4 y la SEQ ID NO: 5. Análogamente, cuando el procedimiento IGMT se aplica a la SEQ ID NO: 2, se identifican las CDR correspondientes a la SEQ ID NO: 6, la SEQ ID NO: 7 y la SEQ ID NO: 8. Cuando el procedimiento IGMT se aplica a la SEQ ID NO: 9, se identifican las CDR correspondientes a la SEQ ID NO: 11, la SEQ ID NO: 12 y la SEQ ID NO: 13. Finalmente, cuando el procedimiento IGMT se aplica a la SEQ ID NO: 10, se identifican las CDR correspondientes a la SEQ ID NO: 14, la SEQ ID NO: 15 y la SEQ ID NO: 16.

[0040] Así, en otra realización, la presente solicitud desvela que la molécula de unión a CD5 tal como se define anteriormente es un anticuerpo que comprende:

(i) una cadena ligera variable que comprende al menos una CDR representada por una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 3, la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5 y/o

(ii) una cadena pesada variable que comprende al menos una CDR representada por una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 6, la SEQ ID NO: 7, la SEQ ID NO: 8.

[0041] Análogamente, en otra realización, la presente solicitud desvela que la molécula de unión a HLA-DR tal como se define anteriormente es un anticuerpo que comprende:

(i) una cadena ligera variable que comprende al menos una CDR representada por una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 11, la SEQ ID NO: 12, la SEQ ID NO: 13 y/o

(ii) una cadena pesada variable que comprende al menos una CDR representada por una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 14, la SEQ ID NO: 15, la SEQ ID NO: 16.

[0042] En otra realización preferida, la presente solicitud desvela que la molécula de unión a CD5 tal como se define anteriormente es un anticuerpo que comprende una cadena ligera variable de la SEQ ID NO: 1 y/o una cadena pesada variable de la SEQ ID NO: 2.

[0043] Análogamente, en otra realización preferida, la presente solicitud desvela que la molécula de unión a HLA-DR tal como se define anteriormente es un anticuerpo que comprende una cadena ligera variable de la SEQ ID NO: 9 y/o una cadena pesada variable de la SEQ ID NO: 10.

[0044] "Enfermedades relacionadas con linfocitos B o T CD5+ HLA-DR+" tal como se pretende en la presente memoria descriptiva se refiere a cualquier patología que afecta a linfocitos B o T CD5+ HLA-DR+. Dichas patologías pueden deberse a actividad aberrante de linfocito B CD5+ HLA-DR+ que se desvía del curso normal, adecuado o esperado en un sujeto. Por ejemplo, la actividad aberrante de linfocitos B CD5+ HLA-DR+ puede incluir proliferación inapropiada de células cuyo ADN u otros componentes celulares han resultado dañados o están defectuosos. La actividad aberrante de linfocitos B CD5+ HLA-DR+ puede incluir proliferación celular cuyas características se asocian a una enfermedad causada por, mediada por o causante de niveles inadecuadamente altos de división celular, niveles inadecuadamente bajos de apoptosis o ambos. Dichas enfermedades pueden caracterizarse, por ejemplo, por proliferaciones anómalas locales únicas o múltiples de células, grupos de células o tejido(s), ya sean cancerosos o no cancerosos, benignos o malignos. La actividad aberrante de linfocitos B CD5+ HLA-DR+ puede

- incluir también producción aberrante de anticuerpos, tal como producción de autoanticuerpos, o sobreproducción de anticuerpos normalmente convenientes cuando se producen a niveles normales. Se contempla que la actividad aberrante de linfocitos B HLA-DR+ CD5+ puede producirse en determinadas subpoblaciones de linfocitos B y no en otras subpoblaciones. La actividad aberrante de linfocitos B CD5+ HLA-DR+ puede incluir también una estimulación inapropiada de linfocitos T, por ejemplo presentación inapropiada de antígenos de linfocitos B CD5+ HLA-DR+ ante linfocitos T u otras vías en las que intervienen los linfocitos B. Alternativamente, las enfermedades de linfocitos T CD5+ HLA-DR+ pueden derivarse de la estimulación indeseada de linfocitos T de donantes como la que se encuentra durante las enfermedades de injerto contra huésped o la activación de linfocitos T del hospedador después de un trasplante.
- 10 **[0045]** Preferentemente, la enfermedad relacionada con linfocitos B o T CD5+ HLA-DR+ tal como se define anteriormente se selecciona en el grupo que consiste en malignidades de linfocitos B o T, enfermedades autoinmunitarias de linfocitos B o T o enfermedades por trasplante y rechazos de injertos.
- 15 **[0046]** Preferentemente, las malignidades de linfocitos B o T tal como se define anteriormente se seleccionan entre el grupo que consiste en leucemia linfocítica crónica de linfocitos B, linfoma de células del manto, algunos linfomas de linfocitos B grandes difusos, leucemia linfocítica crónica de linfocitos T, leucemia de linfocitos T del adulto (LTA).
- 20 **[0047]** Preferentemente, las enfermedades autoinmunitarias de linfocitos B o T tal como se define anteriormente se seleccionan entre el grupo que consiste en artritis reumatoide, psoriasis, lupus eritematoso sistémico, enfermedad de Castelman, tiroiditis crónica (tiroiditis de Hashimoto) y esclerosis múltiple (EM).
- [0048]** Preferentemente, las enfermedades de linfocitos B o T tal como se definen anteriormente son enfermedades relacionadas con linfocitos T como, por ejemplo, las enfermedades de injerto contra huésped, después de un trasplante de médula ósea o activación de linfocitos T del hospedador después de rechazos de injertos, por ejemplo, después de un trasplante de riñón.
- 25 **[0049]** En el contexto de la invención, el término "tratar" o "tratamiento" significa revertir, aliviar, inhibir el progreso o prevenir el trastorno o afección a los que se aplica dicho término, o uno o más síntomas de dicho trastorno o afección. En particular, el tratamiento del trastorno puede consistir en destruir o agotar los linfocitos B o T CD5+ HLA-DR+. Con la máxima preferencia, dicho tratamiento conduce a la depleción completa de linfocitos B o T CD5+ HLA-DR+.
- 30 **[0050]** Según la invención, el término "sujeto" o "individuo" de tratamiento se aplica a un mamífero humano o no humano (tal como un roedor (ratón, rata), felino, canino o primate) afectado o con probabilidad de ser afectado por enfermedades relacionadas con linfocitos B o T CD5+ HLA-DR+ B. Preferentemente, el sujeto es un ser humano.
- 35 **[0051]** En una realización preferida, la presente solicitud desvela que la al menos una molécula de unión a CD5 y al menos una molécula de unión a HLA-DR tal como se define anteriormente se combina con al menos otro compuesto para el tratamiento de malignidades de linfocitos B o T, enfermedades autoinmunitarias o enfermedades por trasplante y rechazos de injertos.
- 40 **[0052]** Preferentemente, el al menos otro compuesto para el tratamiento de malignidades es un anti-CD20 (RITUXIMAB).
- [0053]** Preferentemente, el al menos otro compuesto para el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias es un anti-CD20 (RITUXIMAB).
- 50 **[0054]** Preferentemente, el al menos otro compuesto para el tratamiento de enfermedades por trasplante y rechazos de injertos es un anticuerpo monoclonal anti-CD3.
- [0055]** La presente solicitud desvela también una composición farmacéutica que comprende al menos una molécula de unión a CD5 tal como se define anteriormente y al menos una molécula de unión a HLA-DR tal como se define anteriormente.
- [0056]** Preferentemente la composición farmacéutica también comprende un soporte farmacéuticamente aceptable.

[0057] Más preferentemente la composición farmacéutica comprende además al menos otro compuesto para el tratamiento de malignidades de linfocitos B o T, enfermedades autoinmunitarias o enfermedades por trasplante y rechazos de injertos tal como se define anteriormente.

5

[0058] La expresión "soporte farmacéuticamente aceptable" se refiere a entidades moleculares y composiciones que no producen una reacción adversa, alérgica u otra reacción desfavorable cuando se administran a un mamífero, especialmente un ser humano, según resulte apropiado. Un soporte o excipiente farmacéuticamente aceptable se refiere a una carga, diluyente, material de encapsulación o formulación auxiliar de cualquier tipo no tóxicos sólidos, semisólidos o líquidos.

10

[0059] La forma de las composiciones farmacéuticas, la vía de administración, la dosificación y el régimen dependen naturalmente de la dolencia que se trata, la gravedad de la enfermedad, la edad, el peso y el sexo del paciente, etc.

15

[0060] Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden formularse notablemente para una forma intravenosa, intramuscular, subcutánea y similar.

[0061] Preferentemente, las composiciones farmacéuticas de la invención contienen vehículos que son farmacéuticamente aceptables para una formulación susceptible de ser inyectada. Puede tratarse en particular de soluciones isotónicas, estériles y salinas (monofosfato o difosfato de sodio, cloruro de sodio, potasio, calcio o magnesio y similares o mezclas de dichas sales), o composiciones en seco, especialmente liofilizadas que tras la adición, según el caso, de agua esterilizada o suero fisiológico salino permiten la constitución de soluciones inyectables.

20

[0062] Para preparar composiciones farmacéuticas, puede disolverse o dispersarse una cantidad eficaz del anticuerpo en un soporte farmacéuticamente aceptable o medio acuoso.

[0063] Las formas farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles; formulaciones que incluyen aceite de sésamo, aceite de cacahuete o propilenglicol acuoso; y polvos estériles para la preparación improvisada de soluciones o dispersiones inyectables estériles. La forma es preferentemente estéril y es líquida en la medida en que existe una fácil inyectabilidad con jeringa. Preferentemente es estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y se preserva frente a la acción contaminante de microorganismos, como bacterias y hongos.

25

[0064] Las soluciones de los compuestos activos como base libre o sales farmacéuticamente aceptables pueden prepararse en agua mezclada de forma adecuada con un tensioactivo, tal como hidroxipropilcelulosa. Las dispersiones pueden prepararse también en glicerol, polietilenglicoles líquidos, y mezclas de los mismos y en aceites. En condiciones corrientes de almacenamiento y uso, estas preparaciones contienen un conservante para prevenir el crecimiento de microorganismos.

30

[0065] Un anticuerpo de la invención puede formularse en una composición en una forma neutra o salina. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de adición ácida (formadas con los grupos amino libres de la proteína) y que se forman con ácidos inorgánicos como, por ejemplo, ácidos clorhídrico o fosfórico, o como ácidos orgánicos tales como acético, oxálico, tartárico, mandélico y similares. Las sales formadas con los grupos carboxilo libres pueden obtenerse también de bases inorgánicas como, por ejemplo, hidróxidos de sodio, potasio, amonio, calcio o férrico, y como bases orgánicas como isopropilamina, trimetilamina, histidina, procaína y similares.

35

[0066] El soporte puede ser también un disolvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido, y similares), mezclas adecuadas de los mismos, y aceites vegetales. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento, tal como lecitina, por el mantenimiento del tamaño de partículas requerido en el caso de dispersión y por el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de los microorganismos puede obtenerse mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares o cloruro de sodio. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede obtenerse mediante el uso en las composiciones de agentes que retrasan la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

40

[0067] Las soluciones inyectables estériles pueden prepararse incorporando los compuestos activos en la

cantidad requerida en el disolvente apropiado con varios de los demás ingredientes enumerados anteriormente, según se necesite, seguido por la esterilización filtrada. En general, las dispersiones se preparan incorporando los diversos ingredientes activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos entre los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la
 5 preparación de soluciones inyectables estériles, los procedimientos de preparación preferidos son técnicas de secado al vacío y liofilización que producen un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente adicional deseado de una solución filtrada estéril del mismo.

[0068] También se contempla la preparación de soluciones más o altamente concentradas para la inyección
 10 directa, en la que se considera que el uso de DMSO como disolvente provoca una penetración extremadamente rápida, que suministra altas concentraciones de los agentes activos a una pequeña zona tumoral.

[0069] A modo de ejemplo, los anticuerpos de la invención pueden administrarse a una concentración de
 15 aproximadamente de 0,001 a 1.000 mg/kg de peso corporal o aproximadamente de 0,01 a 500 mg/kg de peso corporal o aproximadamente de 1 a 200 mg/kg de peso corporal o aproximadamente de 1 a 100 mg/kg de peso corporal o aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal.

[0070] La presente solicitud también desvela un producto que contiene:

20 - una molécula de unión a CD5 tal como se define anteriormente,
 - una molécula de unión a anti-HLA-DR tal como se define anteriormente; como preparación combinada para el uso simultáneo, separado o secuencial en la prevención o tratamiento de enfermedades relacionadas con linfocitos B o T CD5+ HLA-DR+.

25 **[0071]** Una primera molécula de unión puede administrarse antes de, de forma simultánea a o después de la administración de la segunda molécula de unión a un sujeto que tenía, tiene o es susceptible de tener una enfermedad de linfocitos B. Las moléculas de unión a CD5 y las moléculas de unión a HLA-DR se administran a un sujeto en una secuencia y dentro de un intervalo de tiempo tal que la primera molécula de unión puede actuar conjuntamente con la segunda molécula de unión para proporcionar un beneficio mayor que si se administrara de
 30 otra forma. Preferentemente, las moléculas de unión se administran simultáneamente al sujeto con un trastorno de linfocitos B o T CD5+ HLA-DR+. También de forma preferente, las moléculas de unión se administran simultáneamente y cada 2 ó 3 semanas a dicho paciente.

35 **[0072]** La presente solicitud también desvela un anticuerpo anti-CD5.

[0073] En una primera realización, se desvela que el anticuerpo anti-CD5 comprende al menos una CDR cuya secuencia se selecciona entre la SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 2.

40 **[0074]** En otra realización, se desvela que el anticuerpo anti-CD5 comprende:

- (i) una cadena ligera variable que comprende al menos una CDR representada por una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 3, la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5 y/o
- (ii) una cadena pesada variable que comprende al menos una CDR representada por una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 6, la SEQ ID NO: 7, la SEQ ID NO: 8.

45 **[0075]** En otra realización preferida, se desvela que el anticuerpo CD5 comprende una cadena ligera variable de la SEQ ID NO: 1 y/o una cadena pesada variable de la SEQ ID NO: 2.

50 **[0076]** La presente solicitud desvela también una molécula de unión a HLA-DR.

[0077] En una primera realización, se desvela que el anticuerpo HLA-DR comprende al menos una CDR cuya secuencia se selecciona entre la SEQ ID NO: 9 o la SEQ ID NO: 10.

55 **[0078]** En otra realización, se desvela que el anticuerpo HLA-DR comprende:

- (i) una cadena ligera variable que comprende al menos una CDR representada por una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 11, la SEQ ID NO: 12, la SEQ ID NO: 13 y/o
- (ii) una cadena pesada variable que comprende al menos una CDR representada por una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 14, la SEQ ID NO: 15, la SEQ ID NO: 16.

[0079] En otra realización preferida, se desvela que el anticuerpo HLA-DR comprende una cadena ligera variable de la SEQ ID NO: 9 y/o una cadena pesada variable de la SEQ ID NO: 10.

5 FIGURAS

[0080]

La **FIG. 1.** representa la supervivencia de ratones (verticalmente) después de la inyección intravenosa de células JOK1 HLD-DR+ transfectadas CD5+ y tratamiento intravenoso con 10 mg/kg de anticuerpos anti-HLA-DR y anti-CD71 (triángulos), anticuerpos anti-CD5 y anti-HLA/DR (círculos) o anti-CD5 y anti-CD71 (cuadrados) en los días 3, 5, 7 y 11. Se llevó un seguimiento de la supervivencia hasta el día 300 después de la inyección tumoral y se comparó con ratones de control (rombos) injertados con células con JOK1 5.3 y tratados con control de isotipo.

15 La **FIG. 2.** representa la supervivencia de ratones (verticalmente) después de la inyección intravenosa de células JOK-1 CD5+ seguido por tratamiento intravenoso con 10 mg/kg de anticuerpos anti-CD5+ y anti-HLA/DR (triángulos) o Rituximab (cuadrados) en los días 3, 5, 7 y 11. Se llevó un seguimiento de la supervivencia hasta el día 300 después de la inyección tumoral y se comparó con ratones de control (círculos) injertados con células JOK1 5.3 y tratados con control de isotipo.

20

EJEMPLO

MATERIALES

25 [0081] Los anticuerpos usados en el presente estudio son un anticuerpo anti-CD5 que comprende una cadena ligera que consiste en la SEQ ID NO: 1 y una cadena pesada que consiste en la SEQ ID NO: 2 y un anticuerpo anti-HLA-DR que comprende una cadena ligera que consiste en la SEQ ID NO: 9 y una cadena pesada que consiste en la SEQ ID NO: 10.

30 PROCEDIMIENTOS

[0082] Los experimentos con animales se realizaron de acuerdo con los principios de cuidados de los animales de laboratorio y la legislación francesa. Los protocolos experimentales fueron aprobados por el Institutional Ethics Committee for Animal Experimentation of Brittany (autorización b-2005-SL-2003). Se adquirieron ratones SCID CB17 de seis semanas con un peso corporal de 18 a 22 g en Charles River Breeding Laboratories (Francia). Los ratones se mantuvieron en condiciones específicas sin patógenos en una instalación independiente usando jaulas recubiertas con filtros y con alimentos y lecho tratados en autoclave. Todas las manipulaciones se realizaron en una campana de flujo laminar.

40 [0083] Para la inoculación, se recogieron células tumorales CD5+ JOK-1 en fase logarítmica, se lavaron y se volvieron a suspender en 10×10^6 células/0,1 ml en suero salino con tampón de fosfato (PBS) antes de la inyección i.v. en los ratones. Los ratones se dividieron aleatoriamente en grupos y se les inyectaron i.v. anticuerpos en solitario o combinados con una concentración de 10 mg/kg en los días 3, 5, 7 y 11 después de la inoculación tumoral. Se llevó un seguimiento diario de los ratones en busca de parálisis de las patas traseras, a raíz de lo cual los ratones fueron sacrificados y anotados como muertos.

45

EJEMPLO 1: Efecto antileucémico y ventaja de combinar AMc en ratones

RESULTADOS

50

[0084] Se observó el efecto en la supervivencia de los ratones de la inyección de doble combinación de anticuerpos murinos después de inyección i.v. de la línea celular JOK HLA-DR+ transfectada CD5+, que emula el fenotipo de la LLC-B y del linfoma de células del manto. En particular, se analizaron combinaciones en doble: anticuerpos anti-CD5 y anti-CD71, anti-CD5 y anti-HLA/DR o anti-CD71 y anti-HLA/DR. El tratamiento intravenoso con anticuerpos terapéuticos se inició en varias ocasiones y se llevó un seguimiento de su efecto en la supervivencia de ratones.

55

[0085] Se muestra que estas tres combinaciones en doble de anticuerpos murinos podrían prolongar la supervivencia de los ratones SCID con LLC-B en desarrollo y diseminación sistémica (**FIG. 1**). En la **Tabla 1** se

presentan los resultados para cada combinación en el día 300.

[0086] La mejor combinación es la combinación de anticuerpos anti-CD5 y anti-HLA/DR. De hecho, en el día 300 después de la inoculación de células LLC-B, todos los ratones tratados con anti-CD5 y anti-HLA/DR siguen vivos (**FIG. 1**)

Tabla 1- Supervivencia media de ratones tratados con las combinaciones dobles en el día 300

	Días de muerte	Ratones vivos	Supervivencia media
Control	19-19-19-20-20	0/5	19,5 días (19-20)
Combinación 1 (anti-CD5+anti-CD71)	37-42-45-60-82	2/6	45 días
Combinación 2 (anti-CD5+anti-HLA/DR)	ninguno	6/6	>300
Combinación 3 (anti-CD71+anti-HLA/DR)	52-53-53	3/6	52 días

10 EJEMPLO 2: Efecto antileucémico de la combinación anti-CD5 y anti-HLA/DR en comparación con Rituximab

RESULTADOS

[0087] En el día 19, todos los ratones tratados de control habían sucumbido a la LLC-B diseminada, la supervivencia media fue de 19 días (**FIG. 2**).

[0088] Los resultados obtenidos con las combinaciones de anti-CD5 y anti-HLA-DR, se compararon con los obtenidos con un anticuerpo usado en la actualidad para tratamiento terapéutico de LLC-B (Rituximab). En el día 300 después de la inyección de células LLC-B, todos los ratones tratados con anti-CD5 y anti-HLA-DR siguen vivos en comparación con los ratones tratados con rituximab (**FIG. 2**), que habían sucumbido.

[0089] Así, estos resultados revelan que el anti-CD5 murino combinado con el anti-HLA/DR murino presenta una alta ventaja terapéutica, incluso cuando se compara con el presente tratamiento con el anti-CD20 Rituximab.

25 LISTADO DE SECUENCIAS

[0090]

- <110> INSERM Transfert
- 30 <120> Composiciones para tratar enfermedades relacionadas con linfocitos B o T CD5+HLA-DR+
- <130> BET 10P0728
- 35 <150> EP 09 305 434.4
- <151> 2009-05-14
- <160> 16
- 40 <170> PatentIn versión 3.4
- <210> 1
- <211> 107
- <212> PRT
- 45 <213> secuencia artificial
- <220>
- <223> cadena ligera anti-CD5
- 50 <400> 1

ES 2 584 916 T3

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

<210> 2

<211> 118

5 <212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

<223> cadena pesada anti-CD5

10

<400> 2

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln

ES 2 584 916 T3

<213> secuencia artificial

<220>

<223> cadena ligera anti-CD5 CDR3 (L3)

5

<400> 5

Leu Gln Tyr Ala Ser Tyr Pro Phe Thr
1 5

10 <210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> secuencia artificial

15 <220>

<223> cadena pesada anti-CD5 CDR1 (H1)

<400> 6

Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr Tyr
1 5

20

<210> 7

<211> 7

<212> PRT

25 <213> secuencia artificial

<220>

<223> cadena pesada anti-CD5 CDR2 (H2)

30 <400> 7

Ile Ser Tyr Ser Gly Phe Thr
1 5

<210> 8

35 <211> 11

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

40 <223> cadena pesada anti-CD5 CDR3 (H3)

<400> 8

Ala Gly Asp Arg Thr Gly Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

45

<210> 9

<211> 107

<212> PRT

<213> secuencia artificial

50

<220>

<223> cadena ligera anti-HLA-DR

ES 2 584 916 T3

<400> 9

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

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr

20

25

30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Ile Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Lys Leu Pro Trp
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

- 5 <210> 10
- <211> 118
- <212> PRT
- <213> secuencia artificial

- 10 <220>
- <223> cadena pesada anti-HLA-DR

<400> 10

ES 2 584 916 T3

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

<210> 11
 <211> 6
 5 <212> PRT
 <213> secuencia artificial

<220>
 <223> cadena ligera anti-HLA-DR CDR1 (L1)
 10 <400> 11

Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
 1 5

15 <210> 12
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> secuencia artificial

20 <220>
 <223> cadena ligera anti-HLA-DR CDR2 (L2)
 <400> 12

Tyr Thr Ser
 1

25 <210> 13
 <211> 9
 <212> PRT

ES 2 584 916 T3

<213> secuencia artificial

<220>

<223> cadena ligera anti-HLA-DR CDR3 (L3)

5

<400> 13

Gln Gln Tyr Ser Lys Leu Pro Trp Thr
1 5

10 <210> 14

<211> 8

<212> PRT

<213> secuencia artificial

15 <220>

<223> cadena pesada anti-HLA-DR CDR1 (H1)

<400> 14

Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr Gly
1 5

20

<210> 15

<211> 8

<212> PRT

25 <213> secuencia artificial

<220>

<223> cadena pesada anti-HLA-DR CDR2 (H2)

30 <400> 15

Ile Asn Thr Tyr Asn Gly Glu Pro
1 5

<210> 16

35 <211> 11

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

40 <223> cadena pesada anti-HLA-DR CDR3 (H3)

<400> 16

Ala Arg Gly Asp Tyr Tyr Gly Tyr Glu Asp Tyr
1 5 10

45

REIVINDICACIONES

1. Al menos un anticuerpo CD5 y al menos un anticuerpo HLA-DR, en el que el al menos un anticuerpo CD5 es un anticuerpo que comprende:
- 5 (i) una cadena ligera variable que comprende la CDR1 (L1) de secuencia SEQ ID NO: 3, la CDR2 (L2) de secuencia SEQ ID NO: 4 y la CDR3 (L3) de secuencia SEQ ID NO: 5 y,
(ii) una cadena pesada variable que comprende la CDR1 (H1) de secuencia SEQ ID NO: 6, la CDR2 (H2) de secuencia SEQ ID NO: 7 y la CDR3 (H3) de secuencia SEQ ID NO: 8, y
- 10 en el que el al menos un anticuerpo HLA-DR es un anticuerpo que comprende:
- (i) una cadena ligera variable que comprende la CDR1 (L1) de secuencia SEQ ID NO: 11, la CDR2 (L2) de secuencia SEQ ID NO: 12 y la CDR3 (L3) de secuencia SEQ ID NO: 13 y
- 15 (ii) una cadena pesada variable que comprende la CDR1 (H1) de secuencia SEQ ID NO: 14, la CDR2 (H2) de secuencia SEQ ID NO: 15 y la CDR3 (H3) de secuencia SEQ ID NO: 16,
- para su uso como un medicamento.
- 20 2. El al menos un anticuerpo CD5 y al menos un anticuerpo HLA-DR para el uso según la reivindicación 1, en el que el al menos un anticuerpo CD5 y el al menos un anticuerpo HLA-DR son constitutivos de un anticuerpo biespecífico.
3. El al menos un anticuerpo CD5 y al menos un anticuerpo HLA-DR para el uso según las
- 25 reivindicaciones 1 ó 2, en el que el al menos un anticuerpo CD5 es un anticuerpo que comprende una cadena pesada variable de la SEQ ID NO: 2.
4. El al menos un anticuerpo CD5 y al menos un anticuerpo HLA-DR para el uso según cualquiera de las
- reivindicaciones 1 a 3, en el que el al menos un anticuerpo CD5 es un anticuerpo que comprende una cadena ligera
- 30 variable de la SEQ ID NO: 1 y una cadena pesada variable de la SEQ ID NO: 2.
5. El al menos un anticuerpo CD5 y al menos un anticuerpo HLA-DR para el uso según cualquiera de las
- reivindicaciones 1 a 4 en el que el al menos un anticuerpo HLA-DR es un anticuerpo que comprende una cadena
- 35 pesada variable de la SEQ ID NO: 10.
6. El al menos un anticuerpo CD5 y al menos un anticuerpo HLA-DR para el uso según cualquiera de las
- reivindicaciones 1 a 5, en el que el al menos un anticuerpo HLA-DR es un anticuerpo que comprende una cadena
- ligera variable de la SEQ ID NO: 9 y una cadena pesada variable de la SEQ ID NO: 10.
- 40 7. El al menos un anticuerpo CD5 y al menos un anticuerpo HLA-DR para el uso según la reivindicación 2, en el que dicho anticuerpo biespecífico comprende una cadena ligera variable de la SEQ ID NO: 1, una cadena pesada variable de la SEQ ID NO: 2, una cadena ligera variable de la SEQ ID NO: 9 y una cadena pesada variable de la SEQ ID NO: 10.
- 45 8. El al menos un anticuerpo CD5 y al menos un anticuerpo HLA-DR para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que dicho anticuerpo está conjugado o fusionado con un agente citotóxico.
9. El al menos un anticuerpo CD5 y al menos un anticuerpo HLA-DR para el uso según una cualquiera
- de las reivindicaciones 1 a 8, en el que dicho medicamento es para prevenir o tratar enfermedades relacionadas con
- 50 linfocitos B o T CD5+ HLA-DR+ seleccionados en el grupo que consiste en malignidades de linfocitos B o T, enfermedades autoinmunitarias de linfocitos B o T, enfermedades por trasplante y rechazos de injertos.
10. El al menos un anticuerpo CD5 y al menos un anticuerpo HLA-DR para el uso según una cualquiera
- de las reivindicaciones 1 a 9, en el que dicho al menos un anticuerpo de unión a CD5 y al menos un anticuerpo HLA-
- 55 DR se combina con al menos otro compuesto para el tratamiento malignidades de linfocitos B o T, enfermedades autoinmunitarias, enfermedades por trasplante y rechazos de injertos.
11. El al menos un anticuerpo CD5 y al menos un anticuerpo HLA-DR para el uso según la reivindicación
- 10, en el que dicho al menos otro compuesto para el tratamiento de malignidades de linfocitos B o T o enfermedades

autoinmunitarias es un anti-CD20.

12. El al menos un anticuerpo CD5 y al menos un anticuerpo HLA-DR para el uso según la reivindicación 10, en el que dicho al menos otro compuesto para el tratamiento de enfermedades por trasplante y rechazos de injertos es un anti-CD3.
13. El al menos un anticuerpo CD5 y al menos un anticuerpo HLA para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, en el que dichas malignidades de linfocitos B o T se seleccionan entre el grupo que consiste en leucemia linfocítica crónica, linfoma de células del manto, algunos linfomas de linfocitos B grandes difusos, leucemia linfocítica crónica de linfocitos T y leucemia de linfocitos T del adulto (LTA).
14. El al menos un anticuerpo CD5 y al menos un anticuerpo HLA-DR para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, en el que dicha enfermedad autoinmunitaria de linfocitos B o T se selecciona entre el grupo que consiste en artritis reumatoide, psoriasis, lupus eritematoso sistémico, enfermedad de Castelman, tiroiditis crónica y esclerosis múltiple.
15. El al menos un anticuerpo CD5 y al menos un anticuerpo HLA-DR para el uso según la reivindicación 9, 10 y 12, en el que dicha enfermedad relacionada con linfocitos B o T es una enfermedad de injerto contra el huésped o una activación de linfocitos T del hospedador después de rechazos de injertos.
16. El al menos un anticuerpo CD5 y al menos un anticuerpo HLA-DR para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en el que dicho al menos un anticuerpo CD5 y dicho al menos un anticuerpo HLA-DR están formulados en una composición farmacéutica.
17. El al menos un anticuerpo CD5 y al menos un anticuerpo HLA-DR para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en el que dicho al menos un anticuerpo CD5 y dicho al menos un anticuerpo HLA-DR están formulados en una preparación combinada para uso simultáneo, separado o secuencial.

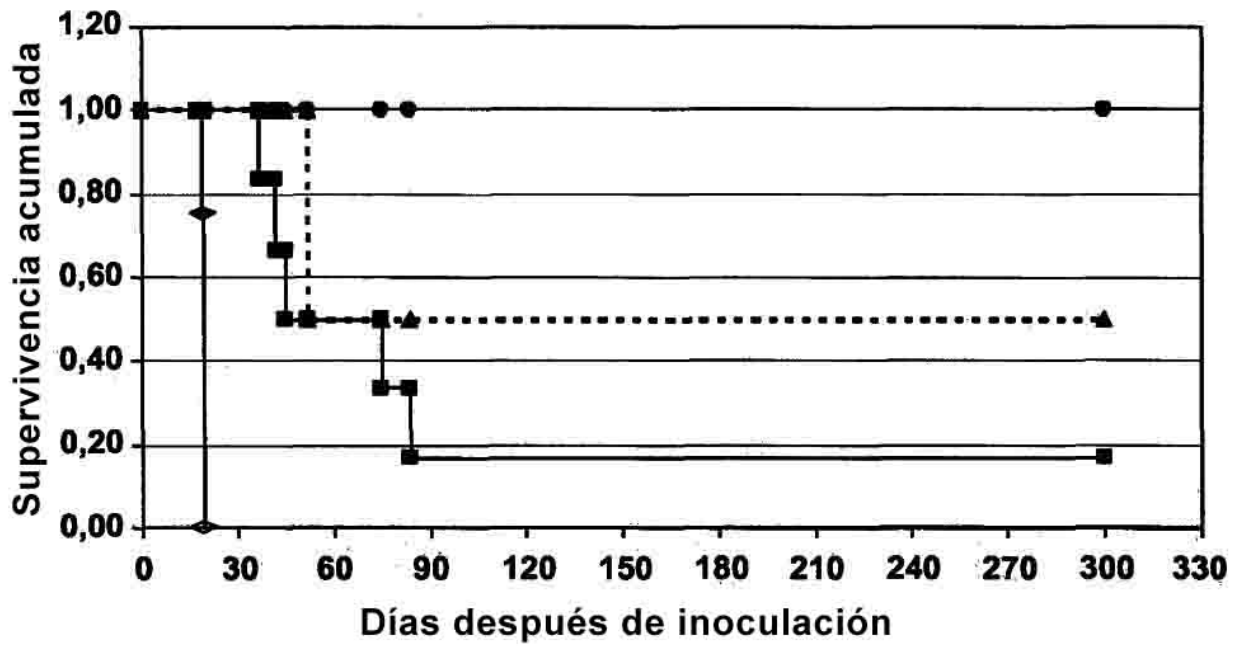


FIG.1

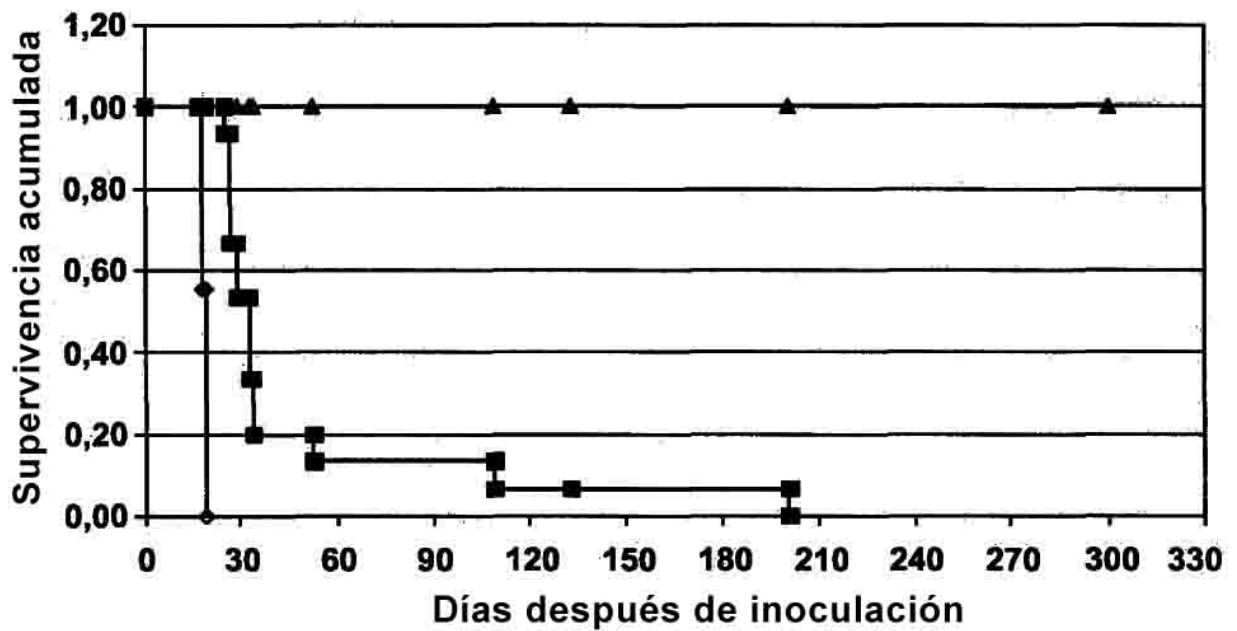


FIG.2