

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 617 983**

51 Int. Cl.:

C07K 16/30 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.01.2012 PCT/EP2012/050295**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.07.2012 WO2012095412**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.01.2012 E 12701463 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.12.2016 EP 2663580**

54 Título: **Terapia de combinación que incluye anticuerpos de unión a antígenos asociados a tumores**

30 Prioridad:

10.01.2011 EP 11150527

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.06.2017

73 Titular/es:

**CT ATLANTIC LTD. (50.0%)
Wagistrasse 14
8952 Schlieren, CH y
UNIVERSITÄT ZÜRICH (50.0%)**

72 Inventor/es:

**ESSLINGER, CHRISTOPH;
KNUTH, ALEXANDER;
TREDER, MARTIN;
VAN DEN BROEK, MARIES y
JAEGER, ELKE**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 617 983 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).

DESCRIPCION

Terapia de combinación que incluye anticuerpos de unión a antígenos asociados a tumores

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a combinaciones de anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a un antígeno asociado a tumor y compuestos capaces de activar el sistema inmunológico. La presente invención se refiere además al uso de estas combinaciones para el tratamiento de enfermedades, en particular enfermedades hiperproliferativas y a los métodos para el tratamiento de enfermedades, en particular enfermedades hiperproliferativas con estas combinaciones.

Antecedentes de la invención

10 En la terapia del cáncer, es un objetivo general tratar los tejidos afectados tan eficiente y selectivamente como sea posible. Los anticuerpos monoclonales terapéuticos han sido concebidos como una clase de agentes farmacéuticamente activos que deberían permitir el tratamiento selectivo del tumor al dirigirse a antígenos o epítomos selectivos del tumor.

15 Sin embargo, en algunos tipos de cáncer, por ejemplo los relacionados con los receptores de factores de crecimiento humano tal como HER-2 R o EGFR, los epítomos a los que se dirigen los anticuerpos terapéuticos también se encuentran en los tejidos normales lo que explica los efectos secundarios adversos tras la administración de anticuerpos o los efectos sink periféricos en el comportamiento farmacocinético de estos anticuerpos.

20 Una situación similar ocurre al aplicar fármacos estimulantes inmunoactivos sistemáticamente o anticuerpos administrados para estimular una respuesta inmune natural para combatir el cáncer. Estos inmunoestimulantes son por ejemplo los activadores del sistema inmune innato, como los activadores de los receptores TLR-7 o TLR-9.

25 Los anticuerpos monoclonales han disfrutado, sin embargo, de una aceptación creciente como herramientas terapéuticas para el tratamiento del cáncer durante las últimas décadas. El advenimiento de los anticuerpos quiméricos y de los anticuerpos humanizados contribuyó significativamente al éxito de los anticuerpos terapéuticos monoclonales ya que estos anticuerpos monoclonales de segunda y tercera generación mostraron perfiles de efectos secundarios mejorados en comparación con los anticuerpos monoclonales derivados de ratón originales en vista de su inmunogenicidad reducida.

30 A pesar de la eficacia terapéutica probada de los anticuerpos humanizados, existe un interés en los anticuerpos totalmente humanos. Sin embargo, la producción de los mismos es todavía propensa a dificultades técnicas. Por ejemplo, la generación de anticuerpos completamente humanos en ratones en los que el anticuerpo que codifica regiones genómicas ha sido sustituido por la contraparte humana sigue siendo onerosa. Los enfoques alternativos, como la presentación de fagos carecen de la variabilidad natural y de la complejidad del sistema inmunológico humano.

35 Existe, por lo tanto una necesidad razonada de anticuerpos monoclonales terapéuticos que permitan un modo de acción localizado (tumor) y que tengan una mayor probabilidad de responder a la aprobación regulatoria. Además, existe un interés en terapias contra el cáncer en general que permita una eficacia mejorada.

Objetivos y resumen de la invención

40 Un objetivo de la presente invención es proporcionar combinaciones de agentes farmacéuticamente activos que se pueden utilizar como herramienta terapéutica para el tratamiento de enfermedades humanas, incluyendo enfermedades hiperproliferativas como el cáncer. En particular, un objeto de la presente invención es proporcionar combinaciones de agentes farmacéuticamente activos que pueden ser utilizados para tratar selectivamente enfermedades hiperproliferativas, asegurando una reacción inmune localizada en el tejido afectado.

45 Un objetivo adicional de la presente invención es proporcionar anticuerpos que se pueden utilizar como herramienta terapéutica para el tratamiento de enfermedades humanas, incluyendo enfermedades hiperproliferativas como el cáncer. En particular, un objeto de la presente invención es proporcionar anticuerpos humanos que pueden ser utilizados para tratar selectivamente enfermedades hiperproliferativas asegurando una reacción inmune localizada en el tejido afectado.

Además, un objeto de la presente invención es proporcionar métodos de tratamiento de pacientes que padecen, por ejemplo, enfermedades hiperproliferativas como el cáncer mediante el uso de estas combinaciones de agentes farmacéuticamente activos y de anticuerpos.

50 Estos y otros objetos que se pondrán de manifiesto en la descripción que sigue a continuación, se resuelven con la materia objeto de las reivindicaciones independientes. Algunas de las realizaciones preferidas de la presente invención son el objeto de las reivindicaciones dependientes. Sin embargo, otras realizaciones de la presente invención se pueden extraer de la siguiente descripción.

En un primer aspecto, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a un antígeno asociado a tumor (TAA) y al menos un compuesto capaz de activar el sistema inmunológico.

- 5 Como se pondrá de manifiesto en la descripción siguiente, estos anticuerpos o los fragmentos de los mismos que se unen a TAA, lo hacen preferiblemente a antígenos CT con NY-ESO-1 que es un ejemplo de los mismos. Los anticuerpos específicos de tumores que se unen a los antígenos asociados a tumores NY-ESO-1 se describen en el documento WO2008/110372. Estos anticuerpos o fragmentos de los mismos pueden ser anticuerpos quiméricos monoclonales, humanizados o humanos o sus fragmentos. Son preferibles los anticuerpos monoclonales humanos, derivados de pacientes.
- 10 Un ejemplo de anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1 puede comprender una cadena pesada variable y/o una cadena ligera variable de los anticuerpos 12D7, 12D7*, 31E4, 30D6, 15B12, 22A1, 1H12, 10E1 o 1D4, o una cadena pesada variable y/o una cadena ligera variable que tienen al menos un 80% de identidad de secuencia con la cadena pesada variable y/o con la cadena ligera variable de los anticuerpos 12D7, 12D7*, 31E4, 30D6, 15B12, 22A1, 1H12, 10E1 o 1D4.
- 15 Otro ejemplo preferido de anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1 puede comprender las regiones determinantes de la complementariedad (CDR) de los anticuerpos 12D7, 12D7*, 31E4, 30D6, 15B12, 22A1, 1H12, 10E1 o 1D4 en la cadena pesada variable y/o en la cadena ligera variable. Estos anticuerpos también pueden comprender las CDR de la cadena pesada variable y/o de la cadena ligera variable que tienen al menos un 80% de identidad de secuencia con las CDR de los anticuerpos 12D7, 12D7*, 31E4, 30D6, 15B12, 22A1, 1H12, 10E1 o 1D4.
- 20 Como se pondrá de manifiesto en la siguiente descripción, los compuestos capaces de activar la respuesta inmune se pueden seleccionar preferiblemente de, al menos un estimulante natural o de, al menos un coestimulante del sistema inmune, un activador agonista de estimulantes naturales o de, al menos un coestimulante del sistema inmune, de al menos un efector antagonista de inhibidores naturales o de, al menos coinhibidores del sistema inmune como se describe más adelante. Algunos ejemplos representativos preferidos son CD40L, anticuerpos agonistas anti-CD40 como CP-870,893 y SGN-40 y anticuerpos antagonistas anti CTLA4 como Tremelimumab e Ipilimumab.
- 25

Por lo tanto, los ejemplos de realización preferidos se refieren a composiciones farmacéuticas que comprenden (i) los anticuerpos o los fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1, anteriormente mencionados, y (ii) CD40L, o anticuerpos agonistas anti-CD40 como CP-870,893 y SGN-40, o anticuerpos antagonistas anti CTLA4 como Tremelimumab e Ipilimumab.

30

En una realización, la composición farmacéutica puede comprender (i) un anticuerpo o un fragmento de unión que se une a TAA como se describió anteriormente, (ii) al menos un estimulante natural o, al menos, un coestimulante del sistema inmune o, al menos, un activador agonista de estimulantes naturales o, al menos, coestimulantes del sistema inmune y (iii) al menos un efector antagonista de los inhibidores naturales o, al menos, coinhibidores del sistema inmune tal como se describe en lo sucesivo. Algunos ejemplos de realizaciones preferidas se refieren a composiciones farmacéuticas que comprenden (i) los anticuerpos o los fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1, mencionados anteriormente, (ii) CD40L o anticuerpos agonistas anti-CD40, como CP-870,893 o SGN-40 y (iii) los anticuerpos antagonistas anti CTLA4 como Tremelimumab e Ipilimumab.

35

En un segundo aspecto de la invención, los agentes farmacéuticamente activos antes mencionados, es decir, los anticuerpos o los fragmentos de los mismos que se unen a TAA y los compuestos capaces de estimular el sistema inmune, no se combinan en una única composición farmacéutica, sino que en realidad se presentan en forma de un kit que consiste en varias composiciones farmacéuticas en las que los agentes activos se separan, al menos en cierta medida, entre las diversas composiciones farmacéuticas.

40

Por ejemplo, una composición farmacéutica de un kit de este tipo puede comprender, un anticuerpo o fragmento del mismo, tal como un anticuerpo o un fragmento del mismo que se une a NY-ESO-1, mientras que una segunda composición farmacéutica puede comprender al menos un activador agonista de estimulantes naturales o, al menos, de coestimulantes del sistema inmune como los anticuerpos agonistas anti-CD40 o, al menos, un efector agonista de los inhibidores naturales o, al menos, de coinhibidores del sistema inmune, como los anticuerpos antagonistas anti CTLA4.

45

En las realizaciones en las que el kit comprende un anticuerpo o un fragmento del mismo y, al menos ambos, un activador agonista de estimulantes naturales y al menos, coestimulantes del sistema inmune, como los anticuerpos agonistas anti-CD40, y al menos un efector antagonista de inhibidores naturales o, al menos coinhibidores del sistema inmune, como los anticuerpos antagonistas anti CTLA4, una composición farmacéutica de un kit de este tipo puede comprender un anticuerpo o un fragmento del mismo que se une a TAA, tal como un anticuerpo o un fragmento del mismo que se une a NY-ESO-1, mientras que una segunda composición farmacéutica puede comprender al menos un activador agonista de estimulantes naturales o, al menos, coestimulantes del sistema inmune, como los anticuerpos agonistas anti-CD40, y una tercera composición farmacéutica puede comprender al menos un efector antagonista los inhibidores naturales o por lo menos coinhibidores del sistema inmune, como los

50

55

anticuerpos antagonistas anti CTLA4. Como alternativa a estas, la segunda composición farmacéutica puede comprender ambos, al menos un activador agonista de estimulantes naturales y al menos coestimulantes del sistema inmune, como los anticuerpos agonistas anti-CD40 y al menos un efector antagonista los inhibidores naturales o, al menos, coinhibidores del sistema inmune como los anticuerpos antagonistas anti CTLA4.

- 5 Estos kits permiten el tratamiento de los pacientes mediante la administración sucesiva y/o al menos parcialmente simultánea de las diversas preparaciones farmacéuticas que forman el kit y por lo tanto pueden permitir un régimen de tratamiento optimizado en el tiempo de las combinaciones mencionadas anteriormente.

La presente invención se refiere también, a una combinación de al menos un anticuerpo o un fragmento del mismo que se une a un antígeno asociado a un tumor (TAA) y al menos un compuesto capaz de activar el sistema inmune, para uso en el tratamiento de una enfermedad tal como una enfermedad hiperproliferativa. El anticuerpo o los fragmentos del mismo que se une a TAA y el al menos un compuesto capaz de activar el sistema inmunológico pueden seleccionarse como se describe a continuación.

Como se describe a continuación, las combinaciones de agentes activos según la invención, es decir los anticuerpos o los fragmentos de los mismos que se unen a TAA y los compuestos que son capaces de estimular el sistema inmunológico, puede proporcionar una eficacia mejorada si los pacientes son sometidos a un tratamiento citotóxico previo, simultáneo o posterior a la administración de las citadas composiciones farmacéuticas, kits o combinaciones que comprenden estos agentes activos. Puede ser preferible que los pacientes reciban este tratamiento citotóxico antes o simultáneamente a la administración de las composiciones farmacéuticas, kits, o combinaciones antes mencionadas que comprenden dichos agentes activos.

15 Si este tratamiento citotóxico comprende la administración de agentes citotóxicos, estos agentes citotóxicos pueden estar incluidos en las composiciones farmacéuticas o en los kits según la invención. Un representante preferido de estos agentes citotóxicos es 5-fluorouracilo (5-FU).

En un tercer aspecto, las composiciones farmacéuticas y los kits según la invención, se pueden usar para tratar a pacientes que sufren o que se sospecha que son propensos a enfermedades hiperproliferativas, como el cáncer.

25 Preferiblemente, las composiciones farmacéuticas y los kits según la invención se pueden usar para tratar a pacientes que sufren o que se sospecha que son propensos a los cánceres que se caracterizan por la expresión de TAA, como los cánceres que se caracterizan por la expresión de los antígenos CT.

Si el anticuerpo o un fragmento del mismo que se une a TAA, comprendido en las composiciones farmacéuticas y kits según la invención, es un anticuerpo o un fragmento del mismo que se une a NY-ESO-1, puede preferirse para el tratamiento de cánceres como el cáncer de pulmón de células no pequeñas, el melanoma, el cáncer de esófago, el cáncer de vejiga, el cáncer hepatocelular o el cáncer de próstata. Si el anticuerpo o un fragmento del mismo que se une a TAA es, por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento del mismo que se une a MAGE-3, puede preferirse para el tratamiento de cánceres como el melanoma, el cáncer de células no pequeñas o el mieloma múltiple. Si el anticuerpo o un fragmento del mismo que se une a TAA o es, por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento del mismo que se une a MAGE-1, puede preferirse para el tratamiento de cánceres como el cáncer de pulmón de células no pequeñas, el melanoma, el cáncer hepatocelular, el cáncer de vejiga, el cáncer de cabeza y cuello o el cáncer de esófago.

La presente invención se refiere por lo tanto también, a un medicamento para uso en el tratamiento de un paciente, en donde se utiliza una composición farmacéutica o un kit como se describe más adelante. Los anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a TAA pueden ser preferiblemente anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a antígenos CT y compuestos capaces de activar la respuesta inmune que pueden seleccionarse preferiblemente de al menos un estimulante natural o, al menos, un coestimulante del sistema inmune, un activador de agonistas de estimulantes naturales o, al menos, de coestimulantes del sistema inmune o, al menos, de un efector antagonista de inhibidores naturales o, al menos, de coinhibidores del sistema inmune como se describe más adelante. En algunas realizaciones, se prevé una combinación de anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1, como se ha mencionado en el presente documento, de anticuerpos agonistas anti-CD40 como CP-870,893 y de SGN-40 y/o anticuerpos antagonistas anti CTLA4 como Tremelimumab y Ipilimumab.

Estos medicamentos se pueden usar para los pacientes que están sometidos a un tratamiento citotóxico previo, simultáneo o posterior a la administración de dichos medicamentos. En una realización, el tratamiento citotóxico puede incluir quimioterapia.

Estos medicamentos pueden usarse en particular para el tratamiento enfermedades hiperproliferativas tal como el cáncer.

La presente invención también se refiere al uso de una composición farmacéutica o un kit, como se describe a continuación, en la preparación de un medicamento para tratar a un paciente. Los anticuerpos o fragmentos que se unen a TAA pueden ser preferiblemente, anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen al antígeno CT y los compuestos capaces de activar la respuesta de unión inmune, pueden seleccionarse preferiblemente de al menos

5 un estimulante natural o, al menos, un coestimulante del sistema inmune, un activador agonista de estimulantes naturales o, al menos, coestimulantes del sistema inmune o, al menos, un efector antagonista de inhibidores naturales o, al menos, coinhibidores del sistema inmune, como se describe más adelante. En algunas realizaciones, se prevé una combinación de anticuerpos o de fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1, como se mencionan en el presente documento, de anticuerpos agonistas anti-CD40, como CP-870,893 y SGN-40, y/o de anticuerpos antagonistas anti CTLA4, como Tremelimumab e Ipilimumab.

Estos medicamentos se pueden usar en los pacientes que se someten a tratamiento citotóxico antes, simultáneamente, o posteriormente a la administración de estos medicamentos. En una realización, el tratamiento citotóxico puede incluir quimioterapia.

10 Estos medicamentos pueden usarse en particular para el tratamiento enfermedades hiperproliferativas tal como el cáncer.

15 La presente invención también se refiere a un método de tratamiento de un paciente mediante la administración de una composición farmacéutica o un kit como se describe de aquí en adelante. Los anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a TAA pueden ser preferiblemente anticuerpos que se unen al antígeno CT, y los compuestos capaces de activar la respuesta inmune pueden seleccionarse preferiblemente de al menos un estimulante natural o, al menos, un coestimulante del sistema inmune, un activador agonista de estimulantes naturales o, al menos, coestimulantes del sistema inmune o, al menos, un efector antagonista los inhibidores naturales o, al menos, coinhibidores del sistema inmune como se describe más adelante. En algunas realizaciones, se prevé una combinación de los anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1, como se ha mencionado en el presente documento, anticuerpos agonistas anti-CD40 como CP-870,893 y SGN-40 y/o anticuerpos antagonistas anti CTLA4 como Tremelimumab e Ipilimumab.

Estos medicamentos se pueden utilizar en los pacientes que se someten a un tratamiento citotóxico previo, simultáneo, o posterior a la administración de estos medicamentos. En una realización, el tratamiento citotóxico puede incluir quimioterapia.

25 Estos métodos pueden ser considerados para el tratamiento enfermedades hiperproliferativas tales como el cáncer.

30 La presente invención también se refiere a composiciones de diagnóstico que comprenden las composiciones farmacéuticas y kits según la invención, y al uso de las composiciones farmacéuticas y kits según la invención como herramientas de diagnóstico. Estas composiciones y las herramientas de diagnóstico se pueden usar para diagnosticar a los pacientes, por ejemplo, de cánceres caracterizados por una expresión alterada de TAA, como NY-ESO-1 y de factores inmunomoduladores como CD40 y CTLA4. La presente invención se refiere además a los métodos de diagnóstico que utilizan las composiciones y métodos de diagnóstico mencionados anteriormente.

En otro aspecto, la presente invención también se refiere a los anticuerpos individuales específicos y a los fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1, tal y como se describe en el contexto de la presente invención.

35 Estos anticuerpos o fragmentos de los mismos incluyen 12D7, 12D7*, 31E4, 30D6, 15B12, 22A1, 1H12, 10E1 y 1D4. Estos anticuerpos o fragmentos de los mismos incluyen además anticuerpos o fragmentos de los mismos que comprenden una cadena pesada variable y/o una cadena ligera variable de los anticuerpos 12D7, 12D7*, 31E4, 30D6, 15B12, 22A1, 1H12, 10E1 o 1D4 o una cadena pesada variable y/o una cadena ligera variable que tienen al menos un 80% de identidad de secuencia con la cadena pesada variable y/o con la cadena ligera variable de los anticuerpos 12D7, 12D7*, 31E4, 30D6, 15B12, 22A1, 1H12, 10E1 o 1D4. Estos anticuerpos o fragmentos de los mismos incluyen además anticuerpos o fragmentos de los mismos que comprenden regiones determinantes de la complementariedad (CDR) de los anticuerpos 12D7, 12D7*, 31E4, 30D6, 15B12, 22A1, 1H12, 10E1 o 1D4 dentro de su cadena pesada variable y/o de la cadena ligera variable. Dichos anticuerpos o fragmentos de los mismos también pueden comprender CDR dentro de su cadena pesada variable y/o de la cadena ligera variable con al menos un 40 80% de identidad de secuencia con las CDR de los anticuerpos 12D7, 12D7*, 31E4, 30D6, 15B12, 22A1, 1H12, 10E1 o 1D4.

45 Todos estos anticuerpos individuales específicos o fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1, tienen en común que, o bien se han obtenido directamente de los pacientes que han recibido una vacuna NY-ESO-1 y que han presentado una evolución clínica favorable de la enfermedad, o se derivan de anticuerpos de estos pacientes. Por consiguiente, son anticuerpos monoclonales humanos derivados del paciente. Pueden aislarse anticuerpos humanos monoclonales comparables, de pacientes que han desarrollado espontáneamente anticuerpos de unión a antígenos de CT tal como por ejemplo, anticuerpos que se unen a NY-ESO-1 o anticuerpos que se unen a MAGE, es decir, en ausencia de vacuna con NY-ESO-1 o MAGE durante el desarrollo del tumor y que presentan una evolución clínica favorable de la enfermedad.

55 La presente invención se refiere además a las moléculas de ácido nucleico que codifican para dichos anticuerpos, a las moléculas de ácido nucleico que codifican para las cadenas ligeras y/o pesadas variables de los mismos y a las

moléculas de ácido nucleico que codifican para las CDR1, CDR2 y/o CDR3 de las cadenas ligeras y/o pesadas variables de las mismas.

La presente invención se refiere además a los vectores que comprenden dichas moléculas de ácidos nucleicos y/o a dichos vectores.

- 5 La presente invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden estos anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen de manera específica a NY-ESO-1.

La presente invención se refiere además a composiciones farmacéuticas que comprenden estos anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen de manera específica a NY-ESO-1, para uso en el tratamiento de enfermedades hiperproliferativas, en particular de los tumores que expresan NY-ESO-1.

- 10 La presente invención además se refiere al uso de estos anticuerpos o a los fragmentos de los mismos que se unen de manera específica a NY-ESO-1, en la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades hiperproliferativas, en particular de los tumores que expresan NY-ESO-1.

- 15 La presente invención se refiere además a métodos de tratamiento de enfermedades hiperproliferativas, en particular de los tumores que expresan NY-ESO-1 mediante la administración a pacientes de estos anticuerpos o de fragmentos de los mismos que se unen de manera específica a NY-ESO-1.

La presente invención se refiere además a una composición de diagnóstico que comprende dichos anticuerpos o los fragmentos de los mismos que se unen de manera específica a NY-ESO-1, para uso en el diagnóstico de enfermedades hiperproliferativas, en particular de los tumores que expresan NY-ESO-1.

- 20 La presente invención se refiere además al uso de dichos anticuerpos o los fragmentos de los mismos que se unen de manera específica a NY-ESO-1, en la preparación de una composición de diagnóstico, para enfermedades hiperproliferativas, en particular de los tumores que expresan NY-ESO-1.

La presente invención se refiere además a métodos de diagnóstico de enfermedades hiperproliferativas, en particular los tumores que expresan NY-ESO-1 mediante el uso de estos anticuerpos o los fragmentos de los mismos que se unen de manera específica a NY-ESO-1.

- 25 Leyendas de las figuras

Fig.. 1: La administración conjunta de un anticuerpo agonista CD40 mejora la reducción del crecimiento del tumor por medio del anticuerpo monoclonal humano anti-NY-ESO-1 más la quimioterapia.

- 30 Los ratones fueron inoculados con células de carcinoma de colon CT26/NY-ESO-1 de ratón en el día 0. Los ratones fueron tratados con 5-FU inyectado en el peritoneo en los días 14 y 21. Se administró el anticuerpo agonista CD40 por vía intravenosa solo o en combinación con el anticuerpo monoclonal humano anti-NY-ESO-1-12D7 en los días 16 y 23. El tamaño del tumor (área) se midió en los días 5; 9; 14; 16; 21; 23; 26 y 28. Grupos de tratamiento: Sin tratamiento, solo con 5-FU (5-FU), con 5-FU en combinación con el anticuerpo monoclonal humano anti-NY-ESO-1 12D7 (5FU + 12D7), con 5-FU y el anticuerpo agonista CD40 (5-FU + agonista CD40) y con 5-FU, el anticuerpo agonista CD40 y 12D7 (5-FU + 12D7 + agonista CD40).

- 35 **Descripción detallada de la invención**

Antes de describir la invención en detalle con respecto a algunas de sus realizaciones preferidas, se proporcionan las siguientes definiciones generales.

- 40 La presente invención descrita de manera ilustrativa a continuación, puede ser llevada a cabo adecuadamente en ausencia de cualquier elemento o elementos, limitación o limitaciones, no descritos específicamente en la siguiente memoria.

La presente invención se describirá con respecto a realizaciones particulares y con referencia a determinadas figuras, pero la invención no está limitada por las mismas sino solamente por las reivindicaciones.

- 45 Cuando se utiliza en la presente descripción y reivindicaciones la expresión "que comprende", no excluye otros elementos. A los efectos de la presente invención, el término "que consiste en" se considera que es una forma de realización preferida de la expresión "que comprende". Si en lo sucesivo se define un grupo que comprende al menos un cierto número de formas de realización, esto se entiende que también describe un grupo que preferiblemente consiste sólo en estas formas de realización.

- 50 A los efectos de la presente invención, el término "obtenido" se considera que es una realización preferida del término "obtenible". Si en lo sucesivo, por ejemplo, un anticuerpo se define como obtenible a partir de una fuente específica, se entiende que también describe un anticuerpo que se obtiene a partir esta fuente.

- 5 Cuando un artículo indefinido o definido se utiliza para referirse a un nombre singular, por ejemplo, "un", "una" o "la", esto incluye el plural de ese sustantivo a menos que se indique específicamente lo contrario. Los términos "aproximadamente de" o "aproximadamente" en el contexto de la presente invención indican un intervalo de exactitud que el experto en la materia entenderá que garantiza el efecto técnico de la característica en cuestión. El término normalmente indica la desviación del valor numérico indicado $\pm 10\%$, y preferiblemente $\pm 5\%$.
- Los términos técnicos se utilizan con su sentido común. Si ciertos términos expresan un significado específico, en la siguiente memoria se darán las definiciones de los términos en el contexto en los que se utiliza.
- 10 La presente invención se basa, entre otras cosas en el hallazgo experimental de que los ratones con un tumor de colon positivo para NY-ESO-1 singénico que se trataron con 5-FU presentan infiltraciones de células T CD4⁺, CD8⁺ después de la administración del anticuerpo 12D1 que se une a NY-ESO-1 y que este efecto es más pronunciado tras la administración adicional de anticuerpos agonistas anti-CD40. Como consecuencia de estos tratamientos, el tamaño del tumor se reduce.
- 15 Sin querer limitarse a esta hipótesis, se asume que la administración de anticuerpos que se unen a TAA como el anticuerpo 12D7 que se une al antígeno CT, desencadena una respuesta inmunitaria que desde una perspectiva terapéutica (por ejemplo, en términos de destrucción del tumor) se localiza en el sitio del tumor. Parece que este tipo de respuesta inmune localizada se puede aumentar y/o prolongar aún más, mediante la administración de compuestos que son capaces de activar el sistema inmunitario, como los anticuerpos agonistas CD40.
- 20 Este enfoque combinado de utilización muy selectiva de los agentes dirigidos a tumores (es decir, de anticuerpos que se unen a TAA) con los que se pueden denominar agentes inmunomoduladores de banda ancha (es decir, compuestos capaces de estimular una respuesta inmune) e incluso con agentes citotóxicos inespecíficos, puede ofrecer varias ventajas que pueden mejorar significativamente la terapia de la enfermedad.
- 25 La quimioterapia estándar con compuestos como 5-FU, las terapias centradas en inmunomoduladores generales, por ejemplo, a través agonistas del receptor toll-7 o toll-9, agonistas del receptor CD-40, anticuerpos antagonistas anti CTLA-4 y las terapias aún más dirigidas en las que participen anticuerpos terapéuticos dirigidos contra el receptor EGF o el receptor HER-2, presentan varios efectos secundarios.
- La quimioterapia con agentes citotóxicos afecta en general a las células en división. Los moduladores inmunológicos incrementan otras reacciones inmunes dirigidas no tumorales, así como las reacciones autoinmunes adversas. Los anticuerpos dirigidos a los receptores EGF o a los receptores HER-2 tienen una relevancia funcional no sólo en tejido tumoral sino también en otras células normales diferenciadas, por ejemplo, el corazón.
- 30 Estas propiedades conducen a efectos secundarios "off-target" (siendo el tumor el objetivo) que pueden, por ejemplo, limitar la dosis y por lo tanto la eficacia de estos principios terapéuticos, extremadamente importantes terapéuticamente, en otras circunstancias.
- 35 Mediante el uso de anticuerpos que se unen a TAA y preferiblemente de anticuerpos que se unen al antígeno CT, que son anticuerpos monoclonales humanos derivados de pacientes como se describe a continuación, los efectos terapéuticamente importantes de los inmunomoduladores activos sistémicamente pueden aumentar, ya que estas actividades parecen estar más limitadas a las áreas de interés terapéutico, es decir, al tejido tumoral que se preselecciona a través de los anticuerpos que se unen a TAA, tal como los anticuerpos que se unen a NY-ESO-1. Esta supuesta preselección de la zona de interés terapéutico, es decir, el tejido tumoral, por los anticuerpos que se unen a TAA y la concentración de la actividad de los agentes inmunomoduladores de banda ancha a estas áreas de interés terapéutico, deberían limitar los efectos adversos "off-target" relacionados, al menos hasta cierto punto. Esto debería permitir, a su vez, por ejemplo, el uso de agentes inmunomoduladores como los anticuerpos agonistas anti-CD40 a concentraciones más altas de lo habitual y beneficiarse de este modo, en mayor medida, de su potencial terapéutico. También se pueden prever regímenes de dosificación más eficaces, como la reducción de los intervalos de administración posterior a los agentes farmacéuticamente activos.
- 40 Dado que la respuesta inmune inicial está dirigida de manera selectiva sólo al tejido tumoral por el anticuerpo que se une a TAA, el aumento adicional parece que también efectuarse preferentemente en el tejido tumoral únicamente. Esta respuesta inmune localizada específica de tumor integrada, puede ser particularmente eficaz si la quimioterapia, por ejemplo con 5-FU, hace que el TAA este fácilmente accesible para los anticuerpos que se unen a TAA.
- 45 Sobre la base de las observaciones anteriores, parece justificado que los efectos observados de la combinación de 5-FU, 12D7 y anticuerpos agonistas anti-CD40, también pueda aplicarse a otros anticuerpos que se unen al antígeno CT o a anticuerpos que se unen a TAA en general, a otros activadores del sistema inmunológico como el CD40L, a anticuerpos agonistas anti-OX40, a anticuerpos agonistas anti CD137, a anticuerpos anti CTLA4 antagónicos, a anticuerpos antagonistas anti-PD-1 o a anticuerpos antagonistas anti CD25 y a otras terapias que inducen estrés celular, como la radiación.
- 50
- 55

Por tanto, la invención en un aspecto, se dirige a una composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo o a un fragmento del mismo que se une a un antígeno asociado a tumor (TAA) y al menos a un compuesto capaz de activar el sistema inmunológico. La combinación de estos agentes farmacéuticamente activos también puede estar comprendida en un kit de composiciones farmacéuticas, como se describe más adelante.

5 Se debe entender que el término "kit" indica que la invención considera el tratamiento, por ejemplo, de enfermedades hiperproliferativas, como se menciona a continuación, por medio de combinaciones de agentes farmacéuticamente activos, y estos agentes farmacéuticamente activos (por ejemplo un anticuerpo que se une a NY-ESO-1, un anticuerpo agonista anti-CD40 y/o un anticuerpo antagonista anti CTLA4) no necesitan combinarse en una forma de dosificación farmacéutica única. De hecho, puede ser ventajoso usar, por ejemplo, un anticuerpo que se une a NY-ESO-1 y un anticuerpo agonista anti-CD40 como formas de dosificación farmacéuticas suministradas por separado, ya que esto permitirá medir, por ejemplo, las diferentes propiedades farmacocinéticas de estos anticuerpos durante el tratamiento. Por lo tanto, el término "kit" tampoco debe entenderse como, por ejemplo, que presenta necesariamente formas de dosificación farmacéuticas separadas, que comprenden el agente farmacéuticamente activo simultáneamente, aunque este tipo de propuesta no está excluida. El término "kit" indica que la invención se centra en el uso de una combinación de diferentes agentes farmacéuticamente activos durante la terapia y que esta combinación puede, por ejemplo, presentarse como formas de dosificación farmacéuticas individuales separadas, que luego se pueden utilizar, por ejemplo, en un método o uso según la invención.

La presente invención se refiere también a una combinación de, al menos un anticuerpo o al fragmento del mismo que se une a un antígeno asociado a tumor (TAA) y al menos un compuesto capaz de activar el sistema inmune, para uso en el tratamiento de una enfermedad, tal como una enfermedad hiperproliferativa. El anticuerpo o el fragmento del mismo que se a TAA y el al menos un compuesto capaz de activar el sistema inmunológico pueden seleccionarse como se describe a continuación. Los componentes de dicha combinación se pueden usar simultánea o secuencialmente para el tratamiento, por ejemplo, de enfermedades hiperproliferativas.

El término "antígeno asociado a tumor (TAA)" en su sentido más amplio se refiere a factores que se expresan principalmente, si no exclusivamente en tumores y por lo tanto pueden actuar como dianas inmunoterapéuticas potenciales para la terapia basada en anticuerpos. La expresión primaria y preferiblemente exclusiva de TAA en el tejido tumoral asegura que la reacción inmune mediada por el anticuerpo terapéutico, este localizada sólo en el tumor, de manera que los eventos adversos descritos anteriormente y los efectos sobre el comportamiento farmacocinético se observan, al menos no en la misma medida, que en los anticuerpos terapéuticos que se dirigen a antígenos que se expresan en tejidos tumorales y normales.

Se entiende que la expresión de estos TAA debe ser considerada en el contexto de la accesibilidad de estos TAA expresados a los anticuerpos, y/o de la accesibilidad de estos TAA expresados al sistema inmunológico.

De este modo, la expresión de los TAA se puede producir a nivel de ADN o de ARN en el tejido normal, sin embargo, no se traduce en expresión a nivel de proteínas. Como consecuencia estos TAA no se expresan en los tejidos normales hasta el punto de hacerlos disponibles especialmente para los anticuerpos terapéuticos, ya que se entiende que estos anticuerpos comúnmente reconocen a los antígenos y/o epítopos que implican tramos de aminoácidos.

Además, puede haber tejidos como los testículos, que no son accesibles funcionalmente al sistema inmune, en el sentido, por ejemplo, de que no muestran la expresión de MHC y por lo tanto no pueden ser el blanco de las células T, y que por lo tanto se consideran comúnmente como inmunológicamente privilegiados. Incluso si un TAA se expresa en este tejido normal, inmunológicamente privilegiado, un anticuerpo que se una a TAA no desencadenaría una respuesta inmune en este tejido normal. De nuevo, la respuesta inmune se limitaría al tejido tumoral que expresa el TAA.

Un grupo preferido de TAA son los llamados "antígenos de cáncer/testículo (antígeno CT)". Este grupo ha surgido como una clase única de TAA que se expresa en diversos tumores, o normalmente en los testículos, es decir, un tejido inmunológicamente privilegiado. Se puede encontrar una visión general de las propiedades de los antígenos CT, incluyendo información sobre su codificación genómica, función, expresión en tumores etc., en *Caballero et al., 2009, Cancer Science, 100(11), 2014-2021*, la descripción se incorpora como referencia, específicamente, en lo que se refiere a la naturaleza de los antígenos CT, así como a la presencia y distribución de los antígenos CT específicos en los diferentes tipos de tumores (véase más arriba, por ejemplo Tabla 1 de *Caballero et al.*).

La información detallada sobre el antígeno CT se puede encontrar en <http://www.cta.Incc.br/>). Se incorpora como referencia la información proporcionada por esta base de datos, en particular con respecto a las familias genéticas del antígeno CT, a los miembros específicos de la familia, su localización cromosómica, identificadores de CT y patrones de expresión de las proteínas en los tumores.

55 Los anticuerpos o los fragmentos de los mismos que se unen a TAA, según la invención, se unen a los antígenos CT de la Tabla 1.

Tabla 1 – Lista de Antígenos-CT

Familia genética	Antígeno-CT	Identificador-CT
MAGEA	MAGEA1	CT1.1
MAGEA	MAGEA2	CT1.2
MAGEA	MAGEA2B	
MAGEA	MAGEA3	CT1.3
MAGEA	MAGEA4	CT1.4
MAGEA	MAGEA5	CT1.5
MAGEA	MAGEA6	CT1.6
MAGEA	MAGEA8	CT1.8
MAGEA	MAGEA9	CT1.9
MAGEA	MAGEA9B/LOC728269	
MAGEA	MAGEA10	CT1.10
MAGEA	MAGEA11	CT1.11
MAGEA	MAGEA12	CT1.12
BAGE	BAGE	CT2.1
BAGE	BAGE2	CT2.2
BAGE	BAGE3	CT2.3
BAGE	BAGE4	CT2.4
BAGE	BAGE5	CT2.5
MAGEB	MAGEB1	CT3.1
MAGEB	MAGEB2	CT3.2
MAGEB	MAGEB3	CT3.5
MAGEB	MAGEB4	CT3.6
MAGEB	MAGEB5	CT3.3
MAGEB	MAGEB6	CT3.4
GAGE	GAGE1	CT4.1
GAGE	GAGE2A	CT4.2
GAGE	GAGE3	CT4.3
GAGE	GAGE4	CT4.4
GAGE	GAGE5	CT4.5
GAGE	GAGE6	CT4.6
GAGE	GAGE7	CT4.7
GAGE	GAGE12I	
GAGE	GAGE8	CT4.8
GAGE	GAGE12J	
GAGE	GAGE13	
GAGE	GAGE12B	
GAGE	GAGE12C	
GAGE	GAGE12D	
GAGE	GAGE12E	
GAGE	GAGE12F	
GAGE	GAGE12G	
GAGE	GAGE12H	
SSX	SSX1	CT5.1
SSX	SSX2	CT5.2a
SSX	SSX2b	CT5.2b
SSX	SSX3	CT5.3
SSX	SSX4	CT5.4
SSX	SSX4B	

ES 2 617 983 T3

SSX	SSX5	
SSX	SSX6	
SSX	SSX7	
SSX	SSX9	
NY-ESO-1	CTAG1B	CT6.1
NY-ESO-1	CTAG1A	
NY-ESO-1	CTAG2	CT6.2a
NY-ESO-1	LAGE-1b	CT6.2b
MAGEC1	MAGEC1	CT7.1
MAGEC1	MAGEC3	CT7.2
ATAD2	ATAD2	137
SYCP1	SYCP1	CT8
ZNF645	ZNF645	138
BRDT	BRDT	CT9
MAGEC2	MAGEC2	CT10
SPANX	SPANXA1	CT11.1
SPANX	SPANXA2	
SPANX	SPANXB1	CT11.2
SPANX	SPANXB2	
SPANX	SPANXC	CT11.3
SPANX	SPANXD	CT11.4
SPANX	SPANXE	
SPANX	SPANXN1	CT11.6
SPANX	SPANXN2	CT11.7
SPANX	SPANXN3	CT11.8
SPANX	SPANXN4	CT11.9
SPANX	SPANXN5	CT11.10
XAGE	XAGE1	CT12.1a
XAGE	XAGE1B	CT12.1b
XAGE	XAGE1C	CT12.1c
XAGE	XAGE1D	CT12.1d
XAGE	XAGE1E	
XAGE	XAGE2	CT12.2
XAGE	XAGE2B/CTD- 2267G17.3	
XAGE	XAGE3	CT12.3a
XAGE	XAGE-3b	CT12.3b
XAGE	XAGE-4/RP11- 167P23.2	CT12.4
XAGE	XAGE5	CT12.5
HAGE	DDX43	CT13
SAGE	SAGE1	CT14
ADAM2	ADAM2	CT15
PAGE-5	PAGE5	CT16.1
PAGE-5	CT16.2	CT16.2
PAGE-5	PAGE1	CT16.3
PAGE-5	PAGE2	CT16.4
PAGE-5	PAGE2B	CT16.5
PAGE-5	PAGE3	CT16.6
PAGE-5	PAGE4	CT16.7
LIPI	LIPI	CT17

NA88A pseudogene	VENTXP1	CT18
IL13RA	IL13RA2	CT19
TSP50	TSP50	CT20
CTAGE-1	CTAGE1	CT21.1
CTAGE-1	CTAGE-2	CT21.2
CTAGE-1	CTAGE5	CT21.3
SPA17	SPA17	CT22
ACRBP	ACRBP	CT23
CSAGE	CSAG1	CT24.1
CSAGE	CSAG2	CT24.2
CSAGE	CSAG3B	
MMA1	DSCR8	CT25.1a
MMA1	MMA1b	CT25.1b
CAGE	DDX53	CT26
BORIS	CTCFL	CT27
HOM-TES-85	LUZP4	CT28
AF15q14	CASC5	CT29
HCA661	TFDP3	CT30
JARID1B	JARID1B	CT31
LDHC	LDHC	CT32
MORC	MORC1	CT33
SGY-1	DKKL1	CT34
SPO11	SPO11	CT35
TPX1	CRISP2	CT36
NY-SAR-35	FMR1NB	CT37
FTHL17	FTHL17	CT38
NXF2	NXF2	CT39
NXF2	NXF2B	
TAF7L	TAF7L	CT40
TDRD1	TDRD1	CT41.1
TDRD1	TDRD6	CT41.2
TEX15	TEX15	CT42
FATE	FATE1	CT43
TPTE	TPTE	CT44
CT45	CT45A1	CT45.1
CT45	CT45A2	CT45.2
CT45	CT45A3	CT45.3
CT45	CT45A4	CT45.4
CT45	CT45A5	CT45.5
CT45	CT45A6	CT45.6
HORMAD1	HORMAD1	CT46
CT47	CT47A1	CT47.1
CT47	CT47A2	CT47.2
CT47	CT47A3	CT47.3
CT47	CT47A4	CT47.4
CT47	CT47A5	CT47.5
CT47	CT47A6	CT47.6
CT47	CT47A7	CT47.7
CT47	CT47A8	CT47.8
CT47	CT47A9	CT47.9

ES 2 617 983 T3

CT47	CT47A10	CT47.10
CT47	CT47A11	CT47.11
CT47	CT47B1	CT47.13
SLCO6A1	SLCO6A1	CT48
TAG	TAG	CT49
LEMD1	LEMD1	CT50
HSPB9	HSPB9	CT51
CCDC110	CCDC110	CT52
ZNF165	ZNF165	CT53
SPACA3	SPACA3	CT54
CXorf48	CXorf48	CT55
THEG	THEG	CT56
ACTL8	ACTL8	CT57
NLRP4	NLRP4	CT58
COX6B2	COX6B2	CT59
LOC348120	LOC348120	CT60
CCDC33	CCDC33	CT61
LOC196993	LOC196993	CT62
PASD1	PASD1	CT63
LOC647107	LOC647107	CT64
TULP2	TULP2	CT65
CT66	CT66/AA884595	CT66
PRSS54	PRSS54	CT67
RBM46	RBM46	CT68
CT69	CT69/BC040308	CT69
CT70	CT70/B1818097	CT70
SPINLW1	SPINLW1	CT71
TSSK6	TSSK6	CT72
ADAM29	ADAM29	CT73
CCDC36	CCDC36	CT74
LOC440934	LOC440934	CT75
SYCE1	SYCE1	CT76
CPXCR1	CPXCR1	CT77
TSPY1	TSPY3	CT78
TSPY1	TSPY2	
TSPY1	LOC728137	
TSPY1	TSPY1D	
TSPY1	TSPY1E	
TSPY1	TSPY1F	
TSPY1	TSPY1G	
TSPY1	TSPY1H	
TSPY1	TSPY1I	
TSGA10	TSGA10	CT79
PIWIL2	PIWIL2	CT80
ARMC3	ARMC3	CT81
AKAP3	AKAP3	CT82
Cxorf61	Cxorf61	CT83
PBK	PBK	CT84
C21orf99	C21orf99	CT85
OIP5	OIP5	CT86
CEP290	CEP290	CT87

CABYR	CABYR	CT88
SPAG9	SPAG9	CT89
MPHOSPH1	MPHOSPH1	CT90
ROPN1	ROPN1	CT91
PLAC1	PLAC1	CT92
CALR3	CALR3	CT93
PRM	PRM2	CT94.2
PRM	PRM1	CT94.1
CAGE1	CAGE1	CT95
CT96	TTK	CT96
LY6K	LY6K	CT97
IMP-3	IMP-3	CT98
AKAP4	AKAP4	CT99
DPPA2	DPPA2	CT100
KIAA0100/MLAA-22	KIAA0100	CT 101
DCAF12	DCAF12	CT102
SEMG1	SEMG1	CT103
POTE	POTED	CT104.1
POTE	POTEE	CT104.2
POTE	POTEA	CT104.3
POTE	POTEB	CT104.5
POTE	POTEG	CT104.4
POTE	POTEC	CT104.6
POTE	POTEH	CT104.7
GOLGAGL2 FA	GOLGAGL2 FA	CT105
NUF2/CDCA1	CDCA1	CT106
RHOXF2/PEPP2	PEPP2	CT107
OTOA	OTOA	CT108
CCDC62	CCDC62	CT 109
GPATCH2	GPATCH2	CT 110
CEP55	CEP55	CT 111
FAM46D	FAM46D	CT 112
TEX14	TEX14	CT 113
CTNNA2	CTNNA2	CT 114
FAM133A	FAM133A	CT 115
LYPD6B	LOC130576	CT 116
ANKRD45	ANKRD45	CT 117
ELOVL4	ELOVL4	CT 118
IGSF11	IGSF11	CT 119
TMEFF	TMEFF1	CT 120.1
TMEFF	TMEFF2	CT 120.2
ARX	ARX	CT 121
SPEF2	SPEF2	CT 122
GPAT2	GPAT2	CT 123
TMEM108	TMEM108	CT 124
NOL4	NOL4	CT 125
PTPN20A	PTPN20A	CT 126
SPAG4	SPAG4	CT 127
MAEL	MAEL	CT128
RQCD1	RQCD1	CT 129

PRAME	PRAME	CT130
TEX101	TEX101	CT131
SPATA19	SPATA19	CT132
ODF1	ODF1	CT133
ODF2	ODF2	CT134
ODF3	ODF3	CT135
ODF4	ODF4	CT136

Preferiblemente, los anticuerpos o los fragmentos de los mismos que se unen a TAA según la invención, se unen al antígeno CT de la Tabla 2.

Tabla 2 – Lista de Antígenos-CT preferidos

Familia genética	Antígeno-CT	Identificador-CT
MAGEA	MAGEA1	CT1.1
MAGEA	MAGEA2	CT1.2
MAGEA	MAGEA3	CT1.3
MAGEA	MAGEA4	CT1.4
MAGEA	MAGEA5	CT1.5
MAGEA	MAGEA6	CT1.6
MAGEA	MAGEA10	CT1.10
BAGE	BAGE	CT2.1
GAGE	GAGE1	CT4.1
SSX	SSX1	CT5.1
SSX	SSX2	CT5.2a
SSX	SSX4	CT5.4
NY-ESO-1	CTAG1B	CT6.1
NY-ESO-1	CTAG1A	
NY-ESO-1	CTAG2	CT6.2a
NY-ESO-1	LAGE-1b	CT6.2b
MAGEC1	MAGEC1	CT7.1
MAGEC1	MAGEC3	CT7.2
MAGEC2	MAGEC2	CT10
XAGE	XAGE1	CT12.1a
XAGE	XAGE2	CT12.2
CT47	CT47A1	CT47.1
PRAME	PRAME	CT130

5 El término "antígeno CT" se utiliza indistintamente tanto para la familia de genes, como para los miembros individuales de una familia de genes.

En una realización particular preferida, los anticuerpos o los fragmentos de los mismos que se unen a TAA según la invención, se unen a los antígenos CT de la familia de genes NY-ESO-1.

10 En otra realización preferida particular, los anticuerpos o los fragmentos de los mismos que se unen a TAA según la invención, se unen a los antígenos CT de la familia de genes MAGEA o de la familia de genes MAGEC.

15 Se entiende que si a partir de aquí, se hace referencia a los anticuerpos o a los fragmentos de los mismos que se unen a TAA, o a los anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen al antígeno CT, ésta incluye siempre a los anticuerpos o a los fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1 y, en particular a anticuerpos específicos y a secuencias homólogas de los mismos, que se mencionan en la presente memoria como 12D7, 12D7*, 31E4, 30D6, 15B12, 22A1, 1H12, 10E1 y 1D4.

Si se indica que un anticuerpo o fragmento del mismo se une a TAA, como los antígenos CT, esto significa que el anticuerpo o fragmento del mismo se une específicamente a dicho antígeno, es decir, se unen al antígeno con mayor afinidad que a otros antígenos.

5 Por ejemplo, un anticuerpo o fragmento es específico para su antígeno afín, cuando las regiones variables del anticuerpo o del fragmento reconocen y se unen al antígeno cognado con una preferencia detectable, que distingue al antígeno de otros polipéptidos conocidos de secuencia similar, pero no idéntica, en virtud a diferencias medibles de la afinidad de unión. Se entenderá que los anticuerpos y los fragmentos específicos pueden también interactuar con otras proteínas (por ejemplo, proteína A de *S. aureus* u otros anticuerpos con técnicas ELISA), mediante interacciones con secuencias fuera de la región variable de los anticuerpos, y en particular, en la región constante del anticuerpo o fragmento del mismo. Son bien conocidos los ensayos de selección para determinar la especificidad de unión de un anticuerpo y su práctica es habitual en el estado de la técnica. Para una estudio exhaustivo de estos ensayos, véase Harlow *et al.* (Eds), *Antibodies A Laboratory Manual*; Cold Spring Harbor Laboratory; Cold Spring Harbor, NY (1988), Capítulo 6. Como se considera en el contexto de la presente invención, los TAA normalmente sólo se expresan en el tejido tumoral o en tejidos inmunológicamente privilegiados, los anticuerpos específicos o los fragmentos de los mismos, se unirán preferiblemente de manera detectable (según ensayos comunes) solamente a TAA en el tejido tumoral, pero no a otros polipéptidos que se expresan tanto en el tejido tumoral como en el tejido normal.

Los anticuerpos o los fragmentos de los mismos, independientemente de si son anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a TAA o, por ejemplo otros anticuerpos descritos en la presente memoria, como los anticuerpos agonistas anti-CD40, pueden tener una constante de disociación de equilibrio (K_D) para la unión del anticuerpo (o del fragmento del mismo) a su antígeno en el intervalo de bajo nanomolar hasta bajo picomolar o incluso subpicomolar (avidez). Así, la K_D puede estar en el intervalo de aproximadamente $0,1 \times 10^{-12}$ a aproximadamente 1×10^{-8} , preferiblemente en el intervalo de aproximadamente $0,1 \times 10^{-12}$ a aproximadamente $0,1 \times 10^{-7}$, más preferiblemente en el intervalo de aproximadamente $0,1 \times 10^{-12}$ a aproximadamente 10×10^{-9} , incluso más preferiblemente en el intervalo de aproximadamente $0,1 \times 10^{-12}$ a aproximadamente 1×10^{-9} . Las K_D más preferidas pueden estar en el intervalo de aproximadamente $0,1 \times 10^{-12}$ a aproximadamente $0,1 \times 10^{-9}$, en el intervalo de aproximadamente $0,1 \times 10^{-12}$ a aproximadamente 10×10^{-12} o en el intervalo de aproximadamente $0,1 \times 10^{-12}$ a aproximadamente 1×10^{-12} , tal como aproximadamente $0,9 \times 10^{-12}$, aproximadamente de $0,8 \times 10^{-12}$, aproximadamente de $0,7 \times 10^{-12}$, aproximadamente $0,6 \times 10^{-12}$ o aproximadamente $0,5 \times 10^{-12}$. La K_D se considera generalmente como una medida de la afinidad de una interacción entre dos moléculas. Estrictamente hablando, la afinidad describe la fuerza de unión de una molécula a otra molécula en un único sitio. Sin embargo, un anticuerpo por lo general tiene dos sitios de unión para un antígeno. La fuerza de esta interacción se considera generalmente como, la avidez.

En el contexto de la presente invención, el término "afinidad" se utiliza para describir tanto la fuerza de la interacción, por ejemplo, de un scFv monovalente a su antígeno, así como la unión de un anticuerpo divalente típico a su antígeno.

Los valores de K_D y por lo tanto la afinidad/avidez de los anticuerpos o fragmentos de los mismos pueden determinarse haciendo uso de métodos establecidos en la técnica.

Los anticuerpos y fragmentos de los mismos, tal y como se utilizan en el contexto de la presente invención, es decir, independientemente de si son los anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a TAA, o por ejemplo otros anticuerpos descritos en la presente memoria, como los anticuerpos agonistas anti-CD40, pueden ser preferiblemente anticuerpos monoclonales quiméricos, humanizados o humanos. Estos anticuerpos son preferiblemente del tipo IgG.

Al menos para los anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a TAA es preferible utilizar anticuerpos monoclonales humanos. Dichos anticuerpos son preferiblemente "derivados del paciente".

45 Un anticuerpo monoclonal humano "derivado del paciente" se refiere a un anticuerpo que se ha obtenido de un paciente que sufre un tumor y que presenta una evolución clínica favorable de la enfermedad. Esta evolución clínica favorable de la enfermedad puede manifestarse, por ejemplo, en calidad de vida, supervivencia total, mejora del tiempo hasta la progresión, y/o mejora de los criterios RECIST. Los criterios RECIST ("Criterios de evaluación de respuesta en tumores sólidos") se usan, por ejemplo, para determinar si un paciente ha mostrado una respuesta completa o, al menos, parcial al tratamiento de estos tumores. Una explicación y descripción de estos criterios se pueden encontrar en Eisenhauer *et al.*, (2009) *European Journal of Cancer*, 228-247 o en <http://www.eortc.be/recist/> y se incorporan como referencia.

Se entiende que se puede observar una evolución clínica favorable de la enfermedad en los pacientes que han sido diagnosticados con un tumor y que, por ejemplo, han recibido quimioterapia no específica y/o vacunación, por ejemplo, con un antígeno CT. Sin embargo, un paciente que ha mostrado una evolución clínica de la enfermedad favorable, puede ser elegible para el aislamiento y la identificación de anticuerpos que se unen TAA, incluso si el paciente que ha sido diagnosticado con un tumor, no ha sido, por ejemplo, vacunado con un antígeno CT.

Se supone que el uso de estos anticuerpos derivados del paciente, proporciona al menos una eficacia comparable, incluso si se administran a pacientes distintos a aquellos de los que han sido aislados. Por ejemplo, los anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen de manera específica a NY-ESO-1 mencionados en la presente memoria han sido aislados a partir de pacientes que fueron vacunados con NY-ESO-1 y que mostraron al menos una respuesta parcial a dicho tratamiento. Como se ha demostrado en los experimentos siguientes, dichos anticuerpos son capaces de reclutar células T CD4⁺ y CD8⁺ citotóxicas en tumores de los ratones xenoinjertados.

Como se mencionó anteriormente, puede ser preferible usar anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1, en el contexto de la presente invención, por ejemplo en combinación con anticuerpos o fragmentos de los mismos agonistas anti-CD40 y/o anticuerpos antagonistas anti CTLA4 para el tratamiento de enfermedades hiperproliferativas como los cánceres que expresan NY-ESO-1.

Preferiblemente estos anticuerpos o los fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1 son anticuerpos monoclonales humanizados o humanos. En una realización preferida adicional, dichos anticuerpos son anticuerpos monoclonales humanos derivados del paciente o fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1.

Algunos ejemplos de anticuerpos que se unen a NY-ESO-1 incluyen 12D7, 12D7*, 31E4, 30D6, 15B12, 22A1, 1H12, 10E1 o 1D4.

La cadena pesada variable de 12D7 está codificada, por ejemplo, por la SEQ ID No. 1. La cadena ligera variable de 12D7 está codificada, por ejemplo, por la SEQ ID No. 2. La cadena pesada variable de 12D7 tiene por lo tanto una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 3. La cadena ligera variable de 12D7 tiene por lo tanto una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 4. En cuanto a la cadena pesada variable de 12D7, la CDR1 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 5, la CDR2 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 6 y la CDR3 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 7. En cuanto a la cadena ligera variable de 12D7, la CDR1 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 8, la CDR2 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 9 y la CDR3 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 10.

12D7* difiere de 12D7 en los primeros 7 aminoácidos de la región marco 1, de las cadenas Ig pesada y Ig ligera. Por otro lado, las secuencias de aminoácidos y, en particular, las CDR son idénticos entre 12D7* y 12D7. Las secuencias de ADN son diferentes, ya que una se ha realizado una optimización de los codones en 12D7* con el fin de optimizar la expresión. Así, por ejemplo, la cadena pesada variable de 12D7* está codificada por la SEQ ID No. 11. La cadena ligera variable de 12D7* está codificada, por ejemplo, por la SEQ ID No. 12. La cadena pesada variable de 12D7* tiene por lo tanto una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 13. La cadena ligera variable de 12D7* tiene por lo tanto una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 14. En cuanto a la cadena pesada variable de 12D7*, la CDR1 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 5, la CDR2 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 6 y la CDR3 tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID No. 7. En cuanto a la cadena ligera variable de 12D7*, la CDR1 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 8, la CDR2 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 9 y la CDR3 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 10.

La cadena pesada variable de 31E4 está codificada, por ejemplo, por la SEQ ID No. 15. La cadena ligera variable de 31E4 está codificada, por ejemplo, por la SEQ ID No. 16. La cadena pesada variable de 31E4 tiene por lo tanto una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 17. La cadena ligera variable de 31E4 tiene por lo tanto una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 18.

En cuanto a la cadena pesada variable de 31E4, la CDR1 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 19, la CDR2 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 20 y la CDR3 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 21. En cuanto a la cadena ligera variable de 31E4, la CDR1 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 22, la CDR2 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 23 y la CDR3 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 24.

La cadena pesada variable de 30D6 está codificada, por ejemplo, por las SEQ ID No. 25 o 26. La cadena ligera variable de 30D6 está codificada, por ejemplo, por las SEQ ID No. 27 o 28. La cadena pesada variable de 30D6 de este modo tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 29. La cadena ligera variable de 30D6 de este modo tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 30. En cuanto a la cadena pesada variable de 30D6, la CDR1 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 31, la CDR2 tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID No. 32 y la CDR3 tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID No. 33. En cuanto a la cadena ligera variable de 30D6, la CDR1 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 34, la CDR2 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 35 y la CDR3 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 36.

La cadena pesada variable de 15B12 está codificada, por ejemplo, por la SEQ ID No. 37. La cadena ligera variable de 15B12 está codificada, por ejemplo, por la SEQ ID No. 38. La cadena pesada variable de 15B12 tiene por lo tanto una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID No. 39. La cadena ligera variable de 15B12 tiene por lo tanto una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 40. En cuanto a la cadena pesada variable de 15B12, la CDR1 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 41, la CDR2 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 42 y la CDR3 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 43. En cuanto a la cadena ligera variable de 15B12, la

CDR1 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 44, la CDR2 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 45 y la CDR3 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 46.

La cadena pesada variable de 22A1 está codificada, por ejemplo, por la SEQ ID No. 47. La cadena ligera variable del 22A1 está codificada, por ejemplo, por la SEQ ID No. 48. La cadena pesada variable de 22A1 tiene por lo tanto una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 49. La cadena ligera variable de 22A1 tiene por lo tanto una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 50. En cuanto a la cadena pesada variable de 22A1, la CDR1 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 51, la CDR2 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 52 y la CDR3 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 53. En cuanto a la cadena ligera variable de 22A1, la CDR1 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 54, la CDR2 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 55 y la CDR3 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 56.

La cadena pesada variable del 1H12 está codificada, por ejemplo, por la SEQ ID No. 57. La cadena ligera variable del 1H12 está codificada, por ejemplo, por la SEQ ID No. 58. La cadena pesada variable de 1H12 tiene por lo tanto una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 59. La cadena ligera variable de 1H12 tiene por lo tanto una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 60. En cuanto a la cadena pesada variable de 1H12, la CDR1 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 61, la CDR2 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 62 y la CDR3 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 63. En cuanto a la cadena ligera variable de 1H12, la CDR1 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 64, la CDR2 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 65 y la CDR3 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 66.

La cadena pesada variable de 10E1 está codificada, por ejemplo, por la SEQ ID No. 67. La cadena ligera variable de 10E1 está codificada, por ejemplo, por la SEQ ID No. 68. La cadena pesada variable de 10E1 tiene por lo tanto una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 69. La cadena ligera variable de 10E1 tiene por lo tanto una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 70. En cuanto a la cadena pesada variable de 10E1, la CDR1 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 71, la CDR2 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 72 y la CDR3 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 73. En cuanto a la cadena ligera variable de 10E1, la CDR1 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 74, la CDR2 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 75 y la CDR3 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 76.

La cadena pesada variable de 1D4 está codificada, por ejemplo, por la SEQ ID No. 77. La cadena ligera variable de 1D4 está codificada, por ejemplo, por la SEQ ID No. 78. La cadena pesada variable de 1D4 tiene por lo tanto una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 79. La cadena ligera variable de 1D4 tiene por lo tanto una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 80. En cuanto a la cadena pesada variable de 1D4, la CDR1 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 81, la CDR2 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 82 y la CDR3 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 83. En cuanto a la cadena ligera variable de 1D4, la CDR1 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 84, la CDR2 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 85 y la CDR3 tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 86.

Otros ejemplos de anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1 incluyen los anticuerpos monoclonales o fragmentos de los mismos que comprenden una región variable de la cadena ligera y/o una región variable de la cadena pesada, en donde

a) la región variable de la cadena ligera comprende al menos una CDR1 seleccionada de las SEQ ID No: 8, 22, 34, 44, 54, 64, 74, 84 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, una CDR2 seleccionada de las SEQ ID Nos: 9, 23, 35, 45, 55, 65, 75, 85 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, y/o una CDR3 seleccionada de las SEQ ID No: 10, 24, 36, 46, 56, 66, 76, 86 o secuencias de con al menos 80% de identidad con ellas; y/o en donde

b) la región variable de la cadena pesada comprende al menos una CDR1 seleccionada de las SEQ ID No: 5, 19, 31, 41, 51, 61, 71, 81 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, una CDR2 seleccionada de las SEQ ID No: 6, 20, 32, 42, 52, 62, 72, 82 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, y/o una CDR3 seleccionada de las SEQ ID No: 7, 21, 33, 43, 53, 63, 73, 83 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas.

Otros ejemplos de anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1 incluyen los anticuerpos monoclonales o fragmentos de los mismos que comprenden una región variable de la cadena ligera y/o una región variable de la cadena pesada, en donde

a) la región variable de la cadena ligera comprende al menos una CDR1 seleccionada de la SEQ ID No: 8 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella, una CDR2 seleccionada de la SEQ ID Nos: 9 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, y/o una CDR3 seleccionada de la SEQ ID No: 10 o secuencias de con al menos 80% de identidad con ella; y/o en donde

b) la región variable de la cadena pesada comprende al menos una CDR1 seleccionada de la SEQ ID No: 5 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella, una CDR2 seleccionada de las SEQ ID No: 6 o

b) la región variable de la cadena pesada comprende al menos una CDR1 seleccionada de la SEQ ID No: 61 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella, una CDR2 seleccionada de las SEQ ID No: 62 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella, y/o una CDR3 seleccionada de las SEQ ID No: 63 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella.

5 Otros ejemplos de anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1 incluyen los anticuerpos monoclonales o fragmentos de los mismos que comprenden una región variable de la cadena ligera y/o una región variable de la cadena pesada, en donde

10 a) la región variable de la cadena ligera comprende al menos una CDR1 seleccionada de la SEQ ID No: 74 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella, una CDR2 seleccionada de la SEQ ID Nos: 75 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, y/o una CDR3 seleccionada de la SEQ ID No: 76 o secuencias de con al menos 80% de identidad con ella; y/o en donde

15 b) la región variable de la cadena pesada comprende al menos una CDR1 seleccionada de la SEQ ID No:71 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella, una CDR2 seleccionada de las SEQ ID No: 72 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella, y/o una CDR3 seleccionada de las SEQ ID No: 73 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella.

Otros ejemplos de anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1 incluyen los anticuerpos monoclonales o fragmentos de los mismos que comprenden una región variable de la cadena ligera y/o una región variable de la cadena pesada, en donde

20 a) la región variable de la cadena ligera comprende al menos una CDR1 seleccionada de la SEQ ID No: 84 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella, una CDR2 seleccionada de la SEQ ID Nos: 85 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, y/o una CDR3 seleccionada de la SEQ ID No: 86 o secuencias de con al menos 80% de identidad con ella; y/o en donde

25 b) la región variable de la cadena pesada comprende al menos una CDR1 seleccionada de la SEQ ID No: 81 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella, una CDR2 seleccionada de las SEQ ID No: 82 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella, y/o una CDR3 seleccionada de las SEQ ID No: 83 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella.

Otros ejemplos de anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1 incluyen los anticuerpos monoclonales o fragmentos de los mismos que comprenden una región variable de la cadena ligera y/o una región variable de la cadena pesada, en donde

30 a) la región variable de la cadena ligera comprende al menos una CDR1 seleccionada de las SEQ ID No: 8, 22, 34, 44, 54, 64, 74, 84 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, una CDR2 seleccionada de las SEQ ID Nos: 9, 23, 35, 45, 55, 65, 75, 85 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, y una CDR3 seleccionada de las SEQ ID No: 10, 24, 36, 46, 56, 66, 76, 86 o secuencias de con al menos 80% de identidad con ellas; y/o en donde

35 b) la región variable de la cadena pesada comprende al menos una CDR1 seleccionada de las SEQ ID No: 5, 19, 31, 41, 51, 61, 71, 81 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, una CDR2 seleccionada de las SEQ ID No: 6, 20, 32, 42, 52, 62, 72, 82 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, y una CDR3 seleccionada de las SEQ ID No: 7, 21, 33, 43, 53, 63, 73, 83 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas.

40 Otros ejemplos de anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1 incluyen los anticuerpos monoclonales o fragmentos de los mismos que comprenden una región variable de la cadena ligera y/o una región variable de la cadena pesada, en donde

45 a) la región variable de la cadena ligera comprende al menos una CDR1 seleccionada de la SEQ ID No: 8 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella, una CDR2 seleccionada de la SEQ ID Nos: 9 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, y una CDR3 seleccionada de la SEQ ID No: 10 o secuencias de con al menos 80% de identidad con ella; y/o en donde

50 b) la región variable de la cadena pesada comprende al menos una CDR1 seleccionada de la SEQ ID No: 5 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella, una CDR2 seleccionada de las SEQ ID No: 6 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella, y una CDR3 seleccionada de las SEQ ID No: 7 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella.

Otros ejemplos de anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1 incluyen los anticuerpos monoclonales o fragmentos de los mismos que comprenden una región variable de la cadena ligera y/o una región variable de la cadena pesada, en donde

Otros ejemplos de anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1 incluyen los anticuerpos monoclonales o fragmentos de los mismos que comprenden una región variable de la cadena ligera y/o una región variable de la cadena pesada, en donde

5 a) la región variable de la cadena ligera comprende al menos una CDR1 seleccionada de la SEQ ID No: 74 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella, una CDR2 seleccionada de la SEQ ID Nos: 75 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, y una CDR3 seleccionada de la SEQ ID No: 76 o secuencias de con al menos 80% de identidad con ella; y/o en donde

10 b) la región variable de la cadena pesada comprende al menos una CDR1 seleccionada de la SEQ ID No:71 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella, una CDR2 seleccionada de las SEQ ID No: 72 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella, y una CDR3 seleccionada de las SEQ ID No: 73 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella.

Otros ejemplos de anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1 incluyen los anticuerpos monoclonales o fragmentos de los mismos que comprenden una región variable de la cadena ligera y/o una región variable de la cadena pesada, en donde

15 a) la región variable de la cadena ligera comprende al menos una CDR1 seleccionada de la SEQ ID No: 84 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella, una CDR2 seleccionada de la SEQ ID Nos: 85 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, y una CDR3 seleccionada de la SEQ ID No: 86 o secuencias de con al menos 80% de identidad con ella; y/o en donde

20 b) la región variable de la cadena pesada comprende al menos una CDR1 seleccionada de la SEQ ID No: 81 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella, una CDR2 seleccionada de las SEQ ID No: 82 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella, y una CDR3 seleccionada de las SEQ ID No: 83 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella.

25 En todas estas realizaciones, la identidad de secuencia es al menos aproximadamente 85%, más preferiblemente al menos aproximadamente 90%, incluso más preferiblemente al menos aproximadamente 95% y lo más preferiblemente al menos aproximadamente 98% o aproximadamente 99%. La identidad de secuencia puede determinarse a lo largo de toda la longitud de las respectivas secuencias.

30 La determinación del porcentaje de identidad entre dos secuencias se realiza preferiblemente usando el algoritmo matemático de Karlin y Altschul (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci EE.UU.* 90: 5873-5877. Dicho algoritmo se incorpora en los programas BLASTn y BLASTp de Altschul et al. (1990) *J Mol. Biol.* 215: 403-410 disponibles en NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>).

La determinación del porcentaje de identidad se realiza con los parámetros estándar de los programas BLASTn y BLASTp.

Las búsquedas de polinucleótidos BLAST se llevan a cabo con el programa BLASTn.

35 Para los parámetros generales, la casilla "Max target sequences" debe marcar 100, debe marcarse la casilla "Short queries", la casilla "Expected threshold" debe marcar 10 y la casilla "Word size" debe marcar 28. Para los parámetros de puntuación la casilla "Match/mismatch Scores" debe marcar 1, -2 y en la casilla "Gap Costs" debe marcarse "linear". Para los parámetros de Filters y Masking, no se debe marcar la casilla "Low complexity Regions", no se debe marcar la casilla "Species-specific repeats", no se debe marcar la casilla "Mask for lookup table only", y no se debe marcar la casilla "Mask lower case letter".

40 Las búsquedas de proteínas BLAST se realiza con el programa BLASTp. Para los parámetros generales, la casilla "Max target sequences" debe marcar 100, la casilla "Expected threshold" debe marcar 10 y la casilla "Word size" debe marcar "3". Para los parámetros de puntuación la casilla "Matrix" debe marcar "BLOSUM62", la casilla "Gap Costs" debe marcar "Existence: 11 Extension: 1", la casilla "Compositional adjustments" debe marcar "Conditional compositional score matrix adjustment". Para los parámetros Filters y Masking la casilla "Low complexity regions" no debe marcarse, la casilla "Mask for lookup table only" no debe marcarse y la casilla de "Mask lower case letter" no debe marcarse.

50 Las CDR anteriormente mencionados de una región variable de la cadena pesada y ligera están integrados preferiblemente en las regiones de marco y constantes de un anticuerpo de origen humano, es decir, en las secuencias determinadas para los anticuerpos obtenidos de pacientes humanos como se describe en el presente documento. Preferiblemente, estos anticuerpos son de tipo IgG.

55 Sin embargo, las CDR antes mencionados de una región variable de la cadena pesada y ligera, también pueden estar incorporados en secuencias humanas de las regiones marco y constantes de un anticuerpo derivado de otros anticuerpos humanos, en particular si se ha demostrado que estas secuencias son eficaces en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC). En este contexto, por ejemplo, se pueden utilizar las secuencias humanas marco y constantes de anticuerpos terapéuticos humanizados, que se han utilizado con éxito para

aplicaciones terapéuticas. Las CDR anteriormente mencionados de una región variable de la cadena pesada y ligera, se incorporan preferentemente en las regiones marco y constantes de estos anticuerpos humanizados de tipo IgG humano.

- Además, las CDR antes mencionados de una región variable de la cadena pesada y ligera también pueden estar incorporados en las secuencias de las regiones marco y constantes de anticuerpos esencialmente humanos. Sin embargo, en particular las regiones marco, pero también las regiones constantes, pueden comprender aminoácidos como, por ejemplo, los que se encuentran normalmente en anticuerpos de ratón, que se sabe que mejoran la unión al antígeno y/o, por ejemplo ADCC (véase, por ejemplo solicitud de patente europea EP0451216). Preferiblemente, estos anticuerpos son de tipo IgG.
- 5 Otros anticuerpos y fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1, se refieren a anticuerpos o a los fragmentos de los mismos, que comprenden una región variable de la cadena ligera que comprenden las SEQ ID No: 4, 14, 18, 30, 40, 50, 60, 70, 80 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas y/o una región variable de la cadena pesada que comprende las SEQ ID No: 3, 13, 17, 29, 39, 49, 59, 69, 79 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas.
- 15 Otros anticuerpos y fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1, se refieren a anticuerpos o a los fragmentos de los mismos, que comprenden una región variable de la cadena ligera que comprenden la SEQ ID No: 4, o secuencias con al menos 80% de identidad con ella y una región variable de la cadena pesada que comprende las SEQ ID No: 3, 13, 17, 29, 39, 49, 59, 69, 79 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas.
- 20 Otros anticuerpos y fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1, se refieren a anticuerpos o a los fragmentos de los mismos, que comprenden una región variable de la cadena ligera que comprenden la SEQ ID No: 14, o secuencias con al menos 80% de identidad con ella y una región variable de la cadena pesada que comprende las SEQ ID No: 3, 13, 17, 29, 39, 49, 59, 69, 79 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas.
- 25 Otros anticuerpos y fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1, se refieren a anticuerpos o a los fragmentos de los mismos, que comprenden una región variable de la cadena ligera que comprenden la SEQ ID No: 18, o secuencias con al menos 80% de identidad con ella y una región variable de la cadena pesada que comprende las SEQ ID No: 3, 13, 17, 29, 39, 49, 59, 69, 79 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas.
- 30 Otros anticuerpos y fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1, se refieren a anticuerpos o a los fragmentos de los mismos, que comprenden una región variable de la cadena ligera que comprenden la SEQ ID No: 30, o secuencias con al menos 80% de identidad con ella y una región variable de la cadena pesada que comprende las SEQ ID No: 3, 13, 17, 29, 39, 49, 59, 69, 79 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas.
- 35 Otros anticuerpos y fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1, se refieren a anticuerpos o a los fragmentos de los mismos, que comprenden una región variable de la cadena ligera que comprenden la SEQ ID No: 40, o secuencias con al menos 80% de identidad con ella y una región variable de la cadena pesada que comprende las SEQ ID No: 3, 13, 17, 29, 39, 49, 59, 69, 79 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas.
- 40 Otros anticuerpos y fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1, se refieren a anticuerpos o a los fragmentos de los mismos, que comprenden una región variable de la cadena ligera que comprenden la SEQ ID No: 50, o secuencias con al menos 80% de identidad con ella y una región variable de la cadena pesada que comprende las SEQ ID No: 3, 13, 17, 29, 39, 49, 59, 69, 79 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas.
- 45 Otros anticuerpos y fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1, se refieren a anticuerpos o a los fragmentos de los mismos, que comprenden una región variable de la cadena ligera que comprenden la SEQ ID No: 60, o secuencias con al menos 80% de identidad con ella y una región variable de la cadena pesada que comprende las SEQ ID No: 3, 13, 17, 29, 39, 49, 59, 69, 79 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas.
- 50 Otros anticuerpos y fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1, se refieren a anticuerpos o a los fragmentos de los mismos, que comprenden una región variable de la cadena ligera que comprenden la SEQ ID No: 70, o secuencias con al menos 80% de identidad con ella y una región variable de la cadena pesada que comprende las SEQ ID No: 3, 13, 17, 29, 39, 49, 59, 69, 79 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas.
- 55 Otros anticuerpos y fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1, se refieren a anticuerpos o a los fragmentos de los mismos, que comprenden una región variable de la cadena ligera que comprenden la SEQ ID No: 80, o secuencias con al menos 80% de identidad con ella y una región variable de la cadena pesada que comprende las SEQ ID No: 3, 13, 17, 29, 39, 49, 59, 69, 79 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas.
- 60 Otros anticuerpos y fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1, se refieren a anticuerpos o a los fragmentos de los mismos, que comprenden una región variable de la cadena ligera que comprenden las SEQ ID No: 4, 14, 18, 30, 40, 50, 60, 70, 80 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas y una región variable de la cadena pesada que comprende la SEQ ID No: 3 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas.

40, o secuencias con al menos 80% de identidad con ella y una región variable de la cadena pesada que comprende la SEQ ID No: 39 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella.

5 Otros anticuerpos y fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1, se refieren a anticuerpos o a los fragmentos de los mismos, que comprenden una región variable de la cadena ligera que comprenden la SEQ ID No: 50, o secuencias con al menos 80% de identidad con ella y una región variable de la cadena pesada que comprende la SEQ ID No: 49 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella.

10 Otros anticuerpos y fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1, se refieren a anticuerpos o a los fragmentos de los mismos, que comprenden una región variable de la cadena ligera que comprenden la SEQ ID No: 60, o secuencias con al menos 80% de identidad con ella y una región variable de la cadena pesada que comprende la SEQ ID No: 59 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella.

Otros anticuerpos y fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1, se refieren a anticuerpos o a los fragmentos de los mismos, que comprenden una región variable de la cadena ligera que comprenden la SEQ ID No: 70, o secuencias con al menos 80% de identidad con ella y una región variable de la cadena pesada que comprende la SEQ ID No: 69 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella.

15 Otros anticuerpos y fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1, se refieren a anticuerpos o a los fragmentos de los mismos, que comprenden una región variable de la cadena ligera que comprenden la SEQ ID No: 80, o secuencias con al menos 80% de identidad con ella y una región variable de la cadena pesada que comprende la SEQ ID No: 79 o secuencias con al menos 80% de identidad con ella.

20 Preferiblemente, en todas estas realizaciones, la identidad de secuencia es al menos aproximadamente 85%, más preferiblemente al menos aproximadamente 90%, incluso más preferiblemente al menos aproximadamente 95% y lo más preferiblemente al menos aproximadamente 98% o al menos aproximadamente 99%. La identidad de secuencia se determina como se describe anteriormente. La identidad de secuencia puede determinarse en toda la longitud de la secuencia respectiva.

25 Las regiones variables de la cadena ligera y pesada antes mencionadas, se insertan preferiblemente en las regiones constantes de un anticuerpo de origen humano, es decir, en las secuencias tal como se establece, para los anticuerpos obtenidos de pacientes humanos, como se describe en el presente documento. Preferiblemente, estos anticuerpos son de tipo IgG.

30 Sin embargo, las regiones variables de la cadena ligera y pesada antes mencionadas pueden también incorporarse en secuencias humanas de regiones constantes derivadas de otros anticuerpos humanos, en particular si estas secuencias han demostrado que son eficaces en la ADCC. En este contexto, por ejemplo, se pueden utilizar las secuencias constantes humanas de anticuerpos terapéuticos humanizados, que se hayan utilizado con éxito para aplicaciones terapéuticas. Las regiones variables de la cadena ligera y pesada antes mencionadas se incorporan preferentemente en las regiones constantes de estos anticuerpos humanizados del tipo IgG humana.

35 Además, las regiones variables de la cadena ligera y pesada antes mencionadas pueden incorporarse en las regiones constantes de secuencias esencialmente humanas. Sin embargo, las regiones constantes pueden comprender aminoácidos, por ejemplo, como los que se encuentran normalmente en anticuerpos de ratón, que se sabe que mejoran la ADCC. Preferiblemente, estos anticuerpos son del tipo IgG.

40 La invención también contempla el uso de anticuerpos de NY-ESO-1 y fragmentos de los mismos, que se unen sustancialmente al mismo epítipo o a partes del mismo epítipo que los anticuerpos y los fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1 como se describe anteriormente.

Además, la invención considera el uso de anticuerpos de NY-ESO-1 y fragmentos de los mismos, que compiten con los anticuerpos y los fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1 como se describe anteriormente.

45 El mapeo de epítipos se puede llevar a cabo mediante la producción de diferentes fragmentos de la TAA como NY-ESO-1 y a continuación, comprobar la unión de estos fragmentos a anticuerpos o a fragmentos de los mismos. La unión se puede medir usando un Biacore®. También se pueden utilizar matrices de péptidos disponibles comercialmente como PepSpot™ de JPT Peptide Technologies GmbH (Berlín, Alemania), o métodos de espectrometría de masas basados en la proteómica. La competencia por la unión a un antígeno o epítipo particular puede determinarse utilizando ensayos conocidos en la técnica. Por ejemplo, se puede marcar un anticuerpo según la invención y comprobar que se une a NY-ESO-1. Posteriormente, se añade 12D7 no marcado (o cualquier otro anticuerpo que se une a NY-ESO-1) y determinar si afecta a la unión del anticuerpo marcado, o se estudia la unión del anticuerpo marcado en presencia o ausencia de diversas concentraciones de estos anticuerpos no marcados que se unen a NY-ESO-1.

Dicha etiqueta podría ser de tipo radiactiva o fluorescente, u otro tipo de marcador detectable.

55 La competencia por unirse a un antígeno o epítipo particular se determina, para el anticuerpo según la invención, por una reducción en la unión al antígeno o al epítipo de al menos aproximadamente 50%, o, al menos

aproximadamente 70%, o al menos aproximadamente 80%, o al menos aproximadamente 90%, o al menos aproximadamente 95%, o al menos aproximadamente 99% o aproximadamente 100%. La unión se puede medir usando un equipo Biacore®, diferentes tecnologías de detección de fluorescencia (por ejemplo, espectroscopia de correlación de fluorescencia, correlación cruzada de fluorescencia, medidas de la vida de la fluorescencia, etc.) o

5 varios tipos de radioinmunoensayos u otros ensayos que se utilizan para estudiar la unión del anticuerpo a una molécula diana.

Como se mencionó anteriormente, la presente invención considera los anticuerpos o los fragmentos de los mismos que se unen a TAA. Un anticuerpo de longitud completa incluye un dominio constante y un dominio variable. La región constante no tiene que estar presente en un fragmento del antígeno que se une a un anticuerpo.

10 Los fragmentos pueden incluir por lo tanto partes de una secuencia intacta completa de un anticuerpo, tales como una región que se une al antígeno o una región variable del anticuerpo completo. Ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen Fab, F(ab')₂, fragmentos Id y Fv; diacuerpos; anticuerpos lineales; moléculas de anticuerpo de la cadena única (por ejemplo, scFv); fragmentos de anticuerpos multiespecíficos, tales como anticuerpos

15 biespecíficos, triespecíficos, y multiespecíficos (por ejemplo, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos); minicuerpos; anticuerpos recombinantes quelantes; tricuerpos o bicuerpos; intracuerpos; nanocuerpos; pequeñas proteínas inmunofarmacéuticas de tipo modular (SMTP), proteínas de fusión con dominios de inmunoglobulina; anticuerpos camelizados; anticuerpos que contienen VHH; y cualquier otro polipéptido formado a partir de fragmentos de anticuerpos. El experto sabe que la función de unión de un anticuerpo a un antígeno puede realizarse por fragmentos de un anticuerpo completo.

20 Un fragmento Fab consiste en los dominios VL, VH, CL y CH1. Un fragmento F(ab')₂ comprende dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro en la región bisagra. Un Fd consiste en los dominios VH y CH1 de un único brazo de un anticuerpo. Un fragmento Fv consiste en los dominios VL y VH de un único brazo de un anticuerpo.

Los fragmentos que se unen también abarcan dominios de unión derivados de CDR monovalentes o multivalentes, o monoméricos o multiméricos (por ejemplo tetraméricos).

25 Los anticuerpos y los fragmentos de los mismos que se unen a TAA, también puede abarcar variantes de los anticuerpos, fragmentos y secuencias que se citan como ejemplo descritas en la presente memoria. Las variantes incluyen péptidos y polipéptidos que comprenden una o más sustituciones, deleciones y/o adiciones en la secuencia de aminoácidos que tienen la misma o sustancialmente la misma afinidad y especificidad de unión al epítipo que uno o más anticuerpos, fragmentos y secuencias que se citan como ejemplo, descritas en el presente documento.

30 Por lo tanto, las variantes incluyen péptidos y polipéptidos que comprenden una o más sustituciones, deleciones y/o adiciones en la secuencia de aminoácidos de los anticuerpos, fragmentos y secuencias que se citan como ejemplo, en la presente memoria, donde estas sustituciones, deleciones y/o adiciones no causan cambios sustanciales en la afinidad y especificidad de unión al epítipo. Por ejemplo, una variante de un anticuerpo o fragmento puede ser el resultado de uno o más cambios en un anticuerpo o fragmento que comprende una o más de las secuencias de

35 aminoácidos SEQ ID NOS: 3, 4, etc., o en donde el anticuerpo o fragmento modificado tiene la misma o sustancialmente la misma afinidad y especificidad de unión al epítipo que la secuencia de partida.

Como se ha mencionado, los anticuerpos y fragmentos de los mismos que se unen a TAA, como por ejemplo los anticuerpos y fragmentos de los mismos que se unen al antígeno CT mencionado anteriormente, que incluyen los anticuerpos y fragmentos de los mismos que se unen a NY-Eso1, mencionados específicamente, se utilizan en

40 combinación con un compuesto capaz de activar el sistema inmunitario para aumentar y/o prolongar la respuesta inmunitaria local que ha sido provocada por el anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a TAA.

El término "compuesto capaz de activar el sistema inmune" se refiere a un compuesto farmacéuticamente aceptable que es capaz de prolongar y/o aumentar una respuesta inmune inicial, que ha sido provocada por el anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a TAA.

45 Estos compuestos pueden incluir compuestos que son conocidos por estimular o, al menos, coestimular una respuesta inmune humoral o celular, incluso si un anticuerpo o un fragmento del mismo que se une a TAA, no se ha administrado antes, simultáneamente, o posteriormente a la administración de estos compuestos.

Preferiblemente, el término "compuesto capaz de activar el sistema inmune" por lo tanto se refiere a un compuesto farmacéuticamente aceptable que estimula o, al menos, coestimula por ejemplo, la maduración de células

50 presentadoras de antígeno (APC), que incluyen, por ejemplo, las células dendríticas, macrófagos, neutrófilos y eosinófilos, la activación de células T, la proliferación de las células T que incluyen, por ejemplo la proliferación de las células T CD4⁺ colaboradoras y/o de células T CD8⁺ citotóxicas, la expansión de las células T, el mantenimiento de las células T de memoria y/o la proliferación de las células NK. Se entiende que, a los efectos de la presente invención, los anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a TAA, como son los anticuerpos o fragmentos

55 de los mismos que se unen al antígeno CT, no se consideran representativos de "los compuestos capaces de activar el sistema inmune".

"Los compuestos capaces de activar el sistema inmune" anteriormente mencionados pueden ejercer su función de activación del sistema inmune a través de diferentes mecanismos.

Por ejemplo, "los compuestos capaces de activar el sistema inmune" pueden comprender componentes naturales del sistema inmune, que se sabe que están involucrados en la estimulación o, al menos, la coestimulación de las actividades mencionadas anteriormente, como, por ejemplo, la maduración de células presentadoras de antígeno (APC), que incluyen, por ejemplo, las células dendríticas, macrófagos, neutrófilos y eosinófilos, la activación de células T, la proliferación de las células T que incluyen, por ejemplo la proliferación de las células T CD4⁺ colaboradoras y/o de células T CD8⁺ citotóxicas, la expansión de las células T, el mantenimiento de las células T de memoria y/o la proliferación de las células NK. Estos componentes naturales del sistema inmune que, según la invención, son "compuestos capaces de activar el sistema inmune" incluyen CD40, ligando de CD40 (CD40L), CD80, ligando de CD80, C86 y ligando de CD86, DR5, B7, OX40, CD137, citoquinas como IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF- α , MIP-1 α , y otros. Estos componentes forman un subgrupo de "compuestos capaces de activar el sistema inmune" y pueden denominarse "estimulantes naturales o, al menos, coestimulantes del sistema inmune". Un representante preferido de este subgrupo es CD40L.

"Los compuestos capaces de activar el sistema inmune" pueden, sin embargo, comprender también compuestos que no constituyen componentes naturales del sistema inmune, pero que inducen y/o aumentan la actividad de los componentes naturales del sistema inmune antes mencionados, es decir, tienen un efecto agonista en "los estimulantes naturales o, al menos, coestimulantes del sistema inmune". Este subgrupo de "compuestos capaces de activar el sistema inmune" puede denominarse "activadores agonistas de estimulantes naturales o, al menos, coestimulantes del sistema inmune". Las realizaciones preferidas de este último subgrupo comprenden los anticuerpos agonistas anti-CD40, como CP-870,893, SGN-40, FGK45.5 o una forma humanizada de los mismos, anticuerpos agonistas anti-OX40, como OX86, anticuerpos agonistas anti CD137, como BMS- 663513 y otros. La información sobre esos factores y anticuerpos se puede obtener en *Weiner et al., (2010), Nature Reviews, 10, 317-327, Fonsatti et al., (2010), Seminars in Oncology, 37 (5), 517-523* o *Vonderheide (2007), Molecular Pathways, 13 (4), 1083-1088*.

Otros "compuestos capaces de activar el sistema inmune" incluyen compuestos que desencadenan un efecto inhibitorio en los componentes naturales del sistema inmune sobre las actividades antes mencionadas, como, por ejemplo, la maduración de células presentadoras de antígeno (APC), que incluyen, por ejemplo, las células dendríticas, macrófagos, neutrófilos y eosinófilos, la activación de células T, la proliferación de las células T que incluyen, por ejemplo la proliferación de las células T CD4⁺ colaboradoras y/o de células T CD8⁺ citotóxicas, la expansión de las células T, el mantenimiento de las células T de memoria y/o la proliferación de las células NK. Ejemplos de estos componentes naturales del sistema inmune que tienen un efecto inhibitorio o, al menos, coinhibidor sobre las actividades antes mencionadas incluyen, por ejemplo CTLA4, CD25 PD-1 o sMICA. Este subgrupo de "compuestos capaces de activar el sistema inmune" puede denominarse "efectores antagonistas de inhibidores naturales o, al menos, coinhibidores del sistema inmunológico". Los ejemplos de "efectores antagonistas de inhibidores naturales o, al menos, coinhibidores del sistema inmune" incluyen los anticuerpos antagonistas anti CTLA4 como Tremelimumab e Ipilimumab, anticuerpos antagonistas anti CD25 como Daclizumab y anticuerpos antagonistas anti-PD1 como CT-011. La información sobre esos factores y anticuerpos se puede obtener en, *Weber, (2008), The Oncologist, 13(suppl 4), 16-25* o *Fonsatti et al., (2010), Seminars in Oncology, 37 (5), 517- 523*.

En una realización preferida de la invención "los compuestos capaces de activar el sistema inmune" se seleccionan de CD40L, anticuerpos agonistas anti-CD40 incluyendo CP-870,893, y SGN-40 y anticuerpos antagonistas anti CTLA4, que incluyen Tremelimumab e Ipilimumab.

Se entiende que si se utilizan anticuerpos como los anticuerpos agonistas anti-CD40, que incluyen CP-870,893, y SGN-40 o anticuerpos antagonistas anti CTLA4, que incluyen Tremelimumab e Ipilimumab, como compuestos capaces de activar el sistema inmune, éstos pueden utilizarse como fragmentos de unión del anticuerpo correspondiente.

Otros "compuestos capaces de activar el sistema inmune" incluyen compuestos que se sabe que actúan sobre el sistema inmune innato, como los activadores de los receptores de tipo Toll, que incluyen los receptores de tipo Toll, 2, 3, 4, 5, 7, 8, y 9 . Estos compuestos incluyen la proteína lipo bacteriana, LPS, ARN de doble cadena, poli I:C (ácido policitidílico poliinosínico), la flagelina bacteriana resiquimod (R848) y CpG-ODN.

Como se mencionó anteriormente, los anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a TAA pueden combinarse con compuestos capaces de activar el sistema inmune de diferentes maneras.

Por lo tanto, un anticuerpo que se une a TAA puede combinarse con estimulantes naturales o, al menos, coestimulantes del sistema inmune, activadores agonistas de los estimulantes naturales o, al menos, coestimulantes del sistema inmune, o con efectores antagonistas de inhibidores naturales o, al menos, coinhibidores del sistema inmune.

Un ejemplo específico sería la combinación de un anticuerpo que se une a NY-ESO-1, como se describe en el presente documento (por ejemplo, 12D7), con anticuerpos agonistas anti-CD40 como CP-870,893 o SGN-40, anticuerpos agonistas anti-OX40 como OX86, y/o anticuerpos agonistas anti CD137 como BMS-663513.

5 Otro ejemplo específico sería la combinación de un anticuerpo que se une a NY-ESO-1, como se describe en el presente documento (por ejemplo, 12D7), con anticuerpos antagonistas anti CTLA4 como Tremelimumab o Ipilimumab y/o anticuerpos antagonistas anti CD25 como Daclizumab.

10 Sin embargo, un anticuerpo que se une a TAA también se puede combinar, por ejemplo, (i) con estimulantes naturales o, al menos, coestimulantes del sistema inmune o activadores agonistas de estimulantes naturales o, al menos, coestimulantes del sistema inmunológico y (ii) con efectores antagonistas de inhibidores naturales o, al menos, coinhibidores del sistema inmunológico.

Un ejemplo específico sería la combinación de un anticuerpo que se une a NY-ESO-1, como se describe en el presente documento (por ejemplo, 12D7) con anticuerpos agonistas anti-CD40 como CP-870,893 o SGN-40, y con anticuerpos antagonistas anti CTLA4 como Tremelimumab o Ipilimumab.

Otros ejemplos pueden incluir además OX86, BMS-663513, CT-011 y/o Daclizumab.

15 Se pueden incluir otros compuestos que se sabe que actúan sobre el sistema inmune innato, como los activadores de los receptores de tipo Toll, 2, 3, 4, 5, 7, 8, y 9.

Una realización preferida comprende una combinación de un anticuerpo que se une a NY-ESO-1, como se describe en el presente documento (por ejemplo, 12D7) con anticuerpos agonistas anti-CD40 como CP- 870,893 o SGN-40 como únicos agentes farmacéuticamente activos.

20 Otra realización preferida comprende una combinación de un anticuerpo que se une a NY-ESO-1, como se describe en el presente documento (por ejemplo, 12D7) con anticuerpos antagonistas anti CTLA4 como Tremelimumab o Ipilimumab como únicos agentes farmacéuticamente activos.

25 Sin embargo, otra realización preferida comprende una combinación de un anticuerpo que se une a NY-ESO-1, como se describe en el presente documento (por ejemplo, 12D7), con anticuerpos agonistas anti-CD40 como CP- 870,893 o SGN-40 y con anticuerpos antagonistas anti CTLA4 como Tremelimumab o Ipilimumab como únicos agentes farmacéuticamente activos.

30 Se ha mencionado anteriormente que los diferentes principios farmacéuticamente activos, como el anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a TAA, los estimulantes naturales o, al menos, coestimulantes del sistema inmune, los activadores agonistas de estimulantes naturales o, al menos, coestimulantes del sistema inmune o, los efectores antagonistas de inhibidores naturales o, al menos, coinhibidores del sistema inmune, se pueden combinar con anticuerpos específicos múltiples, como los anticuerpos biespecíficos o fragmentos de los mismos. Esto se explica con el ejemplo específico de un anticuerpo que se une a NY-ESO-1 y un agonista anti-CD40 o un anticuerpo antagonista anti CTLA4 o fragmentos de los mismos. Sin embargo, se entenderá que este principio puede extenderse también a otros compuestos capaces de activar el sistema inmunológico.

35 Por lo tanto, una parte de un anticuerpo o un fragmento del mismo que se une a NY-ESO-1, y (i) una parte de un anticuerpo agonista anti-CD40 o fragmento del mismo, o (ii) una parte de un anticuerpo antagonista anti CTLA4 o un fragmento del mismo, se pueden combinar en un anticuerpo biespecífico.

40 Estos anticuerpos o fragmentos biespecíficos pueden tener varias configuraciones. Por ejemplo, los anticuerpos biespecíficos pueden parecerse a los anticuerpos sencillos (o a fragmentos de anticuerpos), pero tienen dos sitios de unión al antígeno (regiones variables) diferentes. Los anticuerpos biespecíficos se pueden producir por técnicas químicas (*Kranz et al. (1981), Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU., 78: 5807*) o por técnicas de ADN recombinante. Los anticuerpos biespecíficos pueden tener especificidades de unión para al menos dos epítopos diferentes, al menos uno de los cuales es un epítipo de un antígeno asociado a un tumor, para el que se ha identificado el anticuerpo. Los anticuerpos y fragmentos también pueden ser heteroanticuerpos. Los heteroanticuerpos son dos o más anticuerpos, o fragmentos de anticuerpos (Fab), que se unen entre sí, cada anticuerpo o fragmento tiene una especificidad diferente.

45 El uso de estos anticuerpos biespecíficos puede tener la ventaja de que el incremento y/o la prolongación de la respuesta inmune localizada inicial, que se supone que se activa por la unión de los anticuerpos a TAA, se limita al tumor con la mayor precisión posible.

50 Por supuesto, este concepto se puede extender a los anticuerpos triespecíficos que comprenden, por ejemplo una parte de un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión NY-ESO-1, una parte de un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a un agonista anti-CD40 y una parte de un anticuerpo o un fragmento del mismo que se une a un antagonista anti CTLA4.

Como se ha establecido anteriormente, las combinaciones antes mencionadas pueden proporcionarse en forma de una composición farmacéutica única, que sería el caso, por ejemplo para un anticuerpo biespecífico, o pueden proporcionarse como un kit de composiciones farmacéuticas.

5 En el caso de un kit, puede comprender los agentes farmacéuticamente activos en composiciones farmacéuticas separadas en diferentes combinaciones. Esto se explica de nuevo en el ejemplo específico de un agente citotóxico, un anticuerpo que se une a NY-ESO-1, un anticuerpo agonista anti-CD40 y un anticuerpo antagonista anti CTLA4. Sin embargo, se entiende que este principio se puede adaptar conforme a otras combinaciones.

10 En el ejemplo anterior, el kit puede consistir en dos composiciones farmacéuticas, la primera composición farmacéutica que comprende el agente citotóxico y la segunda composición farmacéutica que comprende un anticuerpo que se une a NY-ESO-1 y un anticuerpo agonista anti-CD40. Este kit permitiría tratar a un paciente en primer lugar con quimioterapia, lo que se supone que (en este caso) haría más fácilmente accesible el antígeno NY-ESO-1 al anticuerpo que se une a NY-ESO-1. De manera que, la administración sucesiva de la segunda composición farmacéutica posteriormente, asegura la liberación simultánea tanto del anticuerpo que se une a NY-ESO-1 como del anticuerpo agonista anti-CD40. Esto permitirá que el anticuerpo agonista anti-CD40 muestre su actividad tan pronto como el anticuerpo que se une a NY-ESO-1 haya desencadenado una respuesta inmune localizada.

15 En otro ejemplo, el kit puede consistir en tres composiciones farmacéuticas, la primera composición farmacéutica que comprende el agente citotóxico, la segunda composición farmacéutica que comprende un anticuerpo que se une a NY-ESO-1 y la tercera composición farmacéutica que comprende un anticuerpo antagonista anti CTLA4. Este kit permitiría tratar a un paciente en primer lugar con quimioterapia, lo que se supone que (en este caso) haría más fácilmente accesible el antígeno NY-ESO-1 al anticuerpo que se une a NY-ESO-1. La segunda y tercera composiciones farmacéuticas podrían entonces ser administradas por separado, una de la otra, para activar primero una respuesta inmune localizada por la unión de los anticuerpos a TAA y dejar tiempo suficiente para el desarrollo de una respuesta inmune, antes de que el anticuerpo antagonista anti CTLA4 pueda ejercer plenamente su función. Sin embargo, los anticuerpos anti CTLA4 también pueden ayudar a desreprimir las células T específicas de NY-ESO-1 ya existentes. Estas células podrían ser activadas aún más, por la administración posterior de anticuerpos específicos de NY-ESO-1, que fortalezcan aún más la presentación de antígenos, por medio de los anticuerpos que se unen a NY-ESO-1. En tal caso, la tercera composición farmacéutica se puede administrar antes o, al menos, de forma concomitante con la segunda composición farmacéutica.

20 Estos kits podrían utilizarse así, por ejemplo, para responder a las diferentes propiedades farmacocinéticas de, por ejemplo los respectivos anticuerpos mediante una administración a medida, adecuada.

Se ha mencionado anteriormente que la eficacia de las combinaciones mencionadas anteriormente puede mejorarse si los pacientes que reciben este tipo de combinaciones se someten a un tratamiento citotóxico.

35 El término "tratamiento citotóxico" incluye quimioterapia, radioterapia, cirugía, hipertermia y similares. La quimioterapia puede incluir la administración de agentes citotóxicos como taxanos, que incluyen docetaxel y paclitaxel, antraciclinas, cisplatino, carboplatino, 5-fluoro-uracilo, gemcitabina, capecitabina, navelbina o zoledronato.

En los casos donde se utiliza la quimioterapia y en particular los agentes citotóxicos mencionados anteriormente, como tratamiento citotóxico, estos agentes pueden incluirse en las composiciones farmacéuticas y kits como se contempla anteriormente. Preferiblemente, puede incluirse 5-FU.

40 Las combinaciones de agentes farmacéuticamente activos que pueden adoptar la forma de composiciones farmacéuticas o kits, como se contempla en el presente documento, pueden usarse como medicamentos para uso en el tratamiento de pacientes que sufren enfermedades hiperproliferativas.

45 Las combinaciones de agentes farmacéuticamente activos que pueden adoptar la forma de composiciones farmacéuticas o kits como se contempla en el presente documento, también se pueden utilizar en la preparación de medicamentos para el tratamiento de pacientes que sufren enfermedades hiperproliferativas.

Además, las combinaciones de agentes farmacéuticamente activos que pueden adoptar la forma de composiciones farmacéuticas o kits como se contempla en el presente documento, se pueden administrar en métodos de tratamiento de pacientes que sufren enfermedades hiperproliferativas.

50 El término "enfermedad hiperproliferativa" se refiere a enfermedades que se designan comúnmente como cáncer o tumores.

55 A menos que se indique lo contrario, los términos "cáncer" y "tumor" se usan indistintamente en el presente documento. Estos términos en particular se refieren, pero no están limitados a cáncer y tumores seleccionados del grupo que comprende el carcinoma de células basales; cáncer de vejiga; cáncer de hueso, como el osteosarcoma; tumores del sistema nervioso central como el astrocitoma cerebeloso, astrocitoma cerebral/glioma maligno, craneofaringioma, ependimoblastoma, ependimoma, meduloblastoma, medulloepitelioma, tumores del parénquima

5 pineal de diferenciación intermedia, tumores neuroectodérmicos primitivos, pineoblastoma y los tumores de la médula espinal; linfoma de Burkitt; cáncer de mama; cáncer de cuello uterino; leucemia mielógena crónica; cáncer de colon; cáncer de recto; cáncer colorectal; cáncer de esófago; la familia de tumores de Ewing; cáncer de las vías biliares extrahepáticas; cáncer de la vesícula biliar; tumor del estroma gastrointestinal (GIST); glioma; cáncer de cabeza y cuello; tumores de las células de los islotes; sarcoma de Kaposi; leucemia; cáncer de hígado; linfoma; linfoma de Hodgkin; linfoma no Hodgkin; linfoma de células T; mesotelioma; mieloma múltiple/neoplasia de células plasmáticas; leucemia mieloide; mieloma múltiple; cáncer naseofaríngeo; neuroblastoma; cáncer de pulmón de células pequeñas; cáncer de pulmón de células no pequeñas; cáncer orofaríngeo; osteosarcoma; cáncer de ovarios; 10 cáncer de páncreas; cáncer de paratiroides; cáncer de pene; cáncer de faringe; feocromocitoma; tumor de la hipófisis; cáncer de próstata; cáncer de células renales; carcinoma del tracto respiratorio; retinoblastoma; cáncer de piel (melanoma); cáncer del intestino delgado; sarcoma de tejidos blandos; carcinoma de células escamosas; cáncer de cuello escamoso; cáncer de estómago (gástrico); cáncer testicular; cáncer de garganta; cáncer de tiroides; cáncer de transición de las células de la pelvis renal y el uréter; cáncer de la uretra; cáncer uterino; cáncer de la vagina; cáncer de la vulva y tumor de Wilms.

15 Los cánceres para los que se considera el tratamiento, en el contexto de la presente invención, son normalmente la clase de tumores que expresan TAA al menos en cierta medida, que son reconocidos por los anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a TAA.

Estos cánceres expresaran preferiblemente, al menos en cierta medida, antígeno CT como el NY- ESO-1 o MAGEA.

20 La eficacia de las combinaciones de los agentes farmacéuticamente activos que pueden adoptar la forma de composiciones farmacéuticas o kits como se contempla en el presente documento, los usos antes mencionados y los métodos para tratar los tipos de cánceres específicos mencionados anteriormente depende, en cierta forma, del anticuerpo o fragmento de unión a TAA que se utiliza.

25 Por ejemplo, si se utiliza un anticuerpo que se une a NY-ESO-1, como parte de una composición farmacéutica o kit según la invención, puede ser particularmente eficaz en el tratamiento de cáncer no microcítico de pulmón, melanoma, cáncer de esófago, cáncer de vejiga, cáncer hepatocelular o cáncer de próstata. Sin embargo, también se puede considerar en el tratamiento de cáncer de ovario, cáncer de mama (cáncer de mama triple negativo y otros), cáncer cervical, mieloma múltiple, cáncer colorectal, cáncer de esófago o cáncer de cabeza y cuello.

30 Si se utiliza un anticuerpo que se une a MAGE-A1 como parte de una composición farmacéutica o kit según la invención, puede ser particularmente eficaz en el tratamiento de cáncer no microcítico de pulmón, melanoma, cáncer hepatocelular, cáncer de vejiga, cáncer de cabeza y cuello o cáncer de esófago. Sin embargo, también se puede considerar en el tratamiento de cáncer de páncreas, neuroblastoma, sarcoma, cáncer de ovario, cáncer colorectal, cáncer de próstata o cáncer de mama.

Si se utiliza un anticuerpo que se une a MAGE-A2 como parte de una composición farmacéutica o kit según la invención, puede ser particularmente eficaz en el tratamiento de melanoma.

35 Si se utiliza un anticuerpo que se une a MAGE-A3 como parte de una composición farmacéutica o kit según la invención, puede ser particularmente eficaz en el tratamiento de melanoma, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de pulmón de células no pequeñas, mieloma múltiple y/o el cáncer de páncreas.

40 Si se utiliza un anticuerpo que se une a MAGE-A4 como parte de una composición farmacéutica o kit según la invención, puede ser particularmente eficaz en el tratamiento de melanoma, cáncer de células no pequeñas, mieloma múltiple y/o carcinoma seroso de ovario.

Si se utiliza un anticuerpo que se une a MAGE-A10 como parte de una composición farmacéutica o kit según la invención, puede ser particularmente eficaz en el tratamiento cáncer de células no pequeñas.

45 Si se utiliza un anticuerpo que se une a MAGE-C1 como parte de una composición farmacéutica o kit según la invención, puede ser particularmente eficaz en el tratamiento de cáncer de células no pequeñas, carcinoma hepatocelular y/o mieloma múltiple.

50 La eficacia y/o selectividad de las composiciones farmacéuticas o kits según la invención, para ciertos tipos de cáncer, se pueden aumentar si se combinan diferentes anticuerpos o fragmentos que se unen a TAA, por ejemplo diferentes antígenos CT. Por lo tanto, las composiciones o kits farmacéuticos anteriormente mencionados pueden comprender combinaciones de anticuerpos o de fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1, MAGE-A1, MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-10 y MAGE-C1, por ejemplo, con anticuerpos agonistas anti-CD40 o fragmentos de unión de los mismos y/o antagonistas anti-CTLA4 o fragmentos de unión de los mismos.

Como ya se ha mencionado, en otro aspecto la presente invención también se hace referencia a los anticuerpos individuales específicos o fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1 antes mencionados, como se describe en el contexto de la presente descripción. La invención se dirige, por lo tanto también, a estos anticuerpos

tal cual, incluso aunque no se encuentran en combinación, por ejemplo, con compuestos capaces de activar una respuesta inmune.

Estos anticuerpos o fragmentos de los mismos incluyen 12D7, 12D7*, 31E4, 30D6, 15B12, 22A1, 1H12, 10E1 y 1D4.

5 Estos anticuerpos o fragmentos de los mismos incluyen además anticuerpos o fragmentos de los mismos que comprenden una cadena pesada variable y/o una cadena ligera variable de los anticuerpos 12D7, 12D7*, 31E4, 30D6, 15B12, 22A1, 1H12, 10E1 o 1D4 o una cadena pesada variable y/o una cadena ligera variable que tiene al menos un 80% de identidad de secuencia con la cadena pesada variable y/o la cadena ligera variable de los anticuerpos 12D7, 12D7 *, 31E4, 30D6, 15B12, 22A1, 1H12, 10E1 o 1D4.

10 Estos anticuerpos o fragmentos de los mismos incluyen además anticuerpos o fragmentos de los mismos que comprenden las regiones determinantes de la complementariedad (CDR) de los anticuerpos 12D7, 12D7*, 31E4, 30D6, 15B12, 22A1, 1H12, 10E1 o 1D4 dentro de su cadena pesada variable y/o de la cadena ligera variable. Estos anticuerpos o fragmentos de los mismos también pueden comprender CDR dentro de la cadena pesada variable y/o de la cadena ligera variable que tienen al menos 80% de identidad de secuencia con las CDR de los anticuerpos 12D7, 12D7*, 31E4, 30D6, 15B12, 22A1, 1H12, 10E1 o 1D4.

15 En particular, estos anticuerpos incluyen los anticuerpos específicos de NY-ESO-1 antes mencionados que se caracterizan por las SEQ ID Nos.1 a 86.

20 Todos estos anticuerpos individuales específicos de NY-ESO-1 o fragmentos de los mismos que se unen a NY-ESO-1 tienen en común que, o bien se han obtenido directamente de los pacientes que han recibido una vacuna NY-ESO-1 y han sido clasificados como que responden completa al menos parcialmente, o derivan de anticuerpos de estos pacientes. De este modo, son o bien anticuerpos monoclonales humanos derivados de pacientes o anticuerpos monoclonales quiméricos, humanizados o humanos, que conservan las propiedades esenciales de los anticuerpos monoclonales humanos derivados de pacientes. Parece justificado asumir que estos anticuerpos serán particularmente eficaces en el tratamiento de tumores que expresan NY- ESO-1 o incluso en otros tipos de cáncer. La eficacia de estos anticuerpos puede ser resultado de su capacidad para inducir una respuesta inmune contra el tumor mediante, por ejemplo la activación las células T CD4⁺ y CD8⁺ citotóxicas.

25 La presente invención se refiere además a las moléculas de ácidos nucleicos que codifican dichos anticuerpos, a las moléculas de ácidos nucleicos que codifican las cadenas variables ligeras y/o pesadas de los mismos y a las moléculas de ácidos nucleicos que codifican las CDR1, CDR2 y/o CDR3 de la cadenas variables ligeras y/o pesadas de las mismas.

30 La presente invención se refiere además a los vectores que comprenden estas moléculas de ácidos nucleicos y/o estos vectores.

La presente invención también se refiere a las composiciones farmacéuticas que comprenden estos anticuerpos específicos de NY-ESO-1 o fragmentos de los mismos.

35 La presente invención se refiere además a composiciones farmacéuticas que comprenden estos anticuerpos específicos de NY-ESO-1 o fragmentos de los mismos para uso en el tratamiento de enfermedades hiperproliferativas, en particular de los tumores que expresan NY-ESO-1.

La presente invención se refiere además a composiciones farmacéuticas que comprenden estos anticuerpos específicos de NY-ESO-1 o fragmentos de los mismos en la preparación de un medicamento para tratar las enfermedades hiperproliferativas, en particular los tumores que expresan NY-ESO-1.

40 La presente invención se refiere además a métodos de tratamiento de enfermedades hiperproliferativas, en particular los tumores que expresan NY-ESO-1, mediante la administración a pacientes de estos anticuerpos específicos de NY-ESO-1 o fragmentos de los mismos.

45 La presente invención se refiere además a una composición de diagnóstico que comprende estos anticuerpos específicos de NY-ESO-1 o fragmentos de los mismos, para uso en el diagnóstico de enfermedades hiperproliferativas, en particular de los tumores que expresan NY- ESO-1.

La presente invención se refiere además al uso de estos anticuerpos específicos de NY-ESO-1 o fragmentos de los mismos en la preparación de una composición de diagnóstico para el diagnóstico de enfermedades hiperproliferativas, en particular de los tumores que expresan NY-ESO-1.

50 La presente invención se refiere además a métodos de diagnóstico de enfermedades hiperproliferativas, en particular de los tumores que expresan NY-ESO-1 mediante el uso de estos anticuerpos específicos de NY-ESO-1 o fragmentos de los mismos.

Los anticuerpos o fragmentos de los mismos a los que se hace referencia generalmente en el contexto de la presente invención, también pueden ser parte de moléculas de inmunoadhesión mas grandes, formadas por la

asociación covalente o no covalente del anticuerpo o parte del anticuerpo con, por ejemplo, una o más proteínas o péptidos. Ejemplos de estas moléculas de inmunoadhesión incluyen el uso de la región del núcleo de estreptavidina para hacer una molécula de scFv tetramérica (Kipriyanov, S. M., et al. (1995) *Human Antibodies and Hybridomas* 6:93-101) y el uso de un resto de cisteína, un péptido marcador y una etiqueta de polihistidina C-terminal para hacer moléculas de scFv bivalentes y biotiniladas (Kipriyanov, S. M., et al (1994) *Mol. Immunol.* 31: 1047-1058). Los anticuerpos y fragmentos que comprenden moléculas de inmunoadhesión pueden ser obtenidos usando técnicas estándar de ADN recombinante, como se describe en el presente documento. Las partes preferidas del antígeno son los dominios completos o pares de dominios completos.

Los anticuerpos y los fragmentos de la presente invención también pueden abarcar fragmentos del dominio (dAb) del anticuerpo (Ward et al., *Nature* 341: 544-546, 1989) que consisten en un dominio V_H. Los anticuerpos y fragmentos de la presente invención también abarcan diacuerpos, que son anticuerpos bivalentes en los que los dominios V_H y V_L se expresan en una cadena polipeptídica única, pero usando un ligador que es demasiado corto para permitir el emparejamiento de los dos dominios en la misma cadena, forzando de esta manera que los dominios se emparejen con dominios complementarios de otra cadena y creando dos sitios de unión al antígeno (véase, por ejemplo, EP 404097; WO9311161; Holliger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 90:6444-6.448, 1993, y Poljak et al., *Structure* 2: 1121-1123, 1994). Los diacuerpos pueden ser biespecíficos o monoespecíficos.

Como se ha mencionado, los anticuerpos y fragmentos de la presente invención también abarcan fragmentos de anticuerpos de cadena única (scFv). Un scFv comprende una región variable de la cadena pesada de un anticuerpo (V_H), unida operativamente a una región variable de la cadena ligera de un anticuerpo (V_L) en donde la región variable de la cadena pesada y la región variable de la cadena ligera, juntas o por separado, forman un sitio de unión. Un scFv puede comprender una región V_H en el extremo amino-terminal y una región V_L en el extremo carboxi-terminal. Como alternativa, scFv puede comprender una región V_L en el extremo amino-terminal y una región V_H en el extremo carboxi-terminal. Además, aunque los dos dominios del fragmento Fv, VL y VH, están codificados por genes separados, pueden unirse, usando métodos recombinantes, por un ligador sintético que les permita formar una cadena de proteína única en donde las regiones VL y VH se emparejan para formar moléculas monovalentes (conocidas como Fv de cadena sencilla (scFv); véase, por ejemplo, Bird et al. (1988) *Science* 242: 423-426; y Huston et al. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 85: 5.879-5.883).

Un scFv puede comprender opcionalmente además, un ligador polipeptídico entre la región variable de la cadena pesada y la región variable de la cadena ligera. Estos ligadores polipeptídicos comprenden en general de 1 a 50 aminoácidos, como alternativa de 3 a 12 aminoácidos, como alternativa 2 aminoácidos. Un ejemplo de un péptido ligador para ligar las cadenas pesada y ligera en un scFv, comprende la secuencia de 5 aminoácidos Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO: 37). Otros ejemplos comprenden una o más repeticiones en tándem de esta secuencia (por ejemplo, un polipéptido que comprende de dos a cuatro repeticiones de Gly-Gly- Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO: 37)) para crear los ligadores.

Los anticuerpos y fragmentos de la presente invención también abarcan anticuerpos de cadena pesada (HCAb). Se producen excepciones a la estructura H₂L₂ de los anticuerpos convencionales en algunos isotipos de las inmunoglobulinas que se encuentran en camélidos (camellos, dromedarios y llamas; Hamers-Casterman et al., 1993 *Nature* 363: 446; Nguyen et al., 1998 *J. Mol. Biol.* 275: 413), tiburones wobbegong (Nuttall et al., *Mol Immunol* 38: 313-26, 2001), tiburones nodriza (Greenberg et al., *Nature* 374: 168-73, 1995; Roux et al., 1998 *Proc. Nat. Acad. Sci. EE.UU.* 95: 11804), y pez rata moteado (Nguyen, et al., "Heavy-chain antibodies in Camelidae, a case of evolutionary innovation" *Immunogenetics* 2002 54 (1): 39-47). Estos anticuerpos aparentemente pueden formar regiones que se unen al antígeno, usando solamente la región variable de la cadena pesada, por tanto estos anticuerpos funcionales son dímeros de cadenas pesadas solamente (a los que se denominan "anticuerpos de cadena pesada" o "HCAb"). Por consiguiente, algunas realizaciones de los anticuerpos y fragmentos expuestos, pueden ser anticuerpos de cadena pesada (HCAb) que se unen específicamente al antígeno asociado a un tumor. Por ejemplo, los anticuerpos de cadena pesada, que son un tipo de IgG, y que están desprovistos de cadenas ligeras los producen animales del género Camelidae, que incluye a los camellos, dromedarios y llamas (Hamers-Casterman et al., *Nature* 363: 446-448 (1993)). Los HCAb tienen un peso molecular de aproximadamente 95 kDa en lugar del peso molecular de los anticuerpos IgG convencionales de aproximadamente 160 kDa. Los dominios de unión consisten solamente en dominios variables de la cadena pesada, a menudo denominados V_{HH} para distinguirlos de los V_H convencionales. Muyldermans et al., *J. Mol. Recognit.* 12:131-140 (1999). El dominio variable de los anticuerpos de cadena pesada se denomina a veces nanocuerpo (Cortez-Retamozo et al., *Cancer Research* 64: 2853-57, 2004). Se puede generar una biblioteca de nanocuerpos a partir de un dromedario inmunizado como se describe en Conrath et al., (*Antimicrob Agents Chemother* 45: 2807-12, 2001) o usando métodos recombinantes.

Puesto que el primer dominio constante (C_{H1}) está ausente (separado durante el procesado del mRNA debido a la falta de una señal consenso de corte), el dominio variable (V_{HH}) va seguido inmediatamente de la región bisagra, los dominios C_{H2} y C_{H3} (Nguyen et al, *Mol. Immunol.* 36: 515-524 (1999); Woolven et al., *Immunogenetics* 50: 98-101 (1999)). El V_{HH} camélido referido, se recombina con regiones constantes de IgG2 e IgG3 que contienen dominios bisagra, CH2 y CH3 y carecen de un dominio CH1 (Hamers-Casterman et al., véase más arriba). Por ejemplo, el IgG1 de llama es un isotipo (H₂L₂) de un anticuerpo convencional en el que V_H se recombina con una región

constante que contiene los dominios bisagra, CH1, CH2 y CH3, mientras que las IgG2 e IgG3 de llama son isotipos sólo de cadena pesada, que carecen de dominios CH1 y que no contienen cadenas ligeras.

Aunque los HCAb están desprovistos de cadenas ligeras, tienen un repertorio de unión al antígeno. El mecanismo genético de generación de HCAb se analiza en *Nguyen et al. Adv. Immunol* 79: 261-296 (2001) y en *Nguyen et al., Immunogenetics* 54: 39-47 (2002). Los tiburones, incluyendo el tiburón nodriza, presentan dominios V sencillos, que contienen el receptor antígeno similar. *Irving et al., J. Immunol. Methods* 248: 31-45 (2001); *Roux et al., Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 95: 11804 (1998).

Los V_{HH} comprenden fragmentos pequeños intactos que se unen al antígeno (por ejemplo, fragmentos que son aproximadamente de 15 kDa, restos 118-136). Se han encontrado dominios V_{HH} de camélidos que se unen al antígeno con alta afinidad (*Desmyter et al., J. Biol Chem.* 276: 26285-90, 2001), con afinidades de V_{HH} en el intervalo nanomolar normal y comparables con las de los fragmentos scFv y Fab. Los V_{HH} son altamente solubles y más estables que los correspondientes derivados de fragmentos scFv y Fab. Ha sido relativamente difícil producir los fragmentos de VH en forma soluble, pero pueden obtenerse mejoras en la solubilidad y en la unión específica cuando los restos del marco se alteran para ser más similares a V_{HH}. (Véase, por ejemplo, *Reichman et al., J Immunol Methods* 1999, 231: 25-38.) Los V_{HH} llevan sustituciones de aminoácidos que los hacen más hidrófilos y evitan la interacción prolongada con BiP (proteína que se une a la cadena pesada de inmunoglobulina), que normalmente se une a la cadena H en el Retículo Endoplásmico (ER) durante el plegamiento y ensamblaje, hasta que se desplaza por la cadena L. Debido al aumento de la hidrofiliidad de los V_{HH}, se mejora la secreción desde el RE.

Se pueden obtener VHH funcionales por la escisión proteolítica de HCAb de un camélido inmunizado, mediante clonación directa de genes de V_{HH} de las células B de un camélido inmunizado, dando como resultado V_{HH} recombinantes, o a partir de bibliotecas de nativos o sintéticos. Se pueden obtener también VHH con la especificidad de antígeno deseada mediante la metodología de presentación de fagos. El uso de VHH en la presentación de fagos es mucho más sencillo y más eficiente que en los Fab o scFv, ya que sólo es necesario clonar y expresar un dominio para obtener un fragmento funcional que se une al antígeno. *Muyldermans, Biotechnol.* 74:277-302 (2001); *Ghahroudi et al., FEBS Lett.* 414:521-526 (1997); y *van der Linden et al., J. Biotechnol.* 80:261-270 (2000). Los métodos para generar anticuerpos que tienen cadenas pesadas de camélidos también se describen en las publicaciones de las patentes de EE.UU. US20050136049 y US20050037421.

Los anticuerpos y los fragmentos de los mismos pueden también abarcar cualquiera de las secuencias de aminoácidos de las cadenas ligeras o pesadas con una o más sustituciones conservadoras (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, o 15 sustituciones conservadoras) específicamente mencionadas anteriormente. Se pueden determinar las posiciones de una secuencia de aminoácidos que son candidatas para sustituciones conservadoras, y se pueden seleccionar los aminoácidos sintéticos y de origen natural que efectúan sustituciones conservadoras de cualquier aminoácido en concreto. El estudio para seleccionar las sustituciones conservadoras incluye el contexto en el que se hace cualquier sustitución de aminoácidos particular, la hidrofobicidad o polaridad de la cadena lateral, el tamaño general de la cadena lateral y el valor del pK de las cadenas laterales con carácter ácido o básico en condiciones fisiológicas. Por ejemplo, la lisina, arginina, e histidina son generalmente sustitutos adecuados los unos de los otros. Como es conocido en la técnica, esto se debe a que los tres aminoácidos tienen cadenas laterales básicas, aunque el valor del pK de las cadenas laterales de lisina y arginina son mucho más próximos entre sí (aproximadamente 10 y 12) que al de la histidina (de aproximadamente 6). Del mismo modo, la glicina, alanina, valina, leucina, e isoleucina son generalmente sustitutos adecuados los unos de los otros, con la condición de que la glicina frecuentemente no es un sustituto adecuado de los otros miembros del grupo. Otros grupos de aminoácidos con son generalmente sustitutos adecuados los unos de los otros incluyen, pero no se limitan al grupo que consiste en los ácidos glutámico y aspártico; el grupo que consiste en la fenilalanina, tirosina y triptófano; y el grupo que consiste en la serina, treonina, y, opcionalmente, la tirosina.

Al hacer modificaciones conservadoras en la secuencia de aminoácidos o modificaciones correspondientes a los nucleótidos que codifican, se puede producir anticuerpos o fragmentos de los mismos que tienen características funcionales y químicas similares a las de los anticuerpos ejemplo y a los fragmentos descritos en la presente memoria.

Los anticuerpos y los fragmentos de los mismos, tal como se mencionan en el contexto de la presente invención, pueden abarcar derivados de los ejemplos de anticuerpos, fragmentos y secuencias, descritos en el presente documento. Los derivados incluyen polipéptidos o péptidos, o variantes, fragmentos o derivados de los mismos, que han sido modificados químicamente. Los ejemplos incluyen la unión covalente de uno o más polímeros, como los polímeros solubles en agua, hidratos de carbono N-ligados o O-ligados, azúcares, fosfatos, y/o otras moléculas, como marcadores detectables, como los fluoróforos.

Los agentes de etiquetado se pueden acoplar ya sea directa o indirectamente a los anticuerpos o antígenos de la invención. Un ejemplo de acoplamiento indirecto es mediante el uso de un grupo espaciador. Además, los anticuerpos de la presente invención pueden comprender un dominio adicional unido por enlaces covalentes o enlaces no covalentes. La unión puede basarse en la fusión genética según los métodos conocidos en la técnica y

descritos anteriormente, o pueden llevarse a cabo, por ejemplo, por reticulación química como se describe, por ejemplo, en la solicitud internacional WO94/04686. El dominio adicional presente en la proteína de fusión que comprende el anticuerpo de la invención, puede estar ligado preferiblemente por un ligador flexible, ventajosamente por un polipéptido ligador, en donde dicho polipéptido ligador comprende múltiples aminoácidos hidrofílicos ligados a péptidos de una longitud suficiente para abarcar la distancia entre el extremo C-terminal de este dominio adicional y el extremo N-terminal del anticuerpo de la invención, o viceversa. El agente de diagnóstico o terapéuticamente activo puede acoplarse al anticuerpo de la invención o a un fragmento del mismo que se une al antígeno por diversos medios. Esto incluye, por ejemplo, proteínas de fusión de una sola cadena que comprenden las regiones variables del anticuerpo de la invención acoplado por métodos covalentes, tales como enlaces peptídicos, al agente de diagnóstico o terapéuticamente activo. Otros ejemplos incluyen moléculas que comprenden al menos un fragmento que se une al antígeno, acoplado covalentemente o no covalentemente a moléculas adicionales, incluyen los de la siguiente lista ilustrativa no limitativa. *Traunecker et al., Int. J. Cancer Surp. SuDP 7 (1992), 51-52*, describen reactivo biespecífico Janusin en el que la región de Fv dirigida a CD3 esta acoplada al CD4 soluble o a otros ligandos como OVCA e IL-7. Del mismo modo, una región de Fv dirigida a NY-ESO-1 puede acoplarse a partes, por ejemplo, de un anticuerpo agonista anti-CD40 y/o a partes de un anticuerpo antagonista anti CTLA4. Del mismo modo, se pueden construir regiones variables del anticuerpo de la invención dentro de las moléculas Fv y acoplarlas a ligandos alternativos como los explicados en el citado artículo. *Higgins et al., J. Infect Disease 166 (1992), 198-202*, describen un anticuerpo heteroconjugado compuesto por OKT3 entrecruzado con un anticuerpo dirigido a una secuencia específica en la región V3 de GP120. Estos anticuerpos hetero-conjugados también se pueden construir usando al menos, las regiones variables contenidas en el anticuerpo de los métodos de la invención. Ejemplos adicionales de anticuerpos específicos incluyen los descritos por *Fanger et al., Cancer Treat. Res. 68 (1993), 181-194* y por *Fanger et al., Crit. Rev. Immunol. 12 (1992), 101-124*. Los conjugados que son inmunotoxinas que incluyen anticuerpos convencionales se han descrito ampliamente en el estado de la técnica. Las toxinas se pueden acoplar a los anticuerpos por técnicas de acoplamiento convencionales, o las inmunotoxinas que contienen partes de toxina proteína, pueden producirse como proteínas de fusión. Los anticuerpos de la presente invención pueden utilizarse de manera análoga para obtener estas inmunotoxinas. Son ejemplos de estas inmunotoxinas las descritas por *Byers et al., Seminars Cell. Biol. 2 (1991), 59-70* y por *Fanger et al., Immunol. Today 12 (1991), 51-54*.

Las proteínas de fusión descritas anteriormente pueden comprender además un ligador escindible o un sitio de escisión para proteasas. Estos grupos espaciadores, a su vez, pueden ser insolubles o solubles (*Diener et al., Science 231 (1986), 148*) y pueden seleccionarse para permitir la liberación del fármaco desde el antígeno en el sitio diana.

Ejemplos de los agentes terapéuticos que pueden acoplarse a los anticuerpos y antígenos de la presente invención para inmunoterapia son fármacos, radioisótopos, lectinas y toxinas. Los fármacos con los que se pueden conjugar los anticuerpos y los antígenos de la presente invención, incluyen compuestos que se denominan normalmente fármacos como la mitomicina C, daunorubicina y vinblastina. En el uso de los anticuerpos o antígenos conjugados radioisotópicamente de la invención, por ejemplo, para inmunoterapia tumoral, determinados isótopos pueden ser más preferibles que otros, dependiendo de factores como la distribución de los leucocitos, así como la estabilidad y la emisión.

Algunos emisores pueden ser preferibles a otros. En general, se prefieren en inmunoterapia los radioisótopos que emiten partículas alfa y beta. Los preferidos son los emisores de alta energía, de corto alcance, como ^{212}Bi . Ejemplos de radioisótopos que se pueden unir a los anticuerpos o antígenos de la invención con fines terapéuticos son ^{125}I , ^{131}I , ^{90}Y , ^{67}Cu , ^{212}Bi , ^{212}At , ^{211}Pb , ^{47}Sc , ^{109}Pd y ^{188}Re . Otros agentes terapéuticos que se pueden acoplar al anticuerpo o al antígeno de la invención, así como los protocolos terapéuticos ex vivo y en vivo, son conocidos, o se pueden establecer fácilmente, por los expertos en la técnica.

Como se ha mencionado, la descripción se refiere también, en alguna realización, a las moléculas de ácido nucleico que codifican los anticuerpos y los fragmentos de los mismos, a los vectores que comprenden estas moléculas de ácido nucleico y a las células huéspedes que comprenden estas secuencias de ácidos nucleicos y vectores.

Los anticuerpos y los fragmentos de los mismos pueden estar codificados por un único ácido nucleico (por ejemplo, un único ácido nucleico que comprende secuencias de nucleótidos que codifican los polipéptidos de la cadena ligera y pesada del anticuerpo), o por dos o más ácidos nucleicos separados, cada uno de los cuales codifica una parte diferente del anticuerpo, o del fragmento del anticuerpo. En este sentido, la invención proporciona uno o más ácidos nucleicos que codifican cualquiera de los anticuerpos o fragmentos precedentes (por ejemplo, cualquiera de las regiones variables de la cadena ligera o pesada anteriores de SEQ ID NO: 4, 14, 18, 30, 40, 50, 60, 70, 80 o de SEQ ID No: 3, 13, 187, 29, 39, 49, 59, 69, 79 o cualquiera de las CDR de SEQ ID No: 8, 22, 34, 44, 54, 64, 74, 84, 9, 23, 35, 45, 55, 65, 75, 85, 10, 24, 36, 46, 56, 66, 76, 86 o SEQ ID No: 5, 19, 31, 41, 51, 61, 71, 81, 6, 20, 32, 42, 52, 62, 72, 82, 7, 21, 33, 43, 53, 63, 73, 83). Las moléculas de ácido nucleico pueden ser ADN, ADNc, ARN y similares.

De acuerdo con un aspecto de la invención, la invención proporciona un ácido nucleico que codifica una región variable de la cadena pesada de un anticuerpo o una parte del mismo. Se proporcionan ejemplos de las secuencias de ácidos nucleicos en SEQ ID Nos: 1, 11, 15, 25, 26, 37, 47, 57, 67, 77. La descripción también proporciona un

ácido nucleico que codifica una región variable de la cadena ligera de un anticuerpo o parte del mismo. Se proporcionan ejemplos de las secuencias de ácidos nucleicos en SEQ ID Nos: 2, 12, 16, 27, 28, 38, 48, 58, 68, 78.

5 También se incluyen en la invención los ácidos nucleicos que codifican cualquiera de las secuencias de amino ácidos de las cadenas ligeras o pesadas anteriores que comprenden una o más sustituciones conservadoras (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, o 15 sustituciones conservadoras) como se explicó en relación al anticuerpo y al fragmento de anticuerpo de la invención, en donde el anticuerpo o el fragmento que comprende la sustitución, tienen la misma o sustancialmente la misma afinidad y especificidad de unión al epítipo, que uno o más de los ejemplos de anticuerpos, fragmentos y secuencias descritos en el presente documento.

10 Preferiblemente, el polinucleótido de la invención está unido operativamente a secuencias de control de la expresión que permiten la expresión en células procariotas o eucariotas. La expresión de dicho polinucleótido comprende la transcripción del polinucleótido en un RNAm traducible. Los elementos reguladores que aseguran la expresión en células eucariotas, preferiblemente en células de mamífero, son bien conocidos para los expertos en la técnica. Por lo general, comprenden secuencias reguladoras que aseguran el inicio de la transcripción y opcionalmente señales poli-A, que garantizan la terminación de la transcripción y la estabilización del transcrito. Se pueden incluir elementos reguladores adicionales potenciadores de la transcripción y de la traducción, y/o regiones promotoras heterólogas asociadas de forma natural.

20 Los ácidos nucleicos descritos en la presente memoria se pueden insertar en vectores, por ejemplo, vectores de expresión y/o vectores direccionadores de ácidos nucleicos. Estos vectores se pueden utilizar de diversas maneras, por ejemplo, para la expresión de un anticuerpo o de un fragmento en una célula o en un animal transgénico. Por lo tanto, la invención proporciona un vector que comprende uno cualquiera o más ácidos nucleicos de la invención. Un "vector" es cualquier molécula o composición que tiene la capacidad de transportar una secuencia de ácido nucleico, a una célula huésped adecuada, donde puede tener lugar la síntesis del polipéptido codificado. Normalmente y preferiblemente, un vector es un ácido nucleico que ha sido diseñado, utilizando técnicas de ADN recombinante que se conocen en la técnica, para incorporar una secuencia de ácido nucleico deseada (por ejemplo, un ácido nucleico de la invención). Es deseable que el vector comprenda ADN. Sin embargo, son también conocidos en la técnica los vectores que no están basados en ácidos nucleicos, como los liposomas, y pueden ser utilizados en relación con la invención. El vector de la invención puede estar basado en un tipo de ácido nucleico sencillo (por ejemplo, un plásmido) o en molécula de ácido no nucleico (por ejemplo, un lípido o un polímero). Como alternativa, el vector puede ser una combinación de un ácido nucleico y de un ácido no nucleico (es decir, un vector "quimérico"). Por ejemplo, un plásmido que contenga el ácido nucleico, se puede formular con un lípido o con un polímero como vehículo de administración. Este vector se denomina en la presente memoria un "complejo plásmido-lípido" y un complejo "plásmido-polímero", respectivamente. El vector de transferencia del gen de la invención, se puede integrar en el genoma de la célula huésped o puede estar presente en la célula huésped en la forma de un episoma.

35 Los vectores se seleccionan normalmente para ser funcionales en la célula huésped en donde se usará el vector (el vector es compatible con la maquinaria de la célula huésped de tal manera que se puede producir la amplificación y/o la expresión del gen). Una molécula de ácido nucleico que codifica un anticuerpo o un fragmento del mismo puede ser amplificada/expresada en células procariotas, de levadura, de insecto (sistemas de baculovirus) y/o en células huéspedes eucariotas. La selección de la célula huésped dependerá en parte de si el anticuerpo o fragmento van a ser modificados de manera post-transicional (por ejemplo, glicosilados y/o fosforilados). Si es así, son preferibles las células huésped de mamífero, levadura, o insecto.

40 Los vectores de expresión normalmente contienen uno o más de los siguientes componentes (si no has sido ya proporcionados por las moléculas de ácidos nucleicos): un promotor, una o más secuencias potenciadoras, un origen de replicación, una secuencia de terminación de la transcripción, una secuencia completa del intrón que contiene un sitio de corte y empalme aceptor y donador, una secuencia líder para la secreción, un sitio de unión al ribosoma, una secuencia de poliadenilación, una región policonectora para insertar el ácido nucleico que codifica el polipéptido que se expresa, y un elemento marcador seleccionable.

45 La invención, en algunos aspectos proporciona además una célula (por ejemplo, una célula aislada o purificada) que comprende un ácido nucleico o un vector de la invención. La célula puede ser cualquier tipo de célula capaz de transformarse con el ácido nucleico o vector de la invención, a fin de producir un polipéptido codificado por el mismo. La célula es preferiblemente la célula de un mamífero, tal como un ser humano, y es más preferiblemente una célula de un hibridoma, una célula madre embrionaria, o un óvulo fertilizado. La célula madre embrionaria u óvulo fertilizado pueden no ser una célula madre embrionaria humana o un óvulo fertilizado humano.

55 Las células huésped pueden ser células huésped procariotas (como E. coli) o células huésped eucariotas (tales como una célula de levadura, una célula de insecto, o una célula de vertebrado). La célula huésped, cuando se cultiva en condiciones apropiadas, expresa un anticuerpo o fragmento de unión que puede recogerse posteriormente del medio de cultivo (si la célula huésped lo segrega al medio) o directamente de la célula huésped que lo produce (si no se segrega). La selección de una célula huésped apropiada dependerá de diversos factores, como los niveles de expresión deseados, las modificaciones del polipéptido que son deseables o necesarias para la actividad, como la glicosilación o la fosforilación, y la facilidad de plegado en una molécula biológicamente activa. Se conocen

numerosas células huésped adecuadas en la técnica y muchas están disponibles en la Colección de Cultivos Tipo Americana (ATCC), Manassas, Va. Los ejemplos incluyen células de mamíferos, como las células de ovario de hámster chino (CHO) (ATCC N° CCL61), las células CHO DHFR (*Urlaub et al. Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 97, 4216-4220 (1980)*), las células de riñón embrionario humano (HEK) 293 o las células 293T (ATCC N° CRL1573), las células 3T3 (ATCC N° CCL92), o las células PER.C6.

La célula que comprende el ácido nucleico o el vector de la invención puede utilizarse para producir el anticuerpo o fragmento del mismo, o una parte del mismo (por ejemplo, una secuencia de la cadena pesada, o una secuencia de la cadena ligera codificada por el ácido nucleico o vector). Después de introducir el ácido nucleico o vector de la invención en la célula, la célula se cultiva en condiciones adecuadas para la expresión de la secuencia codificada. El anticuerpo, el fragmento que se une al antígeno, o la parte del anticuerpo se pueden aislar a partir de la célula.

La unión de anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a TAA, así como los compuestos capaces de activar el sistema inmunológico, pueden formularse en composiciones, especialmente en composiciones farmacéuticas. Estas composiciones comprenden un cantidad profiláctica o farmacéuticamente eficaz de un anticuerpo o de un fragmento del mismo, y/o de compuestos capaces de activar el sistema inmunológico en combinación con un vehículo adecuado, por ejemplo, un agente aceptable terapéuticamente.

Los agentes farmacéuticamente aceptables para uso en las presentes composiciones farmacéuticas incluyen vehículos, excipientes, disolventes, antioxidantes, conservantes, colorantes, agentes aromatizantes y de dilución, agentes emulsionantes, agentes de suspensión, disolventes, cargas, agentes de espesantes, tampones, vehículos de administración, agentes de tonicidad, cosolventes, agentes humectantes, agentes complejantes, agentes tamponadores, antimicrobianos, y tensioactivos.

La composición puede estar en forma líquida o en forma liofilizada o secada por congelación, y puede incluir uno o más lioprotectores, excipientes, agentes tensioactivos, aditivos estructurales de alto peso molecular y/o agentes espesantes (véase, por ejemplo las patentes de los Estados Unidos US6685940, US6566329 y US6372716).

Las composiciones pueden ser adecuadas para administración parenteral. Las composiciones de los ejemplos son adecuadas para inyección o infusión en un animal, por cualquier vía disponible para el experto, como son las vías intraarticular, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intracerebral (intraparenquimatoso), intracerebroventricular, intramuscular, intraocular, intraarterial, o intralesional. Una formulación parenteral normalmente será una disolución isotónica acuosa, estéril, libre de pirógenos, que contiene opcionalmente conservantes farmacéuticamente aceptables.

Ejemplos de disolventes no acuosos son el propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales, como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables como oleato de etilo. Los vehículos acuosos incluyen el agua, soluciones alcohólicas/acuosas, emulsiones o suspensiones, incluyendo la disolución salina y los medios tamponados. Los vehículos parenterales incluyen, la disolución de cloruro sódico, Ringer con dextrosa, dextrosa y cloruro sódico, Ringer con lactato, o aceites fijos. Los vehículos intravenosos incluyen reponedores de fluidos y nutrientes, reponedores de electrolitos, como los basados en Ringer con dextrosa, y similares. También pueden estar presentes conservantes y otros aditivos, como, por ejemplo, antimicrobianos, antioxidantes, agentes quelantes, gases inertes y similares. Véase, en general, *Remington's Pharmaceutical Science de, 16th Ed., Mack Eds., 1980*, que se incorpora aquí como referencia.

Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria se pueden formular para administración controlada o mantenida, de manera que proporcionan una concentración local del producto (por ejemplo, bolo, efecto de depósito) y/o un aumento de la estabilidad o de la semivida en un entorno local particular. Las composiciones pueden incluir la formulación de anticuerpos, fragmentos de unión, ácidos nucleicos o vectores de la invención con preparaciones en partículas de compuestos poliméricos, como el ácido poliláctico, ácido poliglicólico, etc., así como agentes como una matriz biodegradable, microesferas inyectables, partículas microcapsulares, microcápsulas, perlas de partículas bioerosionables, liposomas y dispositivos de administración implantables que proporcionan la liberación controlada o sostenida del agente activo, que puede ser administrado como una inyección de depósito.

Para suministrar las composiciones de la presente invención, se pueden usar tanto matrices poliméricas biodegradables y no biodegradables, y estas matrices poliméricas pueden comprender polímeros naturales o sintéticos. Son preferibles las matrices biodegradables. El período de tiempo durante el cual se produce la liberación se basa en la selección del polímero. Normalmente, es más deseable la liberación durante un período que varía entre unas pocas horas y de tres a doce meses.

Como alternativa o adicionalmente, las composiciones se pueden administrar localmente a través de la implantación en el área afectada de una membrana, de una esponja, u otro material apropiado sobre el cual un anticuerpo, fragmento de unión, ácido nucleico o vector de la invención se ha absorbido o encapsulado. Cuando se utiliza un dispositivo de implantación, el dispositivo puede ser implantado en cualquier tejido u órgano adecuado, y la administración de un anticuerpo, fragmento de unión, ácido nucleico o vector de la invención, puede realizarse

directamente a través del dispositivo mediante el bolo, o mediante administración continua, o mediante un catéter usando una infusión continua.

5 Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o un fragmento del mismo y/o compuestos capaces de activar el sistema inmune se puede formular para inhalación, tal como, por ejemplo, un polvo seco. Las disoluciones de inhalación se pueden formular también en un propulsor licuado para administrar por medio de un aerosol. En otra formulación, las soluciones se pueden nebulizar.

10 Determinadas formulaciones que contienen los anticuerpos o fragmentos de los mismos y/o los compuestos capaces de activar el sistema inmune se pueden administrar por vía oral. Las formulaciones administradas de esta manera se pueden formular con o sin los vehículos utilizados habitualmente en la composición de formas de dosificación sólidas como comprimidos y cápsulas. Por ejemplo, se puede diseñar una cápsula para liberar la parte activa de la formulación en el punto del tracto gastrointestinal en el que la biodisponibilidad esta maximizada y la degradación presistémica se reduce al mínimo. Se pueden incluir agentes adicionales para facilitar la absorción de un agente de unión selectivo. Se pueden emplear también disolventes, aromatizantes, ceras de bajo punto de fusión, aceites vegetales, lubricantes, agentes de suspensión, agentes disgregantes de comprimidos, y aglutinantes.

15 La invención se describe ahora con respecto a algunos ejemplos que, sin embargo, no puede entenderse como limitantes.

Ejemplo 1: La administración conjunta del anticuerpo agonista CD40 con el anticuerpo monoclonal humano anti-NY-ESO-1 (12D7) y 5-FU

Materiales y métodos

20 Modelo de tumor de ratón singénico CT26

Se inocularon 1×10^6 células CT26/NY-ESO-1 de carcinoma de colon transfectadas de forma estable con una construcción de expresión de longitud completa NY-ESO-1 humana (línea celular obtenida de H. Nishikawa, Universidad de Mie, Mie, Japón) s.c. en el flanco de un miembro posterior de ratones BALB/C de 8-10 semanas.

Quimioterapia:

25 Se administraron 5-FU 75/mg/kg/inyección i.p.

Anticuerpos:

30 Se expreso de manera recombinante el anticuerpo monoclonal humano NY-ESO-1-anti-humano, 12D7 IgG1/kappa, con una cadena ligera variable de SEQ ID N°: 4 y una cadena pesada variable de SEQ ID N°: 3 (véase también el documento WO2008/110372 A1) en células 293HEK células o en células CHO, y se purifico usando proteína A-Sefarosa. Dosificación: 100ug/ratón/inyección

Se purificó el anticuerpo monoclonal FGK45.5 2a, IgG de rata agonista de CD40 anti-murino, a partir de hibridomas utilizando proteína G-Sefarosa. El anticuerpo se obtuvo de T. Rolink, Basilea, Suiza (véase también *Rolink et al., (1996) Immunity, 5 (4), 319-330*)

Determinación del tamaño del tumor:

35 Con el fin de determinar el tamaño del tumor, se determino el diámetro longitudinal más largo (longitud) y diámetro transversal más largo (anchura) usando un calibrador, y se calculó el área.

Experimento

40 Los tumores se generaron por inoculación de células de carcinoma de colon de ratón CT26/NY-ESO-1, en ratones Balb/C. Una vez los tumores alcanzaron un tamaño de aproximadamente de 50 a 55 mm, se combinó un régimen de quimioterapia con 5-FU con la administración del anticuerpo 12D7 anti-NY-ESO-1 y anticuerpo FGK45.5 agonista de CD40. Se aplicaron las dosis antes mencionadas. Se administró 5-FU el día 14 y la administración se repitió en el día 21. Se administraron anticuerpos terapéuticos 2 días después de la quimioterapia, para permitir el acceso del anticuerpo 12D7 a su diana intracelular NY-ESO-1.

45 La combinación de 5-FU más 12D7 y anticuerpo 45.5 agonista de CD40 dio como resultado una reducción máxima de crecimiento del tumor. Los resultados se representan en la Fig. 1.

Ejemplo 2: Administración de Ipilimumab, anticuerpo antagonista de CTLA4, en el paciente que ha formado anticuerpos contra NY-ESO-1 después de la vacunación con NY-ESO-1.

Un paciente ZH311 fue diagnosticado en 2001 con melanoma metastásico. El tumor expresaba NY-ESO-1 y era seropositivo para de NY-ESO-1.

- En 2004 y 2005, este paciente fue vacunado con NY-ESO-1 y mostró una respuesta clínica, como lo demuestra la regresión de las metástasis hepáticas positivas para NY-Eso-1. A partir de 2007, el paciente recibió tratamiento con Ipilimumab que le llevó a una evolución de la enfermedad estabilizada. El paciente ha experimentado un tiempo de supervivencia general de 10 años que supera con mucho el tiempo de supervivencia media de 10 meses en su grupo de pares. El tiempo de supervivencia después del tratamiento con Ipilimumab era de 3 años.
- El anticuerpo 12D7 que se une a NY-ESO-1 se aisló de este paciente como se describe en WO2008/110372A1.
- Las observaciones anteriores junto con los resultados del Ejemplo 1, sugieren que una combinación de un anticuerpo que se une a NY-ESO-1, junto con un anticuerpo antagonista anti CTLA4 puede tener un efecto clínico positivo en la terapia.
- 10 Algunas realizaciones de la invención se refieren a:
1. Composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a un antígeno asociado a tumor (TAA) y al menos un compuesto capaz de activar el sistema inmunológico.
 2. Kit de composiciones farmacéuticas que comprende
 - 15 a. una primera composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a un antígeno asociado a tumor (TAA); y
 - b. una segunda composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto capaz de activar el sistema inmunológico.
 3. Composición farmacéutica según la realización 1 o kit según la realización 2, en donde el al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a TAA, se une a un antígeno CT.
 - 20 4. Composición farmacéutica o kit según cualquiera de las realizaciones 1 a 3, en donde el al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a TAA, se une a un antígeno CT seleccionado de la tabla 1 o 2.
 5. Composición farmacéutica o kit según cualquiera de las realizaciones 1 a 4, en donde el al menos un anticuerpo o un fragmento del mismo que se une a TAA, es un anticuerpo monoclonal quimérico, humanizado o humano o un fragmento del mismo.
 - 25 6. Composición farmacéutica o kit según cualquiera de las realizaciones 1 a 5, en donde el al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a TAA es un anticuerpo monoclonal derivado del paciente humano o un fragmento del mismo.
 7. Composición farmacéutica o kit según cualquiera de las realizaciones 1 a 6, en donde el al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a TAA comprende una región constante seleccionada de la clase IgG.
 - 30 8. Composición farmacéutica o kit según cualquiera de las realizaciones 1 a 7, en donde el al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a TAA, se une a TAA con una Kd de aproximadamente $0,1 \times 10^{-12}$ a aproximadamente 1×10^{-6} .
 9. Composición farmacéutica o kit según cualquiera de las realizaciones 1 a 8, en donde el anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a TAA y/o cualquier otro anticuerpo o fragmento del mismo que es parte de las composiciones farmacéuticas o kits según cualquiera de las realizaciones 1 a 8, esta acoplado a un fármaco, un radioisótopo, lectinas, y/o una toxina.
 - 35 10. Composición farmacéutica o kit según cualquiera de las realizaciones 1 a 9, en donde el al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a TAA, se une a NY-ESO-1.
 - 40 11. Composición farmacéutica o kit según cualquiera de las realizaciones 1 a 10, en donde el al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a TAA, se une a NY-ESO-1 y es un anticuerpo humano monoclonal derivado del paciente o un fragmento del mismo.
 12. Composición farmacéutica o kit según cualquiera de las realizaciones 1 a 11, en donde el al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a TAA, se une a NY-ESO-1 y comprende una región variable de la cadena ligera y/o una región variable de la cadena pesada, en la que
 - 45 a. la región variable de la cadena ligera comprende al menos una CDR1 seleccionada de las SEQ ID No: 8, 22, 34, 44, 54, 64, 74, 84 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, una CDR2 seleccionada de las SEQ ID Nos: 9, 23, 35, 45, 55, 65, 75, 85 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, y/o una CDR3 seleccionada de las SEQ ID No: 10, 24, 36, 46, 56, 66, 76, 86 o secuencias de con al menos 80% de identidad con ellas; y/o en donde
 - 50 b. la región variable de la cadena pesada comprende al menos una CDR1 seleccionada de las SEQ ID No: 5, 19, 31, 41, 51, 61, 71, 81 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, una CDR2 seleccionada

de las SEQ ID No: 6, 20, 32, 42, 52, 62, 72, 82 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, y/o una CDR3 seleccionada de las SEQ ID No: 7, 21, 33, 43, 53, 63, 73, 83 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas.

5 13. Composición farmacéutica o kit según la realización 12, en donde el al menos un anticuerpo o fragmento del mismo se une a NY-ESO-1 y comprende una región variable de la cadena ligera y/o una región variable de la cadena pesada, en la que

10 a. la región variable de la cadena ligera comprende al menos una CDR1 seleccionada de las SEQ ID No: 8, 22, 34, 44, 54, 64, 74, 84 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, una CDR2 seleccionada de las SEQ ID Nos: 9, 23, 35, 45, 55, 65, 75, 85 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, y una CDR3 seleccionada de las SEQ ID No: 10, 24, 36, 46, 56, 66, 76, 86 o secuencias de con al menos 80% de identidad con ellas; y/o en donde

15 b. la región variable de la cadena pesada comprende al menos una CDR1 seleccionada de las SEQ ID No: 5, 19, 31, 41, 51, 61, 71, 81 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, una CDR2 seleccionada de las SEQ ID No: 6, 20, 32, 42, 52, 62, 72, 82 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, y una CDR3 seleccionada de las SEQ ID No: 7, 21, 33, 43, 53, 63, 73, 83 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas.

20 14. Composición farmacéutica o kit según cualquiera de las realizaciones 1 a 13, en donde el al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a TAA, se une a NY-ESO-1 y en donde el anticuerpo o el fragmento del mismo, comprende una región variable de la cadena ligera que comprende las SEQ ID No: 4, 14, 18, 30, 40, 50, 60, 70, 80 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas y/o una región variable de la cadena pesada que comprende las SEQ ID No: 3, 13, 17, 29, 39, 49, 59, 69, 79 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas.

25 15. Composición farmacéutica o kit según la realización 14, en donde el al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a TAA, se une a NY-ESO-1 y en donde el anticuerpo o el fragmento del mismo, comprende una región variable de la cadena ligera que comprende las SEQ ID No: 4, 14, 18, 30, 40, 50, 60, 70, 80 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas y una región variable de la cadena pesada que comprende las SEQ ID No: 3, 13, 17, 29, 39, 49, 59, 69, 79 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas.

30 16. Composición farmacéutica o kit según cualquiera de las realizaciones 1 a 15, en donde el al menos un compuesto capaz de activar el sistema inmune se selecciona de estimulantes naturales o, al menos, coestimulantes del sistema inmune, activadores agonistas de estimulantes naturales o, al menos, coestimulantes del sistema inmunológico y efectores antagonistas de inhibidores naturales o, al menos, coinhibidores del sistema inmunológico.

35 17. Composición farmacéutica o kit según cualquiera de las realizaciones 1 a 16, en donde el al menos un compuesto capaz de activar el sistema inmune se selecciona de CD40L, anticuerpos agonistas anti-CD40, anticuerpos agonistas anti OX40, anticuerpos agonistas anti CD137, anticuerpos antagonistas anti CTLA4, y anticuerpos antagonistas anti CD25.

18. Composición farmacéutica o kit según cualquiera de las realizaciones 1 a 17, en donde el al menos un compuesto capaz de activar el sistema inmune se selecciona de CD40L, CP-870,893, SGN-40, Tremelimumab e Ipilimumab.

40 19. Composición farmacéutica o kit según cualquiera de las realizaciones 1 a 18, en donde la composición o el kit comprenden al menos dos compuestos capaces de activar el sistema inmunológico, de los cuales el primer compuesto se selecciona de los estimulantes naturales o, al menos, coestimulantes del sistema inmune o activadores agonistas de los estimulantes naturales o, al menos, coestimulantes del sistema inmune, y de los cuales el segundo compuesto se selecciona de los efectores antagonistas de inhibidores naturales o, al menos, coinhibidores del sistema inmune.

45 20. Composición farmacéutica o kit según la realización 19, en donde el primer compuesto capaz de activar el sistema inmune se selecciona de CD40L, anticuerpos agonistas anti-CD40, anticuerpos agonistas anti OX40 y anticuerpos agonistas anti CD137 y en donde el segundo compuesto capaz de activar el sistema inmune se selecciona de los anticuerpos antagonistas anti CTLA4, y anticuerpos antagonistas anti CD25.

50 21. Composición farmacéutica o kit según la realización 20, en donde el primer compuesto capaz de activar el sistema inmune se selecciona de CD40L, CP-870,893 y SGN-40, y en donde el segundo compuesto capaz de activar el sistema inmune se selecciona de Tremelimumab e Ipilimumab.

22. Composición farmacéutica según la realización 1 o cualquiera de las realizaciones 3 a 21, en donde el al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión TAA y el al menos un compuesto capaz de activar el sistema inmune tienen la forma de un anticuerpo biespecífico o un fragmento del mismo.

23. Composición farmacéutica según la realización 22, en donde el anticuerpo biespecífico comprende (i) una parte que se une a TAA y (ii) una parte que actúa como un activador agonista de estimulantes naturales o, al menos, coestimulantes del sistema inmune, o efectores antagonistas de los naturales inhibidores o, al menos, coinhibidores del sistema inmune.
- 5 24. Composición farmacéutica según la realización 23, en donde el anticuerpo biespecífico comprende (i) una parte que se une al antígeno CT y (ii) una parte que actúa como anticuerpo agonista anti-CD40, anticuerpo agonista anti OX40, anticuerpo agonista anti CD137, anticuerpo antagonista anti CTLA4, o anticuerpo antagonista anti CD25.
- 10 25. Composición farmacéutica según la realización 23, en donde el anticuerpo biespecífico comprende (i) una parte que se une a NY-ESO-1 y (ii) una parte que actúa como anticuerpo agonista anti-CD40 o anticuerpo antagonista anti CTLA4.
26. Composición farmacéutica según cualquiera de las realizaciones 1 a 25, en donde la composición comprende adicionalmente un agente citotóxico.
- 15 27. Composición farmacéutica según la realización 1 o cualquiera de las realizaciones 3 a 26, en donde el agente citotóxico se selecciona de 5-fluoro-uracilo, taxanos, antraciclinas, cisplatino, carboplatino, gemcitabina, capecitabina, navelbina o zoledronato.
28. Kit según cualquiera de las realizaciones 2 a 21, en donde el kit comprende una tercera composición farmacéutica que comprende un agente citotóxico.
29. Kit según la realización 28, en donde el agente citotóxico se selecciona de 5-fluoro-uracilo, taxanos, antraciclinas, cisplatino, carboplatino, gemcitabina, capecitabina, navelbina o zoledronato.
- 20 30. Composición farmacéutica o kit según cualquiera de las realizaciones 1 a 29 que comprende un agente citotóxico, un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión al antígeno CT, y al menos un compuesto seleccionado de (i) estimulantes naturales o, al menos, coestimulantes del sistema inmune, (ii) activadores agonistas de los estimulantes naturales o, al menos, coestimulantes del sistema inmune y/o (iii) efectores antagonistas de inhibidores naturales o, al menos, coinhibidores del sistema inmune.
- 25 31. Composición farmacéutica o kit según cualquiera de las realizaciones 1 a 30 que comprenden un agente citotóxico, un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión al antígeno CT, y al menos un compuesto seleccionado de activadores agonistas de estimulantes naturales o, al menos, coestimulantes del sistema inmune, o efectores antagonistas de inhibidores naturales o, al menos, coinhibidores del sistema inmune.
- 30 32. Composición farmacéutica o kit según cualquiera de las realizaciones 1 a 31 que comprenden un agente citotóxico, un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión al antígeno CT, al menos un compuesto seleccionado de activadores agonistas de estimulantes naturales o, al menos, coestimulantes del sistema inmune, y al menos un compuesto seleccionado de efectores antagonistas de inhibidores naturales o, al menos, coinhibidores del sistema inmune.
- 35 33. Composición farmacéutica o kit según cualquiera de las realizaciones 29 a 32, en donde el anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión al antígeno CT, reconoce a NY-ESO-1, en donde el al menos un compuesto seleccionado entre los activadores agonistas de estimulantes naturales o, al menos, coestimulantes del sistema inmune, es un anticuerpo agonista anti-CD40 y en donde el al menos un compuesto seleccionado de efectores antagonistas de inhibidores naturales o, al menos, coinhibidores del sistema inmune es un anticuerpo antagonista anti CTLA4.
- 40 34. Combinación de al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a un antígeno asociado a tumor (TAA) y al menos un compuesto capaz de activar el sistema inmune, para uso en el tratamiento de un paciente en donde se administra al paciente un anticuerpo o un fragmento del mismo que se une a TAA y al menos un compuesto capaz de activar el sistema inmune.
- 45 35. Combinación para el uso como en la realización 34, en donde se administra al paciente un anticuerpo o un fragmento del mismo que se une a TAA y al menos un compuesto capaz de activar el sistema inmune como se menciona en cualquiera de las realizaciones 3 a 25.
36. Combinación para el uso como en la realización 35, en donde el paciente se somete a un tratamiento citotóxico antes, simultáneamente, o posteriormente a la administración de dicha combinación.
- 50 37. Combinación para el uso como en la realización 36, en donde el tratamiento citotóxico incluye quimioterapia, radioterapia, cirugía y/o hipertermia.
38. Combinación para el uso como en la realización 37, en donde la quimioterapia incluye la administración de agentes seleccionados de 5-fluoro-uracilo, taxanos, antraciclinas, cisplatino, carboplatino, gemcitabina, capecitabina, navelbine o zoledronato.

39. Combinación para el uso como en las realizaciones 34 a 38 para el tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa.
40. Combinación para el uso como en la realización 39 para el tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa que se caracteriza por la expresión de TAA.
- 5 41. Combinación para el uso como en la realización 40, en donde dicho TAA es un antígeno CT.
42. Combinación para el uso como en la realización 41, en donde dicho antígeno de CT es NY-ESO-1.
43. Combinación para el uso como en cualquiera de las realizaciones 39 a 42, en donde la enfermedad hiperproliferativa se selecciona de carcinoma de células basales; cáncer de vejiga; cáncer de huesos; tumores del sistema nervioso central; linfoma de Burkitt; cáncer de mama; cáncer de cuello uterino; leucemia mielógena crónica; 10 cáncer de colon; cáncer de recto; cáncer colorectal, cáncer de esófago; la familia de tumores de Ewing; cáncer de las vías biliares extrahepáticas; cáncer de la vesícula biliar; tumor del estroma gastrointestinal (GIST); glioma; cáncer de cabeza y cuello; Los tumores de células de los islotes; sarcoma de Kaposi; leucemia; cáncer de hígado; linfoma; linfoma de Hodgkin; linfoma no Hodgkin; mesotelioma; mieloma múltiple/neoplasia de células plasmáticas; leucemia mieloide; 15 cáncer de la nasofaringe; neuroblastoma; cáncer de pulmón de células pequeñas; cáncer de pulmón de células no pequeñas; cáncer de orofaringe; cáncer de ovarios; cáncer de páncreas; cáncer de paratiroides; cáncer de pene; cáncer de faringe; feocromocitoma; tumor de la hipófisis; cáncer de próstata; cáncer de las células renales (riñón); carcinoma del tracto respiratorio; retinoblastoma; cáncer de piel (melanoma); cáncer del intestino delgado; sarcoma de tejidos blandos; carcinoma de células escamosas; cáncer de cuello escamoso; cáncer de estómago (gástrico); 20 linfoma de las células T; cáncer testicular; cáncer de garganta; cáncer de tiroides cáncer de las células de transición de la pelvis renal y el uréter; cáncer de la uretra; cáncer uterino; cáncer de vagina; cáncer de vulva y tumor de Wilms.
44. Medicamento para uso en el tratamiento de un paciente en donde se administra al paciente una composición farmacéutica o un kit según cualquiera de las realizaciones 1 a 25 o una combinación de al menos un anticuerpo de 25 unión o fragmento del mismo de unión a un antígeno asociado a tumor (TAA) y al menos un compuesto capaz de activar el sistema inmune.
45. Medicamento para uso como en la realización 44, en donde el paciente se somete a un tratamiento citotóxico previo, simultáneo, o posterior a la administración de una composición farmacéutica o un kit según cualquiera de las realizaciones 1 a 25, o una combinación de al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a un antígeno asociado a un tumor (TAA) y al menos un compuesto capaz de activar el sistema inmunológico.
- 30 46. Medicamento para uso como en la realización 46, en donde el tratamiento citotóxico incluye quimioterapia, radioterapia, cirugía y/o hipertermia.
47. Medicamento para uso como en la realización 47, en donde la quimioterapia incluye la administración de agentes seleccionados de 5-fluoro-uracilo, taxanos, antraciclinas, cisplatino, carboplatino, gemcitabina, capecitabina, navelbine o zoledronato.
- 35 48. Medicamento para uso como en las realizaciones 44 a 47 para el tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa.
49. Medicamento para uso como en la realización 48 para el tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa que se caracteriza por la expresión de TAA.
50. Medicamento para uso como en la realización 49, en donde dicho TAA es un antígeno CT.
- 40 51. Medicamento para uso como en la realización 50, en donde dicho antígeno CT es NY-ESO-1.
52. Medicamento para uso como en cualquiera de las realizaciones 48 a 51, en donde la enfermedad hiperproliferativa se selecciona de carcinoma de células basales; cáncer de vejiga; cáncer de huesos; tumores del sistema nervioso central; linfoma de Burkitt; cáncer de mama; cáncer de cuello uterino; leucemia mielógena crónica; 45 cáncer de colon; cáncer de recto; cáncer colorectal, cáncer de esófago; la familia de tumores de Ewing; cáncer de las vías biliares extrahepáticas; cáncer de la vesícula biliar; tumor del estroma gastrointestinal (GIST); glioma; cáncer de cabeza y cuello; Los tumores de células de los islotes; sarcoma de Kaposi; leucemia; cáncer de hígado; linfoma; linfoma de Hodgkin; linfoma no Hodgkin; mesotelioma; mieloma múltiple/neoplasia de células plasmáticas; leucemia mieloide; 50 cáncer de la nasofaringe; neuroblastoma; cáncer de pulmón de células pequeñas; cáncer de pulmón de células no pequeñas; cáncer de orofaringe; cáncer de ovarios; cáncer de páncreas; cáncer de paratiroides; cáncer de pene; cáncer de faringe; feocromocitoma; tumor de la hipófisis; cáncer de próstata; cáncer de las células renales (riñón); carcinoma del tracto respiratorio; retinoblastoma; cáncer de piel (melanoma); cáncer del intestino delgado; sarcoma de tejidos blandos; carcinoma de células escamosas; cáncer de cuello escamoso; cáncer de estómago (gástrico); 55 linfoma de las células T; cáncer testicular; cáncer de garganta; cáncer de tiroides cáncer de las células de transición de la pelvis renal y el uréter; cáncer de la uretra; cáncer uterino; cáncer de vagina; cáncer de vulva y tumor de Wilms.

53. Medicamento para uso como en cualquiera de las realizaciones 44 a 52, en donde el al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a un antígeno asociado a un tumor (TAA) y el al menos un compuesto capaz de activar el sistema inmune son los que se mencionan en cualquiera de las realizaciones 3 a 25.
- 5 54. Uso de una composición farmacéutica o un kit según cualquiera de las realizaciones 1 a 25, o una combinación de al menos un anticuerpo o fragmento del mismo, que se une a un antígeno asociado a tumor (TAA) y al menos un compuesto capaz de activar el sistema inmune, en la preparación de un medicamento para tratar a un paciente.
- 10 55. Uso según la realización 54, en donde el paciente se somete a un tratamiento citotóxico previo, simultáneo o posterior a la administración de una composición farmacéutica o un kit según cualquiera de las realizaciones 1 a 25, o de una combinación de al menos un anticuerpo o fragmento del mismo, que se une a un antígeno asociado a tumor (TAA) y al menos un compuesto capaz de activar el sistema inmunológico.
56. Uso según la realización 55, en donde el tratamiento citotóxico incluye quimioterapia, radioterapia, cirugía y/o hipertermia.
57. Uso según la realización 56, en donde la quimioterapia incluye la administración de agentes seleccionados de 5-fluoro-uracilo, taxanos, antraciclinas, cisplatino, carboplatino, gemcitabina, capecitabina, navelbina o zoledronato.
- 15 58. Uso según las realizaciones 54 a 47 para tratar una enfermedad hiperproliferativa.
59. Uso según la realización 58 para tratar una enfermedad hiperproliferativa que se caracteriza por la expresión de TAA.
60. Uso según la realización 59, en donde dicho TAA es un antígeno CT.
61. Uso según realización 60, en donde dicho antígeno CT es NY-ESO-1.
- 20 62. Uso según cualquiera de las realizaciones 58 a 61, en donde dicha enfermedad hiperproliferativa se selecciona de carcinoma de células basales; cáncer de vejiga; cáncer de huesos; tumores del sistema nervioso central; linfoma de Burkitt; cáncer de mama; cáncer de cuello uterino; leucemia mielógena crónica; cáncer de colon; cáncer de recto; cáncer colorectal, cáncer de esófago; la familia de tumores de Ewing; cáncer de las vías biliares extrahepáticas; cáncer de la vesícula biliar; tumor del estroma gastrointestinal (GIST); glioma; cáncer de cabeza y cuello; Los
- 25 tumores de células de los islotes; sarcoma de Kaposi; leucemia; cáncer de hígado; linfoma; linfoma de Hodgkin; linfoma no Hodgkin; mesotelioma; mieloma múltiple/neoplasia de células plasmáticas; leucemia mieloide; cáncer de la nasofaringe; neuroblastoma; cáncer de pulmón de células pequeñas; cáncer de pulmón de células no pequeñas; cáncer de orofaringe; cáncer de ovarios; cáncer de páncreas; cáncer de paratiroides; cáncer de pene; cáncer de faringe; feocromocitoma; tumor de la hipófisis; cáncer de próstata; cáncer de las células renales (riñón); carcinoma del tracto respiratorio; retinoblastoma; cáncer de piel (melanoma); cáncer del intestino delgado; sarcoma de tejidos blandos; carcinoma de células escamosas; cáncer de cuello escamoso; cáncer de estómago (gástrico); linfoma de las células T; cáncer testicular; cáncer de garganta; cáncer de tiroides cáncer de las células de transición de la pelvis renal y el uréter; cáncer de la uretra; cáncer uterino; cáncer de vagina; cáncer de vulva y tumor de Wilms.
- 30 63. Uso según cualquiera de las realizaciones 44 a 62, en donde el al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a un antígeno asociado a un tumor (TAA) y al menos un compuesto capaz de activar el sistema inmunológico son como se menciona en cualquiera de las realizaciones 3 a 25.
- 35 64. Método de tratamiento de un paciente mediante la administración de una composición farmacéutica o un kit según cualquiera de las realizaciones 1 a 25 o una combinación de al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a un antígeno asociado a tumor (TAA) y al menos un compuesto capaz de activar el sistema inmunológico.
- 40 65. Método según la realización 64, en donde el paciente se somete a un tratamiento citotóxico previo, simultáneo o posterior a la administración de una composición farmacéutica o kit según cualquiera de las realizaciones 1 a 25 o una combinación de al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a un antígeno asociado a tumor (TAA) y al menos un compuesto capaz de activar el sistema inmunológico.
- 45 66. Método según la realización 65, en donde el tratamiento citotóxico incluye quimioterapia, radioterapia, cirugía y/o hipertermia.
67. Método según la realización 66, en donde la quimioterapia incluye la administración de agentes seleccionados de 5-fluoro-uracilo, taxanos, antraciclinas, cisplatino, carboplatino, gemcitabina, capecitabina, navelbina o zoledronato.
- 50 68. Método según las realizaciones 64 a 67 para el tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa.
69. Método según la realización 68 para el tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa que se caracteriza por la expresión de TAA.

70. Método según la realización 69, en donde dicho TAA es un antígeno CT.
71. Método según la realización 70, en donde dicho antígeno CT es NY-ESO-1.
72. Método según cualquiera de las realizaciones 68 a 71, en donde dicha enfermedad hiperproliferativa se selecciona de carcinoma de células basales; cáncer de vejiga; cáncer de huesos; tumores del sistema nervioso central; linfoma de Burkitt; cáncer de mama; cáncer de cuello uterino; leucemia mielógena crónica; cáncer de colon; 5 cáncer de recto; cáncer colorectal, cáncer de esófago; la familia de tumores de Ewing; cáncer de las vías biliares extrahepáticas; cáncer de la vesícula biliar; tumor del estroma gastrointestinal (GIST); glioma; cáncer de cabeza y cuello; Los tumores de células de los islotes; sarcoma de Kaposi; leucemia; cáncer de hígado; linfoma; linfoma de Hodgkin; linfoma no Hodgkin; mesotelioma; mieloma múltiple/neoplasia de células plasmáticas; leucemia mieloide; 10 cáncer de la nasofaringe; neuroblastoma; cáncer de pulmón de células pequeñas; cáncer de pulmón de células no pequeñas; cáncer de orofaringe; cáncer de ovarios; cáncer de páncreas; cáncer de paratiroides; cáncer de pene; cáncer de faringe; feocromocitoma; tumor de la hipófisis; cáncer de próstata; cáncer de las células renales (riñón); carcinoma del tracto respiratorio; retinoblastoma; cáncer de piel (melanoma); cáncer del intestino delgado; sarcoma de tejidos blandos; carcinoma de células escamosas; cáncer de cuello escamoso; cáncer de estómago (gástrico); 15 linfoma de las células T; cáncer testicular; cáncer de garganta; cáncer de tiroides cáncer de las células de transición de la pelvis renal y el uréter; cáncer de la uretra; cáncer uterino; cáncer de vagina; cáncer de vulva y tumor de Wilms.
73. Método según cualquiera de las realizaciones 63 a 72, en donde el al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a un antígeno asociado a tumor (TAA) y el al menos un compuesto capaz de activar el sistema 20 inmunológico son los que se mencionan en cualquiera de las realizaciones 3-25.
74. Anticuerpo monoclonal aislado o fragmento del mismo que se une a NY-ESO-1 y que comprende una región variable de la cadena ligera y/o una región variable de la cadena pesada, en donde
- 25 la región variable de la cadena ligera comprende al menos una CDR1 seleccionada de las SEQ ID No: 8, 22, 34, 44, 54, 64, 74, 84 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, una CDR2 seleccionada de las SEQ ID Nos: 9, 23, 35, 45, 55, 65, 75, 85 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, y/o una CDR3 seleccionada de las SEQ ID No: 10, 24, 36, 46, 56, 66, 76, 86 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas; y/o en donde
 - 30 la región variable de la cadena pesada comprende al menos una CDR1 seleccionada de las SEQ ID No: 5, 19, 31, 41, 51, 61, 71, 81 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, una CDR2 seleccionada de las SEQ ID No: 6, 20, 32, 42, 52, 62, 72, 82 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, y/o una CDR3 seleccionada de las SEQ ID No: 7, 21, 33, 43, 53, 63, 73, 83 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas.
75. Anticuerpo monoclonal aislado o fragmento del mismo según la realización 74, que comprende una región variable de la cadena ligera y/o una región variable de la cadena pesada, en donde
- 35 la región variable de la cadena ligera comprende al menos una CDR1 seleccionada de las SEQ ID No: 8, 22, 34, 44, 54, 64, 74, 84 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, una CDR2 seleccionada de las SEQ ID Nos: 9, 23, 35, 45, 55, 65, 75, 85 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, y una CDR3 seleccionada de las SEQ ID No: 10, 24, 36, 46, 56, 66, 76, 86 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas; y/o en donde
 - 40 la región variable de la cadena pesada comprende al menos una CDR1 seleccionada de las SEQ ID No: 5, 19, 31, 41, 51, 61, 71, 81 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, una CDR2 seleccionada de las SEQ ID No: 6, 20, 32, 42, 52, 62, 72, 82 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas, y una CDR3 seleccionada de las SEQ ID No: 7, 21, 33, 43, 53, 63, 73, 83 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas.
- 45 76. Anticuerpo monoclonal aislado o fragmento del mismo que se une a NY-ESO-1, que comprende una región variable de la cadena ligera que comprende las SEQ ID No: 4, 14, 18, 30, 40, 50, 60, 70, 80 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas y/o una región variable de la cadena pesada que comprende las SEQ ID No: 3, 13, 17, 29, 39, 49, 59, 69, 79 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas.
- 50 77. Anticuerpo monoclonal aislado o fragmento del mismo según la realización 76, que comprende una región variable de la cadena ligera que comprende las SEQ ID No: 4, 14, 18, 30, 40, 50, 60, 70, 80 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas y una región variable de la cadena pesada que comprende las SEQ ID No: 3, 13, 17, 29, 39, 49, 59, 69, 79 o secuencias con al menos 80% de identidad con ellas.
78. Composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o fragmento del mismo según cualquiera de las realizaciones 74 a 77.
- 55 79. Composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o fragmento del mismo según cualquiera de las realizaciones 74 a 77 para uso en el tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa.

80. Uso del anticuerpo o fragmento del mismo según cualquiera de las realizaciones 74 a 77 en la preparación de un medicamento para tratar una enfermedad hiperproliferativa.
- 5 81. Método de tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa mediante la administración a un paciente que lo necesita de un anticuerpo o fragmento del mismo según cualquiera de las realizaciones 61 a 64 o una composición farmacéutica según la realización 64.
82. Composición farmacéutica, uso o método de cualquiera de las realizaciones 79 a 81, en donde la enfermedad hiperproliferativa se caracteriza por la expresión de TAA.
83. Composición farmacéutica, uso o método de la realización 82, en donde dicho TAA es un antígeno CT.
84. Composición farmacéutica, uso o método de la realización 70, en donde dicho antígeno CT es NY-ESO-1.
- 10 85. Composición farmacéutica, uso o método de cualquiera de las realizaciones 79 a 84, en donde la enfermedad hiperproliferativa se selecciona de carcinoma de células basales; cáncer de vejiga; cáncer de huesos; tumores del sistema nervioso central; linfoma de Burkitt; cáncer de mama; cáncer de cuello uterino; leucemia mielógena crónica; cáncer de colon; cáncer de recto; cáncer colorectal, cáncer de esófago; la familia de tumores de Ewing; cáncer de las vías biliares extrahepáticas; cáncer de la vesícula biliar; tumor del estroma gastrointestinal (GIST); glioma; cáncer de cabeza y cuello; Los tumores de células de los islotes; sarcoma de Kaposi; leucemia; cáncer de hígado; linfoma; 15 linfoma de Hodgkin; linfoma no Hodgkin; mesotelioma; mieloma múltiple/neoplasia de células plasmáticas; leucemia mieloide; cáncer de la nasofaringe; neuroblastoma; cáncer de pulmón de células pequeñas; cáncer de pulmón de células no pequeñas; cáncer de orofaringe; cáncer de ovarios; cáncer de páncreas; cáncer de paratiroides; cáncer de pene; cáncer de faringe; feocromocitoma; tumor de la hipófisis; cáncer de próstata; cáncer de las células renales (riñón); carcinoma del tracto respiratorio; retinoblastoma; cáncer de piel (melanoma); cáncer del intestino delgado; 20 sarcoma de tejidos blandos; carcinoma de células escamosas; cáncer de cuello escamoso; cáncer de estómago (gástrico); linfoma de las células T; cáncer testicular; cáncer de garganta; cáncer de tiroides cáncer de las células de transición de la pelvis renal y el uréter; cáncer de la uretra; cáncer uterino; cáncer de vagina; cáncer de vulva y tumor de Wilms.

25

REIVINDICACIONES

1. Composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a un antígeno asociado a tumor (TAA) y al menos un anticuerpo agonista o fragmento del mismo de unión agonista anti-CD40, en donde dicho al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a TAA, se une a NY-ESO-1 y en donde dicho al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a TAA, comprende una región de la cadena ligera variable que comprende una CDR1 de SEQ ID NO:8, una CDR2 de SEQ ID NO:9 y una CDR3 de SEQ ID NO:10 y una región de la cadena pesada variable que comprende una CDR1 de SEQ ID NO:5, una CDR2 de SEQ ID NO:6 y una CDR3 de SEQ ID NO:7.
2. Kit de composiciones farmacéuticas que comprende
- a) una primera composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a un antígeno asociado a tumor (TAA); y
- b) una segunda composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo agonista o fragmento del mismo de unión agonista anti-CD40,
- en donde dicho al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a TAA, se une a NY-ESO-1 y en donde dicho al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a TAA, comprende una región de la cadena ligera variable que comprende una CDR1 de SEQ ID NO:8, una CDR2 de SEQ ID NO:9 y una CDR3 de SEQ ID NO:10 y una región de la cadena pesada variable que comprende una CDR1 de SEQ ID NO:5, una CDR2 de SEQ ID NO:6 y una CDR3 de SEQ ID NO:7.
3. Composición farmacéutica según la reivindicación 1 o kit según la reivindicación 2, en donde dicho al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a TAA, se une a NY-ESO-1 y es un anticuerpo monoclonal quimérico, humanizado o humano, o un fragmento de unión del mismo.
4. Composición farmacéutica o kit según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde dicho al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a TAA, se une a NY-ESO-1 y comprende una región variable de la cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 4 y una región variable de la cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 3.
5. Composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1, 3 ó 4, en donde dicho al menos un anticuerpo de unión o fragmento del mismo de unión a TAA y dicho al menos un anticuerpo agonista o fragmento del mismo de unión agonista anti-CD40, tienen la forma de un anticuerpo biespecífico.
6. Composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 3 a 5, en donde la composición comprende adicionalmente un agente citotóxico.
7. Kit según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en donde el kit comprende una tercera composición farmacéutica que comprende un agente citotóxico.
8. Medicamento para uso en el tratamiento de una enfermedad hiperproliferativa en un paciente, en donde se administra al paciente una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 3 a 6.

Figura 1

