

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 624 272**

51 Int. Cl.:

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 37/02 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.07.2004 E 10181317 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.02.2017 EP 2275134**

54 Título: **Utilización de anticuerpos optimizados en ADCC para tratar a los pacientes con bajo nivel de respuesta**

30 Prioridad:

31.07.2003 FR 0309440

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

13.07.2017

73 Titular/es:

**LABORATOIRE FRANÇAIS DU
FRACTIONNEMENT ET DES BIOTECHNOLOGIES
(100.0%)
Zone d'Activité de Courtaboeuf 3, avenue des
Tropiques
91940 Les Ulis, FR**

72 Inventor/es:

**BOUREL, DOMINIQUE;
JORIEUX, SYLVIE;
DE ROMEUF, CHRISTOPHE;
KLEIN, PHILIPPE;
GAUCHET, CHRISTINE;
BIHOREAU, NICOLAS y
NONY, EMMANUEL**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 624 272 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Utilización de anticuerpos optimizados en ADCC para tratar a los pacientes con bajo nivel de respuesta

- 5 La presente descripción se refiere a la utilización de anticuerpos monoclonales quiméricos, humanizados o humanos de glicosilación específica que presentan una fuerte interacción para el receptor CD16 (Fcγ₃R1) de las células efectoras del sistema inmunitario, pero también la propiedad de inducir la secreción de citoquinas y de interleucinas, para tratar poblaciones de pacientes con bajo nivel de respuesta a los tratamientos existentes y que presenten un polimorfismo particular de su CD16.
- 10 La inmunoterapia mediante anticuerpos monoclonales está fase de convertirse en una de las estrategias más importantes e innovadoras de la medicina. Sin embargo, los resultados obtenidos durante ensayos clínicos parecen contrastados. En efecto, durante un cierto número de tratamientos, el anticuerpo monoclonal no parece lo bastante activo y/o eficaz. Numerosos ensayos clínicos son detenidos debido a una falta de eficacia y de efectos secundarios incompatibles con una utilización en terapia clínica. Estos dos aspectos están estrechamente relacionados, sabiendo que unos anticuerpos poco activos y/o eficaces son administrados a fuertes dosis para compensar la falta de eficacia y obtener una respuesta terapéutica. La administración de fuertes dosis induce entonces unos efectos secundarios. Además, es económicamente poco viable.
- 15 Estos problemas son mayores en la industria de los anticuerpos monoclonales, en particular los anticuerpos quiméricos, humanizados o humanos. Ahora bien, estos problemas son exacerbados para unas poblaciones particulares de pacientes para los cuales el efecto terapéutico de los anticuerpos es significativamente más débil comparado con la media de la población tratada. Estos pacientes son comúnmente denominados "pacientes de bajo nivel de respuesta".
- 20 Se conoce que la citotoxicidad celular mediada por los anticuerpos necesita por un lado una fijación de la parte Fab de los anticuerpos en su diana así como un compromiso de su dominio Fc en los receptores Fc de las células efectoras (RFc). En las células NK, el receptor responsable de esta actividad citotóxica es el CD16.
- 25 En base a sus conocimientos, se han llevado a cabo unos estudios a fin de establecer una correlación entre las subpoblaciones de pacientes refractarios (pacientes denominados "de bajo nivel de respuesta") a la terapia con un anticuerpo específico de una patología a tratar y el polimorfismo de CD16.
- 30 En un estudio de 2000 (Cartron G, Dacheux L, Salles G, Solal-Celigny P, Bardos P, Colombat P, Watier H, Therapeutic activity of humanized anti-CD20 monoclonal antibody and polymorphism in IgG Fc receptor Fcγ₃R1 gene, *Blood*. 1 de febrero de 2002; 99(3):754-8), la composición de la población de pacientes tratados con Rituxan[®] se analizó en función del polimorfismo de CD16 en la posición 158. Ésta estaba compuesta de 20% de FCGR3A-158V homocigotos (pacientes homocigotos para la valina en la posición 158 del CD16), 35% de FCGR3A-158F homocigotos (pacientes homocigotos para la fenilalanina en la posición 158 del CD16) y del 45% de heterocigotos FCGR3A-158V/F (pacientes heterocigotos valina/fenilalanina en la posición 158 del CD16). La actividad ADCC así como la eficacia clínica del anticuerpo anti-CD20 Rituxan[®] están correlacionadas con el polimorfismo de CD16: los pacientes FCGR3A-158F homocigotos o heterocigotos FCGR3A-158V/F responden menos al tratamiento con Rituxan[®] que los pacientes FCGR3A-158V homocigotos.
- 35 Así, este estudio ha permitido demostrar que las diferencias de respuesta a los tratamientos con unos anticuerpos terapéuticos están asociadas a un polimorfismo de CD16.
- 40 Sin embargo, este estudio no propone solución para disminuir el efecto de este polimorfismo en los pacientes denominados "de bajo nivel de respuesta" tratados con unos anticuerpos terapéuticos. No proporciona herramienta terapéutica adaptada al tratamiento de los pacientes de bajo nivel de respuesta.
- 45 Por otro lado, se han obtenido otros resultados en términos de estudios clínicos realizados con unos anticuerpos anti-rhesus, que han mostrado que la eliminación de las hemáties Rhesus positivo por una IgG3 anti-D era más rápido en los pacientes FCGR3A-158F homocigotos (Kumpel BM, De Haas M, Koene HR, Van De Winkel JG, Goodrick MJ. Clearance of red cells by monoclonal IgG3 anti-D in vivo is affected by the VF polymorphism of Fcγ₃R1 (CD16). *Clin Exp Immunol*. 2003 Apr;132(1):81-6). Sin embargo, el bajo número de pacientes estudiado no permite concluir una enseñanza técnica de este estudio.
- 50 El objetivo de la presente invención es proporcionar unos anticuerpos eficaces para tratar los pacientes que se encuentran en fracaso terapéutico con los anticuerpos actualmente disponibles o que sufren efectos secundarios indeseables.
- 55 Se ha establecido una relación entre la presencia de respuestas ADCC y la resolución de infecciones virales (Fritz *et al.* *J Am Acad Dermatol*. Agosto de 1980; 3(2):167-73; Manischewitz *et al.* *Infection and Immunity*, Septiembre de 1980, p. 1050-1054; Khyatti *et al.* *Journal of Virology*, Febrero de 1991, p. 996-1001; Kohl *et al.* *Rev Infect Dis*. Enero-febrero de 1991; 13(1):108-14; Ahmad *et al.* *FASEB J*. 10, 258-266 (1996)), bacterianas (Nencioni *et al.* *J*
- 60
- 65

5 Immunol. Febrero de 1983; 130(2):903-7; Morgan *et al.* Infect Immun. Octubre de 1984; 46(1):25-33; Cooper *et al.* Clin Microbiol Rev. Abril de 1989; 2 Suppl: S29-34), fúngicas (Diamond *et al.* Infect. Immun. 1976, 14(3):716; Kurup *et al.* Immunobiology. Mayo de 1985; 169(4):362-71) y parasitarias (Vinayak *et al.* Gut. Octubre de 1987; 28(10):1251-6; Brown *et al.* Clin. exp. Immunol. (1980) 41, 423-429; Kierszenbaum *et al.* Immunology. Mayo de 1980; 40(1):61-6; Hatcher *et al.* Science. 15 de octubre de 1982; 218(4569):295-6).

10 El documento WO 01/77181 describe que unos anticuerpos cuyo dominio Fc presenta una estructura glicánica particular, de tipo biantenado, con unas cadenas cortas, una baja sialilación, unas manosas y GlcNAc del punto unión terminales no intercalares y una baja fucosilación (y en particular unas composiciones que presentan un contenido superior al 60% para las formas G0 + G1 + G0F + G1F y un contenido en las formas G0F + G1F inferior al 50%) son capaces de inducir una fuerte respuesta ADCC por medio de un receptor CD16 cuyo polimorfismo no se ha determinado.

15 La solicitante ha encontrado que unos anticuerpos cuyo dominio Fc presenta una estructura glicánica particular presentan una actividad citotóxica particularmente adaptada al tratamiento de los pacientes denominados "de bajo nivel de respuesta", que no está afectada por el polimorfismo FCGR3A-158F homocigotos o FCGR3A-158V/F del aminoácido 158 del CD16, contrariamente a los anticuerpos producidos en CHO cuya actividad citotóxica está afectada por este polimorfismo. Además, la solicitante ha encontrado que estos anticuerpos inducen una producción de citoquinas/quimioquinas, lo que contribuye también al refuerzo del efecto terapéutico estimulando unos mecanismos efectores del sistema inmunitario en los pacientes tratados.

20 La invención propone por lo tanto utilizar estos anticuerpos para el tratamiento de sub-poblaciones de pacientes denominados "de bajo nivel de respuesta". Estos anticuerpos presentan una actividad ADCC y una producción de citoquina y/o de quimioquinas hasta 100 veces superior a los anticuerpos disponibles en terapia.

25 Descripción

Así, la invención se refiere a los objetos de las reivindicaciones 1 a 16.

30 La presente descripción describe también la utilización de un anticuerpo monoclonal quimérico, humanizado o humano optimizado caracterizado por que:

35 a) está producido en una línea celular seleccionada por sus propiedades de glicosilación de la región Fc de un anticuerpo, o

b) la estructura glicánica de la región Fc se ha modificado *ex vivo*, y/o

c) su secuencia primaria se ha modificado con el fin de aumentar su interacción frente a unos receptores Fc;

40 presentando dicho anticuerpo i) un porcentaje ADCC a través del CD16 (FCgammaRIIIA) superior al 60%, 70%, 80% o preferentemente superior al 90%, comparado con el mismo anticuerpo producido en una línea CHO o a un anticuerpo homólogo disponible en el comercio, para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento de patologías en pacientes que presentan el polimorfismo del receptor CD16 FCGR3A-158V/F o FCGR3A-158F homocigotos y calificados "de bajo nivel de respuesta" a las terapias con los anticuerpos actualmente disponibles.

45 Se entiende por pacientes "de bajo nivel de respuesta" los pacientes que presenten una reducción del 20 al 50% de la respuesta a los tratamientos con unos anticuerpos terapéuticos con respecto a los pacientes denominados "de alto nivel de respuesta", es decir los pacientes que presentan una respuesta completa que corresponde a la desaparición de todos los síntomas y signos clínicos medibles de la enfermedad.

50 Por ejemplo, en el caso de un estudio de aclaramiento de las hemáties o de otro tipo celular en la circulación, se entiende por pacientes "de bajo nivel de respuesta", los pacientes que presentan un aclaramiento significativamente más largo, con respecto a otro grupo de pacientes. En el tratamiento de las leucemias, se distingue:

55 * los de alto nivel de respuesta con una respuesta completa que corresponde a la desaparición de todos los síntomas y signos medibles de la enfermedad, tanto desde el punto de vista del examen clínico como de los datos biológicos de laboratorios y de los estudios radiográficos. La disminución del tamaño de los tumores más grandes es superior al 75%.

60 * los pacientes que responden parcialmente son descritos en el artículo Cheson BD *et al.*, Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working Group. J Clin Oncol. Abril de 1999; 17(4):1244. Review. Erratum in: J Clin Oncol. Junio de 2000; 18(11):2351.

65 * los de bajo nivel de respuesta corresponden a unos pacientes que tienen un estado denominado estable, con menos del 50% de reducción de la masa tumoral, menos del 25% de aumento de las lesiones y ninguna nueva lesión. Este grupo de pacientes comprende también los pacientes para los cuales no se observa ninguna respuesta

(progresión de la enfermedad que puede ir hasta la muerte).

Así, para una sub-población de pacientes denominados “de bajo nivel de respuesta” en relación con el polimorfismo del aminoácido 158 de CD16 (FCGR3A-158F homocigotos o FCGR3A-158V/F) u otro polimorfismo asociado a este polimorfismo de CD16, la eficacia del tratamiento es mejor con los anticuerpos optimizados de la invención, y se acerca a la de los pacientes denominados “de alto nivel de respuesta”.

En efecto, la interacción del receptor para Fc de los anticuerpos es diferente según los polimorfismos de CD16 (aa 158), teniendo el fenotipo FCGR3A-158V homocigoto una mejor afinidad que la forma FCGR3A-158F homocigoto y FCGR3A-158V/F heterocigoto. Los anticuerpos utilizados en el ámbito de la invención presentan una fuerte interacción con el CD 16, lo que puede explicar el hecho de que su actividad funcional no sea o sea muy poco afectada por el polimorfismo FCGR3A-158F homocigotos o FCGR3A-158V/F de CD16.

La invención se dirige por lo tanto a una población particular de pacientes que presentan un polimorfismo de CD16 (FCGR3A-158F homocigotos o FCGR3A-158V/F), en particular de los pacientes que se encuentran en fracaso terapéutico con los anticuerpos actualmente disponibles y/o que sufren unos efectos secundarios indeseables que justifica la administración del anticuerpo optimizado descrito aquí.

Además de la mejora muy significativa de la actividad ADCC de tipo CD16 (FcγRIIIA), el anticuerpo utilizado en el ámbito de la invención se puede definir por que induce la secreción de al menos una citoquina por un tipo de células efectoras del sistema inmunitario que expresa el receptor CD16 superior al 50%, al 100% o preferentemente superior al 200% comparado con el mismo anticuerpo producido en una línea CHO o comparado con un anticuerpo homólogo disponible en el comercio. El tipo de citoquina se selecciona entre IL-1, IL-4, IL-12, IL-18, IL-21, IL-2, IL-3, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IFNα, IFNβ, TNFα, TGFβ, IP10 y TNF, IFNγ.

En el ámbito de la presente descripción, se muestra que unos anticuerpos que presentan una fuerte interacción con CD16 tienen la ventaja de inducir la producción de citoquinas, o de quimioquinas, en particular la producción de IFNγ. Las dos características antes citadas se complementan. En efecto, la producción de IFNγ o de otras citoquinas o quimioquinas, por unas células efectoras, inducida por los anticuerpos según la invención, puede reforzar el efecto terapéutico estimulando unos mecanismos efectoras del sistema inmunitario en los pacientes tratados. El mecanismo de acción de tal estimulación corresponde en particular a una regulación positiva autocrina de las células efectoras. Los anticuerpos que se unen al CD16 inducen una actividad citotóxica así como la producción de IFNγ o de otras citoquinas/quimioquinas, lo que al final lleva a aumentar aún más la actividad citotóxica.

Preferentemente, este anticuerpo presenta un porcentaje ADCC superior de al menos un 100% comparado con el mismo anticuerpo producido en una línea CHO o con un anticuerpo homólogo disponible en el comercio y un porcentaje de producción de al menos una citoquina por un tipo de células efectoras del sistema inmunitario que expresa el receptor CD16 superior de al menos un 100% comparado con el mismo anticuerpo producido en una línea CHO o a un anticuerpo homólogo disponible en el comercio.

Dichas citoquinas, cuya liberación está inducida por los anticuerpos optimizados se seleccionan entre las interleucinas, las citoquinas, unas quimioquinas, unos interferones y unos factores de necrosis tumoral (TNF).

Así, el anticuerpo utilizado en el ámbito de la invención es capaz de inducir la secreción de al menos un tipo de citoquina seleccionada entre IL-1, IL-4, IL-12, IL-18, IL-21, IL-2, IL-3, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IFNα, IFNβ, TNFα, TGFβ, IP10 y TNF, IFNγ, por las células efectoras del sistema inmunitario.

Preferentemente, el anticuerpo seleccionado presenta la capacidad de inducir la secreción de IFNγ o de otras citoquinas/quimioquinas por las células efectoras del sistema inmunitario que expresa el receptor CD16 o más específicamente de IL2 por la célula Jurkat CD16. El porcentaje de IFNγ o de otras citoquinas y/o quimioquinas segregadas traduce la capacidad de interacción de la región Fc del anticuerpo con el CD16 y traduce también su capacidad de unión al antígeno. La secreción de IFNγ o de otras citoquinas y/o quimioquinas por las células del sistema inmunitario puede incrementar y/o inducir la actividad citotóxica de las células efectoras (NK, monocitos, macrófago, polinucleares neutrófilos, etc.).

Las células efectoras pueden expresar en CD16 endógeno eventualmente modulable por unas citoquinas y/o quimioquinas o factores de crecimiento o ser transformadas. Se entiende por célula transformada, una célula modificada genéticamente con el fin de expresar un receptor, en particular el receptor CD16.

En un modo de realización particular, el anticuerpo utilizado en el ámbito de la invención es capaz de inducir la secreción de al menos una citoquina por una célula leucocitaria, en particular de la familia de las células NK (Natural Killer) o por unas células de la línea mielo-monocitaria (monocitos-macrófagos y célula dendrítica).

Preferentemente, se utiliza para la selección de los anticuerpos una línea Jurkat transfectada con un vector de expresión que codifica el receptor CD16 como célula efectora. Esta línea es particularmente ventajosa ya que está

inmortalizada y se mantiene en cultivo indefinidamente. El porcentaje de IL2 segregada traduce la capacidad de interacción de la región Fc del anticuerpo con el CD16 y traduce también su capacidad de unión al antígeno.

5 Diferentes líneas Jurkat transfectadas con un vector de expresión que codifica el receptor CD16 pueden ser utilizadas como célula efectora, expresando dichas líneas cada una un CD16 particular.

10 Además, el anticuerpo optimizado puede ser preparado después de ser purificado y/o modificado *ex vivo*, en lo que se refiere a la estructura glicánica de su región Fc. Para ello, se puede utilizar cualquier medio químico, cromatográfico o enzimático apropiado para modificar la estructura glicánica del anticuerpo. Por ejemplo, se pueden purificar unos anticuerpos obtenidos de diversas fuentes y añadir en una mezcla de reacción una o varias glicosiltransferasa(s), en particular una galactosil-transferasa, incubar durante un tiempo determinado hasta la obtención de los anticuerpos que presentan la estructura glicánica descrita anteriormente.

15 La selección se puede llevar a cabo sobre unos anticuerpos producidos por unas células habitualmente utilizadas para la producción de anticuerpos terapéuticos, tales como las líneas de mielomas de rata, en particular YB2/O y sus derivados, las células linfoblastoides humanas, las células de insectos, las células de mielomas murinos, los hibridomas así como las células eucariotas como por ejemplo las levaduras.

20 Es también posible producir los anticuerpos en una línea de células de mamíferos modificada genéticamente, por ejemplo CHO modificada genéticamente, por introducción de una o varias secuencias que expresan una o varias glicosil-transferasa(s), en particular seleccionadas entre una enzima implicada en la modificación de las cadenas oligosacáridicas en la posición 1 de la fucosa unida en alfa a la posición 6 del resto de N-acetilglucosamina en el extremo reductor, en particular una 1,6-fucosiltransferasa, y una galactosil-transferasa. La selección puede también ser aplicada a la evaluación de anticuerpos producidos por unas plantas transgénicas o unos mamíferos transgénicos.

30 Para este fin, la producción en CHO sirve de referencia (siendo CHO empleada para la producción de anticuerpo medicamento) para comparar y seleccionar los sistemas de producción que conducen a los anticuerpos utilizados en el ámbito de la invención. Una comparación con unos anticuerpos policlonales puede también ser útil durante unos ensayos de eficacia de los anticuerpos monoclonales. Así, para una sub-población de pacientes denominados "de bajo nivel de respuesta" en relación con el polimorfismo del aminoácido 158 del CD16 u otro polimorfismo asociado a este polimorfismo, la eficacia del tratamiento es mejor con los anticuerpos optimizados utilizados en el ámbito de la invención, y se acercan a la de los pacientes denominados "de alto nivel de respuesta". Se muestra que la actividad funcional de los anticuerpos monoclonales optimizados se parece a la de los anticuerpos policlonales terapéuticos. Así, en algunos ensayos terapéuticos, los anticuerpos policlonales pueden ser utilizados como controles durante ensayos de eficacia de anticuerpos monoclonales de diferentes orígenes. Esto permite seleccionar unos anticuerpos monoclonales destinados al tratamiento de sub-poblaciones de pacientes de bajo nivel de respuesta.

40 Así, en algunos ensayos terapéuticos, los anticuerpos policlonales pueden ser utilizados como control durante ensayos de eficacia de anticuerpos monoclonales de diferentes orígenes. Esto permite seleccionar unos anticuerpos monoclonales destinados al tratamiento de sub-poblaciones de pacientes de bajo nivel de respuesta. Otra alternativa consiste en efectuar la comparación con los anticuerpos disponibles en el comercio, en particular los anticuerpos en desarrollo, los anticuerpos que han obtenido una AMM o también unos anticuerpos cuyos ensayos clínicos se han detenido y se han revelado poco eficaces y/o produciendo unos efectos secundarios indeseables a las dosis administradas. En efecto, los anticuerpos modificados utilizados en el ámbito de la invención son al menos un 100% más eficaces para activar ADCC soportada por unas células efectoras del sistema inmunitario, lo que implica unas dosis de administración inferiores a las realizadas por los anticuerpos mencionados anteriormente y en el presente caso la posibilidad de tratar unos pacientes para los cuales los anticuerpos actualmente disponibles se revelaron ineficaces.

50 En una primera etapa, el anticuerpo puede ser seleccionado por su capacidad de interacción con el receptor CD16 después ensayado y seleccionado tal como se ha descrito anteriormente por sus propiedades para inducir la producción de una citoquina, en particular IL-2, por las células Jurkat CD16 o de IFN γ por las células efectoras que expresan CD16.

55 Tales anticuerpos que poseen esta doble propiedad de inducir la ADCC a través del CD16 e inducir la producción de IFN γ o de otras citoquinas y/o quimioquinas por las células del sistema inmunitario puede incrementar y/o inducir la actividad citotóxica de las células efectoras (NK, monocitos, macrófagos, polinucleares neutrófilos en particular).

60 Así, la presente descripción describe la utilización del anticuerpo definido anteriormente para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento de patologías en pacientes homocigotos para la fenilalanina en la posición 158 de CD16 (FCGR3A-158F homocigotos) o unos pacientes heterocigotos valina/fenilalanina en la posición 158 de CD16 (FCGR3A-158V/F).

65 Tales anticuerpos poseen una glicosilación particular. Poseen un dominio Fc de tipo biantenado, con unas cadenas cortas, una baja sialilación, unas manosas y GlcNAc del punto de unión terminales no intercalares y una baja

fucosilación.

5 Así, en otro aspecto, la presente descripción describe la utilización de un anticuerpo monoclonal quimérico, humanizado o humano, cuya estructura glicánica del dominio Fc del anticuerpo corresponde a un tipo biantenado, con unas cadenas cortas, una baja sialilación, unas manosas y GlcNAc del punto de unión terminales no intercalares, y una baja fucosilación para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento de patologías en pacientes homocigotos para la fenilalanina en la posición 158 de CD16 (FCGR3A-158F homocigotos) o de los pacientes heterocigotos valina/fenilalanina en la posición 158 de CD16 (FCGR3A-158V/F).

10 En efecto, esta forma glicánica del dominio Fc del anticuerpo confiere a éste las propiedades de inducir una fuerte ADCC y la producción de citoquinas y/o quimioquinas tal como se ha descrito anteriormente.

En este anticuerpo, el porcentaje de GlcNAc intercalar es diferente de cero.

15 En el ámbito de la invención, se utilizan unas composiciones que presentan un contenido superior al 60%, preferentemente superior al 80% para las formas G0 + G1 + G0F + G1F y un contenido en formas G0F + G1F inferior al 50%, preferentemente inferior al 30% para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento de pacientes homocigotos para la fenilalanina en la posición 158 de CD16 (FCGR3A-158F homocigotos) o de los pacientes heterocigotos valina/fenilalanina en la posición 158 de CD16 (FCGR3A-158V/F).

20 Ventajosamente, los anticuerpos mencionados anteriormente son unas IgG1.

25 Otro objeto de la presente descripción es un método de tratamiento terapéutico que comprende la administración de un anticuerpo monoclonal quimérico, humanizado o humano cuya estructura glicánica del dominio Fc del anticuerpo corresponde a un tipo biantenado, con unas cadenas cortas, una baja sialilación, unas manosas y GlcNAc del punto de unión terminales no intercalares y una baja fucosilación en pacientes homocigotos para la fenilalanina en la posición 158 de CD16 (FCGR3A-158F homocigotos) o en los pacientes heterocigotos valina/fenilalanina en la posición 158 de CD16 (FCGR3A-158V/F).

30 Ventajosamente, los pacientes son unos pacientes homocigotos para la fenilalanina en la posición 158 de CD16 (FCGR3A-158F homocigotos).

35 Preferiblemente, los pacientes tratados están en fracaso terapéutico con los anticuerpos actualmente disponibles o sufren efectos secundarios indeseables.

Ventajosamente, la dosis del anticuerpo administrada al paciente es 2 veces, 5 veces, preferentemente 10 veces, 25 veces, 50 veces o preferentemente 100 veces menos elevada que una dosis indicada con un anticuerpo de misma especificidad, pero de glicosilación diferente o producido en una línea CHO.

40 De manera ventajosa, la dosis del anticuerpo administrado al paciente está entre 2 y 5 veces, entre 5 y 10 veces, entre 5 y 25 veces, entre 5 y 50 veces o preferentemente entre 5 y 100 veces menos elevada que una dosis de anticuerpos de misma especificidad, pero de glicosilación diferente o producido en una línea CHO.

45 En otro aspecto de la invención, el anticuerpo utilizado puede ser producido en líneas celulares de tipo mieloma de rata, por ejemplo YB 2/0 (ATCC n° CRL 1662). En efecto, tales células permiten la obtención de un anticuerpo glicosilado tal como se ha descrito anteriormente. Así, en un aspecto complementario, la presente descripción se refiere a la utilización de un anticuerpo monoclonal quimérico, humanizado o humano producido en una línea de mieloma de rata, por ejemplo YB2/0 o uno de sus derivados, para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento de pacientes que presentan la forma FCGR3A-158V/F o FCGR3A-158F homocigotos de CD16, en particular unos pacientes que se encuentran en fracaso terapéutico con los anticuerpos actualmente disponibles o que sufren efectos secundarios indeseables que justifican la administración del anticuerpo optimizado de la invención. Preferentemente, la presente descripción se refiere a la utilización de anticuerpos producidos en líneas de mielomas de rata, en particular YB2/0 y sus derivados. Dichos anticuerpos que poseen la doble propiedad de inducir a través del CD16 de forma FCGR3A-158V/F o FCGR3A-158F homocigotos, la ADCC y también la producción de IFN γ o de otras citoquinas y/o quimioquinas por las células del sistema inmunitario, pudiendo esto aumentar y/o inducir la actividad citotóxica de células efectoras (NK, monocitos, macrófago, polinucleares neutrófilos, etc.) descritas como expresando el receptor CD16 se utilizan para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento de una población particular de pacientes de bajo nivel de respuesta o que se encuentran en fracaso terapéutico con los anticuerpos actualmente disponibles o que sufren efectos secundarios indeseables.

60 El anticuerpo producido en líneas de mieloma de rata, en particular YB2/0 o de uno de sus derivados, presenta la estructura glicánica del fragmento Fc tal como se ha descrito anteriormente, el contenido en formas G0+G1+G0F+G1F y G0F+G1F tal como se ha descrito anteriormente, e induce a una citotoxicidad por ADCC y a la secreción de citoquinas de la manera ya descrita anteriormente.

65 El anticuerpo utilizado en el ámbito de la invención está dirigido contra un antígeno de un organismo patógeno para

el ser humano, en particular contra un antígeno de una célula infectada por un virus. Es ventajoso utilizar los anticuerpos definidos anteriormente para el tratamiento de las infecciones por unos agentes patógenos para estos pacientes.

5 Entre las patologías que necesitan la administración de tal anticuerpo en estos pacientes se pueden citar a título de ejemplo las enfermedades seleccionadas entre las enfermedades infecciosas, en particular la tuberculosis, el síndrome de la fatiga crónica (CFS), las infecciones parasitarias como por ejemplo la esquistosómula o el paludismo, en particular en las mujeres embarazadas, y las infecciones virales para determinar las células depósito de virus (VIH, VCH, VBH en particular) y las células infectadas.

10 Entre las patologías tratadas, se pueden citar las patologías en las que el antígeno está poco expresado. Se entiende por "antígeno débilmente expresado" un número de sitios antigénicos inferior a 250000, preferentemente inferior a 100000 o 50000 y de manera particularmente ventajosa inferior a 10000 o 5000 por célula diana.

15 Además, a título de ejemplo, los anticuerpos utilizados en el ámbito de la invención pueden ser unos anticuerpos de segunda generación que corresponden a los anticuerpos disponibles actualmente listados en la Tabla 1.

Tabla 1

Nombre y marca comercial del anticuerpo	Compañía	Diana	Indicación
XTL 002	XTL biopharmaceuticals	ND	anti-viral: HCV
XTL 001	XTL biopharmaceuticals	ND	anti-viral: HBV

20 Otros anticuerpos pueden ser seleccionados entre los anti-virales: VIH, VBH, VCH y VCR.

25 La presente descripción se refiere también a la utilización de un anticuerpo descrito anteriormente para la fabricación de un medicamento destinado a inducir la expresión de IL-1, IL4, IL12, IL18, IL21, IL-2, IL-3, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IFN α , IFN β , TNF α , TGF β , IP10 y IFN γ por las células efectoras naturales del sistema inmunitario, siendo dicho medicamento útil en particular para el tratamiento del cáncer y de las infecciones en los pacientes que se encuentran en fracaso terapéutico con los anticuerpos actualmente disponibles o que sufren efectos secundarios indeseables que justifican la administración del anticuerpo optimizado de la invención y en particular que presenta la forma V/F158 o F/F158 de CD16.

30 Otros aspectos y ventajas de la invención se describirán en los ejemplos siguientes, que deben ser considerados como ilustrativos.

Leyendas de las figuras

35 Figura 1: Actividad ADCC del anticuerpo monoclonal anti-Rhesus D R297 (IgG1 T125 producido en YB2/0) y de los anticuerpos policlonales WinRho en presencia de células efectoras (PBMc: Peripheral Blood Mononuclear Cells) de diferentes donantes de sangre y de inmunoglobulinas polivalentes (Tégéline 500 μ g/ml).

40 Figura 2: ADCC inducido por los anticuerpos anti-Rhesus D (anticuerpos WinRho policlonales, T125 producidos en YB2/0 y T125 producidos en CHO) sobre células NK de donantes de fenotipo CD16 FCGR3A-158F homocigotos.

45 Figura 3: ADCC inducido por los anticuerpos anti-Rhesus D (anticuerpos WinRho policlonales, T125 producidos en YB2/0 y T125 producidos en CHO) sobre células NK de donantes de fenotipo CD16 FCGR3A-158V homocigotos.

Figura 4: Activación de Jurkat CD16 FCGR3A-158F homocigotos por los anticuerpos anti-Rhesus D T125 expresados en YB2/0 y CHO.

50 Figura 5: Activación de Jurkat CD16 FCGR3A-158V homocigotos por los anticuerpos anti-Rhesus D T125 expresados en YB2/0 y CHO.

Figura 6: Activación de Jurkat CD16 FCGR3A-158F homocigotos inducida por los anticuerpos anti-HLA-DR expresados en YB2/0 y CHO.

55 Figura 7: Activación de Jurkat CD16 FCGR3A-158V homocigotos inducida por los anticuerpos anti-HLA-DR expresados en YB2/0 y CHO.

Ejemplos

60 Ejemplo 1: Actividad ADCC del anticuerpo monoclonal anti-Resus D R297 comparada con los anticuerpos

policlonales anti-D sobre un grupo de 107 donantes de sangre.

Se comparan las capacidades respectivas del anticuerpo monoclonal anti-Rhesus D R297 y de los anticuerpos policlonales anti-D a lisar de las hemáties en presencia de células efectoras de diferentes donantes individuales (figura 1).

Las células efectoras provienen de un grupo de 107 donantes de sangre. Las células mononucleadas (PBMC) se aíslan a partir de una bolsa de sangre por centrifugación sobre un gradiente de Ficoll (Pack Plus Pharmacia). Las plaquetas se eliminan por centrifugación (190 g, 15 min.) y los glóbulos rojos residuales se lisan con NH₄Cl. Las células se lavan y se resuspenden a 8x10⁷ células/ml en IMDM. Los glóbulos rojos obtenidos a partir de concentrados terapéuticos (grupo O, Rhesus+) se tratan durante 10 minutos con papaína (1 mg/ml) después se lavan tres veces en tampón salino y se ajustan a la concentración de 4x10⁷/ml o 2x10⁷/ml (ensayo NK) en IMDM.

El ensayo se efectúa en placa de 96 pocillos (NUNC). Los sobrenadantes de cultivo o los anticuerpos purificados (100 µl a 200 ng/ml en IMDM + 0,5% de SVF), las células efectoras (25 µl), los glóbulos rojos (25 µl) y las inmunoglobulinas polivalentes (Tegelina, LFB) (50 µl) se incuban durante 16h a 37°C bajo atmósfera enriquecida en CO₂ %.

Para la lisis no específica, las células efectoras se sustituyen por IMDM.

Después de 16h a 37°C, las placas se centrifugan. Se extraen 60 µl de sobrenadantes y se mezclan con 60 µl de 2,7-diaminofluoreno (DAF, Sigma).

Después de 5 minutos, se mide la DO a 620 nm.

El porcentaje de lisis se estima utilizando una gama de calibración obtenida con diferentes diluciones de glóbulos rojos lisados con NH₄Cl, que corresponde al 100, 75, 50, 25 y 0% de lisis respectivamente.

En base al estudio genotípico realizado en donantes de mismo origen geográfica, se estima en el presente estudio que la distribución media de los 107 donantes en lo referente al polimorfismo de CD16 es de 27 FCGR3A-158F homocigotos, 20 FCGR3A-158V homocigotos y 60 FCGR3A-158V/F.

Los resultados muestran una gran variabilidad en la capacidad de las células efectoras de los diferentes sujetos a inducir una lisis de los hemáties Rhesus positivo, sean cuales sean los anticuerpos ensayados. Los anticuerpos expresados en la línea celular YB2/0 presentan una actividad citolítica comparable a la de los anticuerpos policlonales, sea cual sea el donante estudiado, y por lo tanto sea cual sea el polimorfismo de CD16 de las células efectoras del donante (véase la figura 1).

Ejemplo 2: Eficacia ADCC de los anticuerpos producidos en CHO y YB2/0 en función del polimorfismo de CD16.

Se ha transfectado la misma secuencia que codifica una IgG1 específica del antígeno Rhesus D en las líneas celulares CHO y YB2/0. Los anticuerpos se incubaron con unos hemáties Rhesus positivo (célula dianas) y unas células NK que provienen de 6 donantes diferentes (3 FCGR3A-158V homocigotos y 3 FCGR3A-158F homocigotos) previamente genotipados por su fenotipo CD16 en la posición 158. Las células NK se aíslan utilizando la técnica de separación sobre bolas magnéticas (MACS) de Myltenyi. Las células NK se lavan y se resuspenden a 2x10⁷/ml y/o 6x10⁷/ml en IMDM. Los glóbulos rojos se ajustan a la concentración de 2x10⁷/ml en IMDM. La Tegelina se sustituye por IMDM. Fuera de estas modificaciones, el ensayo es idéntico al ensayo ADCC con PBMC.

Se ha evaluado la actividad citotóxica de los anticuerpos sobre los hemáties (ADCC) (figura 2 y figura 3).

El anticuerpo producido en la línea CHO induce una lisis más baja que el anticuerpo producido en YB2/0, sea cual sea el fenotipo del donante. El anticuerpo R297 expresado en la línea YB2/0 induce a partir de las más bajas concentraciones una más fuerte actividad citolítica. A la concentración máxima de 25 ng/ml, los dos anticuerpos inducen el mismo porcentaje de ADCC.

A las concentraciones inferiores a 25 ng/ml, la diferencia de lisis entre el anticuerpo producido en CHO y el producido en YB2/0 es más importante en los donantes FCGR3A-158F homocigotos que los donantes FCGR3A-158V homocigotos. A la concentración de 2,5 ng/ml, en presencia de las células NK FCGR3A-158V homocigotos, el anticuerpo producido por CHO induce el 54% de lisis mientras que el producido por YB2/0 induce el 89% de lisis, es decir un 56% de aumento. Por el contrario, a la misma concentración, en presencia de células NK FCGR3A-158F homocigotos, el anticuerpo producido por CHO induce sólo el 22% de lisis mientras que el producido por YB2/0 induce el 74% de lisis, es decir un 236% de aumento.

El anticuerpo expresado en la línea YB2/0 es por lo tanto mucho mejor producto para tratar los pacientes que dan una lisis débil con los anticuerpos producidos en CHO.

Así, la diferencia de actividad ADCC entre los pacientes FCGR3A-158V homocigotos y FCGR3A-158F homocigotos es más débil con el anticuerpo expresado en YB2/0 (89 y 74%) con respecto a la observada con el anticuerpo expresado en CHO (56 y 22%). Los anticuerpos optimizados presentan una respuesta que parece por lo tanto menos dependiente de las formas polimórficas de CD16.

5 Por otro lado, el anticuerpo monoclonal expresado en YB2/0 induce siempre una lisis superior o igual a los anticuerpos policlonales.

10 Ejemplo 3: comparación de la activación de células Jurkat CD16 FCGR3A-158F homocigotos y Jurkat CD16 FCGR3A-158F homocigotos inducida por los anticuerpos anti-Rhesus producidos en CHO y YB2/0 respectivamente: evaluación de la producción de IL2.

15 Este ensayo estima la capacidad de los anticuerpos para fijarse sobre el receptor CD16 (FC gamma RIII) expresado en las células Jurkat CD16 y para inducir la secreción de IL2.

20 La misma secuencia que codifica una IgG1 (T125) específica del antígeno Rhesus D se ha transfectado en las líneas celulares CHO y YB2/0. Los anticuerpos se incuban con unos hematíes Rhesus positivo (célula diana) y unas células Jurkat CD16 (células efectoras). Se utilizan dos tipos de células Jurkat: 1- unas células transfectadas con el gen que codifica un RFc que lleva el aminoácido fenilalanina F en la posición 158 (forma F), 2- unas células transfectadas con el gen que codifica un RFc que lleva el aminoácido valina V en la posición 158 (forma V). La cantidad de citoquina (IL2) segregada por las células Jurkat CD16 se midió por ELISA.

En una placa de 96 pocillos en mezcla:

25 Anticuerpos: 50µl de una dilución 50; 37,5; 25; 18,75; 12,5; 9,4 ;6,25; 3,125 ng/ml en IMDM (Iscove's Modified Dulbecco's) Medium 5% SVF (suero fetal de ternera)

- PMA 50 µl de una dilución a 40 ng/ml en IMDM 5% SVF

30 - Hematíes tratados con papaína. 50µl a 8×10^6 /ml en IMDM 5% SVF

- Jurkat CD16. 50µl a 2×10^6 /ml en IMDM 5% SVF

35 Incubación 1 noche a 37°C

Después centrifugación de las placas, extracción de 100 µl de sobrenadantes y determinación de IL2 con el kit comercial (Quantikine de R/D). Lectura a 450 nm.

40 El anticuerpo expresado en la línea YB2/0 es capaz de inducir una secreción más alta de IL2, contrariamente al anticuerpo expresado en CHO, sea cual sea el fenotipo CD16 (figura 4 y figura 5).

El anticuerpo producido en CHO no induce secreción de IL2 a partir de Jurkat CD16 FCGR3A-158F homocigotos y sólo una muy débil producción de IL2 con la forma FCGR3A-158V homocigotos.

45 Al ser una de las particularidades del sistema Rhesus la baja expresión del antígeno en la superficie membranaria, parece que en estas condiciones, el anticuerpo expresado en la línea YB2/0 demuestra ser un producto mucho mejor para activar las células efectoras portadoras de la forma FCGR3A-158F homocigotos de CD16 que no parecen activables con el anticuerpo producido en CHO. En lo que se refiere a la forma FCGR3A-158V homocigotos, unas cantidades muy bajas de anticuerpos producidos por YB2/0 (<1,56) permiten inducir una activación comparable con la obtenida con concentraciones más altas de anticuerpos producidos en CHO (12,5 ng/ml).

50 Con la forma FCGR3A-158F homocigotos y a la concentración de 12,5 ng/ml, el anticuerpo producido en CHO induce a una secreción de IL2 (18 pg/ml) inferior al 2% de la inducida por el anticuerpo producido en YB2/0 (1435 pg/ml). Esto corresponde a una ganancia de más del 7000% cuando se utiliza el anticuerpo producido en YB2/0 con respecto al anticuerpo producido en CHO.

55 Con la forma FCGR3A-158V homocigotos y a la concentración de 12,5 ng/ml, el anticuerpo producido en CHO induce a una secreción de IL2 (869 pg/ml) inferior al 8% de la inducida por el anticuerpo producido en YB2/0 (12312 pg/ml). Esto corresponde a una ganancia de más del 1300% cuando se utiliza el anticuerpo producido en YB2/0 con respecto al anticuerpo producido en CHO.

60 Ejemplo 4: comparación de la activación de las células Jurkat CD16 FCGR3A-158F homocigotos y Jurkat CD16 FCGR3A-158V homocigotos inducida por dos anticuerpos anti-HLA-DR expresados en CHO y YB2/0 respectivamente: evaluación de la secreción de IL2.

65

ES 2 624 272 T3

La misma secuencia que codifica una IgG1 específica del antígeno HLA-DR se ha transfectado en las líneas celulares CHO e YB2/0. Los anticuerpos se incuban con unas células Raji (célula diana HLA-DR positivas) y unas células Jurkat CD16 (células efectoras). Se han utilizado dos tipos de células Jurkat: 1- unas células transfectadas con el gen que codifica un R Fc que lleva el aminoácido fenilalanina F en la posición 158 (forma F), 2- células transfectadas con el gen que codifica un RFc que tiene el aminoácido valina V en la posición 158 (forma V). La cantidad de citoquinas (IL2) segregada por las células Jurkat CD16 se ha medido por ELISA.

En una placa de 96 pocillos en mezcla:

10 Anticuerpos: 50µl de una dilución de 50; 37,5; 25; 18,75; 12,5; 9,4 ;6,25; 3,125 ng/ml en IMDM 5% SVF

- PMA 50µl de una dilución a 40ng/ml en IMDM 5% SVF

15 - células Raji: 50µl a 6×10^5 /ml en IMDM 5% SVF

- Jurkat CD16. 50µl a 20×10^6 /ml en IMDM 5% SVF

Incubación durante 1 noche a 37°C

20 Después centrifugación de las placas, extracción de 100 µl de sobrenadante y determinación de IL2 con el kit comercial (Quantikine de R/D). Lectura a 450 nm.

El anticuerpo expresado en la línea YB2/0 es capaz de inducir una secreción más alta de IL2, contrariamente al anticuerpo expresado en CHO, sea cual sea el fenotipo CD16 (figura 6 y figura 7).

25 Contrariamente al sistema Rhesus sobre los hematíes, la expresión del antígeno HLA-DR en la superficie membranaria de la célula Rai no es baja (200000 a 400000 copias). En estas condiciones, parece que el anticuerpo expresado en la línea YB2/0 demuestra ser un producto mucho mejor para activar las células efectoras portadoras de la forma F158 así como V158 de CD16, y esto más particularmente a las bajas concentraciones de anticuerpos. 30 Así, a la concentración de 1,56 ng/ml, el anticuerpo producido en CHO induce a una secreción de IL2 (2410 pg/ml) inferior al 15% de la inducida por el anticuerpo producido en YB2/0 (16952 pg/ml). Esto corresponde a una ganancia de más del 600% cuando se utiliza el anticuerpo producido en YB2/0 con respecto al anticuerpo producido en CHO.

35 A la concentración de 12,5 ng/ml, el anticuerpo producido en CHO induce a una secreción de IL2 (14597 pg/ml) inferior al 45% de la inducida por el anticuerpo producido en YB2/0 (34823 pg/ml). Esto corresponde a una ganancia de más del 100% cuando se utiliza el anticuerpo producido en YB2/0 con respecto al anticuerpo producido en CHO.

40 El anticuerpo expresado en la línea YB2/0 es por lo tanto un producto mucho mejor para inducir la secreción de citoquinas de células efectoras portadoras de la forma polimórfica V158 (FCGR3A-158V homocigotos) y F158 (FCGR3A-158F homocigotos).

REIVINDICACIONES

- 5 1. Utilización de una composición de anticuerpo monoclonal quimérico, humanizado o humano dirigido contra un antígeno de un organismo patógeno para el ser humano, presentando dicha composición a nivel de la estructura glicánica del dominio Fc del anticuerpo un contenido superior al 60% para las formas G0 + G1 + G0F + G1F y un contenido para las formas G0F + G1F inferior al 50%, para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento de las infecciones por dicho organismo patógeno en pacientes homocigotos para la fenilalanina en la posición 158 de CD16 (FCGR3A-158F homocigotos) o de los pacientes heterocigotos valina/fenilalanina en la posición 158 de CD16 (FCGR3A-158V/F).
- 10 2. Utilización según la reivindicación 1, caracterizada por que el anticuerpo es un anticuerpo dirigido contra una célula infectada por un virus y está destinado al tratamiento de las infecciones por dicho virus.
- 15 3. Utilización según la reivindicación 2, caracterizada por que el anticuerpo es un anticuerpo anti-VIH y está destinado al tratamiento de las infecciones por VIH.
- 20 4. Utilización según la reivindicación 2, caracterizada por que el anticuerpo es un anticuerpo anti-RSV y está destinado al tratamiento de las infecciones por RSV.
- 25 5. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada por que dicha composición presenta un contenido superior al 80% para las formas G0 + G1 + G0F + G1F.
- 30 6. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizada por que las formas G0F + G1F son inferiores al 30%.
- 35 7. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizada por que los anticuerpos son unas IgG1.
- 40 8. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizada por que los pacientes son unos pacientes homocigotos para la fenilalanina en la posición 158 de CD16 (FCGR3A-158F homocigotos).
- 45 9. Composición de anticuerpo monoclonal quimérico, humanizado o humano dirigido contra un antígeno de un organismo patógeno para el ser humano, presentando dicha composición a nivel de la estructura glicánica del dominio Fc del anticuerpo un contenido superior al 60% para las formas G0 + G1 + G0F + G1F y un contenido para las formas G0F + G1F inferior al 50%, para su utilización en el tratamiento de las infecciones por dicho organismo patógeno en pacientes homocigotos para la fenilalanina en la posición 158 de CD16 (FCGR3A-158F homocigotos) o de los pacientes heterocigotos valina/fenilalanina en la posición 158 de CD16 (FCGR3A-158V/F).
- 50 10. Composición para su utilización según la reivindicación 9, caracterizada por que el anticuerpo es un anticuerpo dirigido contra una célula infectada por un virus y está destinado al tratamiento de las infecciones por dicho virus.
- 55 11. Composición para su utilización según la reivindicación 10, caracterizada por que el anticuerpo es un anticuerpo anti-VIH y está destinado al tratamiento de las infecciones por VIH.
- 60 12. Composición para su utilización según la reivindicación 10, caracterizada por que el anticuerpo es un anticuerpo anti-RSV y está destinado al tratamiento de las infecciones por RSV.
13. Composición para su utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12, caracterizada por que dicha composición presenta un contenido superior al 80% para las formas G0 + G1 + G0F + G1F.
14. Composición para su utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 13, caracterizada por que las formas G0F + G1F son inferiores al 30%.
15. Composición para su utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 14, caracterizada por que los anticuerpos son unas IgG1.
16. Composición para su utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 15, caracterizada por que los pacientes son unos pacientes homocigotos para la fenilalanina en la posición 158 de CD16 (FCGR3A-158F homocigotos).

ADCC en presencia de células efectoras (PBMC) de diferentes donantes de sangre y de inmunoglobulinas polivalentes (Tégéline 500 µg/ml)

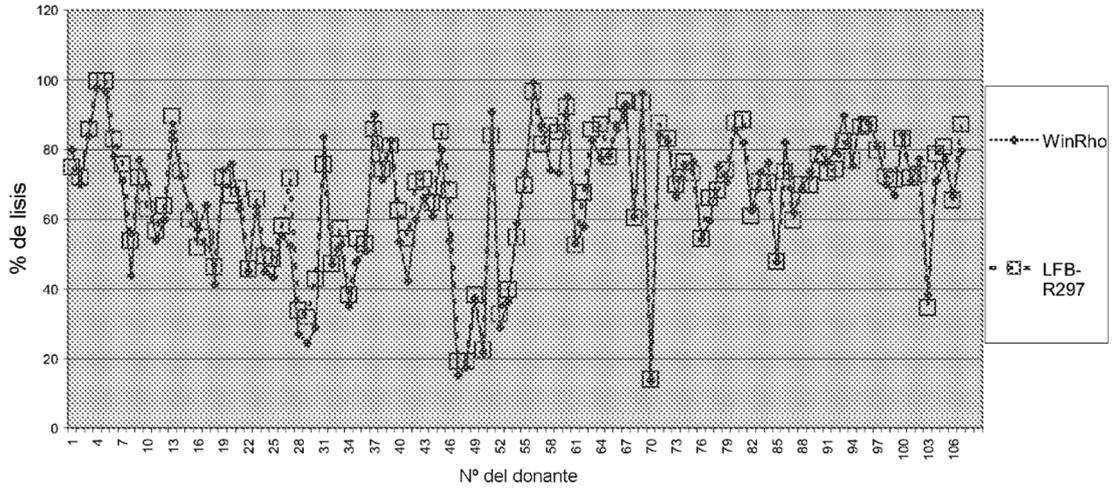


Figura 1

ADCC inducido por los anti-rhesus D sobre NK de donantes de fenotipo CD16 F-F 158

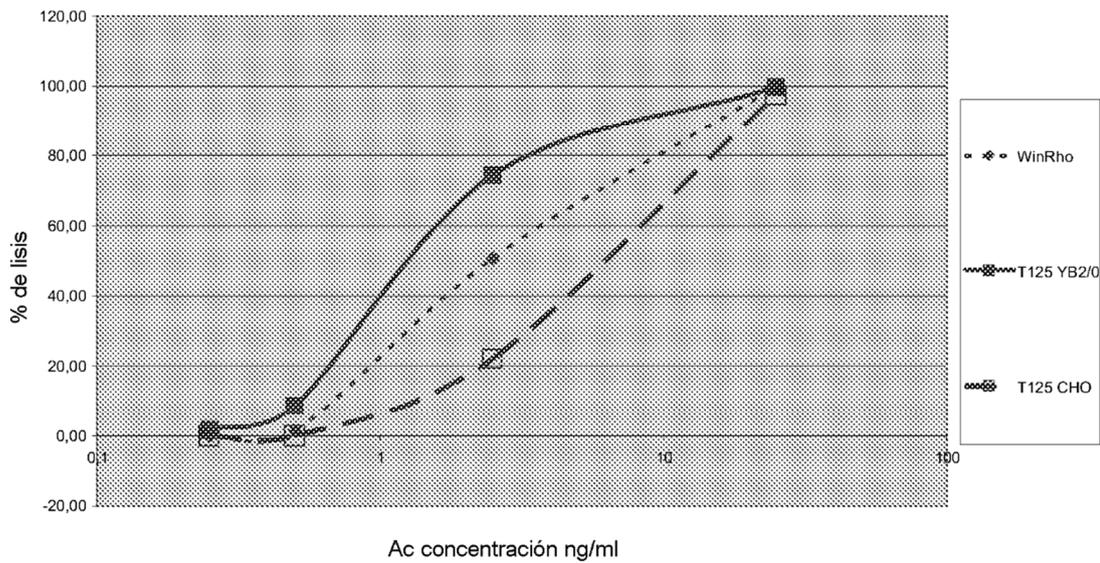


Figura 2

ADCC inducido por los anti-rhesus D sobre NK de donantes de fenotipo CD16 V-V 158

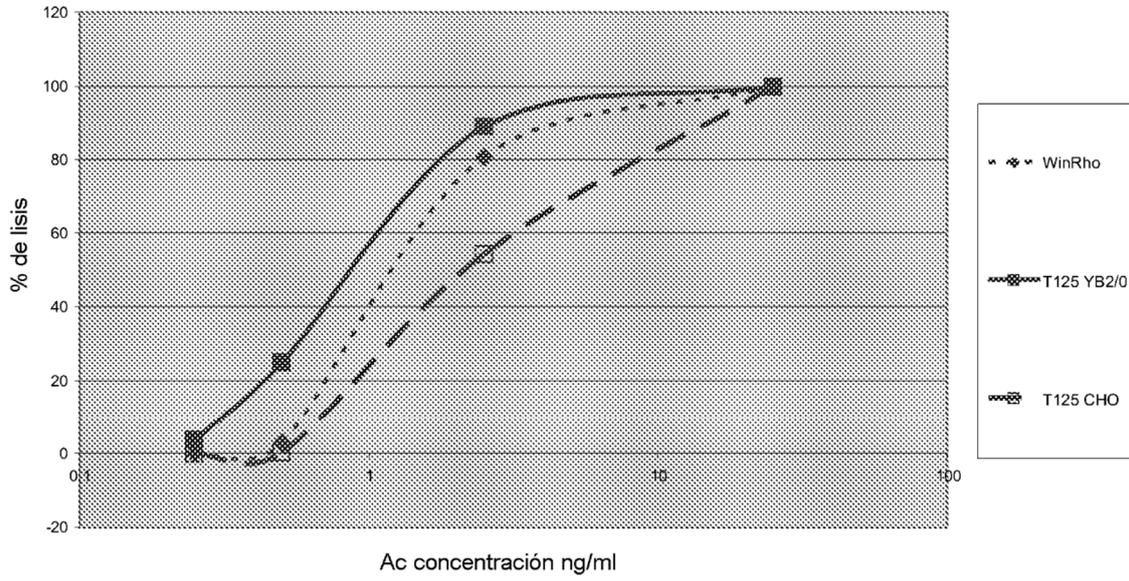


Figura 3

Activación de jurkat CD16 F-158 por los anti-D (T125) expresados en YB2/0 y CHO

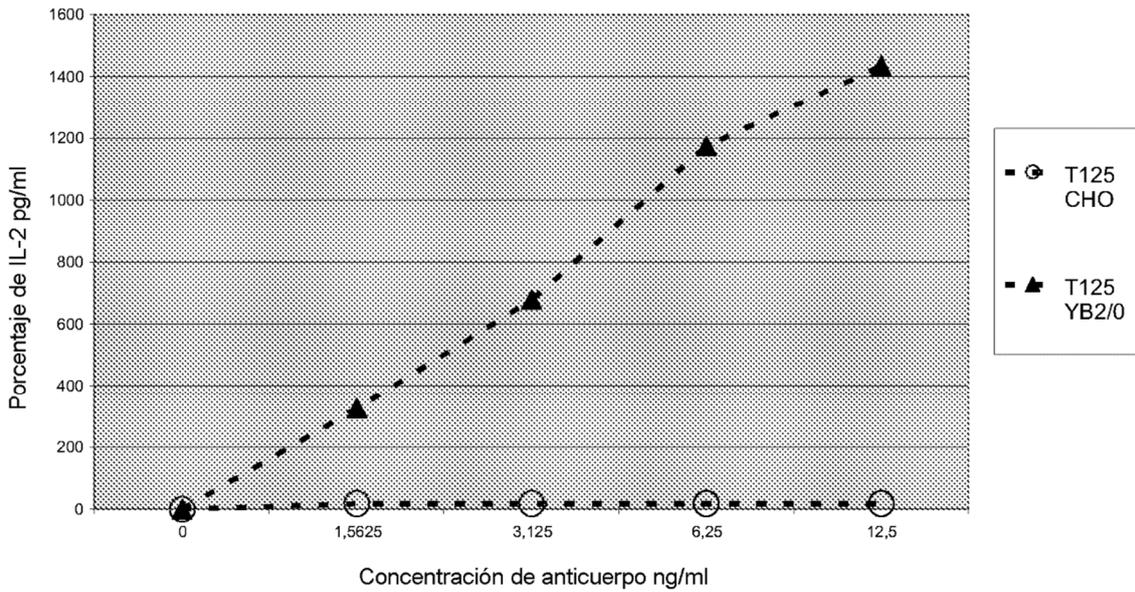


Figura 4

Activación de jurkat CD16 V-158 por los anti-D (T125) expresados en YB2/O y CHO

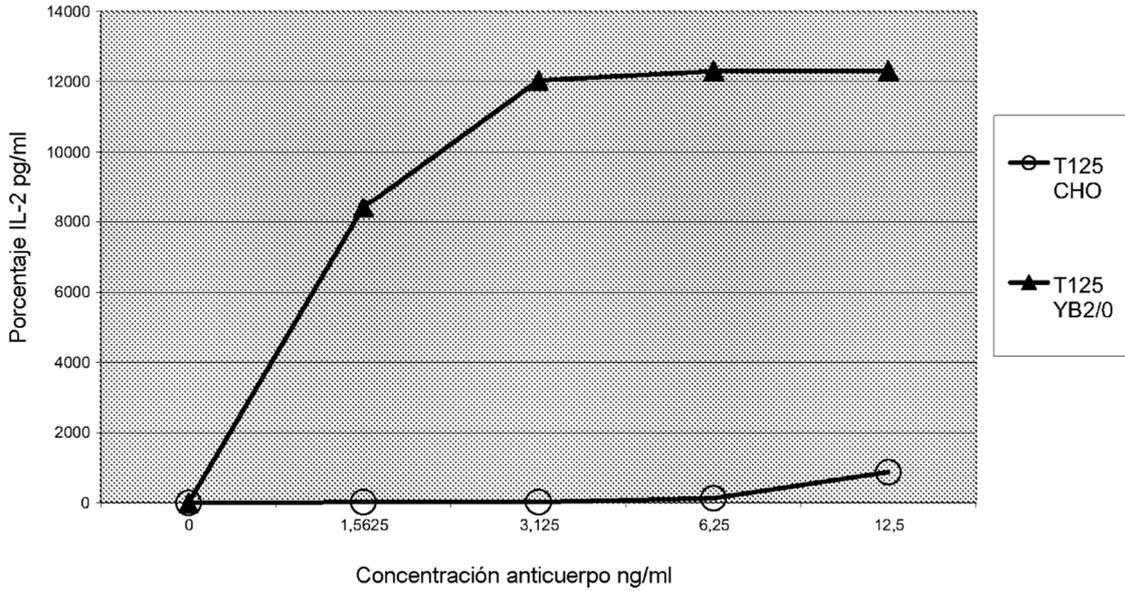


Figura 5

Activación de jurkat CD16 F-158 inducida por los anticuerpos anti-HLA-DR expresados en CHO e YB2/O

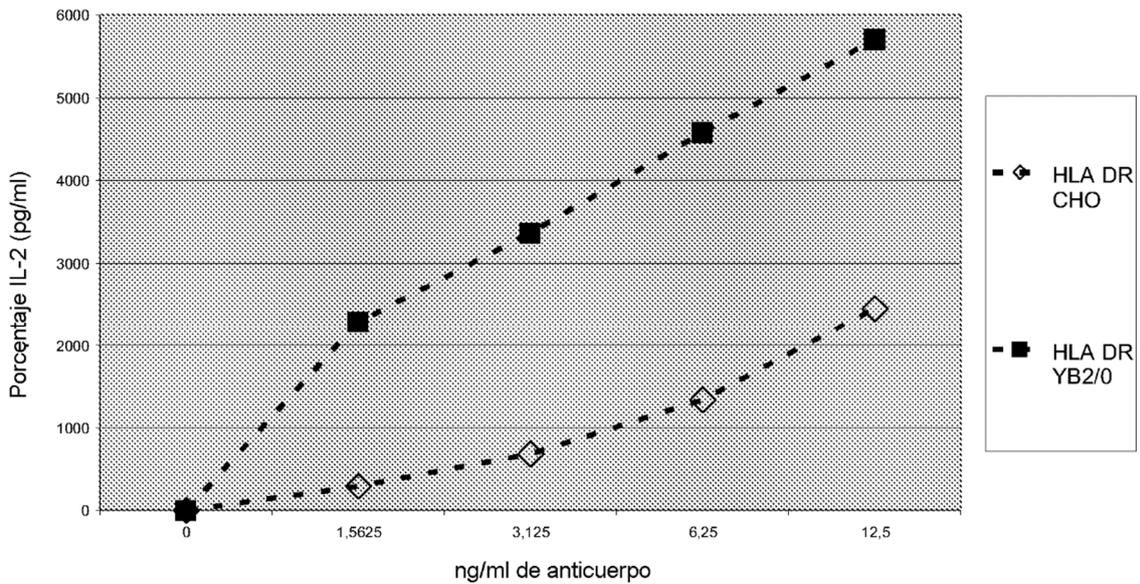


Figura 6

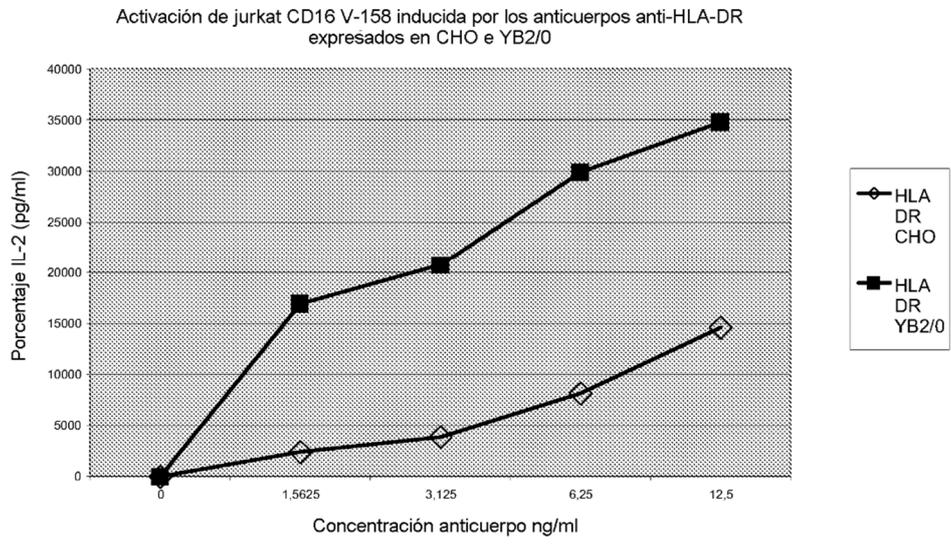


Figura 7