

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 625 227**

51 Int. Cl.:

A61M 1/36 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.09.2007** E 13163421 (4)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.02.2017** EP 2623140

54 Título: **Método para promover inmunoterapias**

30 Prioridad:

07.09.2006 DE 102006042012

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

18.07.2017

73 Titular/es:

**FRESENIUS MEDICAL CARE DEUTSCHLAND
GMBH (100.0%)
Else-Kröner-Strasse 1
61352 Bad Homburg , DE**

72 Inventor/es:

**HEPPER, MARTIN;
LEINENBACH, HANS PETER y
NOCKEN, FRANK**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 625 227 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

Método para promover inmunoterapias

5 La presente invención se refiere al uso de ligandos específicos para anticuerpos autólogos o para antígenos solubles asociados a cáncer en muestra de sangre, para la fabricación de una columna, que tiene los ligandos acoplados a ella, para el tratamiento de cáncer.

Además del tratamiento de cáncer convencional que se basa en medidas quirúrgicas, en el uso de medicamentos quimioterapéuticos y/o en irradiación, se ha establecido la inmunoterapia con anticuerpos. De la misma manera, como una terapia opcional se reconoce ya una gran cantidad de productos biotecnológicos, entre los cuales también se cuentan, entre otros, los anticuerpos terapéuticos para el tratamiento de enfermedades autoinmunes. En la actualidad, en estudios clínicos se investigan los llamados anticuerpos que neutralizan el VIH para el tratamiento del sida.

15 Las estructuras diana-objetivo, los llamados antígenos, difieren en gran medida para las diversas enfermedades y los modos de acción de las respectivas terapias con anticuerpos pueden ser muy diferentes dependiendo de estas estructuras diana. Los antígenos de superficie que sirven como estructuras diana para el tratamiento de enfermedades malignas son, entre otros, proteínas de membrana permanente (EGFR/HER2/VEGFR), asociadas al cáncer, sobre expresadas o también proteínas específicas de célula (CD20/CD52). La cantidad de las células positivas de antígeno en el desarrollo de linfomas es extremadamente grande, de modo que una reducción en esta población de células representa un objetivo terapéutico reconocido. Además del tratamiento de linfomas, la disminución orientada a una diana de las células positivas de antígeno también es adecuada para tratar enfermedades autoinmunes y opcionalmente para suprimir la respuesta inmune como, por ejemplo, en el caso de trasplantes. Los anticuerpos o también las proteínas de fusión, dirigidos contra mensajeros celulares como el factor de necrosis del tumor soluble, son medicamentos importantes para el tratamiento de enfermedades autoinmunes.

25 Los primeros anticuerpos monoclonales modernos (inmunoglobulina principalmente del tipo IgG1) eran de origen de murino, es decir se produjeron mediante líneas celulares de hibridoma de ratones o de ratas. Estas moléculas de IgG1 se reconocen como ajenas, sin embargo, por parte del organismo del ser humano, de modo que son neutralizadas por el sistema inmune humano. Por esta razón, han sido preparados anticuerpos más modernos, llamados quiméricos, que se componen de porciones de murino y porciones humanas en la estructura de IgG. La llamada humanización, hasta la variante optimizada de modo biotecnológico de los anticuerpos completamente humanos, representa el siguiente paso a una mayor minimización de las porciones de murino. Anticuerpos IgG1 quiméricos, humanizados y humanos, durante la terapia pueden emplearse durante un período de tiempo más largo, por ejemplo durante meses. (Abdullah N., Cancer Immunther. 48, 517-524), (Adams GP, Weiner LM, Nature Biotechnology, 2005; 23(9): 1146 - 1157).

35 Además, se llevan a cabo inmunoterapias con agentes que enlazan el receptor FC γ , entre otros. Los receptores FC γ (FcR) son una familia de receptores que son específicos para las partes Fc de la inmunoglobulina (IgG). Estos receptores tienen tareas importantes en el sistema inmune normal y su resistencia a infecciones. De esta manera, IgG son una clase de moléculas que enlazan los receptores FC γ .

40 Hay receptores para cada clase de inmunoglobulina. Estos se definen por la clase de inmunoglobulina a la cual se enlazan. Por ejemplo, el receptor FC γ (FC γ R) enlaza IgG, el receptor Fc ϵ (Fc ϵ R) enlaza IgE, etc. entre los receptores FC γ R se hace una distinción entre tres miembros de subfamilias: FC γ RI, el cual es un receptor con gran afinidad por IgG, FC γ RII, que son receptores con afinidad más baja por IgG, los cuales sin embargo se enlazan bien a agregados de los complejos inmunes, y FC γ RIII los cuales son receptores con baja afinidad que se enlazan a complejos inmunes.

A pesar de que todos estos receptores están relacionados estructuralmente entre sí, estos tienen diversas tareas.

45 FC γ R se expresan por la mayoría de células hematopoyéticas y desempeñan un papel clave en el enlazamiento a IgG durante la homeostasis del sistema inmune y la defensa contra infecciones. Principalmente, FC γ RII es un receptor con afinidad baja por IgG, el cual se enlaza esencialmente sólo a complejos inmunes de IgG, y se expresa en una gran cantidad de piezas de célula, que comprenden, por ejemplo, monocitos, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, plaquetas y linfocitos B.

50 Los receptores FC γ participan en diversas respuestas inmunes e inflamatorias que incluyen citotoxicidad facilitada por células y dependiente de anticuerpos (ADCC). La citotoxicidad celular facilitada por anticuerpos (ADCC) es responsable del efecto de medicamentos biológicos como, por ejemplo, de anticuerpos poli- y monoclonales, pero también de proteínas de fusión. La efectividad de la ADCC está directamente relacionada con la interacción descrita de la región constante del anticuerpo, o también con las propiedades de enlace de la proteína correspondiente con

los receptores FC γ . Para la ADCC, el enlace a los receptores FC γ I y III activadores parece ser relevante; por lo contrario, el enlace de un medicamento predominantemente a receptores FC γ II suprime la respuesta inmune.

Un uso continuo de proteínas terapéuticas, tales como, por ejemplo, de anticuerpos o de agentes que enlazan FcR, principalmente para tratar enfermedades cancerosas y autoinmunes, enfermedades infecciosas y para suprimir reacciones de rechazo de trasplantes, se ve limitado porque estos medicamentos tienen que aplicarse en dosis altas durante una terapia continua.

Al usar anticuerpos, otro anticuerpo, aunque incluso también humanizado o humano, se reconocen estas proteínas ajenas por parte del sistema inmune del paciente y dependiendo de la inmunogenicidad respectiva se neutralizan mediante el desarrollo de anticuerpos (anticuerpos humanos anti-especies) propios del organismo (autólogos). Esta respuesta inmune es facilitada por, por ejemplo, anticuerpos humanos anti-murinos (HAMA) en el caso de anticuerpos murinos, HARA en el caso de anticuerpos de conejos, (HAMA) en el caso de anticuerpos murino o por anticuerpos humanos anti-humanos (HAHA) en el caso de anticuerpos humanizados o humanos. Obviamente, productos de anticuerpos mono- y policlonales que se obtienen a partir de otras especies tales como, por ejemplo, ratas, caballos, cabras, ovejas, reses o también cerdos, también inducen el desarrollo de anticuerpos humanos dirigidos contra las especies respectivas, lo cual con frecuencia puede conducir a reacciones inmunes fuertes y a una pérdida de eficiencia. Esta forma de anticuerpos autólogos contra anticuerpos de otros organismos se denomina de manera sinóptica anticuerpos humanos anti-especies.

La inmunogenicidad de los productos biotecnológicos, exógenos limita su efectividad terapéutica, por ejemplo por el desarrollo de la respuesta de HAMA y HAHA arriba descrita del sistema inmune.

La relativamente baja efectividad observada *in vivo* de las preparaciones terapéuticas de anticuerpo contrasta fuertemente con la citotoxicidad celular facilitada por anticuerpo (ADCC) frecuentemente muy alta que ha sido detectada en previas investigaciones *in vitro*. Este fenómeno también ocurre en terapias de combinación de terapias medicamentosas convencionales, por ejemplo quimioterapias, con inmunoterapias. Si en lo sucesivo se habla en general de medicamentos, esto quiere decir medicamentos convencionales sin efecto inmunoterapéutico, muy particularmente se entiende de manera preponderante que son productos quimioterapéuticos y/o citostáticos. Una posible explicación de este fenómeno es la inhibición descrita de los anticuerpos terapéuticos por medio de HAMA/HAHA (Preithner, S. et al. en Molecular Immunology, 43 (2006) 1183-1193.) Además, las IgG1 de procedencia natural representan moléculas en la sangre del paciente que de manera comparable compiten con los anticuerpos terapéuticos por los receptores Fc correspondientes, ya que estas IgG1 también se enlazan a los receptores correspondientes y de esta manera los ocupan.

Se esperaba que los anticuerpos humanizados o humanos conducirían a una efectividad mejorada y a un mejor perfil de seguridad. Como ya se ha mencionado arriba, de manera sorprendente casi todos los anticuerpos humanizados o humanos también presentan una efectividad dramáticamente disminuida *in vivo*, en comparación con una actividad *in vitro*.

Por lo tanto, es necesario administrar al paciente dosis de anticuerpos que sean varias veces más altas, por lo cual se incrementa el riesgo de efectos secundarios no deseados.

En el caso de un uso dirigido de quimioterapias clásicas en combinación con inmunoterapias a base de anticuerpos, lo cual es una terapia estándar aceptada en el campo de la oncología para el tratamiento de diversas enfermedades malignas, por ejemplo en el caso de cáncer de mama (Trastuzumab), linfomas (Rituximab) o también en el caso de cáncer de intestino (Cetuximab y Panitumumab), la efectividad necesaria tampoco se logra *in vivo*, tal como ya se indicó previamente.

El incremento sinérgico en la efectividad de la terapia de combinación ha sido descrito clínicamente y pre-clínicamente. Los más nuevos hallazgos basados en experimentos *in vitro* demuestran que la interacción con células positivas a FcR, tales como NK, DC y similares, es la base del sinergismo observado. Se ha demostrado que, por una parte, mediante el uso de medicamentos tales como, por ejemplo, Paclitaxel (Miura D. et al., Journal of Clinical Oncology, 2007, Part I. Vol 25, No. 18S (suplemento del 20 de junio), Lenalidomida y Pomalidomide (Bartlett J.B. et al., Journal of Clinical Oncology, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. Vol 25, No. 18S (suplemento del 20 de junio)), pero también inhibidores de cinasa como, por ejemplo, Sorafinib (Hipp et al, Journal of Clinical Oncology, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. Vol 25, No. 18S (suplemento del 20 de junio) tienen una influencia directa en la homeostasis de las células que presentan antígeno pero también en diversas poblaciones de células T, tales como, por ejemplo, células T citotóxicas (CTLs). Para Sorafinib se ha detectado una influencia negativa en las células que presentan antígeno y el desarrollo de una respuesta CTL, por lo cual los inhibidores de cinasa tales como Sunitib aparecen como adecuados para una terapia de combinación con inmunoterapéuticos, también diversos inhibidores de cinasa Her2 tales como, por ejemplo, Lapatinip o también Canertinib. En los trabajos citados arriba, el efecto sinérgico se atribuyó a las poblaciones celulares positivas a FcR, las cuales facilitan la ADCC.

- Clínicamente, en el caso de terapias de combinación existentes, desafortunadamente se registra que una mayoría de los pacientes tratados desarrollan mecanismos de resistencia a la quimioterapia usada y a la correspondiente inmunoterapia a base de anticuerpos. Diversos mecanismos desempeñan un rol aquí, de manera independiente entre sí. Algunos mecanismos de resistencia, dependientes de la diana pero también independientes de la diana, han sido descritos para las inmunoterapias listadas arriba (Herceptin: Ritter C.A. et al., *Clinical Cancer Research* 2007, 13(16):4909-4919; Valabrega G. et al., *Annals of Oncology*, 2007; Nahta R, et al., *Natl Clin Pract Oncol* 2006, 3:269-280; Esteva FJ et al., *J Clin Oncol* 2002, 20:1800-1808; Nagata Y et al., *Cancer Cell* 2004, 6:117-127; Scaltriti M et al., *J Natl Cancer Inst* 2007, 99:628-638; Rituximab: Van Meerten t et al., *Clinical Cancer Research* Vol. 12, 4027-4035, Julio 1, 2006;).
- 5
- 10 R. A. Montgomery et al. describen (*Transplantation*, Vol. 70, 887-895, Septiembre 27, 2000) un procedimiento terapéutico para prevenir reacciones de rechazo del trasplante de órganos. Aquí se combina una plasmaféresis (PP) con gammaglobulina intravenosa (IVIG) y citogama. Una sobredosis de anticuerpos de Ig administrada en la sangre del paciente conduce a un bloqueo de receptores de Fc y de esta manera a una inmunosupresión. Sin embargo, un
- 15
- bloqueo de los receptores de Fc no es deseable en el contexto de la invención, sino por lo contrario, los receptores de Fc deben mantenerse específicamente libres de anticuerpos a fin de que los anticuerpos terapéuticos puedan enlazarse a estos sitios y efectuar una ADCC. Debe excluirse una combinación de PP/IVIG y opcionalmente citogama.
- H. Borberg divulga un método para disminuir IgG por medio de una columna de adsorción de anti-IgG (H. Borberg, *Transfusion and Apheresis Science*, 34, 2006, 51-73) en combinación con una administración de IVIG. Aquí también la consecuencia son los problemas arriba descritos de un bloqueo de los receptores de Fc-
- 20
- La US 6,406,861 B1 manifiesta un método para disminuir anticuerpos de virus, principalmente anticuerpos de adenovirus, mediante adsorción extracorporeal con el objetivo de mejorar la eficiencia de una terapia de vector de virus. La US 6,406,861 B1 no se refiere entonces a una inmunoterapia.
- Por lo tanto, es objetivo de la presente invención principalmente mejorar la eficacia de agentes que se unen a Fcγ-R, principalmente anticuerpos, de modo que las desventajas descritas previamente puedan evitarse.
- 25
- Es objetivo de la presente invención el uso en muestras de sangre de ligandos específicos para anticuerpos autólogos o para antígenos asociados al cáncer solubles, para la fabricación de una columna que exhibe los ligandos acoplados a ella, para el tratamiento de cáncer, en cuyo caso el tratamiento comprende los pasos de:
- 30
- a) preparar una muestra de sangre de un paciente;
- b) someter la muestra de sangre a una inmuoaféresis usando la columna, y administrar al paciente la muestra de sangre tratada de esta manera;
- c) administrar al paciente un anticuerpo con eficacia terapéutica,
- en cuyo caso el anticuerpo con eficacia terapéutica está dirigido contra antígenos asociados al cáncer.
- 35
- En el marco de la invención, preferiblemente el principio activo que se une al receptor Fcγ es un anticuerpo terapéutico, principalmente de modo preferido un anticuerpo monoclonal y/o recombinante o un principio activo con regiones que se unen a FcR, compuesto de fragmentos de anticuerpo o péptidos unidos a agente terapéutico.
- Como paso adicional d) puede efectuarse la administración de un medicamento. De esta manera se obtienen una terapia de combinación que consiste en un tratamiento medicamentoso con una inmunoterapia.
- 40
- Preferiblemente, la terapia de combinación debe efectuarse con inmunoglobulinas, sus fragmentos o también proteínas de fusión que enlazan CD16 o CD64 de manera dirigida.
- Además se prefiere que la inmunoglobulina, sus fragmentos o proteína de fusión induzcan una respuesta inmune facilitada por células T además de la ADCC.
- 45
- Más preferible aún es que la inmunoglobulina, sus fragmentos o proteína de fusión contengan anticuerpos biespecíficos con un brazo de enlace CD3.
- Asimismo se prefiere una terapia de combinación con inmunoglobulinas, sus fragmentos o también proteínas fusión, en la cual se impida la ocurrencia de resistencias mediante las respuestas celulares antitumorales previamente mencionadas.

Los medicamentos preferidos para el uso de la invención son productos citostáticos y quimioterapéuticos, principalmente paclitaxel, lenalidomida, pomalidomida, epirubicina, 5FU y sus derivados, e inhibidores de cinasa tales como sunitinib, lapatinib, canertinib. Además, también pueden usarse combinaciones de diversos medicamentos tales como CHOP, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisolona (esteroide), lenalidomidas/dexametasona, pomalidomida/dexametasona y paclitaxel/carboplatina.

En los métodos o usos de la invención, pueden emplearse inmunoglobulinas con inmunoglobulina humana, quimérica, de murino e híbrida, cuyos fragmentos o también proteínas de fusión que poseen propiedades de enlace CD16/CD64. Además se prefieren inmunoglobulinas que están dirigidas contra antígenos asociados a tumores, así como contra antígenos que están asociados con linfomas o leucemia, así como antígenos que están asociados con enfermedades autoinmunes. Éstos son Her2/neu, EGFR, Epcam, VEGF, VEGFR, MUC-1, CA 125,CEA, MAGE, CD20, CD19, CD40, CD33, anhidrasa carbónica IX, A3, antígeno específico para anticuerpos A33, BrE3-antígeno, CD1, CD1a, CD4, CD5, CD8, CD14, CD15, CD16, CD21, CD22, CD23, CD25, CD30, CD37, CD38, CD40, CD40L, CD45, CD 46, CD52, CD54, CD74, CD79a, CD80, CD126, CD138, CD154, B7, Ia, Ii, HM1.24, HLA-DR, NCA95, NCA90, HCG y subunidades, CEA (CEACAM-5), CEACAM-6, CSAp, EGFR, EGP-I, EGP-2, Ba 733, factor de inducción de hipoxia (HIF), KC4-antígeno, KS-I-antígeno, KS1-4, Le-Y, factor de inhibición de macrófagos (MIF), MUC2, MUC3, MUC4, P1GF, ED-B fibronectina, NCA 66a-d, PAM-4-antígeno, PSA, PSMA, RS5, SIOO, TAG-72, T101, TAG TRAIL-R1, TRAIL-R2, p53, Tenascin, IL-6, IL-8, factor-1 de crecimiento de insulina (IGF-I), antígeno Tn, antígenos Thomson-Friedenreich, antígenos de necrosis de tumor y análogos de ellos que se unen a células positivas para FcR.

En el paso respectivo b) del uso arriba mencionados se sacan los anticuerpos autólogos mediante la inmunoféresis de la muestra de sangre o los agentes enlazantes de Fc γ -R.

La eliminación de los anticuerpos humanos anti-especies y anticuerpos de IgG del paciente antes de la administración del anticuerpo terapéutico y en caso de una terapia de combinación incluso antes de la administración del medicamento conduce de modo sorprendente a que la efectividad de la terapia de anticuerpos, así como también de la terapia de combinación pueda mejorarse en muchas veces, y la efectividad *in vivo* corresponde ahora virtualmente a la efectividad esperada tal como se determinó *in vitro*. La dosificación de anticuerpos terapéuticos puede disminuirse al menos en cinco veces, preferiblemente 10 veces, en modalidades muy particularmente preferidas en 20 veces, en comparación con la dosificación de anticuerpos terapéuticos en caso de métodos convencionales.

La combinación de medicamentos con inmunoterapia, que además de antígeno asociado a tumor, enlazan de manera dirigida células FcR-positivas, superan de esta manera posibles desarrollos de resistencia que podrían facilitarse por los antígenos (Her2/EGFR/CD20), cascadas de transducción de señal intracelular secundaria (apoptosis o pérdida de PTEN), u otras actividades de cinasa (HER3/PI3K/Akt). Estas inmunoterapias reclutan células que presentan antígeno de manera dirigida, por lo cual las células T se activan a su vez mediante señales co-estimulatorias (CD28/CD40).

Los candidatos ideales para una terapia de combinación representan anticuerpos humanizados completos y biespecíficos similares a IgG (Asano et al., 2007, JBC) y anticuerpos biespecíficos trifuncionales, preferiblemente quimeras IgG2a/IgG2b ratón/rata. En el caso de estas quimeras IgG2a/IgG2b ratón/rata, las células T se enlazan incluso todavía, de manera dirigida, con las células FcR I y III positivas por el segundo brazo de enlace CD-3. Ambos receptores están entre los receptores facilitadores de ADCC.

Además de los anticuerpos trifuncionales, ya existen otras diferentes inmunoterapias que reclutan de manera dirigida células CD16- o también CD64 positivas (Her2/CD16; CD30/CD16; CD19/CD64; CD15/CD64; Her2/CD64 etc.) o hacen posible un refuerzo de la ADCC mediante propiedades de enlazamiento de FcR mejoradas. Incluso aquellas inmunoterapias en las que se eluden mecanismos de resistencia potenciales y puede concebirse una terapia cinégetica representan candidatos adecuados para una terapia de combinación.

Una terapia de combinación con anticuerpos humanizados y biespecíficos similares a IgG y/o anticuerpos trifuncionales y una inmunoadsorción antepuesta no solamente provoca una sinergia más fuerte respecto de la ADCC y la citotoxicidad facilitada por células T, sino que también hace posible el tratamiento a largo plazo de la terapia de combinación con los anticuerpos de murino. La inmunoadsorción antepuesta también neutraliza las inmunoglobulinas potencialmente neutralizantes (HAMA, ADA), que están dirigidas contra los anticuerpos terapéuticos.

Eliminando los anticuerpos autólogos, la inmuno-reacción a los anticuerpos terapéuticos se vuelve mucho más suave y la efectividad de los anticuerpos terapéuticos se intensifica *in vivo* así de manera sorprendente.

Moléculas que interactúan con Fc γ -receptores son, por ejemplo, inmunoglobulinas o también la proteína C- reactiva pro-inflamatoria (Das, T., FEBS Lett., 2004), las cuales ocupan los Fc γ -receptores disponibles.

- 5 Un ejemplo es la citotoxicidad celular facilitada por anticuerpos (ADCC) la cual es responsable del efecto de medicamentos biológicos tales como, por ejemplo, anticuerpos poli- y monoclonales, pero también de proteínas de fusión. La efectividad de la ADCC está directamente relacionada con la interacción de la región constante del anticuerpo pero también con las propiedades de enlazamiento de la proteína correspondiente con los Fc γ -receptores. El enlace a los receptores activadores Fc γ I y III parece ser aquí especialmente relevante para la ADCC. El enlace de un medicamento predominantemente a Fc γ receptores reprime por lo contrario la respuesta inmune. Por ejemplo, hay anticuerpos biespecíficos que están dirigidos contra una proteína diana tal como, por ejemplo, HER2 pero también al mismo tiempo contra el Fc γ -receptor I o el Fc γ -receptor III.
- 10 Otras sustancias activas preferidas que enlazan los Fc γ -receptores son normalmente anticuerpos policlonales y monoclonales de origen animal y humano, anticuerpos recombinantes, anticuerpos monoclonales primatizados, humanizados y humanos, quiméricos, dominios de anticuerpos y fragmentos de los mismos, anticuerpos bi-, tri- y multiespecíficos y constructos de fragmentos de anticuerpos, así como moléculas o sustancias activas que pueden unirse de manera específica a receptores Fc γ , como proteínas y péptidos naturales y recombinantes que interactúan con el receptor Fc γ , proteínas de fusión que interactúan con los receptores Fc γ -Rezeptoren, péptidos sintéticos que interactúan con los receptores Fc γ -Rezeptoren y receptores Fc γ solubles. así mismo se entienden dentro de ello tratamientos con sustancias activas que influyen en la expresión de receptores Fc γ , como tratamientos con citoquinas y proteína de fusión de citoquina, hormonas o derivados, esteroides, glucocorticoides y sustancias dopaminérgicas.
- 20 Por ejemplo, el desarrollo de estrategias de inoculación, utilizando el control dirigido de células dendríticas positivas del Fc γ -receptor, por ejemplo mediante el acoplamiento de vacunas de ADN con estructuras de IgG (Zhaoyang You et al., 2001, Cancer Research) ilustra el rango de usos posibles que se abren mediante Fc-receptores y agentes que se enlazan a los mismos.
- 25 Sacando las moléculas que interactúan con los Fc γ -receptores en la sangre, hay menos competencia por los sitios de enlace para un ingrediente activo que enlaza Fc γ -R, administrado a continuación, de modo que las sustancias activas que enlazan Fc γ -R ahora pueden enlazarse de manera preferida.
- Después del tratamiento con anticuerpos terapéuticos o con sustancias activas que enlazan Fc γ -receptores, o después de la terapia de combinación, los anticuerpos autólogos también pueden retornarse al paciente, por ejemplo a continuación de la administración de los agentes que enlazan Fc-R.
- 30 El retiro temporal de anticuerpos humanos anti-especies tales como, por ejemplo, HAMA y HARA así como de anticuerpos de IgG en general es seguro para el paciente y no eleva el riesgo de infecciones.
- De acuerdo con la invención, la muestra de sangre puede ser sangre humana o plasma sanguíneo. El plasma en este caso puede obtenerse en una etapa antepuesta, por ejemplo mediante filtración de plasma o separación de células mediante centrifugado de la sangre.
- 35 De esta manera, por ejemplo la sangre del paciente o el plasma también puede hacerse pasar en un paso extracorporal por un adsorbente que enlaza agentes que enlazan Fc γ , principalmente anticuerpos. La sangre o el plasma pueden retornarse al paciente.
- Por el término "ligandos específicos" se entienden aquellos ligandos que retiran selectivamente anticuerpos de la sangre aunque no los otros componentes de la sangre.
- 40 Como ligando específico puede usarse, por ejemplo, la proteína A o moléculas que son equivalentes en su acción a los Fc γ -receptores, fragmentos de las mismas, péptidos artificiales, proteínas, etc. Otros ejemplos se indican a continuación.
- La matriz de la columna usada para la inmunoaféresis se compone en este caso de Sefarosa y compuestos acrílicos tal como se describe, por ejemplo, en la EP 222 146 B1.
- Antes de aplicar el ligando, la matriz se activa preferiblemente con CN-Br o compuestos con efecto similar.
- 45 Como ligandos se usan preferiblemente la proteína A, proteína G, péptidos o anti-anticuerpos. Además, como ligandos también se consideran receptores FcR, fragmentos de los mismos o moléculas naturales o sintéticas equivalentes con propiedades de enlace equivalentes.
- En otra forma preferida de realización de la invención, la remoción extracorporal de anticuerpos humanos anti-especies y de anticuerpos de IgG puede lograrse mediante un sistema de combinación, que se compone de un

dispositivo para generación de plasma sanguíneo y un segundo dispositivo en el cual el plasma se hace pasar sobre una columna adsorbente. Esta columna adsorbente funciona en teoría como una columna de cromatografía.

5 La columna adsorbente se compone normalmente de una carcasa plástica biocompatible y contiene 20 a 1500 ml de una matriz inerte sobre la cual están inmovilizados ligandos específicos con una afinidad por anticuerpos humanos anti-especies, por ejemplo, tales como HAMA, HARA y IgG1 humana.

Si el plasma se hace pasar sobre la columna adsorbente, los anticuerpos humanos anti-especies y los anticuerpos IgG1 de la sangre del paciente se enlazan por estos ligandos y se eliminan por lo tanto del plasma.

Sistemas y materiales de este tipo son conocidos, por ejemplo, de la EP 0 082 345.

Las columnas adsorbentes son regenerables y pueden usarse repetidamente.

10 En un sistema típico de dos columnas, solamente una columna está en uso mientras que la segunda columna se regenera automáticamente. De esta manera la velocidad para la disminución de las especies que van a agotarse puede incrementarse en hasta 60% durante una única sesión de tratamiento.

De modo alternativo a esto, también pueden usarse columnas más grandes con más ligandos selectivos y una mayor capacidad de adsorción como columnas individuales.

15 Las terapias basadas en anticuerpos que están dirigidas contra antígenos solubles, asociados al cáncer y enlazados a la membrana celular, se encuentran en la actualidad en evaluación clínica. Tales antígenos asociados a cáncer incluyen, entre otros, CH125, PSA, MUC1, MAGE-1, HER2, CEA, AFP, EpCAM. El ligando específico usado posee una alta afinidad específica de enlace hacia el antígeno asociado a cáncer. Como ligandos principalmente pueden usarse anticuerpos específicos contra antígenos asociados a cáncer.

20 La adsorción específica de acuerdo con la invención de los antígenos solubles asociados a cáncer conduce a impedir que los anticuerpos terapéuticos o incluso péptidos formen complejos con los antígenos solubles libres. De esta manera se incrementa la concentración de sustancia activa en la estructura objetivo, el antígeno sobre la célula, y con esto también la efectividad. Además, con esto la citotoxicidad celular facilitada por anticuerpo (ADCC) puede habilitarse como respuesta inmune primaria, dirigida contra el tumor positivo a antígeno y por consiguiente
25 extremadamente eficiente. Además, la adsorción específica, por ejemplo de PSA, conduce a un refuerzo en la efectividad de receptores solubles de célula T que se enlazan específicamente a PSA.

La invención sigue explicándose por medio de un ejemplo no limitante con referencia a la figura 1.

Ejemplo 1:

Supresión de la inhibición de suero de ADCC facilitada por herceptina mediante absorción de IgG:

30 Estructura experimental:

1. Sembrado de células tumorales (Her-2/neu positiva SKOV-3 células de ovario) por una noche;
2. Aislamiento de PBMC (células de sangre mononucleares periféricas) de la capa leucocitaria (película de leucocitos);
3. Co-cultivo de PBMC y células tumorales con herceptina en presencia de IgG-agotada (Sa) y suero nativo (Sn);
- 35 4. Las concentraciones de herceptina son de 0,0001, 0,001, 0,01, 0,1, 1 y 10 mg/ml;
5. El tiempo de incubación fue de 20 horas;
6. La medición de citotoxicidad se efectuó por medio de XTT;

La figura 1 muestra que la citotoxicidad de la PBMC se suprime adicionando suero humano normal (curva PBMC + Sn). Después de adicionar plasma agotado de IgG (curva PBMC + Sa) queda la citotoxicidad de la PBMC. En el
40 rango inferior de la concentración de herceptina está se refuerza aún más.

REIVINDICACIONES

1. Uso de ligandos específicos para anticuerpos autólogos o para antígenos solubles asociados con cáncer, en muestras de sangre para la fabricación de una columna, que exhibe los ligandos unidos a ella, para el tratamiento de cáncer caracterizado porque el tratamiento comprende las etapas de:
- 5 a) preparación de una muestra de sangre de un paciente;
- b) someter la muestra de sangre a una inmunoféresis usando la columna así como administrar al paciente la muestra de sangre tratada de esta manera;
- c) administración al paciente un anticuerpo con eficacia terapéutica
- en cuyo caso la sustancia terapéuticamente activa está dirigida contra antígenos asociados al cáncer t.
- 10 2. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque como ligandos se usan proteína A, proteína G, péptidos y/o anticuerpos.
3. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque los antígenos asociados con cáncer son elegidos de entre el grupo que comprende CH125, PSA, MUC1, MAGE-1, HER2, CEA, AFP y EpCAM.
- 15 4. Uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 3, caracterizado porque los ligandos son anticuerpos específicos contra antígenos asociados a cáncer.
5. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque la matriz de la columna consiste en Sefarosa o compuestos de acrílo.
6. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque la matriz es activada antes de la aplicación del ligando con CN-Br.
- 20 7. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque como etapa d) adicional ocurre la administración de un medicamento.
8. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado porque el medicamento es un quimioterapéutico o citostático.
- 25 9. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado porque el medicamento se selecciona de un grupo que comprende paclitaxel, lenalidomida, pomalidomida, epirubicina, 5FU y sus derivados, e inhibidores de cinasa tales como sunitinib, lapatinib, canertinib, o combinaciones de diferentes medicamentos seleccionados del grupo que comprende CHOP, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisolona (esteroide), lenalidomidas/dexametasona, pomalidomida/dexametasona y paclitaxel/carboplatina.
- 30 10. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizado porque los anticuerpos sacados de la muestra de sangre en el paso b) se administran al paciente de nuevo a continuación del paso c).
11. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizado porque la muestra de sangre es sangre humana o plasma sanguíneo.
- 35 12. Ligandos específicos para anticuerpos autólogos o para antígenos solubles asociados con cáncer, en muestras de sangre, en el que los ligandos están unidos a una columna, para uso en el tratamiento de cáncer, en el que el tratamiento comprende las etapas de
- a) preparar una muestra de sangre de un paciente;
- b) someter la muestra de sangre a una inmunoféresis usando la columna, así como administrar al paciente la muestra de sangre tratada de esta manera;
- c) administrar al paciente un anticuerpo con eficacia terapéutica,
- 40 en la que el anticuerpo con eficacia terapéutica está dirigido contra antígenos asociados a cáncer.

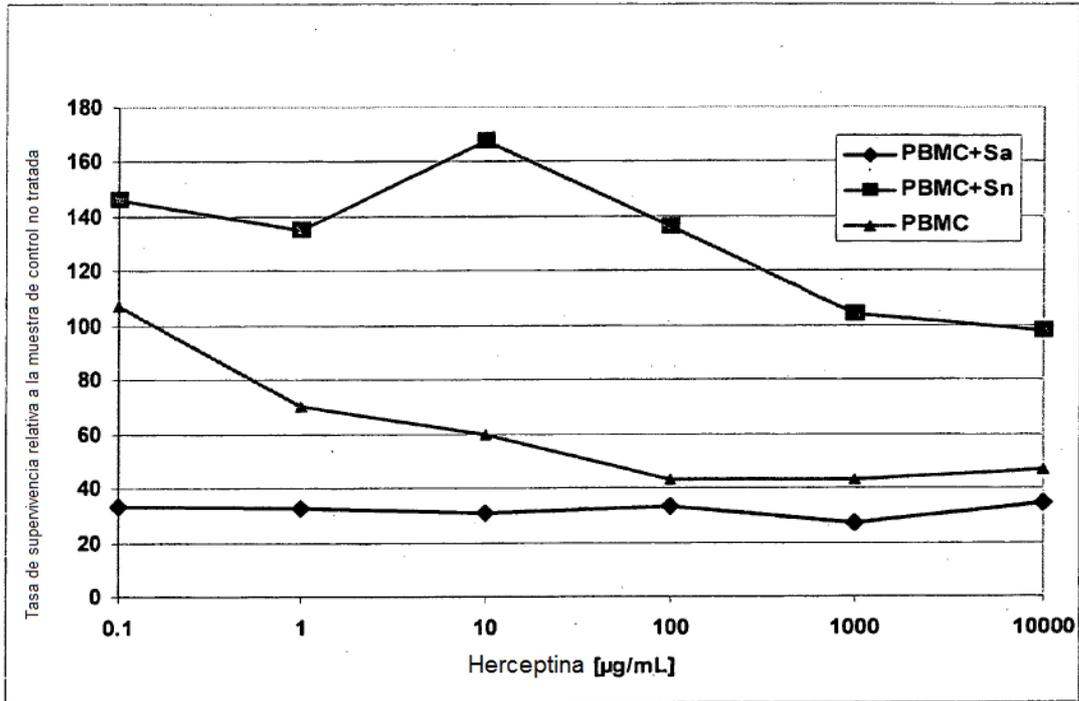


FIG. 1