

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 635 393**

51 Int. Cl.:

**C12N 15/113** (2010.01)

**G01N 33/574** (2006.01)

**C07K 14/705** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.03.2012 PCT/GB2012/000285**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.10.2012 WO12131301**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.03.2012 E 12713773 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.05.2017 EP 2691526**

54 Título: **Composiciones para uso en tratamiento y métodos para diagnóstico y monitorización del cáncer**

30 Prioridad:

**28.03.2011 GB 201105129**

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

**03.10.2017**

73 Titular/es:

**HOX THERAPEUTICS LIMITED (100.0%)  
The Lane House Skinners Lane  
Ashtead Surrey KT21 2NP, GB**

72 Inventor/es:

**MORGAN, RICHARD**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

**Observaciones :**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 635 393 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).

**Composiciones para uso en tratamiento y métodos para diagnóstico y monitorización del cáncer**

**Descripción**

5

**[0001]** La presente solicitud se refiere a composiciones y métodos para tratar, diagnosticar y controlar la enfermedad, por ejemplo el cáncer.

10

**[0002]** US 2010/233187 se refiere a productos de genes expresados diferencialmente en células cancerosas. El documento describe un fragmento de 540 nucleótidos del ácido nucleico definido por SEQ ID NO: 1.

15

**[0003]** WO2010/040571 se refiere a un método de un identificación de genoma de secuencias reguladoras de la expresión y el uso de genes y moléculas derivadas de los mismos para el diagnóstico y la terapia de enfermedades metabólicas y/o tumorales.

20

**[0004]** El documento WO 02/086069 se refiere a proteínas secretadas. El documento describe un polinucleótido de aproximadamente 1500 nucleótidos que es un fragmento de la secuencia de ácido nucleico identificada como SEQ ID NO: 1.

25

**[0005]** EP 1752536 se refiere a un polinucleótido que causa la interferencia de ARN y un método para regular la expresión de genes con el uso de la misma. El documento describe el uso de moléculas de ARNsi particulares identificadas como secuencias diana. Incluyen fragmentos cortos de 23 nucleótidos de SEQ ID NO: 1.

30

**[0006]** El cáncer es una de las enfermedades más prevalentes en el mundo, que afecta a millones de personas cada año. Se conocen muchos tipos de cáncer. Para la mayoría de los cánceres, los tratamientos efectivos no existen o sólo son efectivos en un pequeño número de pacientes.

RESUMEN DE LA INVENCION

35

**[0008]** TMEM92 (proteína transmembrana 92)(NM\_153229) es un gen previamente no caracterizado previsto para codificar un aminoácido 159 (17,2 kDa) proteína con un único dominio transmembrana (Figura 1).

40

**[0009]** Sorprendentemente, se ha encontrado que mientras que TMEM92 no se expresa en muchos tejidos adultos normales, y se expresa en solamente un nivel muy bajo en el hígado, colon, pulmón y útero, se expresa fuertemente en líneas celulares derivadas de Cáncer de próstata, cáncer de pulmón de células no pequeñas y cáncer de mama. Como resultado de la expresión diferencial de TMEM92, su expresión puede usarse como biomarcador, por ejemplo en relación con el cáncer.

45

**[0010]** Además, a través del uso de un ARNsi knock down de TMEM92 en células PC3 (derivada de un cáncer de próstata metastásico) y células WPMY-1 (una línea celular no maligno derivado de fibroblastos normales de la próstata), se ha demostrado en el presente documento que knock down de TMEM92 en PC3 causa una reducción significativa en la supervivencia celular en comparación con un control ARNsi, mientras que TMEM92 knock down en células WPMY-1 no causa la muerte celular.

50

**[0011]** Por consiguiente, en un aspecto de la presente invención, se proporciona una composición que comprende una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia que es complementaria a la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 1 o un fragmento o variante que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia de ácido nucleico con SEQ ID NO: 1, que inhibe la expresión del gen TMEM92, o un anticuerpo que es capaz de unirse a la proteína TMEM92 y que inhibe la función de la proteína TMEM92, para uso en el tratamiento del cáncer.

55

**[0012]** Preferiblemente, la secuencia de ácido nucleico es una secuencia de ácido nucleico aislada.

60

**[0013]** Preferiblemente, la molécula de ácido nucleico comprende ARN bicatenario.

**[0014]** Preferiblemente, la molécula de ácido nucleico comprende ARN interferente pequeño (ARNsi).

65

**[0015]** Preferiblemente, la molécula de ácido nucleico comprende además secuencias de ácido nucleico vector.

**[0016]** Preferiblemente, la molécula de ácido nucleico comprende además secuencias de ácido

nucleico que codifican un polipéptido heterólogo.

5 **[0017]** Preferiblemente, la molécula de ácido nucleico comprende un promotor TMEM92 sensible. Como tal, la molécula de ácido nucleico puede conducir selectivamente de forma selectiva la expresión génica en células que expresan TMEM92. Tales genes incluyen preferiblemente aquellos que codifican activadores pro-fármacos o permiten la replicación de un virus lítico.

10 **[0018]** Preferiblemente, la composición comprende una célula huésped que contiene la molécula de ácido nucleico.

**[0019]** La célula huésped puede ser una célula huésped de mamífero o una célula huésped no mamífera.

15 **[0020]** Preferiblemente, la secuencia de ácido nucleico se incorpora en un vector, por ejemplo un plásmido de ADN. Como tal, en algunas realizaciones de la presente invención, la composición comprende un vector, por ejemplo un plásmido de ADN.

20 **[0021]** Preferiblemente, la composición comprende un anticuerpo o fragmento del mismo que es capaz de unirse e inhibir la función de la proteína TMEM92.

**[0022]** Preferiblemente, el anticuerpo se une específicamente a la proteína TMEM92.

25 **[0023]** Preferiblemente, el anticuerpo se conjuga con un marcador detectable, por ejemplo un marcador o marcador fluorescente. Preferiblemente, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal. Preferiblemente, el anticuerpo se conjuga con un agente inhibidor del crecimiento. Preferiblemente, el anticuerpo se conjuga con un agente citotóxico, por ejemplo una toxina (por ejemplo, una inmunotoxina), un antibiótico, una enzima lítica o un isótopo radiactivo. También se describe una composición que comprende un antagonista de la función de la proteína TMEM92, por ejemplo un antagonista de molécula pequeña.

30 **[0024]** Preferiblemente, la composición es una composición farmacéutica.

35 **[0025]** Preferiblemente, el cáncer se selecciona entre cáncer de próstata, cáncer de pulmón de células no pequeñas y cáncer de mama. También se divulga un biomarcador, comprendiendo el biomarcador:-(i) una secuencia de ácido nucleico que comprende SEQ ID NO: 1, o un fragmento o variante que tiene al menos 95% de identidad de secuencia de ácido nucleico con SEQ ID NO: 1, o una molécula de ácido nucleico que comprende dicha secuencia de ácido nucleico; o (ii) una secuencia de aminoácidos que comprende SEQ ID NO: 2, o un fragmento o variante que tiene al menos 95% de identidad de secuencia de aminoácidos con SEQ ID NO: 2, o una molécula de aminoácido que comprende dicha secuencia de aminoácidos. La SEQ ID NO: 1 corresponde a la secuencia de ácido nucleico del gen TMEM92 del dominio transmembrana único ( GenBank número de referencia NM\_153229) y SEQ ID NO: 2 corresponde a la proteína TMEM92 codificada por el mismo ( NCBI número de acceso EAW94628, gi119615034).

45 **[0026]** Preferiblemente, el biomarcador es un biomarcador de cáncer, por ejemplo seleccionados de un biomarcador de cáncer de próstata, cáncer de biomarcador de pulmón no microcítico y biomarcadores de cáncer de mama.

50 **[0027]** Preferiblemente, el cáncer se selecciona de cáncer de próstata, cáncer de pulmón de células no pequeñas y cáncer de mama.

**[0028]** Preferiblemente, los fragmentos o variantes de los mismos son fragmentos funcionales o variantes de los mismos.

55 **[0029]** De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona un método para diagnosticar cáncer, en un paciente o para identificar un paciente en riesgo de desarrollar cáncer como se define en las reivindicaciones adjuntas.

60 **[0030]** En realizaciones preferidas de la invención, la cantidad del biomarcador en el control normal es indetectable.

**[0031]** De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona un método para monitorizar la progresión de cáncer, en un paciente, como se define en las reivindicaciones adjuntas.

65 **[0032]** Por consiguiente, los métodos de la presente invención se puede utilizar para detectar el inicio, progresión, estabilización, mejora y/o remisión de la enfermedad.

5 **[0033]** Preferiblemente, el control puede ser del mismo paciente de una muestra anterior, para controlar así la aparición o progresión. Sin embargo, también se prefiere que el control pueda normalizarse para una población, particularmente una población sana o normal, donde no hay enfermedad. En otras palabras, el control puede consistir en el nivel de un biomarcador encontrado en una muestra de control normal de un sujeto normal.

10 **[0034]** Por consiguiente, en un ejemplo de la presente invención, se proporciona un método de diagnóstico o monitorización de la progresión del cáncer, que comprende detectar y/o cuantificar el biomarcador en un fluido biológico obtenida de un paciente, opcionalmente en el que se selecciona el cáncer. Desde cáncer de próstata, cáncer de pulmón de células no pequeñas y cáncer de mama.

**[0035]** Como se discutió anteriormente, se prefiere que se proporcionan al menos dos pasos de detección y/o cuantificación, separados temporalmente.

15 **[0036]** Preferentemente, los pasos están separados por unos pocos días, semanas, años o meses, para determinar si los niveles de los biomarcadores han cambiado, lo que indica si ha habido un cambio en la progresión de la enfermedad, lo que permite comparaciones de entre un nivel del biomarcador en muestras tomadas en dos o más ocasiones, ya que un aumento en el nivel del biomarcador con el tiempo es indicativo de la aparición o progresión de la enfermedad, mientras que una disminución en el nivel del biomarcador puede indicar mejoría y/o remisión de la enfermedad.

20 **[0037]** Preferiblemente, la diferencia en el nivel del biomarcador es estadísticamente significativa, determinada mediante el uso de un "t-test" proporcionando intervalos de confianza de preferiblemente al menos aproximadamente 80%, preferiblemente al menos aproximadamente 85%, preferiblemente al menos aproximadamente 90%, Preferiblemente al menos aproximadamente 95%, preferiblemente al menos aproximadamente 99%, preferiblemente al menos aproximadamente 99,5%, preferiblemente al menos aproximadamente 99,95%, preferiblemente al menos aproximadamente 99,99%.

25 **[0038]** Los métodos de la invención son particularmente útiles en la detección de cáncer en etapa temprana y son más sensibles que los métodos conocidos para detectar el cáncer de etapa temprana. Por lo tanto, los métodos de la invención son particularmente útiles para confirmar el cáncer cuando un paciente ha resultado negativo para el cáncer usando métodos convencionales.

30 **[0039]** El pronóstico y la elección del tratamiento dependen de la etapa del cáncer y el estado general de salud del paciente.

35 **[0040]** Se conocen diferentes tipos de cáncer de próstata. El más común comienza en las células de la glándula prostática y se conoce como adenocarcinoma de próstata. Sin embargo, existen otras formas de cáncer de próstata, tales como, sarcomas, carcinomas de células pequeñas y carcinomas de células transicionales. Los métodos de la invención pueden usarse para detectar la aparición de cualquiera de estos tipos de cáncer, aunque se prefiere la detección de adenocarcinoma.

40 **[0041]** La progresión del cáncer es por lo general controlada por un proceso de estadificación. Esto indica el grado de desarrollo del cáncer y si se ha diseminado. La puntuación va de uno a cuatro, con el pronóstico empeorando progresivamente en cada etapa.

45 **[0042]** En relación con el cáncer de próstata, las etapas son las siguientes: -

50 Etapa 1: Las células malignas están confinadas a la próstata; No se han diseminado a los ganglios linfáticos u otros órganos; las puntuaciones de Gleason están entre dos y cuatro, y menos del cinco por ciento de la próstata se compone de crecimiento tumoral.

Etapa 2: Las puntuaciones de Gleason son cinco o más, o más del cinco por ciento de la glándula muestra un crecimiento anormal; El cáncer todavía está restringido a la próstata.

55 Etapa 3: Las células malignas se han diseminado a las vesículas seminales, pero no a los ganglios linfáticos u otros órganos.

Etapa 4: Los ganglios linfáticos, tejido pélvico o órganos más distantes se ven afectados.

**[0043]** En relación con el cáncer de pulmón de células no pequeñas, las etapas son las siguientes: -

60 Etapa 1: El cáncer está localizado dentro del pulmón y no se ha diseminado a ningún ganglio linfático. La etapa 1 se divide en la etapa 1A (tumores de 3 cm o menos de tamaño) y la etapa 1B (tumores mayores de 3 cm).

65 Etapa 2: El cáncer se ha diseminado a los ganglios linfáticos cercanos, o no se ha diseminado a los ganglios linfáticos, pero es grande, en una región determinada del bronquio principal, o en un lugar donde invade el revestimiento pulmonar. La etapa 2 se divide en la etapa 2A (un tumor de 3 cm o menos de tamaño con diseminación a los ganglios linfáticos) o la etapa 2B (tumores de 3 cm o más de tamaño con diseminación a los ganglios linfáticos o presentes en localizaciones como una región

de la región bronquios principales o que invaden el revestimiento pulmonar o la pared torácica).

Etapa 3: El cáncer se ha diseminado al tejido cerca de los pulmones. La etapa 3 se divide en la etapa 3A (tumores grandes con diseminación a ganglios linfáticos cercanos, o cualquier tumor de tamaño que se ha diseminado a los ganglios linfáticos más alejados del tumor) y la etapa 3B (tumor de cualquier tamaño que se ha diseminado a ganglios linfáticos distantes, un tumor que ha invadido otras estructuras en el tórax, como el corazón o el esófago, o un tumor con un derrame pleural maligno).

Etapa 4: El cáncer se ha diseminado a otra parte del cuerpo. Esto puede incluir la extensión a otro lóbulo del pulmón.

**[0044]** En relación con el cáncer de mama, las etapas son las siguientes: -

Etapa 1: El tumor mide menos de 2 cm. Los ganglios linfáticos en la axila no se ven afectados y no hay signos de que el cáncer se ha extendido a otra parte del cuerpo.

Etapa 2: El tumor mide entre 2 y 5 cm, o los ganglios linfáticos de la axila están afectados, o ambos. Sin embargo, no hay signos de que el cáncer se ha propagado aún más.

Etapa 3: El tumor es mayor de 5 cm y puede estar unido a estructuras circundantes como el músculo o la piel. Los ganglios linfáticos generalmente se ven afectados, pero no hay signos de que el cáncer se ha extendido más allá de la mama o las glándulas linfáticas en la axila.

Etapa 4: El tumor es de cualquier tamaño, pero los ganglios linfáticos se suelen afectar y el cáncer se ha diseminado a otras partes del cuerpo. Se trata de cáncer de mama secundario o metastásico.

**[0045]** Preferiblemente, los métodos de la invención detectan la aparición de cáncer antes de, o durante la primera etapa o etapa 2, más preferiblemente la etapa uno.

**[0046]** Se apreciará que el término "Etapa temprana" como se usa en la presente memoria se puede decir que se refieren a la etapa 1 y/o de la etapa 2, como se discutió anteriormente.

**[0047]** Con respecto al término "etapa tardía" como se usa en el presente documento, se apreciará que este término se puede decir que se refiere a la etapa 3 y/o a la etapa 4.

**[0048]** Se apreciará que la "fase temprana" y la naturaleza "etapa tardía" de los estados de enfermedad del cáncer se pueden determinar por un médico. También se prevé que puedan estar asociados con estados no metastásicos y metastásicos, respectivamente.

**[0049]** En un aspecto, se proporcionan métodos de acuerdo con la presente invención para la detección de cáncer en etapa temprana, en el que un aumento entre el control y la muestra obtenida del paciente es indicativo de cáncer en etapa temprana. Preferiblemente, el aumento es al menos aproximadamente 100%, preferiblemente al menos aproximadamente 125%, preferiblemente al menos aproximadamente 150%, preferiblemente al menos aproximadamente 200%, preferiblemente al menos aproximadamente 250%, preferiblemente al menos aproximadamente 300%, preferiblemente al menos aproximadamente 500%.

**[0050]** También se proporcionan métodos de acuerdo con la presente invención para detectar el cáncer de fase tardía el que un aumento entre el control y la muestra obtenida del paciente es indicativo de cáncer de etapa tardía. Preferiblemente, el aumento es al menos aproximadamente 100%, preferiblemente al menos aproximadamente 125%, preferiblemente al menos aproximadamente 150%, preferiblemente al menos aproximadamente 200%, preferiblemente al menos aproximadamente 250%, preferiblemente al menos aproximadamente 300%, preferiblemente al menos aproximadamente 500%, preferiblemente al menos aproximadamente 750%, preferiblemente al menos aproximadamente 1000%.

**[0051]** Se proporcionan además métodos de acuerdo con la presente invención para el seguimiento de la progresión del cáncer en un paciente como se define en las reivindicaciones adjuntas.

**[0052]** Preferiblemente, en los métodos de la presente invención, es posible distinguir entre diferentes tipos de cáncer por referencia a (i) diferentes niveles de aumento de la expresión del biomarcador en comparación con la de un control normal, y/o (ii) diferentes niveles de expresión del biomarcador.

**[0053]** Por ejemplo, como se muestra en la FIG. 4, el nivel de expresión para PC3 (cáncer de próstata) fue mayor que la de A549 (cáncer de pulmón de células no pequeñas) que era mayor que la de MDA-MB-231 (cáncer de mama).

**[0054]** También se proporciona por la presente invención es un método para monitorizar la eficacia de un tratamiento para el cáncer tal como se define en las reivindicaciones adjuntas.

**[0055]** Preferiblemente, en los métodos de la presente invención, la detección y/o cuantificación del

- biomarcador es por uno o más de MALDI-TOF, SELDI, a través de la interacción con un ligando o ligandos, 1-D o 2-D de gel de cromatografía líquida, cromatografía líquida combinada y técnicas de espectrometría de masas incluyendo ICAT (R) o iTRAQ (R), cromatografía de capa fina, espectroscopia de RMN, inmunoensayos en sandwich, ensayos de inmunoabsorción enzimática (ELI-SAs), radioinmunoensayos (RAI), Inmunoensayos enzimáticos (EIA), análisis de flujo lateral/tira
- 5 radioinmunoensayos (RAI), Inmunoensayos enzimáticos (EIA), análisis de flujo lateral/tira inmunocromatográfica, transferencia Western, inmunoprecipitación y inmunoensayos basados en partículas, incluyendo partículas de oro, plata o látex, partículas magnéticas o puntos Q e inmunohistoquímica en secciones de tejido.
- 10 **[0056]** Preferiblemente, la detección y/o cuantificación del biomarcador se realiza en una placa de microtitulación, formato de tira, matriz, o en un chip.
- [0057]** Preferiblemente, la detección y/o cuantificación del biomarcador es mediante un ELISA que comprende anticuerpos específicos para el biomarcador, preferiblemente vinculado a un reportero.
- 15 **[0058]** Preferiblemente, la detección y/o cuantificación del biomarcador se realiza mediante un biosensor.
- [0059]** Preferiblemente, la muestra comprende fluido biológico o tejido obtenido del paciente. Preferentemente, el agente biológico fluido o tejido comprende orina, células recogidas de orina, células tumorales circulantes, muestras de biopsia, semen, fluido de un lavado pulmonar, aspirado de pezón, fluido celular, esputo, sangre o saliva.
- 20 **[0060]** En formas de realización preferidas relacionadas con el cáncer de próstata, la muestra comprende orina, semen, sangre, células recogidas de orina, las células tumorales circulantes y/o muestras de biopsia de próstata obtenidas de un paciente. En algunas realizaciones, la muestra comprende fluido biológico o tejido obtenido a partir de la próstata de un paciente.
- 25 **[0061]** En realizaciones preferidas relacionadas con el cáncer de pulmón de células no pequeñas, la muestra comprende esputo, fluido de un lavado pulmonar, la sangre, las células tumorales circulantes y/o muestras de biopsia de pulmón obtenidas de un paciente. En algunas realizaciones, la muestra comprende fluido biológico o tejido obtenido del pulmón de un paciente.
- 30 **[0062]** En formas de realización preferidas relacionadas con el cáncer de mama, la muestra comprende aspirado de pezón (de una solución salina de lavado al interior pezón), sangre, células tumorales circulantes, y/o muestras de biopsia de tejido mamario. En algunas realizaciones, la muestra comprende fluido biológico o tejido obtenido de la mama de un paciente.
- 35 **[0063]** Por consiguiente, se apreciará que, en algunas realizaciones, el sitio en el cuerpo del paciente de donde se ha obtenido la muestra puede corresponder a un tipo particular de cáncer.
- 40 **[0064]** También se prefiere que el fluido biológico esté sustancialmente o completamente libre de células enteras/intactas. Preferiblemente, el fluido biológico está libre de plaquetas y desechos celulares (tales como los producidos por la lisis de células). Preferiblemente, el fluido biológico está libre de células tanto procariotas como eucariotas.
- 45 **[0065]** Tales muestras se pueden obtener mediante cualquier número de medios conocidos en la técnica, tal como será evidente para la persona experta. Por ejemplo, las muestras de orina son fácilmente alcanzables, mientras que las muestras de sangre o suero se pueden obtener parenteralmente usando una aguja y jeringa, por ejemplo. Se pueden obtener muestras libres de células o sustancialmente libres de células sometiendo la muestra a diversas técnicas conocidas por los expertos en la técnica que incluyen, pero no se limitan a, centrifugación y filtración.
- 50 **[0066]** Aunque en general se prefiere que no haya técnicas invasivas utilizadas para obtener la muestra, todavía puede ser preferible para obtener muestras tales como tejido homogeneizado, secciones de tejido y muestras de biopsia. También se describe aquí la composición en sí.
- 55 **[0067]** TMEM92 está presente en el exterior de la membrana celular y por lo tanto es un objetivo ideal en relación con una vacuna.
- 60 **[0068]** Preferiblemente, la vacuna es una vacuna contra el cáncer, por ejemplo seleccionada de una vacuna contra el cáncer de próstata, una vacuna no pequeña. Una vacuna contra el cáncer de pulmón celular y una vacuna contra el cáncer de mama.
- 65 **[0069]** Preferiblemente, los anticuerpos o fragmentos de los mismos descrita en este documento se unen específicamente a un biomarcador de la presente descripción.

**[0070]** En realizaciones preferidas, los métodos y composiciones de la invención son para el tratamiento o diagnóstico de la enfermedad en una etapa temprana, por ejemplo, antes de que aparezcan los síntomas de la enfermedad.

5 **[0071]** En algunas realizaciones, los métodos y composiciones de la invención son para el tratamiento o diagnóstico de la enfermedad en estadio clínico

10 **[0072]** Un kit para uso en los métodos o usos descritos anteriormente se describe en el presente documento. El kit comprende un ligando, por ejemplo un anticuerpo o fragmento del mismo como se describe en el presente documento, capaz de unirse o reconocer específicamente el biomarcador, detectable en un fluido corporal y medios informadores.

**[0073]** Preferiblemente, el kit es una matriz o chip.

15 **[0074]** Preferiblemente, el kit comprende una placa de microtitulación, tira de prueba, matriz o chip.

**[0075]** Preferiblemente, el kit comprende instrucciones para el uso de acuerdo con los métodos, usos y/o composiciones de la presente invención.

20 DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

**[0076]** Formas de realización ejemplo de la presente invención se describirán ahora con referencia a las figuras adjuntas.

25 Figura 1 muestra una representación esquemática de los dominios extracelular y citoplásmico de TMEM92;

Figura 2 muestra la secuencia de ácido nucleico de TMEM92 (SEQ ID NO: 1);

Figura 3 muestra la secuencia de aminoácidos de TMEM92 (SEQ ID NO: 2);

30 Figura 4 muestra la expresión de TMEM92 en las líneas celulares derivadas de cáncer PC3, A549 y MDA-MB-231, junto con tejidos adultos normales. La expresión se muestra en relación con el gen GAPDH (relación x 10.000);

Figura 5 muestra ARNsi knock down de TMEM92 en células PC3 y WPMY-1. "Con siR" = ARNsi de control (no específico), "TMEM92 siR" = ARNsi específico de TMEM92. \*\* p <0,01 para la supervivencia celular en TMEM92 tratados con ARNsi PC3 v WPMY-1 Células; y

35 Figura 6 muestra datos de expresión para otros tres TMEMs.

Figura 7 muestra que la proteína TMEM92 está presente en células PC3 pero no en células WPMY-1. Microscopía fluorescente utilizando un anticuerpo anti-TMEM92 (verde). (A) células PC3 (tinción nuclear, citoplásmica y de membrana evidente), (B) células WPMY-1 (sin tinción). Los núcleos se tiñen con DAPI (azul). Barra de escala: 50 µm

40 Figura 8 muestra la proteína TMEM92 en células PC3. Microscopía fluorescente utilizando un anticuerpo anti-TMEM92 (verde). (A) las células se hacen permeables por exposición al detergente. El núcleo se tiñe con DAPI (azul). (B) Célula no permeable para mostrar la expresión superficial de TMEM-92. Barra de escala: 5 µm.

45 **[0077]** La invención proporciona una composición como se define en las reivindicaciones adjuntas para su uso en el tratamiento del cáncer. Preferiblemente, el cáncer se selecciona de cáncer de próstata, cáncer de pulmón de células no pequeñas y cáncer de mama.

50 **[0078]** La invención también proporciona métodos que utilizan un biomarcador como se define en las reivindicaciones adjuntas.

**[0079]** TMEM92 es una nueva proteína de superficie celular que se expresa diferencialmente en cáncer en oposición al tejido normal.

55 Los datos proporcionados aquí muestran que podrían usarse como un marcador de cáncer, por ejemplo en secciones de tejido o cuando están presentes en ciertos fluidos corporales, y como un objetivo en cáncer, por ejemplo usando un anticuerpo que lo reconoce o bloqueando su actividad a través, por ejemplo, de un fármaco de molécula pequeña.

60 **[0080]** Dentro de esta memoria, el término "aproximadamente" significa más o menos 20%, más preferiblemente de más o menos 10%, incluso más preferiblemente de más o menos 5%, más preferiblemente de más o menos 2%.

65 **[0081]** Tal como se utiliza aquí, el término "cantidad terapéuticamente eficaz" significa la cantidad de una composición que se requiere para reducir la gravedad de y/o mejorar al menos una condición o síntoma que resulta de la enfermedad en cuestión.

**[0082]** Dentro de este realizaciones de especificación se han descrito de una manera que permite una

especificación clara y concisa a ser escrito, sino que se pretende y se apreciará que las realizaciones pueden combinarse o separarse sin alejarse de la invención de diversas maneras.

5 **[0083]** Para el uso clínico, un compuesto de acuerdo con la presente invención o forma de profármaco de la misma se formula en una formulación farmacéutica que se formula para que sea compatible con su vía de administración pretendida, por ejemplo para administración oral, rectal, parenteral u otros modos de administración. Las formulaciones farmacéuticas se preparan habitualmente mezclando la sustancia activa con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable convencional. Como se usa aquí, el término "vehículo farmacéuticamente aceptable" pretende incluir cualquier y todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardadores de la absorción y similares, compatibles con la administración farmacéutica. Ejemplos de diluyentes o portadores farmacéuticamente aceptables son agua, gelatina, goma arábiga, lactosa, celulosa microcristalina, almidón, glicolato de almidón sódico, fosfato de calcio, estearato de magnesio, talco, dióxido de silicio coloidal y similares. El uso de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el compuesto activo, se contempla su uso en las composiciones.

20 **[0084]** Tales formulaciones también pueden contener otros agentes farmacológicamente activos, y aditivos convencionales, tales como estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, agentes aromatizantes, tampones, y similares.

25 **[0085]** Las formulaciones se pueden preparar adicionalmente por métodos conocidos tal como granulación, compresión, microencapsulación, recubrimiento por pulverización, etc. Las formulaciones se pueden preparar por métodos convencionales en la forma de dosificación de comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos, jarabes, suspensiones, supositorios o inyecciones. Las formulaciones líquidas pueden prepararse disolviendo o suspendiendo la sustancia activa en agua u otros vehículos adecuados. Los comprimidos y gránulos pueden revestirse de una manera convencional.

30 **[0086]** Las soluciones o suspensiones usadas para aplicación parenteral, intradérmica, o subcutánea pueden incluir los siguientes componentes: un diluyente estéril tal como agua para inyección, solución salina, aceites fijos, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes sintéticos; Agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metiloparabenos; Antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito sódico; Agentes quelantes tales como ácido etilendiaminotetraacético; Tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro sódico o dextrosa. El pH se puede ajustar con ácidos o bases, tales como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio. La preparación parenteral puede encerrarse en ampollas, jeringas desechables o viales de dosis múltiples hechos de vidrio o plástico.

40 **[0087]** Las composiciones farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones acuosas estériles (solubles en agua) o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. Para la administración intravenosa, los vehículos adecuados incluyen solución salina fisiológica, agua bacteriostática, Cremophor ELTM (BASF, Parsippany, NJ) o solución salina tamponada con fosfato (PBS). En todos los casos, la composición debe ser estéril y debe ser fluida en la medida en que exista una facilidad de inyección. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe preservarse contra la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. El vehículo puede ser un disolvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido y similares), y mezclLas adecuadas de los mismos. La fluidez adecuada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y por el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de los microorganismos puede lograrse mediante diversos métodos antibacterianos y agentes antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol, cloruro sódico en la composición. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede llevarse a cabo incluyendo en la composición un agente que retrasa la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

60 **[0088]** Las soluciones inyectables estériles se pueden preparar incorporando el compuesto activo (por ejemplo, un compuesto de acuerdo con una realización de la invención) en la cantidad requerida en un disolvente apropiado con uno o una combinación de ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido por esterilización filtrada. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación preferidos son secado al vacío y liofilización que produce un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente adicional deseado a partir de una solución filtrada previamente esterilizada de los mismos.



**[0089]** Las composiciones orales generalmente incluyen un diluyente inerte o un vehículo comestible. Pueden encerrarse en cápsulas de gelatina o comprimirse en tabletas. Para el propósito de administración terapéutica oral, el compuesto activo puede incorporarse con excipientes y utilizarse en forma de tabletas, trociscos o cápsulas. las composiciones orales pueden prepararse también utilizando un vehículo fluido para su uso como enjuague bucal, en el que el compuesto en el vehículo fluido se aplica oralmente y se emborracha y se expectora o se ingiere. Pueden incluirse como parte de la composición agentes aglutinantes farmacéuticamente compatibles, y/o materiales adyuvantes. Los comprimidos, pastillas, cápsulas, trociscos y similares pueden contener cualquiera de los siguientes ingredientes, o compuestos de naturaleza similar: un aglutinante tal como celulosa microcristalina, goma de tragacanto o gelatina; Un excipiente tal como almidón o lactosa, un agente desintegrante tal como ácido alginico, Primogel o almidón de maíz; Un lubricante tal como estearato de magnesio o Sterotes; Un deslizante tal como dióxido de silicio coloidal; Un agente edulcorante tal como sacarosa o sacarina; o un agente aromatizante tal como menta, salicilato de metilo o aroma de naranja.

**[0090]** Para la administración por inhalación, los compuestos se suministran en forma de una pulverización de aerosol desde un recipiente o dispensador presurizado que contiene un propulsor adecuado, por ejemplo, un gas tal como dióxido de carbono, o un nebulizador.

**[0091]** La administración sistémica también puede ser por vía transmucosa o transdérmica. Para la administración transmucosa o transdérmica, se utilizan en la formulación penetrantes apropiados para la barrera a permear. Tales penetrantes son generalmente conocidos en la técnica, e incluyen, por ejemplo, para administración transmucosa, detergentes, sales biliares y derivados de ácido fusídico. La administración transmucosal puede lograrse mediante el uso de aerosoles nasales o supositorios. Para la administración transdérmica, los compuestos activos se formulan en ungüentos, geles o cremas como se conoce generalmente en la técnica.

**[0092]** Los compuestos también se pueden preparar en forma de supositorios (por ejemplo, con bases de supositorio convencionales tales como manteca de cacao y otros glicéridos) o enemas de retención para la administración rectal.

**[0093]** Preferiblemente, los compuestos activos se preparan con vehículos que protegerán el compuesto frente a la eliminación rápida del cuerpo, tal como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes y sistemas de suministro microencapsulados. Pueden usarse polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como etileno-acetato de vinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Los métodos para la preparación de tales formulaciones serán evidentes para los expertos en la técnica. Los materiales también pueden obtenerse comercialmente de Alza Corporation y Nova Pharmaceuticals Ceuticals, Inc. Las suspensiones liposomales (incluyendo liposomas dirigidos a células infectadas con anticuerpos monoclonales para antígenos virales) también se pueden utilizar como vehículos farmacéuticamente aceptables. Estos se pueden preparar de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en la técnica.

**[0094]** Es especialmente ventajoso formular composiciones orales o parenterales en forma unitaria de dosificación para facilidad de administración y uniformidad de dosificación. La forma unitaria de dosificación como se usa en el presente documento se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para el sujeto a tratar; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. La especificación para las formas unitarias de dosificación de la invención están dictadas por y dependen directamente de las características únicas del compuesto activo y el efecto terapéutico particular a conseguir, y las limitaciones inherentes en la técnica de componer tal compuesto activo para el tratamiento de los individuos.

**[0095]** La toxicidad y eficacia terapéutica de dichos compuestos puede determinarse mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales experimentales, por ejemplo, para determinar la LD50 (la dosis letal para el 50% de la población) y la ED50 (la dosis terapéuticamente eficaz en el 50% de la población). La relación de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y puede expresarse como la relación LD50/ED50. Se prefieren compuestos que muestran grandes índices terapéuticos. Aunque se pueden usar compuestos que muestran efectos secundarios tóxicos, debe tenerse cuidado para diseñar un sistema de administración que dirija dichos compuestos al sitio del tejido afectado con el fin de minimizar el daño potencial a las células no infectadas y, de ese modo, reducir los efectos secundarios.

**[0096]** Los datos obtenidos de los ensayos de cultivo celular y estudios animales pueden usarse para formular un intervalo de dosificación para uso en seres humanos. La dosificación de tales compuestos se encuentra preferiblemente dentro de un intervalo de concentraciones circulantes que incluyen la DE50 con poca o ninguna toxicidad. La dosificación puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y la vía de administración utilizada. Para cualquier compuesto

usado en el método de la invención, la dosis terapéuticamente eficaz se puede estimar inicialmente a partir de ensayos de cultivo celular. Una dosis puede formularse en modelos animales para lograr un intervalo de concentración circulante en plasma que incluye el IC50 (es decir, la concentración del compuesto de ensayo que logra una inhibición semimáxima de los síntomas) como se determina en cultivo celular. Tal información se puede usar para determinar con mayor precisión las dosis útiles en seres humanos. Los niveles en plasma se pueden medir, por ejemplo, por cromatografía líquida de alto rendimiento.

**[0097]** Las composiciones farmacéuticas pueden incluirse en un recipiente, paquete, o dispensador junto con instrucciones para la administración.

**[0098]** Dentro de esta memoria descriptiva, "identidad", como se conoce en la técnica, es una relación entre dos o más secuencias de polipéptidos o dos o más secuencias de polinucleótidos, como se determina comparando las secuencias. En la técnica, "identidad" también significa el grado de relación de secuencia entre secuencias de polipéptidos o polinucleótidos, como puede ser el caso, como se determina por la coincidencia entre cadenas de tales secuencias. El porcentaje de identidad se puede calcular fácilmente mediante procedimientos conocidos, incluyendo pero no limitado a los descritos en Computational Molecular Biology, Lesk, AM, ed, Oxford University Press, Nueva York, 1988.; Biocomputación: Informática y Proyectos del Genoma, Smith, DW, ed, Academic Press, Nueva York, 1993;. El análisis por ordenador de la Sequence Data, Parte I, Griffin, AM, y Griffin, HG, eds, Humana Press, Nueva Jersey., 1994; Análisis de Secuencias en Biología Molecular, von Heinje, G., Academic Press, 1987; y Secuencia Analysis Primer, Gribskov, M. y Devereux, J., eds, M Stockton Press, Nueva York., 1991;. y Carillo, H., y Lipman, D., SIAM J. Applied Math, 48: 1073 (1988). Los métodos preferidos para determinar la identidad están diseñados para dar la mayor coincidencia entre las secuencias ensayadas. Los métodos para determinar la identidad están codificados en programas informáticos disponibles públicamente. Los métodos de programas informáticos preferidos para determinar la identidad porcentual entre dos secuencias incluyen, pero no se limitan a, el paquete de programas GCG (Devereux, J., et al, Nucleic Acids Research 12 (1): 387 (1984)), BLASTP, BLASTN, y FASTA (Atschul, SF et al, J. Molec Biol. 215: 403-410 (1990)). El programa BLAST X está disponible públicamente de NCBI y otras fuentes (BLAST Manual, Altschul, S., et al, NCBI.nlm.nih.gov Bethesda, Md 20894; Altschul, S., et al, J. Mol Biol 215 : 403-410 (1990)). Como una ilustración, por un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos que tiene al menos, por ejemplo, 95% "identidad" a una secuencia de nucleótidos de referencia de "SEQ ID NO: A" se pretende que la secuencia de nucleótidos del polinucleótido es idéntica a la secuencia de referencia excepto que la secuencia de polinucleótido puede incluir hasta cinco mutaciones puntuales por cada 100 nucleótidos de la secuencia de nucleótidos de referencia de "SEQ ID NO: A." En otras palabras, para obtener un polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos al menos 95% idéntica a una secuencia de nucleótidos de referencia, hasta puede ser eliminado o sustituido por otro nucleótido, o un número de nucleótidos hasta el 5% de los nucleótidos en la secuencia de referencia 5% de los nucleótidos totales en la secuencia de referencia puede insertarse en la secuencia de referencia. Estas mutaciones de la secuencia de referencia pueden producirse en los extremos 5' o 3' terminales de la secuencia de nucleótidos de referencia o en cualquier lugar entre esas posiciones terminales, intercaladas individualmente entre los nucleótidos en la secuencia de referencia o en uno o más grupos contiguos dentro de la secuencia de referencia. Análogamente, por un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos que tiene al menos, por ejemplo, 95% de identidad con una secuencia de aminoácidos de referencia de "SEQ ID NO: B" se pretende que la secuencia de aminoácidos del polipéptido es idéntica a la secuencia de referencia excepto que la secuencia del polipéptido puede incluir hasta cinco alteraciones de aminoácidos por cada 100 aminoácidos de la referencia de aminoácidos de "SEQ ID NO: B." En otras palabras, para obtener un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos al menos 95% idéntica a una secuencia de aminoácidos de referencia, hasta 5% de los residuos de aminoácidos en la secuencia de referencia puede ser eliminado o sustituido con otro aminoácido, o un número de aminoácidos hasta 5% de los residuos de aminoácidos totales en la secuencia de referencia puede insertarse en la secuencia de referencia. Estas alteraciones de la secuencia de referencia pueden producirse en las posiciones amino o carboxi terminales de la secuencia de aminoácidos de referencia o en cualquier lugar entre esas posiciones terminales, intercaladas bien individualmente entre residuos en la secuencia de referencia o en uno o más grupos contiguos dentro de la secuencia de referencia.

**[0099]** Tal como se utiliza aquí, el término "se hibrida bajo condiciones rigurosas" pretende describir condiciones para hibridación y lavado bajo las cuales secuencias de nucleótidos codifican un receptor por lo menos 50% homólogas entre sí permanecen típicamente hibridadas entre sí. Las condiciones pueden ser tales que las secuencias al menos aproximadamente 65%, al menos aproximadamente 70%, o al menos aproximadamente 75% o más homólogas entre sí permanecen típicamente hibridadas entre sí. Tales condiciones rigurosas son conocidas por los expertos en la técnica y pueden encontrarse en Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1989), 6. 3.1-6.3.6. Un ejemplo de condiciones de hibridación rigurosas son hibridación en 6X cloruro sódico/citrato de sodio (SSC) a aproximadamente 45°C, seguido de uno o más lavados en 0,2 X SSC, 0,1% SDS a 50-65°C. En una

realización, una molécula de ácido nucleico aislada receptor que se hibrida en condiciones rigurosas con la secuencia de SEQ ID NO: 1 corresponde a una molécula de ácido nucleico de origen natural. Como se usa en este documento, un "de origen natural" molécula de ácido nucleico se refiere a una molécula de ARN o ADN que tiene una secuencia de nucleótidos que se produce en la naturaleza (por ejemplo, codifica una proteína natural).

**[0100]** Dentro de esta memoria, "anticuerpo o fragmento de anticuerpo" se refiere a un anticuerpo (por ejemplo IgG, IgM, IgA, IgD o IgE) o fragmento (tal como un Fab, F(ab')<sub>2</sub>, Fv, disulfuro vinculado Fv, scFv, conformación cerrada anticuerpo multiespecífico, unido por disulfuro scFv, diacuerpo) si derivar de cualquier especie que produce naturalmente un anticuerpo, o crearse por tecnología de ADN recombinante; si aislado de suero, células B, hibridomas, transfectomas, levadura o bacterias.

**[0101]** Dentro de esta memoria, el término "tratamiento" significa el tratamiento de una enfermedad existente y/o el tratamiento profiláctico con el fin de evitar la incidencia de una enfermedad. Como tal, los métodos de la invención se pueden usar para el tratamiento, prevención, inhibición de la progresión o el retraso en la aparición de la enfermedad.

**[0102]** El término "biomarcador" se utiliza en toda la técnica y significa un indicador biológico o derivado biológicamente distintivo de un proceso, evento o condición. En otras palabras, un biomarcador es indicativo de un determinado estado biológico, tal como la presencia de tejido canceroso. En algunos casos, las diferentes formas de biomarcadores pueden ser indicativos de ciertos estados de enfermedad pero, sin estar limitado por la teoría, se cree que simplemente la presencia de niveles elevados de los biomarcadores descritos en los fluidos o tejidos corporales es indicativo de cáncer. Aunque no se prevé actualmente que las diferentes glicofomas, por ejemplo, del péptido TMEM92, se secretan, estos son, sin embargo, abarcados por la presente divulgación. Por ejemplo, diferentes glicofomas, como la estructura glicofoma alterada o contenido de azúcar, sin embargo, se pueden determinar para TMEM92, pero éstos están abarcados y pueden incluso ser también indicativo del progreso de cáncer. Los truncamientos, mutaciones, o deleciones de, o ligamientos a, el péptido TMEM92, o fragmento de la misma, también están previstas.

**[0103]** Como se discutió anteriormente, se ha encontrado sorprendentemente que existe un aumento significativo en la expresión del gen TMEM92 en muestras de cáncer derivado comparación con las muestras normales. En muchos casos, mientras que hay expresión en muestras de cáncer derivada, no hay expresión en absoluto en las muestras normales correspondientes. Por tanto, los biomarcadores descritos pueden dice que son biomarcadores específicos de cáncer.

**[0104]** Los resultados obtenidos para TMEM92 (Figura 4) son especialmente sorprendente cuando se compara con los resultados obtenidos con otros genes TMEM (Figura 6).

**[0105]** Es otra ventaja de la presente invención que un diagnóstico preciso puede ser proporcionado sin recurrir a procedimientos invasivos desagradables y potencialmente dañinos, los cuales también pueden ser inexactos. Además, la presente invención es particularmente sensible. Preferiblemente, los métodos de la presente invención pueden detectar la aparición de cáncer antes de cualquier otro método de detección y antes de la aparición de los síntomas manifiestos de cáncer. Por lo tanto, el cáncer puede ser tratado en una etapa temprana, cuando es más susceptible a dicho tratamiento y menos probable que hayan entrado en la fase metastásica.

**[0106]** Los biomarcadores descritos se pueden utilizar en métodos de diagnóstico, para la detección clínica ejemplar, y en los métodos de evaluación de pronóstico, seguimiento de los resultados de la terapia, la identificación de pacientes con más probabilidades de responder a un tratamiento terapéutico particular, la selección de fármacos y el desarrollo. Además, los biomarcadores descritos y usos de los mismos son valiosos para la identificación de nuevos tratamientos con fármacos y para el descubrimiento de nuevas dianas para el tratamiento de drogas.

**[0107]** El término "diagnóstico" abarca la identificación, confirmación, y o caracterización de la presencia o ausencia de enfermedad, por ejemplo el cáncer, junto con la etapa de desarrollo de los mismos, tales como fase temprana o fase tardía, o el cáncer benigno o metastásico.

## EJEMPLOS

**[0108]** TMEM92 (NM\_153229) es un gen previamente no caracterizado previsto para codificar un aminoácido 159 (17,2 kDa) proteína con un único dominio transmembrana (Figura 1). Nuestros datos muestran que no se expresa en muchos tejidos adultos normales, y se expresa solamente un nivel muy bajo en el hígado, colon, pulmón y útero (Figura 4). Sin embargo, se expresa fuertemente en el PC3 líneas celulares de cáncer derivado (cáncer de próstata), A549 (células no pequeñas de cáncer de pulmón), y MDA-MB-231 (cáncer de mama).

**[0109]** Esta expresión diferencial indica que TMEM92 podría ser una diana potencial en el cáncer. Para explorar esta posibilidad adicional, se utilizó un ARNsi knock out de TMEM92 en células PC3 (derivada de un cáncer de próstata metastásico), y WPMY- 1 células (una línea celular no maligna derivada de fibroblastos normales de la próstata). El ARNsi utilizado tenía la siguiente secuencia:

5

Delantero: 5' GCUUCAGGCCUGAAGAAUA 3' (SEQ ID NO: 3), y  
Trasero: 5' UAUUCUUCAGGCCUGAAGC 3' (SEQ ID NO: 4).

**[0110]** Knock out de TMEM92 en PC3 causó una reducción significativa en la supervivencia celular en comparación con un ARNsi de control (Figura 5), mientras que TMEM92 knock down en células WPMY-1 no causa la muerte celular.

**[0111]** Estos resultados indican que TMEM92 podría ser una diana terapéutica útil en el cáncer, por ejemplo a través de (i) derribar del gen TMEM92 por ARNsi, como se describió anteriormente, (ii) la unión del anticuerpo a la proteína TMEM92 para bloquear su función y/o las células diana para eliminación inmunomediada, y (iii) un antagonista de molécula pequeña de la función TMEM92.

**[0112]** Además, la expresión diferencial de TMEM92 indica que podría ser útil como un biomarcador para el cáncer.

20

**[0113]** TMEM92 no ha sido previamente demostrado que está presente en las células cancerosas. Además, la capacidad de matar el cáncer las células mediante el bloqueo de TMEM92 hace que sea un objetivo muy importante.

**[0114]** A pesar de ser muchos enfoques terapéuticos y de diagnóstico para el cáncer, ninguno es perfecto y muchos de ellos son de valor limitado. las pruebas de diagnóstico a menudo dan resultados positivos falsos o negativos, y la terapéutica pueden llegar a ser ineficaces debido a la resistencia innata o desarrollada de las células cancerosas. La alta expresión de TMEM92 en el cáncer junto con su papel en la supervivencia de las células cancerosas (mostrado por derribar los estudios que se requieren para la supervivencia de las células cancerosas) indican que se podría hacer una contribución útil a ambos diagnósticos y orientación.

**[0115]** Se repitieron los resultados obtenidos para TMEM92 para otros tres TMEMs. Los datos de expresión obtenidos (Figura 6) para los otros tres TMEMs muestran que estos TMEMs se expresan más altamente en tejidos adultos normales que en el cáncer, siendo esto exactamente lo contrario de los resultados obtenidos para TMEM92. De acuerdo con ello, esto proporciona una prueba más de la naturaleza sorprendente de los resultados presentados en este documento para TMEM92.

**[0116]** Como se muestra en las FIGS. 7 y 8, las células de cáncer de próstata expresan niveles elevados de proteína TMEM92, en contraste con WPMY-1, una línea celular no maligno derivado de las células epiteliales de próstata normales (Fig 7). TMEM92 está presente en el núcleo, citoplasma y membrana (Fig 8), y es secretada por las células en el medio de cultivo. Además, la proteína TMEM92 puede ser detectada en la orina de los hombres con cáncer de próstata, pero no está presente en controles emparejados de edad, lo que indica que podría ser utilizado como un biomarcador para esta enfermedad.

45

#### LISTADO DE SECUENCIAS

**[0117]**

50

<110> Universidad de Surrey

<120> composiciones y métodos para el tratamiento, el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad

55

<130> P170469L WO

<160> 2

60

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 2747

<212> ADN

65

<213> Homo sapiens

<400> 1

ES 2 635 393 T3

60 ataggtggag agaagtggga gaggtcgag ccccgcttc tctacacagg aaagctcagt  
 120 ggccccaag ccaggatgtc ccaagcttgg gtccccggcc tcgccccac cttgctgttc  
 180 agcctgctgg ctggcccca aaagattgca gccaaatgtg gtctcatcct tgcctgcccc  
 240 aaaggattca aatgctgtgg tgacagctgc tgccaggaga acgagctctt ccctgcccc  
 300 gtgaggatct tcgtcatcat cttcctggtc atcctgtccg tcttttgcac ctgtggcctg  
 360 gctaagtgtc tctgtcgcaa ctgcagagag ccggagccag acagcccagt ggattgccgg  
 420 gggcccctgg aactgccctc catcatcccc ccagagaggg tcagagtatc cttttctgcy  
 480 cccccacccc cctacagtga ggtgattctg aagcccagcc tgggccaac tcccacagag  
 540 ccaccccctc cctacagctt caggcctgaa gaatataccg gggatcagag gggcattgac  
 600 aaccggcct tctgagtcac ctctgctg gaatcttgcc atcagcaacc tcctccccag  
 660 tgcctcctgg atcaagctag agactgctgg caccagga atgtccctgc ccatcctgcc  
 720 gtgtctctgt tcattcttgg atttaactta ttactttttc tgcttctgtt tccaccccag  
 780 ctgcctctct tgtcctgagg gttaggctgg agtgacagt tccgcccacc cccagccca  
 840 agaaagaggc tgccggaag aaaatgctga ccattggagg tgccaacag tagaatgggc  
 900 tactgtgagg ggtagtaaga gccccatttc tggaggatg caaatcttga ctggacagcc  
 960 agctctgaga ttttatcagg gcacttctat acctgtggga cattggactg gatgagccct

ES 2 635 393 T3

1020 gagccagctt ccactcctac ctgaatagag aactcactgc acccaccac aacacatgat  
 1080 aaacacatgt cctcactgaa tgttactgat tgcggctgag ggcctgcctc tggctgtgtg  
 1140 gggaggtggg tggagaggtg agcccaggca ctgctgaggg gtgctggtgat ggggtcgtg  
 1200 cgccgcaatc ccaccactga tgagccacct gggaggtctg ggaggacagt ccatccatgg  
 1260 gccgccctcg gagagaggct tgttctagat gtattggctg tctgtttttt gatgtctctg  
 1320 tgtgccaaac agcctggaaa tggggtacgc gtgtcccttg tgtgggtttc ccaatccctt  
 1380 ccgccaagc ctttcctggg acacatggag cccagctctc tggctgtctt accatgagaa  
 1440 gttgtaagt tggctgtgag ggggttgat ccaggaagca gccctgggac agccattct  
 1500 gctgtgata gcaggaacc acctgctggg agacaatggg ggtgggaaa agcccaggag  
 1560 agcagtgggt ggggctgggc atccgtggag tggggcttta ggagacctg aacggcccca  
 1620 ccctggaatc tcctacagga aggtgaggag gtggcaggtt ccacccttct ctaccagccc  
 1680 cgctcgtctg tgggagtaa cccctaggg gagaagagtc ttcactgggg ttcgaccat  
 1740 gggggcctgg catagtcatg cagaatggg cgggacaatg ccaatgcctt gggactcaga  
 1800 cagggtgag tgctccacc ctgattttg cctctgact gcgccccac agcccactca  
 1860 atgccagcct ctttctccag gcagagagcc ccatgtcaat gctggcaaaa gctctcagga  
 1920 ggattggagg tagaactggc cctggtatgc caacaggggt gcctcttta gtgctctccc  
 1980 aataatgctc atcctggggg catcaggacg caggcaggtg gcagagctgg gggcagcttg  
 2040 atggcacagg cagccccaaa gatgccagga acagggactg tccgggtgtg ggttccagt  
 2100 gagatagggc cctggaagga gtgcagcagt tactgacaat atagtgccag ggttgccat  
 2160 aggagaatga gcccaagcgt aagtggaagt ttccctttac tttcagggat tggtcagggg  
 2220 tggcagaaaa catgtgggtt ctttgtgtag atgtggctag ttccaattag agaagtctg  
 2280 cagctgatgt tgccctcacc gtgatagcag gaggatgtg agaaatgggc tgggagacc  
 2340 tggaggagaa gttaccctcg gccagacgt tgccttcctt tcatcacagg gcctttaat

ES 2 635 393 T3

5  
 2400 cctcctaggg agtagcagag tggccctagg gaaagtggcc atcctgaaac ctagtgttgc  
 2460 tgtgacctgg tgacagaaat ggaacacctt gtggctcttc tggatcatct tgggtgggagt  
 10  
 2520 gggaaatggtg tcacctttct agagggccat ctggcaccat gtaatcacgc cacagatctt  
 2580 tacgaagctc ctgctatgta ggaaacacta tgcctggcac tgggtatcca ttaaaatgta  
 15  
 2640 aaatgcacgt gacctggcaa ttccacttct agaaatgagc cttcagaagt gctcatacaa  
 2700 aagagctcaa taagtatcat gcactaattc attgtgccac cagagctccc tatgcagcct  
 20  
 2747 tttaaaagaa taaataggat ctgtagcacc aaaaaaaaaa aaaaaaa

<210> 2  
 <211> 159  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 2

30  
 Met Ser Gln Ala Trp Val Pro Gly Leu Ala Pro Thr Leu Leu Phe Ser  
 1 5 10 15  
 35  
 Leu Leu Ala Gly Pro Gln Lys Ile Ala Ala Lys Cys Gly Leu Ile Leu  
 20 25 30  
 40  
 Ala Cys Pro Lys Gly Phe Lys Cys Cys Gly Asp Ser Cys Cys Gln Glu  
 35 40 45  
 45  
 Asn Glu Leu Phe Pro Gly Pro Val Arg Ile Phe Val Ile Ile Phe Leu  
 50 55 60  
 50  
 Val Ile Leu Ser Val Phe Cys Ile Cys Gly Leu Ala Lys Cys Phe Cys  
 65 70 75 80  
 55  
 Arg Asn Cys Arg Glu Pro Glu Pro Asp Thr Pro Val Asp Cys Arg Gly  
 85 90 95  
 60  
 Pro Leu Glu Leu Pro Ser Ile Ile Pro Pro Glu Arg Val Arg Val Ser  
 100 105 110  
 65  
 Leu Ser Ala Pro Pro Pro Pro Tyr Ser Glu Val Ile Leu Lys Pro Ser  
 115 120 125  
 70  
 Leu Gly Pro Thr Pro Thr Glu Pro Pro Pro Pro Tyr Ser Phe Arg Pro  
 130 135 140  
 75  
 80  
 Glu Glu Tyr Thr Gly Asp Gln Arg Gly Ile Asp Asn Pro Ala Phe  
 145 150 155  
 85

**Reivindicaciones**

1. Una composición que comprende una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia que es complementaria a la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 1 o un fragmento o variante que tiene al menos 95% de identidad de secuencia de ácido nucleico con SEQ ID NO: 1, que inhibe la expresión del gen TMEM92, o un anticuerpo que es capaz de unirse a la proteína TMEM92 y que inhibe la función de la proteína TMEM92, para su uso en el tratamiento de cáncer.
2. La composición para el uso en el tratamiento de cáncer de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el cáncer se selecciona de cáncer de próstata, cáncer de pulmón de células no pequeñas y cáncer de mama.
3. La composición para el uso en el tratamiento de cáncer de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que la molécula de ácido nucleico comprende RNA de doble hebra, opcionalmente, en el que la molécula de ácido nucleico comprende pequeños ARN de interferencia (ARNsi).
4. La composición para el uso en el tratamiento de cáncer de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en el que la composición comprende un anticuerpo que es capaz de unirse a la proteína TMEM92; opcionalmente en el que el anticuerpo se conjuga a un marcador detectable y/o un agente inhibidor del crecimiento, opcionalmente, en el que el anticuerpo se conjuga a un agente citotóxico, antibiótico, enzima lítica o isótopo radiactivo; además opcionalmente en el que la composición comprende un antagonista de función de la proteína TMEM92.
5. Un método para diagnosticar cáncer en un paciente o para la identificación de un paciente en riesgo de desarrollar cáncer, comprendiendo el método:
- (a) Determinar una cantidad de un biomarcador en una muestra obtenida de un paciente, el biomarcador comprende:
- (i) Una secuencia de ácido nucleico que comprende SEQ ID NO: 1, o un fragmento o variante que tiene al menos 95% de identidad de secuencia de ácido nucleico con SEQ ID NO: 1, o una molécula de ácido nucleico que comprende dicha secuencia de ácido nucleico; o
- (ii) Una secuencia de aminoácidos que comprende la SEQ ID NO: 2, o un fragmento o variante que tiene al menos 95% de identidad de secuencia de aminoácidos con SEQ ID NO: 2, o una molécula de aminoácidos que comprende dicha secuencia de aminoácidos; opcionalmente en el que el biomarcador es un biomarcador de cáncer seleccionado de un biomarcador de cáncer de próstata, un biomarcador de cáncer de pulmón de células no pequeñas y biomarcadores de cáncer de mama;
- (b) Comparar la cantidad del biomarcador determinada en la muestra del paciente a la cantidad del biomarcador en un control normal; en el que una diferencia en la cantidad del biomarcador en la muestra del paciente en comparación con la cantidad del biomarcador en el control normal se asocia con la presencia de cáncer, o se asocia con un riesgo de desarrollar cáncer, y la diferencia es al menos 3 veces, opcionalmente en el que el cáncer se selecciona de cáncer de próstata, cáncer de pulmón de células no pequeñas y cáncer de mama.
6. Un método de acuerdo con la reivindicación 5, en el que el biomarcador comprende una secuencia de aminoácidos que comprende la SEQ ID NO: 2, o un fragmento que tiene al menos 95% de identidad de secuencia de aminoácidos con SEQ ID NO: 2.
7. Un método para el seguimiento de la progresión del cáncer en un paciente, comprendiendo el método:
- (a) determinar una cantidad de un biomarcador en una muestra obtenida de un paciente, que comprende el biomarcador: -
- (i) una secuencia de ácido nucleico que comprende SEQ ID NO: 1, o un fragmento o variante que tiene al menos 95% de identidad de secuencia de ácido nucleico con SEQ ID NO: 1, o una molécula de ácido nucleico que comprende dicha secuencia de ácido nucleico; o
- (ii) una secuencia de aminoácidos que comprende la SEQ ID NO: 2, o un fragmento o variante que tiene al menos 95% de identidad de secuencia de aminoácidos con SEQ ID NO: 2, o una molécula de aminoácidos que comprende dicha secuencia de aminoácidos; opcionalmente en el que el biomarcador es un biomarcador de cáncer seleccionado de un biomarcador de cáncer de próstata, un no pequeñas biomarcador de cáncer de pulmón de células y biomarcadores de cáncer de mama;
- (b) comparar la cantidad del biomarcador determinada en la muestra del paciente a la cantidad del biomarcador en un control normal; y
- (c) repetir los pasos (a) y (b) en dos o más intervalos de tiempo, en el que un aumento en la cantidad del biomarcador del paciente con el tiempo está asociado con un aumento en la progresión del cáncer y una disminución en la cantidad del biomarcador del



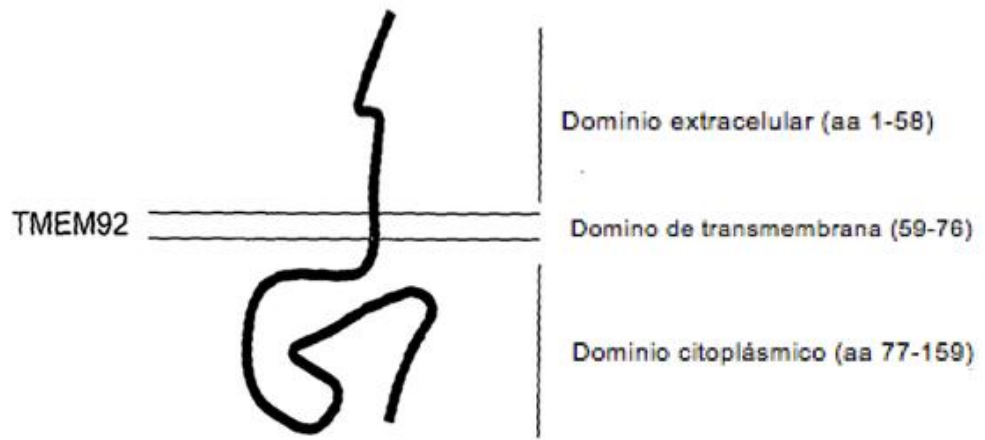
paciente con el tiempo está asociado con una disminución en la progresión del cáncer, opcionalmente en el que el cáncer se selecciona de cáncer de próstata, cáncer de pulmón de células no pequeñas y cáncer de mama.

5 **8.** Un método para el seguimiento de la eficacia de un tratamiento para el cáncer, que comprende detectar y/o cuantificar la presencia de un biomarcador en una muestra biológica obtenida de un paciente, el biomarcador comprende: -

10 (i) una secuencia de ácido nucleico que comprende SEQ ID NO: 1, o un fragmento o variante que tiene al menos 95% de identidad de secuencia de ácido nucleico con SEQ ID NO: 1, o una molécula de ácido nucleico que comprende dicha secuencia de ácido nucleico; o  
15 (ii) una secuencia de aminoácidos que comprende la SEQ ID NO: 2, o un fragmento o variante que tiene al menos 95% de identidad de secuencia de aminoácidos con SEQ ID NO: 2, o una molécula de aminoácidos que comprende dicha secuencia de aminoácidos; opcionalmente en el que el biomarcador es un biomarcador de cáncer seleccionado de un biomarcador de cáncer de próstata, un biomarcador de cáncer de pulmón de células no pequeñas y cáncer de mama biomarcador, opcionalmente en el que el cáncer se selecciona de cáncer de próstata, cáncer de pulmón de células y cáncer de mama no pequeñas.

20 **9.** Un biomarcador para el uso en el tratamiento del cáncer comprendiendo el biomarcador: -

(i) una secuencia de ácido nucleico que comprende SEQ ID NO: 1, o un fragmento o variante que tiene al menos 95% de identidad de secuencia de ácido nucleico con SEQ ID NO: 1, o una molécula de ácido nucleico que comprende dicha secuencia de ácido nucleico; o  
25 (ii) una secuencia de aminoácidos que comprende la SEQ ID NO: 2, o un fragmento o variante que tiene al menos 95% de identidad de secuencia de aminoácidos con SEQ ID NO: 2, o una molécula de aminoácidos que comprende dicha secuencia de aminoácidos; opcionalmente en el que el biomarcador es un biomarcador de cáncer seleccionado de un biomarcador de cáncer de próstata, un biomarcador de cáncer de pulmón de células no pequeñas y cáncer de mama biomarcador, opcionalmente, en el que el cáncer se selecciona de cáncer de próstata, cáncer de pulmón de células no pequeñas y cáncer de mama  
30



*FIG. 1*

```

1 ataggtggag agaagtggga gaggtogcag ccccgccctc tctacacagg aaagctcagt
61 ggcccccaag ccaggatgtc ccaagcttgg gtccccggcc tcgcgcccac cttgtctgtc
121 agcctgctgg ctggccccca aaagattgca gccaaatgtg gtctcatcct tgccctgcccc
181 aaaggattca aatgctgtgg tgacagctgc tgccaggaga acgagctctt ccttgcccc
241 gtgaggatct tcgtcatcat cttcctggtc atcctgtccg tcttttgcac ctgtggcctg
301 gctaagtgtc tctgtcgcaa ctgcagagag ccggagccag acagcccagt ggattgocgg
361 gggcccctgg aactgccctc catcatcccc ccagagaggg tcagagtatc cctttctgcg
421 ccccccccc cctacagtga ggtgattctg aagcccagcc tgggcccaac tcccacagag
481 ccaccccctc cctacagctt caggcctgaa gaataaccg gggatcagag gggcattgac
541 aaccgcgctc tctgagtca ctoctgcctg gaatcttggc atcagcaacc tcctcccag
601 tgctcctgg atcaagctag agactgctgg caccacagga atgtccctgc ccatcctgcc
661 gtgtctctgt tcaattcttg atttaactta ttactttttc tgcctctgtt tccaccccag
721 tgcctctct tgcctgagg gttaggctgg agtgacagt tccgccacc cccagccca
781 agaaagaggg tgccggaag aaaaatgctga ccattggagg tgcccaacag tagaatgggc
841 tactgtgagg ggtagtaaga gccccatttc tggaggtag caaatcttga ctggacagcc
901 agctctgaga ttttaccagg gcacttctat acctgtggga cattggactg gatgagccct
961 gagccagctt ccactcctac ctgaatagag aactcactgc acccaccac aacacatgat
1021 aaacacatgt cctcactgaa tgttactgat tgcggctgag gccctgcctc tggctgtgtg
1081 gggagggtgg tggagaggtg agcccaggca ctgctgaggg gtgcggtgat ggggtcctg
1141 cgcgcgaatc ccaccactga tgagccacct gggaggctct ggaggacagt ccatccatgg
1201 gcccccctcg gagagaggct tgtcttagat gtattggctg tctgtttttt gatgtctctg
1261 tgtgccaaac agcctggaag tgggtacgc gtgtccctg tgtgggttc ccaatccctt
1321 ccgcccaagg cttcctggg acacatggag ccagctctc tggctgtctt accatgaga
1381 gttggtaagt tggctgtgag ggggttggat ccaggaagca gccctgggac agccattctt
1441 gctgttgata gcaggaaacc acctgctggg agacaatggg ggtggggaaa agcccaggag
1501 agcagtggtg gggctgggc atccgtggag tgggcttta ggagacctg aacggcccca
1561 ccttggaatc tcctacagga aggtgaggag gtggcagggt ccaccctct ctaccagccc
1621 cgtctgctcg tgggagttaa ccccctaggg gagaagagtc ttactgggg ttcgaccat
1681 gggggcctgg catagctcat cagaatgggg cgggacaatg ccaatgcctt gggactcaga
1741 cagggtgag tgcctccacc ctgattttg cctctgca cgcccccac agcccactca
1801 atgccacct cttctccag gcagagagcc ccatgtcaat gctggccaaa gctctcagga
1861 ggattggagg tagaactggc cctggtagc caacaggggt gcctcttta gtgctctccc
1921 aataatgctc atcctgggg catcaggacg caggcagggt gcagagctgg gggcagctt
1981 atggcacagg cagcccaaa gatgccagga acagggactg tccgggtgtg ggtcccagt
2041 gagatagggc cctggaagga gtgcagcagt tactgacaat atagtccag ggttggccat
2101 aggagaatga gcccaagcgt aagtggaagt ttccctttac ttccagggat tggtcagggg
2161 tggcagaaaa catgtgggtt ctttgtgtag atgtggctag ttccaattag agaagtctg
2221 cagctgatgt tgcctcacc gtgatagcag gaggatgtt agaaatgggc tgggagacc
2281 tggaggagaa gttaccctcg gccagacgt tgcctcctt tcatcacagg gcctttaact
2341 cctcctagg agtagcagag tggccctagg gaaagtggc atcctgaaac ctagtgttgc
2401 tgtgacctg tgacagaaat ggaaacctct gtggctctc tggctacct tgggtggagt
2461 gggaatggtg tcacctttc agagggccat ctggcaccaat gtaatcacgc cacagatctt
2521 tacgaagctc ctgctatgta ggaaacacta tgcctggcac tgggtatcca ttaaaatgta
2581 aaatgcagct gacctggcaa ttccactct agaaatgagc ctcagaagt gctcatacaa
2641 aagagctcaa taagtatcat gcactaatc attgtgccac cagagctccc tatgcagcct
2701 tttaaaagaa taaataggat ctgtagcacc aaaaaaaaa aaaaaaa

```

FIG. 2

1 MSQAWVPLA PTLFPSLLAG PQKIAAKCGL ILACPKGFKC CGDSCCQENE LFPGPVRIFY  
 61 IIFLVILSVF CICGLAKFC RNCREPEPDT PVDCRGPLEL PSIIPPERVR VLSLAPPPPY  
 121 SEVILKPSLG PTPTEPPPPY SFRPEEYTGQ QRGIDNPAF

FIG. 3

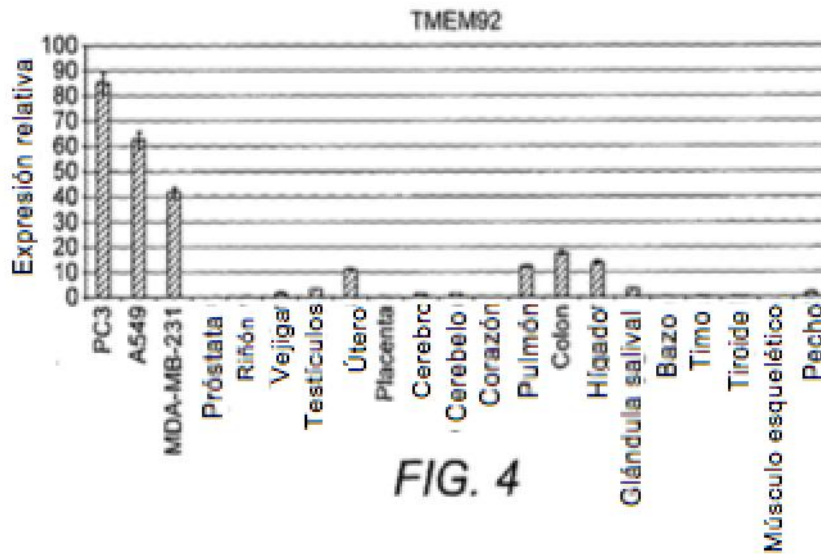


FIG. 4

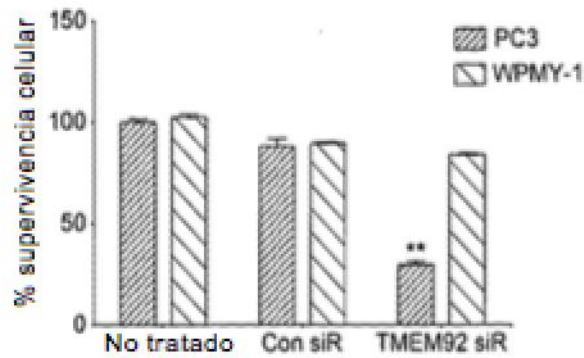


FIG. 5

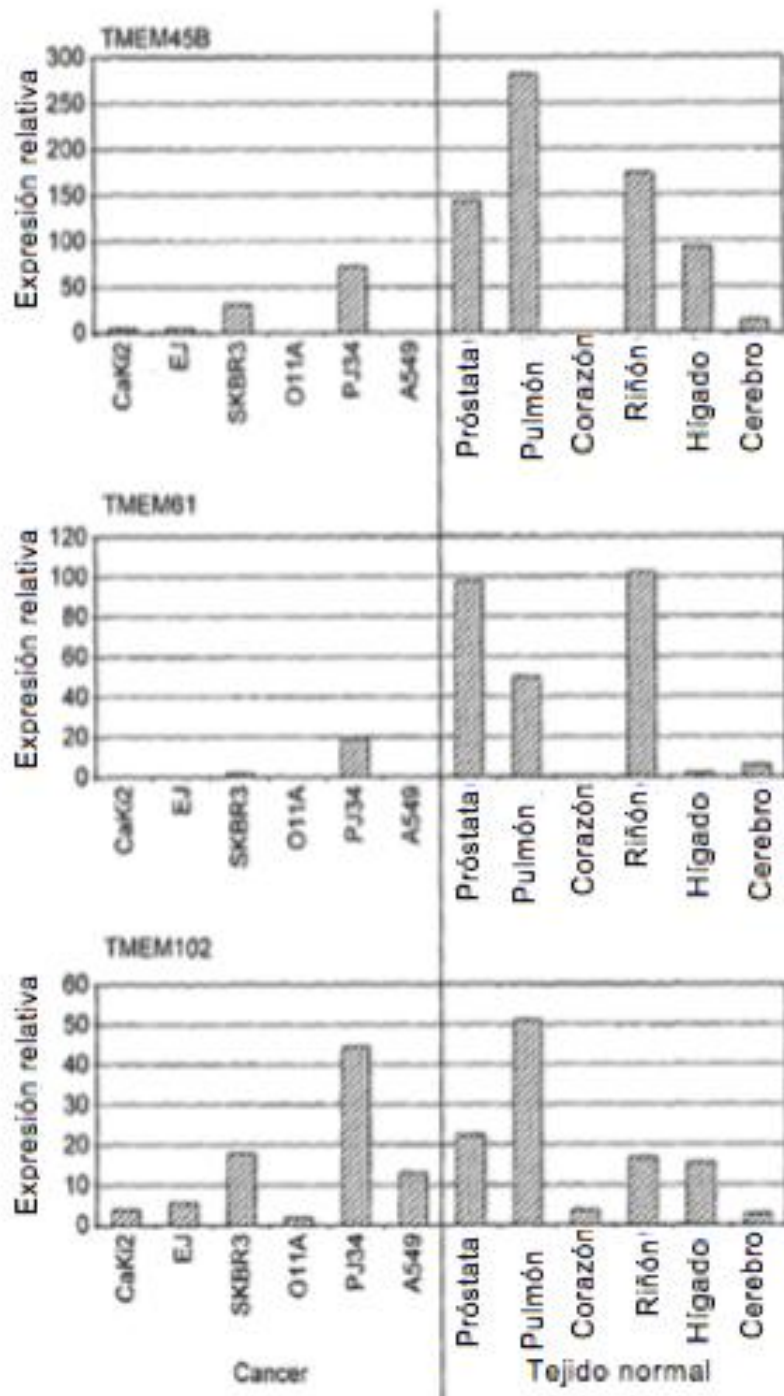
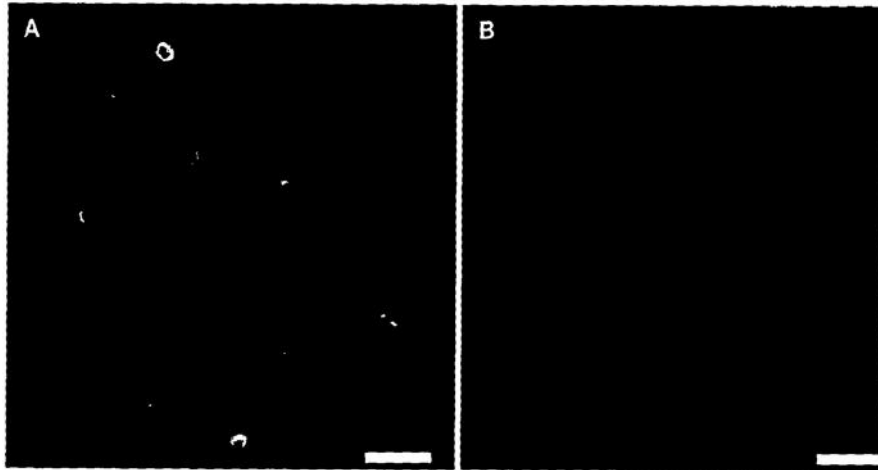
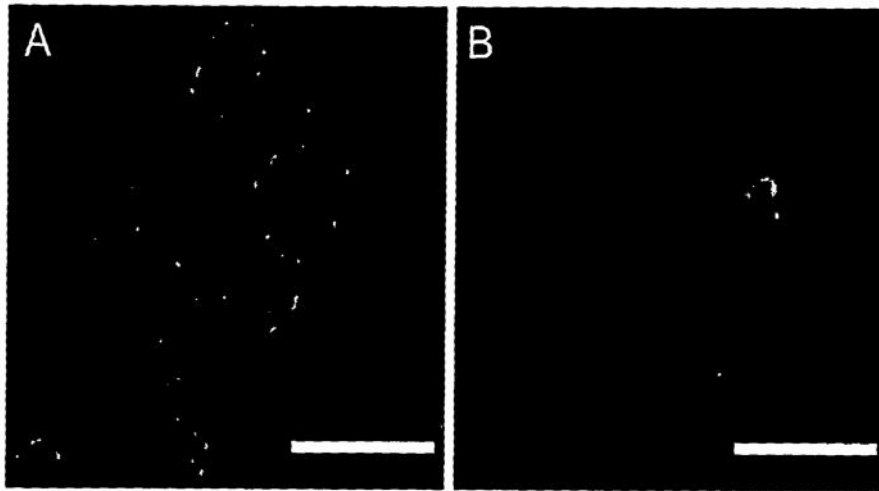


FIG. 6



*FIG. 7*



*FIG. 8*