

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 659 519**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/395** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.08.2012** **E 12005995 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.11.2017** **EP 2561890**

54 Título: **Método para producir medicamentos para combatir tumores**

30 Prioridad:

**25.08.2011 DE 102011111631**

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

**16.03.2018**

73 Titular/es:

**WÜRFEL, WOLFGANG (100.0%)**

**Waldstrasse 3**

**85235 Sixtnitgern, DE**

72 Inventor/es:

**WÜRFEL, WOLFGANG**

74 Agente/Representante:

**SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro**

**ES 2 659 519 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 producir medicamentos para combatir tumores

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere a métodos de producción de medicamentos para combatir tumores y al uso de los mismos para dicho fin.

10 **Antecedentes de la invención**

La terapia contra tumores química o biológica aún no se ha centrado en tipos de células tumorales individuales de un solo paciente, sino que todavía detecta en general todas las células que se dividen rápidamente, independientemente de si son malignas o no e independientemente del paciente individual.

15 En el resultado final, este tipo de terapia a menudo es ineficaz y/o está acompañada por efectos secundarios graves. Una terapia más dirigida y altamente individual sería extremadamente útil.

20 La base para la existencia bien regulada de un organismo completo es la comunicación entre las células o el diálogo celular. Este diálogo y su regulación permiten mantener la existencia de un organismo completo aunque las células mueren y/o se reproducen constantemente. Como resultado de este diálogo, también se regula la diferenciación de células, tal como se conoce a partir de la investigación con células madre. Este diálogo permite incluso la cooperación bien regulada de dos clones celulares diferentes aunque uno muestre un crecimiento extremadamente rápido como es el caso durante el embarazo.

25 La base del diálogo celular en el ser humano es el MHC (complejo mayor de histocompatibilidad) con sus grupos de HLA. La identificación de una célula mediante grupos de HLA es la base de toda comunicación celular. La comunicación celular en la que se desarrolla en cooperación con receptores específicos, tales como los receptores de tipo inmunoglobulina de linfocitos citolíticos (KIR) en los linfocitos citolíticos naturales (células NK) o los LILR (receptores leucocitarios tipo inmunoglobulina), con la posterior participación de otros factores, tales como citocinas, factores del crecimiento, etc.

Se conocen diversos grupos de HLA que pueden describirse de la siguiente manera:

35 Grupos de HLA A, B, C y C (MHC I): identifican sustancialmente todas las células adultas y somáticas.

Grupos de HLA D (DR, DP, DQ, etc.; MHC II): desempeñan un papel importante en células inmunocompetentes y/o en la presentación de antígeno.

40 Grupos de HLA E, F y G: identifican células embrionarias, en particular en el denominado frente de invasión.

Grupo de HLA H y siguientes: la función de estos denominados "pseudoantígenos" aún no está del todo clara.

45 Además, el complejo MHC también comprende sustancias adicionales tales como los factores de complemento que pertenecen a la clase III.

50 Una célula tumoral tiene básicamente un código genético igual que el de cualquier otra célula del organismo completo. Por tanto, no tiene ninguna información distinta de la del organismo completo con respecto a la división celular y diferenciación celular. Como resultado, toda enfermedad de tumor maligno es única e individual, es decir, específica al organismo respectivo.

55 En algunas enfermedades tumorales, se introduce información genética adicional en la célula desde el exterior, por ejemplo, mediante vectores víricos, tales como los denominados oncogenes. Sin embargo, los oncogenes también pueden formar una parte integral del material genético desde el momento de la procreación. Los oncogenes y/o la activación de los mismos y otros factores externos pueden afectar permanentemente a biología de una célula tumoral. Sin embargo, las células tumorales permanecen implicadas en el diálogo celular del organismo completo y las regularidades válidas en el mismo.

60 Los organismos que tienen una alta diferenciación celular, tales como los seres humanos, "pagan" por su alta diferenciación con una pérdida de multipotencia o totipotencia. En el caso de pérdidas de órganos, la *restitutio ad integrum* ya no es posible sino sólo la reparación mediante tejido conjuntivo. Cuando un ser vivo no está tan fuertemente diferenciado, tal como la estrella de mar, la pérdida de totipotencia o multipotencia no es tan marcada y, por tanto, cuando se pierde un brazo, por ejemplo, puede crecer otra vez un nuevo brazo aunque sea más pequeño.

65 La totipotencia también está codificada básicamente en el material genético de seres vivos superiores. Esto se demuestra por el simple hecho de que este material genético antes tenía que controlar el desarrollo desde un óvulo

fertilizado hasta un organismo diferenciado. Los experimentos de clonación también muestran que el “reajuste” del material genético (“reprogramación”) incluso de células altamente diferenciadas, tales como las células de ubre de la oveja clonada “Dolly”, “a cero” es posible en el núcleo. En el análisis final, esto también se aplica a la procreación y/o fertilización de un óvulo en el que el material genético de dos individuos relativamente mayores (padre y madre) se restablece “a cero” y se codifica de nuevo para el desarrollo de un nuevo ser vivo.

En consecuencia, es evidente que una célula tumoral también está provista de material genético que codifica fundamentalmente para todos los procesos de crecimiento y diferenciación que son posibles en un organismo completo, es decir, también para los mecanismos de la implantación embrionaria inicial, del diálogo celular embriomaterno temprano y del posterior desarrollo fetal embrionario.

Toda célula tumoral pierde su diferenciación en grados variables (está, por tanto, “desdiferenciada”) y hace su “camino de vuelta” en grados variables. Las características esenciales de este “camino de vuelta” son la pérdida de diferenciación celular y la pérdida de prestaciones celulares específicas y también la (re)obtención de crecimiento celular descontrolado.

Se sabe que las células tumorales pueden expresar grupos de HLA embrionarios típicos sobre su superficie. Aunque las investigaciones respectivas todavía están incompletas, se postula en este documento que esta expresión de grupos de HLA embrionarios (concretamente los conocidos y opcionalmente también los aún no identificados, por ejemplo, en el alcance de los denominados “pseudogenes”) contribuye a la circunstancia de que las células tumorales escapan del ataque de la defensa inmunitaria inespecífica del propio organismo. La expresión de estos grupos de HLA típicos sobre la superficie permite que las células activen receptores correspondientes, por ejemplo, en las células NK pero también los linfocitos y células inmunocompetentes adicionales, y por tanto no sólo no hay ataque de la defensa inmunitaria inespecífica, es decir las células NK y linfocitos, sino también en el caso individual las células tumorales (y también las células embrionarias) pueden “dejar que la defensa inmunitaria trabaje para ellas”, concretamente mediante una síntesis de factores de crecimiento y citocinas que son beneficiosos para el propio desarrollo.

Komohara *et al.*, (Oncology Reports 18(6), 1463-68, 2007), por ejemplo, da a conocer péptidos específicos de HLA-G para inducir CTL específicos que son citotóxicos contra una línea celular de carcinoma de células renales (RCC). Los autores comentan que HLA-G podría ser un antígeno diana en la inmunoterapia específica contra RCC que expresa HLA-G y otros cánceres que expresan HLA-G. En este caso, por ejemplo, ha de mencionarse el fenómeno de TAM (macrófagos asociados a tumores) o MDSC (“células supresoras derivadas de mieloides” tolerogénicas). Incluso apoyan el crecimiento tumoral en el microentorno de un tumor maligno (es decir, “se convierten”). Lo mismo se aplica de manera similar a las citocinas, tales como MIF (factor de inhibición de la migración de macrófagos) que es probable que se produzca en el tumor (probablemente por células NK) y tiene un efecto proangiogénico, apoyando así la proliferación y migración de células tumorales.

Las células tumorales no necesitan ser muy resistentes. Como se conoce, son más sensibles a la quimioterapia y también más sensibles a la radiación que células convencionales “sanas” y diferenciadas. Su tasa de división celular tampoco es particularmente alta.

El peligro resultante de una célula tumoral maligna es, por encima de todo, que puede, basándose en la comunicación celular, “implementar” un crecimiento descontrolado progresivo.

Esta circunstancia también está ilustrada por el hecho de que según el conocimiento actual, las metástasis se forman predominantemente debido a que células malignas, que pueden denominarse “células madre malignas”, se diseminan y colonizan. Si esto fuera correcto, tales “células madre malignas” también deberían poder, por medio de la comunicación celular con el tejido adyacente, escapar localmente del control de crecimiento y la presión de diferenciación. Aunque se formen a partir de una desdiferenciación, las células madre se comportarán como células madre en general, que en este caso dirige la atención en particular al modo de funcionamiento de la comunicación embriomaterna (del diálogo embriomaterno).

La degeneración maligna de una célula es un proceso único que es específico de cada individuo. Esto no está alterado por el hecho de que hay tipos de tumores patológicamente bien clasificables (siempre recurrentes) entre los individuos. Esta circunstancia es más bien una prueba del hecho de que un tumor maligno no se forma por cada desdiferenciación y cada “camino de vuelta”. Es bastante probable que sólo determinadas constelaciones puedan “sobrevivir” en el “camino de vuelta”, dando como resultado, por tanto, las entidades tumorales típicas entre individuos.

La desdiferenciación o “degeneración” de una célula es presuntamente un proceso comparativamente ubicuo en todo organismo completo. Sin embargo, casi nunca conduce a la formación de una enfermedad tumoral puesto que sólo algunas pocas de estas células tienen las precondiciones celulares biológicas y también comunicativas (de célula a célula) que son necesarias para la capacidad supervivencia. Las células que muestran capacidad de supervivencia usan los dos mecanismos mencionados anteriormente, presuntamente en una forma combinada. Por un lado, usan la recuperación de la comunicación embriomaterna para escapar a un ataque del sistema inmunitario

e incluso obtener apoyo de esta comunicación en el transcurso de crecimiento celular; por otro lado, pueden escapar a un ataque de la defensa inmunitaria específica mientras están protegidas por los perfiles de HLA completa o parcialmente expresados (originalmente adultos) (y también aquellos que corresponden a los de la propia madre (véase a continuación)), expandiéndose de ese modo.

5 La inmunidad “adquirida” se desarrolla durante el embarazo y significa que hay una tolerancia no sólo con respecto a los grupos de HLA del propio organismo, sino también siempre con respecto a los grupos de HLA adultos extraños de la propia madre.

10 Una célula tumoral expresa básicamente los mismos grupos de HLA adultos que todas las demás células somáticas del organismo completo. Como resultado, se protege de un ataque de la defensa inmunitaria específica. Esto también se aplica en principio cuando partes del perfil de HLA original se pierden “en su camino de vuelta”, se expresan de manera menos densa o están disponibles en una forma cambiada, es decir, corrupta (lo cual no es atípico para células tumorales).

15 En este caso es útil hacer una comparación con células embrionarias de un embrión que se esparcieron en el organismo materno y persisten en el mismo (esto se denomina “microquimerismo”). Las estructuras de la superficie embrionaria, en particular HLA-G, E y F, en las células embrionarias (placentarias o trofoblastoides) impiden que el sistema inmunitario de la madre ataque las células.

20 Si ya ha tenido lugar una determinada diferenciación de las células embrionarias (en este caso habitualmente las células auténticas del embrión), se incorporan específicamente en los órganos correspondientes. Esto refleja muy fuertemente el comportamiento de tumores malignos que a menudo prefieren un determinado perfil de formación de metástasis.

25 Cuando se mantienen las estructuras de la superficie embrionaria de las células del embrión, las células embrionarias no se ven atacadas presuntamente durante toda la vida de la madre, de manera similar a las células tumorales.

30 Si durante el embarazo muchas células embrionarias se esparcen en el organismo materno, esta tolerancia puede incluso conducir a un intento de “dominar” el organismo de la madre, es decir, se produce como resultado una reacción de “injerto frente a huésped”, como en el caso del síndrome bastante peligroso HELLP (hemólisis, enzimas hepáticas elevadas, bajo recuento plaquetario), por ejemplo.

35 Sin embargo, también puede haber reacciones contrarias al microquimerismo, que se deben presuntamente al hecho de que las células embrionarias pierden al menos parcialmente su protección de HLA-G, E, F, opcionalmente acompañadas por diferenciación adicional.

40 Entonces, hay reacciones contrarias inflamatorias del organismo materno dado que las células embrionarias muestran estructuras de HLA “adultas” cuando se diferencian que difieren de las del organismo materno. Como resultado típico, se forma tejido conjuntivo alrededor del sitio de inflamación y esto puede provocar determinadas enfermedades inmunitarias (por ejemplo, tiroiditis de Hashimoto).

45 Esta reacción contraria inflamatoria del organismo no tiene lugar en el caso de células tumorales ya que las células tumorales forman características de HLA sobre la superficie durante diferenciación adicional, no difiriendo dichas características de las del organismo huésped.

50 Esta expresión completa o incompleta de los perfiles de HLA adultos impide un ataque de la defensa inmunitaria específica incluso cuando la célula tumoral destaca mediante expresiones de antígenos adicionales (o sobreexpresiones) tal como se conoce y describe para células tumorales. La protección que resulta de la expresión completa o incompleta de los perfiles de HLA adultos originales es obviamente muy eficaz de manera que una célula tumoral puede expresar sus perfiles de antígenos específicos (“destacando” por tanto como resultado) sin un ataque eficaz de la respuesta inmunitaria (específica), es decir, también de los linfocitos B y linfocitos T que se producen. Es notable que los perfiles de expresión de antígenos tumorales sean relativamente específicos de tipos de tumores individuales. También es posible que grupos de HLA-MHC cambiados y/o mutados hagan que la cascada de presentación de antígeno (APM (maquinaria de procesamiento de antígenos)) sea cada vez más defectuosa y, por tanto, los antígenos típicos, asociados a seres humanos o propios apenas se presenten o (ya) no se presenten.

60 Cuando un organismo completo se enfrenta a una célula somática cuyo perfil de expresión de HLA difiere fuerte o totalmente de aquél del organismo o de la madre, debe suponerse que habrá un ataque de la defensa inmunitaria acompañado por la formación de células de memoria. La “memoria” está dirigida, por supuesto, predominantemente contra grupos de HLA divergentes. Sin embargo, se sabe que un ataque de este tipo del sistema inmunitario seguido por una destrucción de las células extrañas también está acompañado por la formación de anticuerpos contra otras estructuras de superficie. En casos individuales, incluso se forman anticuerpos contra constituyentes celulares ubicuos, tales como fosfolípidos (“síndrome antifosfolípido”).

65

Contra estos antecedentes, es necesario considerar ambos mecanismos como un todo, concretamente como un todo de cómo la “célula tumoral en su camino de vuelta” se comunica con las demás células y el sistema inmunitario y/o cómo se recuperan características de comunicación perdidas del periodo embrionario para desarrollar a partir de este entendimiento un concepto de terapia que tenga en cuenta estos principios básicos y medicamentos correspondientes.

Además de la defensa inmunitaria específica (es decir, linfocitos T y B), los monocitos y los macrófagos que resultan de los mismos también desempeñan un papel en el crecimiento tumoral. Sin embargo, los macrófagos sólo pueden activarse cuando están presentes células de la defensa inmunitaria inespecífica (tales como linfocitos citolíticos NK) o la defensa inmunitaria específica (tales como células T o células B). Sin embargo, esto requiere un “cebado” cuando las células presentadoras de antígeno (tales como las células dendríticas) presentan proteínas mutadas o “extrañas”, conduciendo por tanto a la formación de células T citotóxicas. En este caso, numerosas citocinas, tales como interferón  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) o el factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ) también desempeñan un papel.

También se presenta una comparación entre células embrionarias y células tumorales en el caso de los macrófagos. Pueden encontrarse macrófagos en el endometrio basal en el caso de un embarazado establecido. Habitualmente tienen un efecto inhibitor sobre el comportamiento de invasión del embrión y forman, por así decirlo, una “pared protectora” entre el embrión en implantación y el miometrio. Por otro lado, el embrión secreta factores inhibidores de la migración de macrófagos, es decir, factores que limitan e inhiben el ataque de los macrófagos. Esto se aplica igualmente a tumores malignos (véase anteriormente).

### Sumario de la invención

En un primer aspecto, la invención se refiere a un método de producción de un medicamento para combatir un tumor en un huésped, que comprende determinar el perfil de expresión de HLA embrionario individual de una célula tumoral del tumor en una muestra del paciente, incluyendo el perfil de expresión de HLA la expresión de genes menores de HLA-E, HLA-F y HLA-G de clase I, desarrollar anticuerpos contra el perfil de expresión y acoplar los anticuerpos con una citotoxina, tal como un agente quimioterápico o un radioisótopo, en el que los anticuerpos individuales así creados sirven como medicamento antitumoral y/o los anticuerpos van a usarse para destruir el perfil de HLA embrionario específico del tumor.

Un segundo aspecto de la invención se refiere a anticuerpos producidos tal como se describió anteriormente, para su uso para combatir un tumor. Un tercer aspecto, que no está cubierto por las reivindicaciones, se refiere a un método de producción de un medicamento para combatir un tumor en un huésped, que comprende extraer células tumorales con un perfil de expresión individual y exponerlas *in vitro* a células inmunocompetentes, preferiblemente del huésped, “entrenando” así a las células inmunocompetentes contra el perfil de expresión individual y usando las células así entrenadas como medicamento antitumoral para la introducción *in vivo* en el huésped.

Un cuarto aspecto, que no está cubierto por las reivindicaciones, se refiere al uso de un medicamento que se produce tal como se describió en el tercer aspecto para combatir un tumor.

Un quinto aspecto, que no está cubierto por las reivindicaciones, se refiere a un método de producción de un medicamento para combatir un tumor en un huésped, en el que se seleccionan células tumorales heterólogas que tienen perfiles de antígenos específicos de tumor iguales o similares a los de las células tumorales del huésped, pero tienen grupos de HLA adultos que difieren completamente de los mismos (y, si es posible, de la madre), se liberan las células tumorales heterólogas seleccionadas, es decir se desnudan, del perfil de expresión de HLA embrionario por medio de un medicamento producido según el primer aspecto, y se destruyen y las células tumorales heterólogas resultantes sirven como medicamento antitumoral para la introducción en un huésped.

Un sexto aspecto, que no está cubierto por las reivindicaciones, se refiere al uso de un medicamento que se produce tal como se describió en el quinto aspecto para combatir un tumor.

Un séptimo aspecto, que no está cubierto por las reivindicaciones, se refiere a un método de producción de un anticuerpo antitumoral, en el que con respecto a un huésped se seleccionan células tumorales heterólogas que tienen perfiles de antígenos específicos de tumor iguales o similares a los de las células tumorales del huésped, pero tienen grupos de HLA adultos que difieren completamente de los mismos (y de la madre), se liberan las células tumorales heterólogas seleccionadas, es decir, se desnudan, del perfil de expresión de HLA embrionario por medio de un medicamento producido según el primer aspecto y se exponen opcionalmente en presencia de un adyuvante completo o incompleto a células inmunocompetentes, preferiblemente del huésped, mediante lo cual se entrenan las células inmunocompetentes contra tanto los diferentes antígenos de grupo de HLA adultos como los antígenos específicos de tumor para expresar anticuerpos específicos de tumor, y se aíslan los anticuerpos dirigidos contra el antígeno específico de tumor.

Un octavo aspecto, que no está cubierto por las reivindicaciones, se refiere al uso del anticuerpo producido por el método del séptimo aspecto como medicamento antitumoral.

Un noveno aspecto, que no está cubierto por las reivindicaciones, se refiere a un método de producción de células inmunocompetentes genéticamente modificadas, en particular células NK genéticamente modificadas y también linfocitos genéticamente modificados, que comprende silenciar los genes para los receptores que transmiten un efecto inhibitorio y se activan mediante los grupos de HLA del propio tumor, ya sean adultos (HLA-A, B, C, D) o embrionarios (HLA-E, F, G, entre otros). Las células pueden hacerse proliferar *in vitro*. Un décimo aspecto, que no está cubierto por las reivindicaciones, se refiere a células inmunocompetentes que carecen de los receptores que transmiten un efecto inhibitorio que se activan por los grupos de HLA del propio tumor, ya sean adultos (HLA-A, B, C, D) o embrionarios (HLA-E, F, G, entre otros). Por tanto, los tumores no pueden ejercer ninguna inhibición. En particular, en este caso se trata de células NK cuyos genes para los receptores que transmiten un efecto inhibitorio y que reconocen el HLA-A, B, C y/o D del propio organismo están delecionados.

Un undécimo aspecto, que no está cubierto por las reivindicaciones, se refiere al uso de las células según el décimo aspecto como medicamento para combatir un tumor.

**15 Descripción detallada**

Un primer aspecto de la invención se refiere a un método de producción de un medicamento para combatir un tumor en un huésped, que comprende determinar el perfil de expresión de HLA embrionario individual de una célula tumoral del tumor en una muestra del paciente, incluyendo el perfil de expresión de HLA la expresión de genes menores de HLA-E, HLA-F y HLA-G de clase I, desarrollar anticuerpos contra el perfil de expresión y acoplar los anticuerpos con una citotoxina, tal como un agente quimioterápico o un radioisótopo, en el que los anticuerpos individuales así creados sirven como medicamento antitumoral y/o los anticuerpos van a usarse para destruir el perfil de HLA embrionario específico del tumor.

Un segundo aspecto de la invención se refiere a anticuerpos producidos tal como se describió anteriormente, para su uso para combatir un tumor. La recuperación parcial o completa de perfiles de expresión de HLA embrionarios en células malignas puede servir para identificar y combatir estas células malignas. Tal como ya se mencionó anteriormente, las células malignas tumorales recuperan los perfiles de expresión de HLA embrionarios en su "camino de vuelta" en grados variables. Estos son predominantemente los grupos de HLA F y G, pero también los grupos E y otros y posiblemente también algunos pseudoantígenos, es decir grupos de HLA H y superiores. Tal como ya se mencionó anteriormente, es característico de estos grupos de HLA embrionarios que no sólo pueden interactuar, por ejemplo, con receptores específicos en células NK (NKG2-/KL (receptores de tipo lecitina de linfocito citolítico) o las formaciones de KIR o los linfocitos (receptores LIL) y/o transcritos de tipo inmunoglobulina (ILT)), sino que estas interacciones además de un "bloqueo" del sistema inmunitario también conducen al hecho de que diversas células inmunocompetentes (por ejemplo, células NK y macrófagos) sintetizan y secretan citocinas que promueven el crecimiento celular y la división celular y factores de crecimiento. Como resultado, la célula tumoral puede manipular el diálogo celular para permitir un crecimiento celular ilimitado. Además, también es posible en casos individuales que las citocinas y factores de crecimiento secretados apoyen este crecimiento celular descontrolado y/o comportamiento de división celular.

Especialmente en el caso de células madre que habitualmente no expresan ningún grupo de HLA adulto (A a D) y, por tanto, son especialmente una diana de la defensa inmunitaria inespecífica, es decir, las células NK y los macrófagos, este mecanismo es de gran importancia.

Ya hay publicaciones que muestran que la malignidad de un tumor se correlaciona con el aumento en la expresión de HLA-G.

Dado que la regresión de una célula tumoral procede individualmente de manera diferente, es necesario determinar el perfil de expresión de HLA embrionario individual de una célula tumoral (es decir, de HLA-F y G, también de HLA-E y opcionalmente los pseudoantígenos), lo que en la actualidad es posible de manera bastante fácil. Una vez que se conoce tal perfil de expresión, es posible el desarrollo de anticuerpos específicos.

Dado que también hay informes de que otros tejidos expresan parcialmente grupos embrionarios, tales como HLA-F o también HLA-G, es importante detectar el perfil de expresión individual complejo de una célula tumoral y desarrollar contra el mismo un anticuerpo lo más específico posible, es decir, un anticuerpo complejo, para evitar reacciones cruzadas con otros tejidos. Básicamente, también es concebible "incorporar" en estos anticuerpos epítomos contra otras características de una célula tumoral, concretamente, por ejemplo, contra antígenos tumorales típicos que se detectaron en un determinado tumor específico de un individuo. Lo más sencillo será lograr esto mediante anticuerpos policlonales. Sin embargo, también es posible el uso de un grupo de anticuerpos monoclonales, que están opcionalmente acoplados.

Ahora puede usarse la unión de un anticuerpo policlonal o anticuerpos monoclonales reticulados a una célula tumoral específica de un individuo de diversas maneras.

Por un lado, es posible acoplar, por ejemplo, agentes quimioterápicos o radioisótopos a tales anticuerpos para así dañar la célula tumoral.

Una segunda posibilidad es destruir los perfiles de HLA embrionarios de esta manera, por ejemplo, combinando los anticuerpos con complejos enzimáticos que atacan directamente antígenos de HLA o al menos las proteínas de andamiaje del complejo de HLA. Además, también será posible “enmascarar” el complejo de HLA embrionario completo por medio de estos anticuerpos de modo que ya no pueda reconocerse como tal por la defensa inmunitaria. Como resultado, se omitirán los mecanismos descritos anteriormente del “diálogo”.

La implementación de las medidas descritas no tiene que tener lugar *in vivo*. También es básicamente posible extraer células tumorales y “entrenar” células inmunocompetentes (después de eliminar o enmascarar las estructuras de HLA embrionario) por medio de las mismas *in vitro*.

De manera correspondiente, un tercer aspecto, que no está cubierto por las reivindicaciones, se refiere a un método de producción de un medicamento para combatir un tumor en un huésped, que comprende extraer células tumorales con un perfil de expresión individual y exponerlas *in vitro* a células inmunocompetentes, preferiblemente del huésped. Como resultado, las células inmunocompetentes se entrenan contra el perfil de expresión individual, y las células así entrenadas sirven como medicamento antitumoral para la introducción *in vivo* en el huésped.

Un cuarto aspecto, que no está cubierto por las reivindicaciones, es el uso de un medicamento que se produce tal como se describió en el tercer aspecto para combatir un tumor.

El “entrenamiento *in vitro*” ofrece la ventaja “entrenar” los tipos de células individuales de la defensa inmunitaria inespecífica y específica de manera controlada por medio de los perfiles de expresión de antígenos tumorales y de HLA específicos para poder dosificar mejor el efecto cuando se devuelven estas células al organismo original. Sin embargo, tal como se indicó anteriormente, para este fin los perfiles de expresión embrionarios típicos deben eliminarse o “enmascararse” *in vitro*, pero esto también se aplica a los perfiles de expresión adultos (grupos de HL A a C y/o D y los grupos de HLA posiblemente existentes que corresponden a los de la propia madre), puesto que las células inmunocompetentes de la defensa inmunitaria específica, tales como los linfocitos T, apenas pueden, o sólo pueden escasamente, atacar células que tienen los perfiles de expresión adultos típicos del organismo original.

Hasta ahora, el “entrenamiento” *in vitro* de las células inmunocompetentes de la defensa inmunitaria específica e inespecífica sirve predominantemente para entrenarlas contra perfiles de expresión de antígenos de tumor específicos de un individuo (y esto después de la interrupción del boqueo por los grupos de HLA embrionarios y adultos).

Los perfiles de HLA adultos del organismo original que también se expresan total o parcialmente por las células tumorales, representan, por tanto, la segunda protección eficaz de una célula tumoral contra un ataque de la defensa inmunitaria del propio organismo, concretamente las células de la defensa inmunitaria específica.

Un quinto aspecto, que no está cubierto por las reivindicaciones, se refiere por tanto a un método de producción de un medicamento para combatir un tumor en un huésped, en el que se seleccionan células tumorales heterólogas que tienen perfiles de antígenos específicos de tumor que son iguales o similares a los de las células tumorales del huésped pero tienen grupos de HLA adultos que difieren completamente de los mismos, se liberan las células tumorales heterólogas seleccionadas, es decir, se desnudan, del perfil de expresión de HLA embrionario por medio de un medicamento producido según el primer aspecto, y se destruyen y las células tumorales heterólogas destruidas resultantes sirven como medicamento antitumoral, opcionalmente junto con un adyuvante, por ejemplo, hidróxido de aluminio o una emulsión de aceite en agua, que comprende escualeno, polisorbato 80 y vitamina E, para la introducción en el huésped.

Un sexto aspecto, que no está cubierto por las reivindicaciones, es el uso de un medicamento que se produce tal como se describe en el quinto aspecto y contiene opcionalmente un adyuvante, para combatir un tumor.

Sin embargo, las células tumorales que en el caso de modelo tienen un perfil de expresión de antígenos específico de tumor igual que el del organismo huésped difieren completamente del mismo en cuanto a los grupos de HLA, inducen una respuesta inmunitaria contra estas células tumorales en el huésped, concretamente debido a los perfiles de expresión de HLA divergentes. En una respuesta a los perfiles de HLA divergentes, la defensa inmunitaria específica también “aprenderá” los perfiles de expresión de antígenos tumorales y formará anticuerpos y células de la defensa inmunitaria celular que se dirigen contra los mismos. La respuesta inmunológica, es decir, la formación de anticuerpos y/o la respuesta inmunitaria celular con respecto a las expresiones de antígeno específicas de tumor, puede promoverse mediante adyuvantes, tales como hidróxido de aluminio o una emulsión de aceite en agua que comprende escualeno, polisorbato 80 y vitamina E. La respuesta inmunitaria también puede evocarse *in vitro* (“entrenamiento” *in vitro* de las células inmunocompetentes). Los anticuerpos y las células inmunocompetentes entrenadas pueden usarse entonces *in vivo* o *in vitro* para atacar las células tumorales específicas de un individuo.

Tal como ya sea indicado, los grupos de HLA adultos (A a D) que quedan total o parcialmente sobre la superficie protegen una célula tumoral contra un ataque de la defensa inmunitaria específica. Por tanto, con el fin de llevar a cabo una sensibilización de la defensa inmunitaria contra los perfiles de expresión de superficie típicos de una célula

tumoral, es necesario suministrar células tumorales destruidas con oncogenes lo más idénticas posible y un perfil de expresión de HLA lo más divergente posible.

5 La dificultad es identificar células tumorales que son lo más divergentes posible en cuanto a HLA-A a D y que tienen perfiles de antígenos específicos de tumor lo más iguales posible (que en el organismo huésped). Aunque es relativamente fácil determinar los perfiles de HLA, esto es notablemente más difícil con las expresiones de antígeno específicas de tumor típicas. En este caso, sólo puede realizarse una “constricción” por el momento, concretamente por medio del mayor número posible de perfiles de expresión de antígenos diferentes (conocidos). Por tanto, hay una inseguridad residual que, sin embargo, puede evitarse basando la terapia en diferentes líneas de células tumorales que tienen perfiles de HLA lo más discrepantes posible y perfiles de expresión de antígenos tumorales lo más similares posible.

Este enfoque terapéutico se facilitaría estableciendo “bancos de células tumorales”.

15 También es necesario que las células tumorales heterólogas no tengan ningún grupo y/o característica de HLA embrionario; por tanto, también tienen que desnudarse.

Puede ser que los métodos de ingeniería genética también ofrezcan en el futuro una posibilidad en este caso: por ejemplo, es concebible la introducción de un genoma de una célula tumoral en una célula lo más divergente posible en cuanto a HLA (por ejemplo, mediante clonación), sin embargo, con la condición de que los loci de genes de HLA adultos (y si es posible también embrionarios) de la célula tumoral se silencien para formar finalmente una célula híbrida que expresa perfiles de HLA divergentes, pero expresa los perfiles de antígenos tumorales típicos de la célula tumoral del organismo original.

25 Cuando se inyectan las células tumorales destruidas que son tal como se describió anteriormente y que se originan de una persona extraña, debe producirse de manera natural una respuesta inmunitaria contra estas células tumorales en el caso de una expresión de HLA adulto existente. Debe suponerse que en esta ocasión también se forman células de memoria contra las otras estructuras de antígeno de superficie, por tanto también contra estructuras que son específicas de este tumor. Una vez que se han formado tales células, se volverán de manera natural contra las estructuras de antígeno de superficie similares del propio tumor, es decir, contra las propias células tumorales. De esta manera, se desencadena una respuesta autoinmunitaria contra las células tumorales del propio organismo. (Autosensibilización inducida por células tumorales heterólogas = HETINAS)

35 Con el fin de contrarrestar la variabilidad de las expresiones de antígenos tumorales, incluso tendría sentido recoger células tumorales de varias personas que tienen perfiles de HLA adultos divergentes e inyectarlas como una mezcla. La terapia puede usarse una y otra vez según la situación aunque el tumor cambie su diferenciación o se formen metástasis que tienen una estructura de antígeno de superficie diferente. Lo que es decisivo es siempre que las células extrañas en los grupos de HLA adultos son divergentes. Sin embargo, esto puede detectarse fácilmente.

40 Un séptimo aspecto, que no está cubierto por las reivindicaciones, se refiere además a un método de producción de un anticuerpo antitumoral, en el que con respecto a un huésped se seleccionan células tumorales heterólogas que tienen perfiles de antígenos específicos de tumor iguales o similares a los de las células tumorales del huésped, pero tienen grupos de HLA adultos que difieren completamente de los mismos, se liberan las células tumorales heterólogas seleccionadas, es decir, se desnudan, del perfil de expresión de HLA embrionario por medio de un medicamento producido según el primer aspecto de la invención y se exponen a células inmunocompetentes, preferiblemente del huésped, opcionalmente en presencia de un adyuvante para entrenar las células inmunocompetentes contra tanto los diferentes antígenos de grupo de HLA adulto como los antígenos específicos de tumor y, a este respecto, expresan antígenos específicos de tumor, y se aíslan los anticuerpos dirigidos contra el antígeno específico de tumor.

50 Un octavo aspecto se refiere al uso del anticuerpo producido mediante el método anterior como medicamento antitumoral.

55 Un noveno aspecto, que no está cubierto por las reivindicaciones, se refiere a un método de producción de células inmunocompetentes genéticamente modificadas, en particular células NK, que comprende silenciar los genes para los receptores que transmiten un efecto inhibitorio y se activan mediante los grupos de HLA del propio tumor. En este caso, debe determinarse de antemano de manera específica para el individuo qué características de HLA usa el tumor individual para activar qué receptores para después eliminar *in vitro* los genes precisamente para estos receptores.

60 Un décimo aspecto, que no está cubierto por las reivindicaciones, se refiere a las células inmunocompetentes así producidas, en particular células NK.

65 Un undécimo aspecto, que no está cubierto por las reivindicaciones, se refiere al uso de las células del décimo aspecto como medicamento para combatir un tumor.



**REIVINDICACIONES**

1. Método de producción de un medicamento para combatir un tumor en un huésped, que comprende
- 5 - determinar el perfil de expresión de HLA embrionario individual de una célula tumoral del tumor en una muestra del paciente, incluyendo el perfil de expresión de HLA la expresión de genes menores de HLA-E, HLA-F y HLA-G de clase I,
- 10 - desarrollar anticuerpos contra el perfil de expresión y
- acoplar los anticuerpos con una citotoxina, tal como un agente quimioterápico o un radioisótopo, en el que los anticuerpos individuales así creados sirven como medicamento antitumoral y/o los anticuerpos van a usarse para destruir el perfil de HLA embrionario específico del tumor.
- 15
2. Anticuerpos, que se producen tal como se describió en la reivindicación 1, para su uso para combatir un tumor.