

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 699 817**

51 Int. Cl.:

G01N 33/574 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.03.2013 PCT/US2013/032936**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.09.2013 WO13142477**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.03.2013 E 13763504 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.09.2018 EP 2828664**

54 Título: **Métodos para tratar y controlar el estado de un cáncer**

30 Prioridad:

19.03.2012 US 201261612826 P

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

12.02.2019

73 Titular/es:

**STEMLINE THERAPEUTICS INC. (100.0%)
750 Lexington Avenue, 11th Floor
New York, NY 10022, US**

72 Inventor/es:

**CIRRITO, THOMAS, P.;
BERGSTEIN, IVAN y
BROOKS, CHRISTOPHER**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 699 817 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

Métodos para tratar y controlar el estado de un cáncer

1. Introducción

5 En la presente se proporcionan composiciones que comprenden un péptido de EphA2 para su uso en métodos para tratar, prevenir o gestionar un cáncer en un sujeto, que comprenden administrar dicha composición al sujeto y controlar la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto. En la presente también se proporcionan métodos para controlar la eficacia de una terapia para el cáncer basada en un péptido de EphA2 en un paciente con cáncer, que comprenden controlar la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto antes, durante y/o después de un tratamiento para el cáncer de un paciente.

10 En la presente se proporcionan compuestos que se dirigen a EphA2 para su uso en un método para tratar el cáncer en un sujeto. Por último, en la presente se proporcionan métodos para mejorar el transporte dirigido de una vacuna del cáncer a células madre del cáncer.

2. Antecedentes

15 Las terapias para el cáncer convencionales incluyen, cirugía, quimioterapia y terapia de radiación. A pesar de la existencia de estas terapias, así como de la cantidad significativa de investigaciones científicas y médicas dedicadas al año para descubrir productos terapéuticos para el cáncer, este sigue siendo una de las principales causas de mortalidad y morbilidad en el mundo en la actualidad. Así, siguen siendo necesarios productos terapéuticos para el cáncer nuevos y eficaces, así como método para controlar la eficacia de los productos terapéuticos para el cáncer existentes y nuevos.

20 Morrison, B.J., *et al.* (2008) analizan el papel de las células madre en la mama sana, el papel de las células madre del cáncer de mama en la enfermedad y el potencial de dirigirse a estas células como parte de la terapia (Morrison, B.J. *et al.*, *Breast Cancer Research*, 10:210 (2008)). García-Hernández M.L., *et al.* (2008) analizan la posibilidad de inducir una protección a largo plazo contra el cáncer de próstata mediante una vacunación cuando aparecen las señales más tempranas de su desarrollo con un antígeno de células madre de próstata sin inducir una enfermedad autoinmunitaria en ratones TRAMP (García-Hernández M.L., *et al.*, *Cancer Res.*, 68(3):861-869 (2008)). Dhodapkar M.V., *et al.* (2011) analizan la posibilidad de emplear vacunas que se dirigen a células madre del cáncer como estrategia para la prevención de diversos cánceres (Dhodapkar M.V., *et al.*, *The Cancer Journal*, 17(5):397-402 (2011)). Hatano, M., *et al.* (2005) han publicado un breve artículo que analiza el péptido de EphA2 como antígeno asociado a glioma para el transporte dirigido molecular de vacunas para el glioma (Hatano, M., *et al.*, *Neoplasia*, vol. 7(8):717-722 (2005)). Mather, J., *et al.* describen poblaciones aisladas de células madre del cáncer humanas y métodos para su identificación, cultivo, aislamiento y caracterización, sus usos en productos terapéuticos, el descubrimiento de fármacos/dianas, las vacunas antitumorales y el diagnóstico y tratamiento del cáncer (Mather, J., *et al.*, publicación de patente de EE. UU. n.º 2008/0175870). Fritsche, J., *et al.* indican una inmunoterapia contra varios cánceres, que incluyen cánceres gastrointestinales y gástricos, basada en péptidos. 35 Indican que ciertas secuencias peptídicas y sus variantes derivadas de moléculas de HLA de clase I de células tumorales humanas pueden utilizarse en composiciones de vacunas para suscitar respuestas inmunológicas antitumorales, en particular respuestas de células T citotóxicas (Fritsche, J., *et al.*, publicación de patente de EE. UU. n.º 2011/0229504).

3. Sumario

40 La presente invención proporciona una composición que comprende un péptido de EphA2 para su uso en un método para tratar, prevenir o gestionar un cáncer en un sujeto que lo necesita, que comprende (i) administrar dicha composición a dicho sujeto, y (ii) medir la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto.

45 En ciertas realizaciones de la composición para su uso en la invención, el método comprende además (iii) comparar la cantidad de células madre del cáncer en una muestra obtenida del paciente con la cantidad de células madre del cáncer en una muestra de referencia, o con un intervalo de referencia predeterminado, en el que una estabilización o una disminución en la cantidad de células madre del cáncer en la muestra con relación a la muestra de referencia, o a un intervalo de referencia predeterminado, indica que el método es eficaz.

50 En otra realización de la composición para su uso en la invención, dicho péptido de EphA2 se carga en células dendríticas. En otra realización, dicho EphA2: (i) es un epítipo de células T de EphA2, preferiblemente en el que dicho epítipo de células T de EphA2 induce una respuesta inmunológica en un sujeto; o (ii) comprende SEQ ID NO:1 o consiste en SEQ ID NO:1.

55 En otro aspecto de la invención, se proporciona un método para controlar la eficacia de una terapia para el cáncer basada en un péptido de EphA2 en un paciente con cáncer, comprendiendo dicho método: (a) medir la cantidad de células madre del cáncer extraídas del paciente antes y después de la administración de la terapia para el cáncer basada en el péptido de EphA2; y (b) comparar la cantidad de células madre del cáncer extraídas del paciente antes de la administración de la terapia para el cáncer con la cantidad de células madre del cáncer extraídas del paciente

después de la administración de la terapia para el cáncer basada en el péptido de EphA2, en el que se determina que la terapia para el cáncer es eficaz si la cantidad de células madre del cáncer extraídas del paciente después de la administración de la terapia para el cáncer es equivalente o es menor que la cantidad de células madre del cáncer extraídas del paciente antes de la administración de la terapia para el cáncer.

5 En ciertas realizaciones de la composición para su uso en la invención, o del método para controlar la eficacia de la terapia, dicha cantidad de células madre del cáncer se mide empleando una biopsia, un fluido biológico, una biopsia de médula ósea, una biopsia de tumor, o una biopsia de tejido normal del sujeto o paciente, respectivamente. En otra realización, dicha cantidad de células madre del cáncer se mide determinando la cantidad de células madre del cáncer que expresan EphA2, o células madre del cáncer que expresan CD133. En otra realización, dicha cantidad
10 de células madre del cáncer se mide: (i) empleando un inmunoensayo, en el que el inmunoensayo se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en transferencias Western, inmunohistoquímica, radioinmunoensayos, ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas), inmunoensayos de "sandwich", ensayos de inmunoprecipitación, reacciones de precipitina, reacciones de precipitina de difusión en gel, ensayos de inmunodifusión, ensayos de aglutinación, ensayos de fijación del complemento, ensayos inmunoradiométricos, inmunoensayos fluorescentes, inmunofluorescencia, inmunoensayos de proteína A, citometría de flujo y análisis FACS; (ii) empleando un citómetro de flujo, en el que la cantidad de células madre del cáncer se determina preferiblemente con uno o más anticuerpos que se unen a marcadores de la superficie celular, o en el que las células madre del cáncer se ponen preferiblemente en contacto con uno o más tintes antes de la detección en el citómetro de flujo; (iii) inmunohistoquímica; (iv) empleando un ensayo formador de esferas; (v) cultivando una muestra obtenida del sujeto,
15 o una porción de esta, y cuantificando las células en un ensayo *in vitro*; (vi) empleando un ensayo de injerto *in vivo* con un ratón inmunocomprometido; o (vii) empleando la formación de imágenes, en la que dicha formación de imágenes es preferiblemente MRI, PET, FDG-PET, barrido de CT, o rayos X. En otra realización, dichas células madre del cáncer están asociadas con un cáncer cerebral.

25 En otro aspecto de la invención, se proporcionan compuestos que se dirigen a EphA2 para su uso en un método para tratar un cáncer en un sujeto, en el que dicho compuesto es un anticuerpo que se une a EphA2 o a células madre del cáncer que expresan EphA2, preferiblemente en el que dicho anticuerpo es un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo monocatenario, un anticuerpo biespecífico o un fragmento de un anticuerpo específico de EphA2 y en el que dicho método comprende además medir la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto.

30 En ciertas realizaciones, dicha medición se realiza antes, durante y después de la administración de dicho compuesto. En otra realización, dicho cáncer es cáncer cerebral.

En ciertas realizaciones, dicho cáncer cerebral es un glioma, glioblastoma, oligodendroglioma, glioma del tronco cerebral, glioma no del tronco cerebral, ependimoma, schwannoma acústico, craniofaringioma, meningioma, meduloblastoma, linfoma del sistema nervioso central primario, tumores de las glándulas pineal y pituitaria, astrocitoma/oligodendroglioma supratentorial infiltrante de grado bajo en adultos, astrocitoma supratentorial infiltrante de grado bajo en adultos, oligodendroglioma supratentorial infiltrante de grado bajo en adultos, astrocitoma/oligodendroglioma supratentorial infiltrante de grado bajo en adultos (excluyendo el astrocitoma pilocítico), astrocitoma supratentorial infiltrante de grado bajo en adultos (excluyendo el astrocitoma pilocítico), oligodendroglioma supratentorial infiltrante de grado bajo en adultos (excluyendo el astrocitoma pilocítico), ependimoma intracraneal en adultos, ependimoma intracraneal en adultos (excluyendo el mixopapilar y subependimoma), ependimoma anaplásico intracraneal en adultos, glioma anaplásico, glioblastoma anaplásico, astrocitoma pilocítico, subependimoma, mixopapilar, metástasis leptomeningiales, linfoma del SNC primario, tumor espinal metastásico, o meningioma. En otra realización, dicho glioma es un astrocitoma, astrocitoma pilocítico, astrocitoma difuso, astrocitoma anaplásico, astrocitoma de grado II de la OMS de alto riesgo, oligoastrocitoma, glioma maligno recurrente, glioma de grado II de la OMS recurrente, glioma del tronco cerebral maligno o intrínseco recién diagnosticado, glioma no del tronco cerebral extirpado de modo incompleto, o glioma de grado bajo no extirpable recurrente.
35
40
45

Por último, la presente invención proporciona un método para mejorar el transporte dirigido de una vacuna del cáncer a células madre del cáncer, que comprende determinar el motivo de unión de un epitopo de clase I o de clase II de EphA2, y realizar sustituciones en la secuencia de aminoácidos de modo que los péptidos modificados son capaces de inducir una respuesta inmunológica que es al menos tan eficaz para destruir células madre del cáncer como el péptido de tipo salvaje.
50

En ciertas realizaciones, las sustituciones son en al menos un aminoácido implicado en (i) la unión a la molécula de MHC, (ii) el contacto con el receptor de células T, o (iii) la alteración de la conformación del péptido, de modo que la sustitución afecta a la unión de la molécula de MHC o al contacto con el receptor de células T.

55 En un aspecto, en la presente se proporcionan composiciones que comprenden un péptido de EphA2 para su uso en métodos para tratar un cáncer en un sujeto, que comprenden administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de dichas composiciones a dicho sujeto, y medir la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto. En una realización específica, se mide la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto que expresan EphA2. En una realización específica, se mide la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto que expresan CD133. En otra realización específica, se mide la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto
60

que expresan EphA2 y CD133.

5 En otro aspecto, en la presente se proporcionan métodos para controlar la eficacia de un tratamiento para el cáncer basado en un péptido de EphA2 (concretamente, un tratamiento o terapia que comprende la administración de un péptido derivado de EphA2) para un paciente con cáncer, que comprenden controlar la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto antes, durante y/o después de un tratamiento para el cáncer de un paciente. En una realización específica, se mide la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto que expresan EphA2. En una realización específica, se mide la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto que expresan CD133. En otra realización específica, se mide la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto que expresan EphA2 y CD133.

10 En otro aspecto, en la presente se proporcionan composiciones que comprende un epitopo de células T de EphA2 para su uso en métodos para tratar un cáncer, en el que el epitopo de células T de EphA2 se dirige a células madre del cáncer, en el que dicho epitopo es suficiente para inducir una respuesta inmunológica en un paciente con cáncer.

15 En otro aspecto, en la presente se proporcionan compuestos que se dirigen a EphA2 para su uso en métodos para tratar un cáncer en un sujeto, que comprenden administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto que se dirige a la proteína EphA2, en el que dicho compuesto es capaz de destruir y/o prevenir la diferenciación de células madre del cáncer que expresan la proteína EphA2. En una realización específica, el compuesto es un anticuerpo que se une específicamente a EphA2.

20 En otro aspecto, en la presente se proporcionan métodos para mejorar el transporte dirigido de una vacuna del cáncer a células madre del cáncer, que comprenden determinar el motivo de unión de un epitopo de clase I o de clase II de EphA2, y realizar sustituciones en la secuencia de aminoácidos de modo que los péptidos modificados son capaces de inducir una respuesta inmunológica que es al menos tan eficaz para destruir células madre del cáncer como el péptido de tipo salvaje.

25 En la presente también se describen métodos para tratar un cáncer en un sujeto, que comprenden administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido derivado de la proteína IL-13R α 2 y controlar la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto. Para este objetivo, se mide la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto que expresan IL-13R α 2. Como alternativa, se mide la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto que expresan CD133. En otro ejemplo, se mide la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto que expresan IL-13R α 2 y CD133.

30 En la presente también se describen métodos para controlar la eficacia de un tratamiento para el cáncer basado en un péptido de IL-13R α 2 (concretamente, un tratamiento o terapia que comprende la administración de un péptido derivado de IL-13R α 2) para un paciente con cáncer, que comprenden controlar la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto antes, durante y/o después de un tratamiento para el cáncer de un paciente. Para este objetivo, se mide la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto que expresan IL-13R α 2. Como alternativa, se mide la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto que expresan CD133. En otro ejemplo, se mide la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto que expresan IL-13R α 2 y CD133.

35 En la presente también se describen métodos para tratar un cáncer, que comprenden administrar un epitopo de células T de IL-13R α 2 que se dirige a células madre del cáncer, en el que dicho epitopo es suficiente para inducir una respuesta inmunológica en un paciente con cáncer.

40 En la presente también se describen métodos para tratar un cáncer en un sujeto, que comprenden administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que se dirige a la proteína IL-13R α 2, en los que dicho compuesto es capaz de destruir y/o prevenir la diferenciación de células madre del cáncer que expresan la proteína IL-13R α 2. En un ejemplo, el compuesto es un anticuerpo que se une específicamente a IL-13R α 2.

45 En la presente también se describen métodos para mejorar el transporte dirigido de una vacuna del cáncer a células madre del cáncer, que comprenden determinar el motivo de unión de un epitopo de clase I o de clase II de IL-13R α 2, y realizar sustituciones en la secuencia de aminoácidos de modo que los péptidos modificados son capaces de inducir una respuesta inmunológica que es al menos tan eficaz para destruir células madre del cáncer como el péptido de tipo salvaje.

3.1 Definiciones

50 Tal como se emplean en la presente, la expresión "alrededor de" o el término "aproximadamente", cuando se usan junto con un número, se refieren a cualquier número dentro del 1, 5 o 10% del número indicado.

55 Tal como se emplea en la presente, el término "agente" se refiere a cualquier molécula, compuesto y/o sustancia que puede utilizarse en un método de tratamiento descrito en la presente o en combinación con este. El término agente incluye, sin limitación, proteínas, inmunoglobulinas (por ejemplo, Ig multiespecíficas, Ig monocatenarias, fragmentos de Ig, anticuerpos policlonales y sus fragmentos, anticuerpos monoclonales y sus fragmentos), péptidos (por ejemplo, receptores peptídicos, selectinas), proteínas de unión, productos biológicos, agentes quimioespecíficos, agentes quimiotóxicos, agentes antiangiogénicos y fármacos de molécula pequeña.

Tal como se emplea en la presente, el término "péptido" se refiere a un polímero de aminoácidos unidos a través de enlaces amida, tal como conocen los expertos en la técnica. Un péptido puede ser un polímero de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100 o más aminoácidos unidos a través de enlaces amida covalentes. En algunas realizaciones, el péptido es un polímero de 6 a 8, de 8 a 10, de 10 a 15, de 10 a 20, de 10 a 25, de 10 a 30, de 10 a 40, de 10 a 50, o de 25 a 25 aminoácidos unidos a través de enlaces amida covalentes. En ciertas realizaciones, el péptido es un polímero de 50 a 65, de 50 a 75, de 50 a 85, de 50 a 95, de 50 a 100, de 75 a 100 aminoácidos unidos a través de enlaces amida covalentes. Tal como se emplea en la presente, el término puede referirse a una única cadena peptídica unida a través de enlaces amida covalentes. El término también puede referirse a múltiples cadenas peptídicas asociadas a través de interacciones no covalentes, tales como contactos iónicos, enlaces de hidrógeno, contactos de Van der Waals y contactos hidrófobos. Los expertos en la técnica reconocerán que el término incluye péptidos que han sido modificados, por ejemplo, mediante un procesamiento postraduccional, tal como la ruptura de un péptido señal, la formación de enlaces disulfuro, la glicosilación (por ejemplo, glicosilación *N*-enlazada), la ruptura por proteasas y la modificación con lípidos (por ejemplo, S-palmitoilación).

Tal como se emplean en la presente, los términos "purificado" y "aislado", cuando se emplean en el contexto de un péptido que se obtiene a partir de una fuente natural, por ejemplo, células, se refieren a un péptido que está sustancialmente exento de materiales contaminantes procedentes de la fuente natural, por ejemplo, partículas de suciedad, minerales, productos químicos del entorno y/o materiales celulares procedentes de la fuente natural, tales como, pero sin limitarse a residuos celulares, materiales de la pared celular, membranas, orgánulos, la masa de los ácidos nucleicos, carbohidratos, proteínas y/o lípidos presentes en las células. Así, un péptido que está aislado incluye preparaciones de un polipéptido que presenten menos de aproximadamente 30%, 20%, 10%, 5%, 2% o 1% (en peso seco) de materiales celulares y/o materiales contaminantes. Tal como se emplean en la presente, los términos "purificado" y "aislado", cuando se emplean en el contexto de un péptido que se sintetiza de modo químico, se refieren a un péptido que está sustancialmente exento de precursores químicos u otros productos químicos que están implicados en la síntesis del polipéptido.

Tal como se emplea en la presente, la expresión "ácido nucleico" pretende incluir moléculas de ADN (por ejemplo, ADNc o ADN genómico) y moléculas de ARN (por ejemplo, ARNm) y análogos del ADN o ARN generados empleando análogos de nucleótidos. El ácido nucleico puede ser monocatenario o bicatenario.

Tal como se emplea en la presente, la expresión "régimen terapéuticamente eficaz" se refiere a un régimen para dosificar, programar y para determinar la frecuencia y la duración de la administración de una o más terapias para el tratamiento y/o la gestión de un cáncer o de uno de sus síntomas.

Tal como se emplean en la presente, los términos "sujeto" o "paciente" se emplean de modo intercambiable para indicar un animal (por ejemplo, aves, reptiles y mamíferos). En una realización específica, un sujeto es un ave. En otra realización, un sujeto es un mamífero, que incluye un mamífero no primate (por ejemplo, un camello, burro, cebra, vaca, cerdo, caballo, cabra, oveja, gato, perro, rata y ratón) y un primate (por ejemplo, un mono, chimpancé y ser humano). En ciertas realizaciones, un sujeto es un animal no humano. En algunas realizaciones, un sujeto es un animal de granja o mascota. En otra realización, un sujeto es un ser humano. En otra realización, un sujeto es un bebé humano. En otra realización, un sujeto es un niño pequeño humano. En otra realización, un sujeto es un niño humano. En otra realización, un sujeto es un adulto humano. En otra realización, un sujeto es un ser humano anciano.

Tal como se emplea en la presente, la expresión "cáncer cerebral" se refiere a un tumor localizado dentro del cráneo o en el canal espinal central. El cáncer cerebral se refiere a tumores primarios (es decir, tumores que se originan en la esfera intracraneal o el canal espinal central) y tumores secundarios (es decir, tumores que invaden la esfera intracraneal o el canal espinal central después de originarse de tumores localizados en un principio en otros órganos).

Tal como se emplean en la presente, los términos "terapias" y "terapia" pueden referirse a cualquier protocolo o protocolo, método o métodos, composición o composiciones, formulación o formulaciones y/o agente o agentes que pueden emplearse en la prevención o el tratamiento del cáncer cerebral o una enfermedad o síntoma asociado con él. En ciertas realizaciones, los términos "terapias" y "terapia" se refieren a una terapia biológica, terapia de apoyo y/u otras terapias útiles en el tratamiento o la prevención de un cáncer o una enfermedad o síntoma asociado con él conocido por los expertos en la técnica.

Tal como se emplea en la presente, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad de una terapia que es suficiente para dar como resultado la prevención del desarrollo, la recurrencia o la aparición de un cáncer o de uno o más de sus síntomas, para potenciar o mejorar el efecto o efectos profilácticos de otra terapia, para reducir la gravedad, la duración de un cáncer, para mejorar uno o más síntomas de un cáncer, para prevenir el avance de un cáncer, para provocar la regresión de un cáncer y/o para potenciar o mejorar el efecto o efectos terapéuticos de otra terapia. En una realización, la cantidad de una cantidad terapéuticamente eficaz es eficaz para lograr uno, dos, tres o más resultados tras la administración de una, dos, tres o más terapias: (1) la estabilización, reducción o eliminación de la población de células madre del cáncer; (2) la estabilización, reducción o eliminación de la población de células cancerosas; (3) la estabilización o reducción del crecimiento de un tumor o neoplasma; (4)

5 impedir la formación de un tumor; (5) la erradicación, retirada o control de un cáncer primario, regional y/o metastásico; (6) una reducción en la mortalidad; (7) un aumento en la supervivencia sin enfermedad, sin recaída, sin avance y/o global, su duración o su tasa; (8) un aumento en la tasa de respuesta, en la durabilidad de la respuesta o en el número de pacientes que responden o que están en remisión; (9) una disminución en la tasa de hospitalización, (10) una disminución en el tiempo de hospitalización, (11) el mantenimiento del tamaño del tumor sin que aumente o con un aumento menor que 10%, preferiblemente menor que 5%, preferiblemente menor que 4%, preferiblemente menor que 2%, (12) un aumento en el número de pacientes en remisión, (13) un aumento en la longitud o duración de la remisión, (14) una disminución en la tasa de recurrencia del cáncer, (15) un aumento en el tiempo hasta la recurrencia del cáncer, y (16) una mejora de los síntomas relacionados con el cáncer y /o la calidad de vida.

10 Tal como se emplea en la presente, la expresión "en combinación", en el contexto de la administración de una terapia a un sujeto, se refiere al uso de más de una terapia (por ejemplo, profiláctica y/o terapéutica). El uso del término "en combinación" no limita el orden en que se administran las terapias (por ejemplo, una primera y una segunda terapia) a un sujeto. Una terapia puede administrarse antes (por ejemplo, 1 minuto, 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas, o 12 semanas antes), al mismo tiempo, o después (por ejemplo, 1 minuto, 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas, o 12 semanas después) de la administración de una segunda terapia a un sujeto que tuvo, tiene o es susceptible de tener cáncer cerebral. Las terapias se administran a un sujeto en una secuencia y dentro de un intervalo de tiempo de modo que las terapias pueden actuar juntas. En una realización concreta, las terapias se administran a un sujeto en una secuencia y dentro de un intervalo de tiempo de modo que proporcionan un mayor beneficio que si se administrasen de otro modo. Puede administrarse cualquier terapia adicional en cualquier orden con la otra terapia adicional.

25 Tal como se emplean en la presente, los términos "gestión" y "gestionar", en el contexto de la administración de una terapia a un sujeto, se refieren a los efectos beneficiosos que obtiene un sujeto de una terapia (por ejemplo, una vacuna profiláctica o terapéutica) o una combinación de terapias, aunque no resulte en la cura de un cáncer. En ciertas realizaciones, a un sujeto se le administran una o más terapias (por ejemplo, una o más vacunas profilácticas o terapéuticas) para "gestionar" el cáncer para evitar el avance o el empeoramiento del trastorno.

30 Tal como se emplean en la presente, los términos "prevenir" y "prevención", en el contexto de la administración de una terapia a un sujeto, se refieren a la prevención o la inhibición de la recurrencia, la aparición y/o el desarrollo de cáncer cerebral o uno de sus síntomas en un sujeto, que resulta de la administración de una terapia (por ejemplo, un agente profiláctico o terapéutico) o una combinación de terapias (por ejemplo, una combinación de agentes profilácticos o terapéuticos).

35 Tal como se emplea en la presente, la expresión "al mismo tiempo" significa lo suficientemente cercano en el tiempo para producir un efecto combinado (es decir, al mismo tiempo puede ser simultáneamente o pueden ser dos o más acontecimientos que se producen dentro de un periodo de tiempo antes o después del otro u otros). Cuando se administran con otros agentes, los péptidos de EphA2 y/o IL-13R α 2 proporcionados en la presente pueden administrarse al mismo tiempo que el otro agente activo. En algunas realizaciones, los péptidos de EphA2 y/o IL-13R α 2 proporcionados en la presente y uno o más agentes adicionales (por ejemplo, un epitopo de células T auxiliares, un adyuvante y/o un modificador de la respuesta inmunológica) se administran a un sujeto al mismo tiempo, en el que la administración del péptido de EphA2 y/o IL-13R α 2 y dichos uno o más agentes adicionales se realiza en la misma composición. En otras realizaciones, un péptido de EphA2 y/o IL-13R α 2 y uno o más agentes adicionales (por ejemplo, un epitopo de células T auxiliares, un adyuvante y/o un modificador de la respuesta inmunológica) se administran a un sujeto al mismo tiempo, en el que la administración del péptido de EphA2 y/o IL-13R α 2 y dichos uno o más agentes adicionales no se realiza en la misma composición. En ciertas realizaciones, un péptido de EphA2 y/o IL-13R α 2 proporcionados en la presente y uno o más agentes adicionales (por ejemplo, un epitopo de células T auxiliares, un adyuvante y/o un modificador de la respuesta inmunológica) se administran a un sujeto al mismo tiempo, en el que la administración al mismo tiempo está separada por al menos 1 hora, 2 horas, 3 horas, 4 horas, 5 horas, 10 horas, 12 horas, 1 días, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 1 semana o 2 semanas.

55 Tal como se emplea en la presente, la expresión "péptido de EphA2" se refiere a un péptido derivado de la proteína EphA2. En una realización específica, la proteína EphA2 de la cual se deriva un péptido de EphA2 es la proteína EphA2 humana. En otra realización específica, un péptido de EphA2 comprende o consiste en la siguiente secuencia de aminoácidos: TLADFDPRV (SEQ ID NO:1). En algunas realizaciones, un péptido de EphA2 comprende una, dos, tres o más mutaciones de aminoácidos (por ejemplo, adiciones, sustituciones o deleciones) con relación al péptido de EphA2 tal como existe en la forma nativa (por ejemplo, de tipo salvaje) de la proteína EphA2.

60 Tal como se emplea en la presente, la expresión "péptido de IL-13R α 2" se refiere a un péptido derivado de la proteína IL-13R α 2. En una realización específica, la proteína IL-13R α 2 de la cual se deriva un péptido de IL-13R α 2 es la proteína IL-13R α 2 humana. En otra realización específica, un péptido de IL-13R α 2 comprende o consiste en la siguiente secuencia de aminoácidos: WLPFGFILI (SEQ ID NO:2). En otra realización específica, un péptido de IL-

13R α 2 comprende o consiste en la siguiente secuencia de aminoácidos: WLPFGFILV (SEQ ID NO:3). En otra realización específica, un péptido de IL-13R α 2 comprende o consiste en la siguiente secuencia de aminoácidos: ALPFGFILV (SEQ ID NO:4). En otra realización específica, un péptido de IL-13R α 2 comprende o consiste en la siguiente secuencia de aminoácidos: ELPFGFILV (SEQ ID NO:5). En algunas realizaciones, un péptido de IL-13R α 2 comprende una, dos, tres o más mutaciones de aminoácidos (por ejemplo, adiciones, sustituciones o deleciones) con relación al péptido de IL-13R α 2 tal como existe en la forma nativa (por ejemplo, de tipo salvaje) de la proteína IL-13R α 2.

Tal como se emplea en la presente y a menos que se indique lo contrario, el término "anticuerpo" se refiere a una molécula con un sitio de unión a un antígeno que se une inmunoespecíficamente a un antígeno. Los anticuerpos incluyen, pero no se limitan a anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos producidos de modo recombinante, anticuerpos multiespecíficos (que incluyen anticuerpos biespecíficos), anticuerpos humanos, anticuerpos humanizados, anticuerpos quiméricos, anticuerpos sintéticos, anticuerpos tetrameros que comprenden dos moléculas de cadena pesada y dos de cadena ligera, un monómero de cadena ligera de anticuerpo, un monómero de cadena pesada de anticuerpo, un dímero de cadena ligera de anticuerpo, un dímero de cadena pesada de anticuerpo, una pareja de cadena ligera de anticuerpo-cadena pesada de anticuerpo, intracuerpos, anticuerpos heteroconjugados, anticuerpos de dominio único, anticuerpos monovalentes, Fv monocatenarios (scFv) (por ejemplo, que incluyen mono-específicos, biespecíficos, etc.), anticuerpos camelizados, fragmentos Fab, fragmentos F(ab'), Fv unidos por disulfuro (sdFv), anticuerpos anti-idiotípicos (anti-Id) (que incluyen, por ejemplo, anticuerpos anti-anti-Id), y fragmentos de unión a un epítipo de cualquiera de los anteriores. Los anticuerpos pueden ser de cualquier tipo (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA o IgY), cualquier clase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 o IgA2), o cualquier subclase (por ejemplo, IgG2a o IgG2b) de molécula de inmunoglobulina. En ciertas realizaciones, los anticuerpos descritos en la presente son anticuerpos IgG, o una de sus clases (por ejemplo, IgG1 o IgG4 humana) o sus clases.

4. Breve descripción de los dibujos

La figura 1 demuestra que la mayoría de las células de la línea celular de cáncer A-172 expresan EphA2 e IL-13R α 2 a altos niveles, pero solo una fracción de estas células expresa CD133.

La figura 2 muestra la tinción conjunta de células CD133 y EphA2 de la línea celular de cáncer A-172 y demuestra que las células CD133+ de la línea celular también expresan EphA2.

La figura 3 muestra la tinción conjunta de células CD133 y IL-13R α 2 de la línea celular de cáncer A-172 y demuestra que las células CD133+ de la línea celular también expresan IL-13R α 2.

La figura 4 demuestra que las células CD133+ de la línea celular de cáncer A-172 también expresan EphA2.

La figura 5 demuestra que las células CD133+ de la línea celular de cáncer A-172 también expresan IL-13R α 2.

La figura 6 demuestra que la mayoría de las células de la línea celular de cáncer A-172 expresan EphA2 e IL-13R α 2 a altos niveles, pero solo una fracción de estas células expresa CD133.

La figura 7 demuestra que solo una fracción de las células de la línea celular de cáncer A-172 expresan CD133.

La figura 8 demuestra que las células CD133+ de la línea celular de cáncer A-172 también expresan EphA2 e IL-13R α 2.

5. Descripción detallada

La presente invención proporciona una composición que comprende un péptido de EphA2 para su uso en un método para tratar, prevenir o gestionar un cáncer en un sujeto que lo necesita, que comprende (i) administrar dicha composición a dicho sujeto, y (ii) medir la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto.

En ciertas realizaciones de la composición para su uso en la invención, el método comprende además (iii) comparar la cantidad de células madre del cáncer en una muestra obtenida del paciente con la cantidad de células madre del cáncer en una muestra de referencia, o con un intervalo de referencia predeterminado, en el que una estabilización o una disminución en la cantidad de células madre del cáncer en la muestra con relación a la muestra de referencia, o a un intervalo de referencia predeterminado, indica que el método es eficaz.

En otra realización de la composición para su uso en la invención, dicho péptido de EphA2 se carga en células dendríticas. En otra realización, dicho EphA2: (i) es un epítipo de células T de EphA2, preferiblemente en el que dicho epítipo de células T de EphA2 induce una respuesta inmunológica en un sujeto; o (ii) comprende SEQ ID NO:1 o consiste en SEQ ID NO:1.

En otro aspecto de la invención, se proporciona un método para controlar la eficacia de una terapia para el cáncer basada en un péptido de EphA2 en un paciente con cáncer, comprendiendo dicho método: (a) medir la cantidad de células madre del cáncer en el paciente o del paciente antes y después de la administración de la terapia para el cáncer basada en el péptido de EphA2; y (b) comparar la cantidad de células madre del cáncer en el paciente o del

paciente antes de la administración de la terapia para el cáncer con la cantidad de células madre del cáncer en el paciente o del paciente después de la administración de la terapia para el cáncer basada en el péptido de EphA2, en el que se determina que la terapia para el cáncer es eficaz si la cantidad de células madre del cáncer en el paciente o del paciente después de la administración de la terapia para el cáncer es equivalente o es menor que la cantidad de células madre del cáncer en el paciente o del paciente antes de la administración de la terapia para el cáncer.

En ciertas realizaciones de la composición para su uso en la invención, o del método para controlar la eficacia de la terapia, dicha cantidad de células madre del cáncer se mide empleando una biopsia, un fluido biológico, una biopsia de médula ósea, una biopsia de tumor, o una biopsia de tejido normal del sujeto o paciente, respectivamente. En otra realización, dicha cantidad de células madre del cáncer se mide determinando la cantidad de células madre del cáncer que expresan EphA2, o células madre del cáncer que expresan CD133. En otra realización, dicha cantidad de células madre del cáncer se mide: (i) empleando un inmunoensayo, en el que el inmunoensayo se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en transferencias Western, inmunohistoquímica, radioinmunoensayos, ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas), inmunoensayos de "sandwich", ensayos de inmunoprecipitación, reacciones de precipitina, reacciones de precipitina de difusión en gel, ensayos de inmunodifusión, ensayos de aglutinación, ensayos de fijación del complemento, ensayos inmunoradiométricos, inmunoensayos fluorescentes, inmunofluorescencia, inmunoensayos de proteína A, citometría de flujo y análisis FACS; (ii) empleando un citómetro de flujo, en el que la cantidad de células madre del cáncer se determina preferiblemente con uno o más anticuerpos que se unen a marcadores de la superficie celular, o en el que las células madre del cáncer se ponen preferiblemente en contacto con uno o más tintes antes de la detección en el citómetro de flujo; (iii) inmunohistoquímica; (iv) empleando un ensayo formado de esferas; (v) cultivando una muestra obtenida del sujeto, o una porción de esta, y cuantificando las células en un ensayo *in vitro*; (vi) empleando un ensayo de injerto *in vivo* con un ratón inmunocomprometido; o (vii) empleando la formación de imágenes, en la que dicha formación de imágenes es preferiblemente MRI, PET, FDG-PET, barrido de CT, o rayos X. En otra realización, dichas células madre del cáncer están asociadas con un cáncer cerebral.

En otro aspecto de la invención, se proporcionan compuestos que se dirigen a EphA2 para su uso en un método para tratar un cáncer en un sujeto, en el que dicho método comprende además medir la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto.

En ciertas realizaciones, dicha medición se realiza antes, durante y después de la administración de dicho compuesto. En otra realización, dicho compuesto es un anticuerpo que se une a EphA2 o a células madre del cáncer que expresan EphA2, preferiblemente en el que dicho anticuerpo es un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo monocatenario, un anticuerpo biespecífico o un fragmento de un anticuerpo específico de EphA2. En otra realización, dicho cáncer es cáncer cerebral.

En ciertas realizaciones, dicho cáncer cerebral es un glioma, glioblastoma, oligodendroglioma, glioma del tronco cerebral, glioma no del tronco cerebral, ependimoma, schwannoma acústico, craniofaringioma, meningioma, meduloblastoma, linfoma del sistema nervioso central primario, tumores de las glándulas pineal y pituitaria, astrocitoma/oligodendroglioma supratentorial infiltrante de grado bajo en adultos, astrocitoma supratentorial infiltrante de grado bajo en adultos, oligodendroglioma supratentorial infiltrante de grado bajo en adultos (excluyendo el astrocitoma pilocítico), astrocitoma supratentorial infiltrante de grado bajo en adultos (excluyendo el astrocitoma pilocítico), oligodendroglioma supratentorial infiltrante de grado bajo en adultos (excluyendo el astrocitoma pilocítico), ependimoma intracraneal en adultos, ependimoma intracraneal en adultos (excluyendo el mixopapilar y subependimoma), ependimoma anaplásico intracraneal en adultos, glioma anaplásico, glioblastoma anaplásico, astrocitoma pilocítico, subependimoma, mixopapilar, metástasis leptomeningiales, linfoma del SNC primario, tumor espinal metastásico, o meningioma. En otra realización, dicho glioma es un astrocitoma, astrocitoma pilocítico, astrocitoma difuso, astrocitoma anaplásico, astrocitoma de grado II de la OMS de alto riesgo, oligoastrocitoma, glioma maligno recurrente, glioma de grado II de la OMS recurrente, glioma del tronco cerebral maligno o intrínseco recién diagnosticado, glioma no del tronco cerebral extirpado de modo incompleto, o glioma de grado bajo no extirpable recurrente.

Por último, la presente invención proporciona un método para mejorar el transporte dirigido de una vacuna del cáncer a células madre del cáncer, que comprende determinar el motivo de unión de un epitopo de clase I o de clase II de EphA2, y realizar sustituciones en la secuencia de aminoácidos de modo que los péptidos modificados son capaces de inducir una respuesta inmunológica que es al menos tan eficaz para destruir células madre del cáncer como el péptido de tipo salvaje.

En ciertas realizaciones, las sustituciones son en al menos un aminoácido implicado en (i) la unión a la molécula de MHC, (ii) el contacto con el receptor de células T, o (iii) la alteración de la conformación del péptido, de modo que la sustitución afecta a la unión de la molécula de MHC o al contacto con el receptor de células T.

En un aspecto, en la presente se proporciona una composición que comprende un péptido de EphA2 para su uso en métodos para tratar un cáncer en un sujeto, que comprenden administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición a dicho sujeto, y medir la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto. En una realización específica, se mide la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto que

expresan EphA2. En una realización específica, se mide la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto que expresan CD133. En otra realización específica, se mide la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto que expresan EphA2 y CD133.

5 En otro aspecto, en la presente se proporcionan métodos para controlar la eficacia de un tratamiento para el cáncer basado en un péptido de EphA2 (concretamente, un tratamiento o terapia que comprende la administración de un péptido derivado de EphA2) para un paciente con cáncer, que comprenden controlar la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto antes, durante y/o después de un tratamiento para el cáncer de un paciente. En una realización específica, se mide la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto que expresan EphA2. En una realización específica, se mide la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto que expresan CD133. En otra realización específica, se mide la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto que expresan EphA2 y CD133.

En otro aspecto, en la presente se proporcionan composiciones que comprenden un epitopo de células T de EphA2 para su uso en métodos para tratar un cáncer, en el que el epitopo de células T de EphA2 se dirige a células madre del cáncer, en el que dicho epitopo es suficiente para inducir una respuesta inmunológica en un paciente con cáncer.

15 En otro aspecto, en la presente se proporcionan compuestos que se dirigen a EphA2 para su uso en métodos para tratar un cáncer en un sujeto, que comprenden administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto, en el que dicho compuesto es capaz de destruir y/o prevenir la diferenciación de células madre del cáncer que expresan la proteína EphA2. En una realización específica, el compuesto es un anticuerpo que se une específicamente a EphA2.

20 En otro aspecto, en la presente se proporcionan métodos para mejorar el transporte dirigido de una vacuna del cáncer a células madre del cáncer, que comprenden determinar el motivo de unión de un epitopo de clase I o de clase II de EphA2, y realizar sustituciones en la secuencia de aminoácidos de modo que los péptidos modificados son capaces de inducir una respuesta inmunológica que es al menos tan eficaz para destruir células madre del cáncer como el péptido de tipo salvaje.

25 Además, en la presente se describen métodos para tratar un cáncer en un sujeto, que comprenden administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido derivado de la proteína IL-13R α 2 y controlar la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto. En un ejemplo, se mide la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto que expresan IL-13R α 2. En otro ejemplo, se mide la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto que expresan CD133. En otro ejemplo, se mide la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto que expresan IL-13R α 2 y CD133.

30 Además, en la presente se describen métodos para controlar la eficacia de un tratamiento para el cáncer basado en un péptido de IL-13R α 2 (concretamente, un tratamiento o terapia que comprende la administración de un péptido derivado de IL-13R α 2) para un paciente con cáncer, que comprenden controlar la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto antes, durante y/o después de un tratamiento para el cáncer de un paciente. En un ejemplo, se mide la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto que expresan IL-13R α 2. En otro ejemplo, se mide la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto que expresan CD133. En otro ejemplo, se mide la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto que expresan IL-13R α 2 y CD133.

35 Además, en la presente se describen métodos para tratar un cáncer, que comprenden administrar un epitopo de células T de IL-13R α 2 que se dirige a células madre del cáncer, en el que dicho epitopo es suficiente para inducir una respuesta inmunológica en un paciente con cáncer.

Además, en la presente se describen métodos para tratar un cáncer en un sujeto, que comprenden administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que se dirige a la proteína IL-13R α 2, en los que dicho compuesto es capaz de destruir y/o prevenir la diferenciación de células madre del cáncer que expresan la proteína IL-13R α 2. En un ejemplo, el compuesto es un anticuerpo que se une específicamente a IL-13R α 2.

45 En la presente se describen métodos para mejorar el transporte dirigido de una vacuna del cáncer a células madre del cáncer, que comprenden determinar el motivo de unión de un epitopo de clase I o de clase II de IL-13R α 2, y realizar sustituciones en la secuencia de aminoácidos de modo que los péptidos modificados son capaces de inducir una respuesta inmunológica que es al menos tan eficaz para destruir células madre del cáncer como el péptido de tipo salvaje.

50 **5.1 Métodos para controlar las células madre del cáncer**

Como parte de los regímenes profilácticamente eficaces y/o terapéuticamente eficaces descritos en la presente, las células madre del cáncer pueden controlarse para evaluar la eficacia de una terapia para el cáncer basada en un péptido de EphA2 o una terapia para el cáncer basada en un péptido de IL-13R α 2, así como para determinar la prognosis de un sujeto con cáncer o la eficacia de un régimen terapéutico o profilácticamente eficaz. En ciertas realizaciones de las terapias o regímenes profilácticamente eficaces y/o terapéuticamente eficaces descritos en la presente, las terapias o los regímenes provocan la estabilización o la reducción de las células madre del cáncer en el paciente. En una realización, el sujeto que se somete al régimen se controla para evaluar si el régimen ha

provocado una estabilización o una reducción en las células madre del cáncer en el paciente. En realizaciones específicas, los métodos para el control miden las células madre del cáncer que expresan EphA2 y/o CD133 en los sujetos a los que se les administra una terapia para el cáncer basada en un péptido de EphA2.

5 Aunque no se pretenda limitación alguna por ninguna teoría o mecanismo de acción concretos, las células madre del
 10 cáncer, por ejemplo, células madre del cáncer que expresan EphA2 y/o células madre del cáncer que expresan IL-
 13R α 2, comprenden una subpoblación exclusiva (por ejemplo, 0,1-10% aproximadamente) de un tumor que, por
 contraste con el aproximadamente 90% restante del tumor (es decir, la masa del tumor), son relativamente más
 tumorigénicas y tienen un crecimiento relativamente más lento o son quiescentes. Puesto que las terapias y
 regímenes convencionales han sido diseñados, en su mayor parte, para atacar a las células que proliferan con
 15 rapidez (es decir, las células del cáncer que forman la masa del tumor), las células madre del cáncer de crecimiento
 más lento pueden ser relativamente más resistentes que la masa del tumor, de crecimiento más rápido, a las
 terapias y regímenes convencionales. Esto explicaría otra razón para el fracaso de los regímenes de tratamiento de
 la oncología convencionales para asegurar un beneficio a largo plazo en la mayoría de los pacientes con cánceres
 de estadio avanzado. En una realización específica, una célula madre del cáncer que expresa EphA2 o una célula
 20 madre del cáncer que expresa IL-13R α 2 es la célula fundadora de un tumor (es decir, es el progenitor de las células
 del cáncer). En algunas realizaciones, una célula madre del cáncer que expresa EphA2 o una célula madre del
 cáncer que expresa IL-13R α 2 tiene una, dos, tres o más o todas las siguientes propiedades o características: (i)
 puede tener la capacidad para iniciar un tumor y/o para perpetuar el crecimiento de un tumor, (ii) puede estar en
 general relativamente menos mutada que la masa del tumor (por ejemplo, debido al crecimiento más lento y, por
 25 tanto, a menos errores dependientes de la replicación del ADN, una reparación del ADN mejorada y/o cambios
 epigenéticos/no mutagénicos que contribuyen a su malignidad), (iii) puede presentar menos características de las
 células madre normales (por ejemplo, un perfil similar de antígenos de la superficie celular y/o expresión intracelular,
 programas de autorrenovación, resistencia a múltiples fármacos, un fenotipo inmaduro, etc., característicos de las
 células madre normales) y pueden derivarse de una o más células madre normales, (iv) puede responder
 30 potencialmente a su microentorno (por ejemplo, las células madre del cáncer pueden ser capaces de ser inducidas
 para diferenciarse y/o dividirse asimétricamente), (v) puede ser la fuente de metástasis, (vi) puede ser de
 crecimiento lento o quiescente, (vii) puede dividirse simétricamente, (viii) puede ser tumorigénica (por ejemplo,
 según se determina mediante experimentos de implantación NOD/SCID), (ix) puede ser relativamente resistente a
 terapias tradicionales (es decir, quimiorresistente), y (x) puede comprender una subpoblación de un tumor (por
 ejemplo, con relación a la masa del tumor).

En ciertas realizaciones, la cantidad de células madre del cáncer en una muestra procedente de un sujeto se
 determina/evalúa empleando una técnica descrita en la presente o conocida por los expertos en la técnica. Dichas
 muestras incluyen, pero no se limitan a muestras biológicas y muestras derivadas de una muestra biológica. En
 35 ciertas realizaciones, además de la propia muestra biológica o además del material derivado de la muestra biológica,
 tal como células, la muestra empleada en la presente invención comprende agua añadida, sales, glicerina, glucosa,
 un agente antimicrobiano, parafina, un agente estabilizante químico, heparina, un anticoagulante, o un agente
 tamponante. En ciertas realizaciones, la muestra biológica es sangre, suero, orina, médula ósea o fluido intersticial.
 En otra realización, la muestra es una muestra de tejido. En una realización concreta, la muestra de tejido es tejido
 40 de mama, de cerebro, de piel, de colon, de pulmón, de hígado, ovárico, pancreático, de próstata, renal, de hueso o
 de piel. En una realización específica, la muestra de tejido es una biopsia de tejido normal o tumoral. La cantidad de
 muestra biológica tomada del sujeto variará según el tipo de muestra biológica y el método de detección que se va a
 emplear. En una realización concreta, la muestra biológica es sangre, suero, orina o médula ósea, y la cantidad de
 45 sangre, suero, orina o médula ósea tomada del sujeto es de 0,1 ml, 0,5 ml, 1 ml, 5 ml, 8 ml, 10 ml o más. En otra
 realización, la muestra biológica es un tejido y la cantidad de tejido tomada del sujeto es menos de 10 miligramos,
 menos de 25 miligramos, menos de 50 miligramos, menos de 1 gramo, menos de 5 gramos, menos de 10 gramos,
 menos de 50 gramos, o menos de 100 gramos.

Según los métodos descritos en la presente, una muestra derivada de una muestra biológica es una muestra en la
 que la muestra biológica ha sido sometida a una o más etapas de pretratamiento antes de la detección y/o la
 50 medición de la población de células madre del cáncer en la muestra. En ciertas realizaciones, un fluido biológico se
 pretrata mediante centrifugación, filtración, precipitación, diálisis o cromatografía, o mediante una combinación de
 dichas etapas de pretratamiento. En otras realizaciones, una muestra de tejido se pretrata mediante congelación,
 fijación química, inmersión en parafina, deshidratación, permeabilización, u homogeneización, seguido de
 centrifugación, filtración, precipitación, diálisis o cromatografía, o por una combinación de dichas etapas de
 pretratamiento. En ciertas realizaciones, la muestra se pretrata retirando las células distintas a las células madre o
 55 células madre del cáncer de la muestra, o retirando los residuos de la muestra antes de la determinación de la
 cantidad de células madre del cáncer en la muestra según la presente invención.

Las muestras para su uso en los métodos descritos en la presente pueden tomarse de cualquier sujeto animal,
 preferiblemente un mamífero, lo más preferiblemente un ser humano. El sujeto del cual se obtiene una muestra que
 se utiliza según los métodos de esta invención incluye, sin limitación, un sujeto asintomático, un sujeto que
 60 manifiesta o muestra 1, 2, 3, 4 o más síntomas de un cáncer, un sujeto clínicamente diagnosticado con un cáncer,
 un sujeto predispuesto a un cáncer, un sujeto sospechoso de padecer cáncer, un sujeto que se está sometiendo a
 una terapia para el cáncer, un sujeto que se ha determinado médicamente que no tiene cáncer (por ejemplo, tras
 una terapia para el cáncer), un sujeto que está gestionando un cáncer, o un sujeto que no ha sido diagnosticado con

cáncer. En ciertas realizaciones, la expresión "no tiene cáncer detectable", tal como se emplea en la presente, se refiere a un sujeto o sujetos en los que no se detecta un cáncer por medio de métodos convencionales, por ejemplo, MRI. En otras realizaciones, la expresión se refiere a un sujeto o sujetos que no presentan otro trastorno.

5 En ciertas realizaciones, la cantidad de células madre del cáncer en un sujeto o en una muestra procedente de un sujeto se evalúa antes de la terapia o régimen (por ejemplo, en la línea de base) o al menos 1, 2, 4, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 15, 16, 18, 20, 30, 60, 90 días, 6 meses, 9 meses, 12 meses, o > 12 meses después de que el sujeto comience a recibir la terapia o régimen. En ciertas realizaciones, la cantidad de células madre del cáncer se evalúa después de un cierto número de dosis (por ejemplo, después de 2, 5, 10, 20, 30 o más dosis de una terapia). En otras realizaciones, la cantidad de células madre del cáncer se evalúa después de 1 semana, 2 semanas, 1 mes, 2 meses, 1 año, 2 años, 3 años, 4 años o más después de recibir una o más terapias.

En ciertas realizaciones, una muestra de control positiva o negativa es una muestra que se obtiene o se deriva de un correspondiente tejido o fluido biológico o tumor como la muestra que se va a analizar según la presente invención. Esta muestra puede proceder del mismo paciente o de diferentes personas y del mismo momento o de momentos diferentes.

15 Para entender mejor la descripción, pero no como limitación, a continuación se remite al análisis de una muestra de sangre procedente de un paciente. Sin embargo, tal como apreciarán los expertos en la técnica, los ensayos y técnicas descritos en la presente pueden aplicarse a otros tipos de muestras de pacientes, que incluyen un fluido corporal (por ejemplo, sangre, médula ósea, plasma, orina, bilis, fluido de ascitis), una muestra de tejido sospechosa de contener material derivado de un cáncer (por ejemplo, una biopsia) o un homogeneizado de estos. La cantidad de muestra que se va a recoger variará según el tipo concreto de muestra y el método usado para determinar la cantidad de células madre del cáncer, y será una cantidad suficiente para detectar las células madre del cáncer en la muestra.

25 Puede obtenerse una muestra de sangre de un paciente que se encuentre en diferentes estadios de desarrollo o de enfermedad. La sangre puede extraerse de un sujeto desde cualquier parte del cuerpo (por ejemplo, un dedo, una mano, una muñeca, un brazo, una pierna, un pie, un tobillo, el estómago y el cuello) empleando técnicas conocidas por los expertos en la técnica, en particular los métodos de flebotomía conocidos en la técnica. En una realización específica se obtiene sangre venosa de un sujeto y se utiliza según la presente invención. En otra realización, se obtiene sangre arterial y se utiliza según la presente invención. La composición de la sangre venosa varía según las necesidades metabólicas del área del cuerpo a la que riega. Por contraste, la composición de la sangre arterial es constante a través del cuerpo. Para los ensayos de sangre habituales se emplea, en general, sangre venosa.

30 La cantidad de sangre recolectada variará dependiendo del lugar de la recolección, de la cantidad requerida para la presente invención y de la comodidad del sujeto. En algunas realizaciones, se recolecta cualquier cantidad de sangre que sea suficiente para detectar la cantidad de células madre del cáncer. En una realización específica se recoge 1 cc o más de sangre de un sujeto.

35 La cantidad de células madre del cáncer en una muestra puede expresarse como el porcentaje, por ejemplo, de células globales, de células del cáncer globales o de células madre globales en la muestra, o puede cuantificarse con relación al área (por ejemplo, células por campo de alta energía) o volumen (por ejemplo, células por ml), o arquitectura (por ejemplo, células por espícula ósea en un espécimen de médula ósea).

40 En algunas realizaciones, la muestra puede ser una muestra de sangre, una muestra de médula ósea o una muestra de una biopsia de tejido/tumor, en la que se cuantifica la cantidad de células madre del cáncer por unidad de volumen (por ejemplo, 1 ml) u otra unidad medida (por ejemplo, por unidad de campo en el caso de un análisis histológico). En ciertas realizaciones, la población de células madre del cáncer se determina como una porción (por ejemplo, un porcentaje) de las células cancerosas presentes en la sangre o la médula ósea o en una muestra de biopsia de tejido/tumor o como un subconjunto de las células cancerosas presentes en la sangre o la médula ósea o una muestra de biopsia de tejido/tumor. La población de células madre del cáncer, en otras realizaciones, puede determinarse como una porción (por ejemplo, porcentaje) de las células totales. En otras realizaciones, la población de células madre del cáncer se determina como una porción (por ejemplo, un porcentaje) de las células madre totales presentes en la muestra de sangre.

50 En otras realizaciones, la muestra procedente del paciente es una muestra de tejido (por ejemplo, una biopsia procedente de un sujeto que presenta o que se sospecha que presenta un tejido canceroso), en la que la cantidad de células madre del cáncer puede medirse, por ejemplo, mediante inmunohistoquímica o citometría de flujo o basándose en la cantidad de células madre del cáncer por unidad de área, volumen, o peso del tejido. En ciertas realizaciones, la población de células madre del cáncer (la cantidad de células madre del cáncer) se determina como una porción las células cancerosas presentes en la muestra de tejido o como un subconjunto de las células cancerosas presentes en la muestra de tejido. En otras realizaciones, la población de células madre del cáncer se determina como una porción (por ejemplo, un porcentaje) de las células o células madre globales en la muestra de tejido.

La cantidad de células madre del cáncer en una muestra de ensayo puede compararse con la cantidad de células

- 5 madre del cáncer en una o más muestras de referencia para evaluar la eficacia del régimen. En una realización, la muestra de referencia es una muestra obtenida del sujeto que se está sometiendo a terapia en un momento anterior (por ejemplo, antes de recibir el régimen como muestra de referencia de línea de base o en un momento anterior mientras está recibiendo la terapia). En esta realización, la terapia provoca, de modo deseable, una disminución en la cantidad de células madre del cáncer en la muestra de ensayo, comparado con la muestra de referencia. En otra realización, la muestra de referencia se obtiene a partir de un sujeto sano sin cáncer detectable, o de un paciente que se encuentra en remisión del mismo tipo de cáncer. En esta realización, la terapia provoca, de modo deseable, que la muestra de ensayo presente una cantidad equivalente de células madre del cáncer, o menor que la cantidad de células madre del cáncer que se detectan en la muestra de referencia.
- 10 En otras realizaciones, la población de células madre del cáncer en una muestra de ensayo puede compararse con un intervalo de referencia predeterminado y/o una cantidad previamente detectada de células madre del cáncer determinada para el sujeto para calibrar la respuesta del sujeto a los regímenes descritos en la presente. En una realización concreta, la estabilización o la reducción en la cantidad de células madre del cáncer con relación a un intervalo de referencia predeterminado y/o una cantidad anterior (previamente detectada) de células madre del
- 15 cáncer determinada para el sujeto indica una mejora en la prognosis del sujeto o una respuesta positiva al régimen, mientras que un aumento con relación al intervalo de referencia predeterminado y/o una cantidad anterior de células madre del cáncer indica la misma prognosis o una prognosis peor y/o una respuesta fallida al régimen. La cantidad de células madre del cáncer puede emplearse junto con otras mediciones para evaluar la prognosis del sujeto y/o la eficacia del régimen. En una realización específica, el intervalo de referencia predeterminado se basa en la cantidad
- 20 de células madre del cáncer obtenidas a partir de un paciente o una o más poblaciones de pacientes que padecen el mismo tipo de cáncer que el paciente que se está sometiendo a terapia.
- En general, puesto que los antígenos de las células madre, por ejemplo, EphA2, CD133, e IL-13R α 2, pueden estar presentes en células madre del cáncer y células madre normales, una muestra procedente del paciente con cáncer
- 25 tendrá un recuento mayor de células madre que una muestra procedente de un sujeto sano que no presenta un cáncer detectable, debido a la presencia de las células madre del cáncer. La terapia producirá, de modo deseable, una disminución en el recuento de células madre del cáncer en la muestra de ensayo (por ejemplo, la muestra procedente del paciente sometido a terapia) y que se parecerá cada vez más al recuento de células madre de una muestra de referencia, que es una muestra procedente de un sujeto sano sin cáncer detectable.
- Si se determina que la reducción en la cantidad de células madre del cáncer es inadecuada, tras comparar la
- 30 cantidad de células madre del cáncer en la muestra procedente del sujeto sometido al régimen con la muestra de referencia, entonces el médico encargado tendrá una serie de opciones posibles para ajustar el régimen. Por ejemplo, el médico encargado puede aumentar la dosificación o la intensidad de la terapia administrada, la frecuencia de la administración, la duración de la administración, puede combinar la terapia con una o más terapias adicionales, puede cambiar la gestión en su conjunto, incluyendo la terapia de detención, o cualquiera de sus
- 35 combinaciones.
- En ciertas realizaciones, se modifica la dosificación, la frecuencia y/o la duración de la administración de una terapia como resultado del cambio en la cantidad de células madre del cáncer detectadas en el paciente o del paciente. Por ejemplo, si un sujeto que recibe terapia para la leucemia tiene una medición de células madre del cáncer del 2,5%
- 40 de su tumor antes de la terapia y del 5% después de 6 semanas de terapia, entonces la terapia o régimen puede alterarse o detenerse porque el aumento en el porcentaje de células madre del cáncer indica que la terapia o régimen no es óptimo. Como alternativa, si otro sujeto tiene una medición de células madre del cáncer del 2,5% de su tumor antes de la terapia y del 1% después de 6 semanas de terapia, entonces la terapia o régimen puede continuar porque la disminución en el porcentaje de células madre del cáncer indica que la terapia o régimen es eficaz.
- 45 La cantidad de células madre del cáncer puede controlarse/evaluarse empleando técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica. Las células madre del cáncer pueden controlarse, por ejemplo, obteniendo una muestra, tal como una muestra de tejido/tumor, una muestra de sangre o una muestra de médula ósea, de un sujeto, y detectando las células madre del cáncer en la muestra. La cantidad de células madre del cáncer en una muestra (que puede expresarse como porcentaje, por ejemplo, de células globales o de células del cáncer globales)
- 50 puede evaluarse detectando la expresión de antígenos de células madre del cáncer (por ejemplo, EphA2) sobre células madre del cáncer. Pueden emplearse técnicas conocidas por los expertos en la técnica para medir estas actividades. La expresión de los antígenos puede ensayarse, por ejemplo, mediante inmunoensayos que incluyen, pero no se limitan a transferencias Western, inmunohistoquímica, radioinmunoensayos, ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas), inmunoensayos de "sandwich", ensayos de inmunoprecipitación, reacciones
- 55 de precipitina, reacciones de precipitina de difusión en gel, ensayos de inmunodifusión, ensayos de aglutinación, ensayos de fijación del complemento, ensayos inmunoradiométricos, inmunoensayos fluorescentes, inmunofluorescencia, inmunoensayos de proteína A, citometría de flujo y análisis FACS. En estas circunstancias, la cantidad de células madre del cáncer en una muestra de ensayo puede determinarse comparando los resultados de la cantidad de células madre del cáncer en una muestra de referencia (por ejemplo, una muestra procedente de un
- 60 sujeto sin cáncer detectable) o con un intervalo de referencia predeterminado, o con el propio paciente en un momento anterior (por ejemplo, antes o durante la terapia).

En una realización específica, se determina la población de células madre del cáncer en una muestra procedente de un paciente mediante citometría de flujo. Este método aprovecha la expresión diferencial de ciertos marcadores de la superficie de las células. Pueden usarse anticuerpos marcados (por ejemplo, anticuerpos fluorescentes) específicos para antígenos de células madre del cáncer (por ejemplo, EphA2) para hacerlos reaccionar con las células en la muestra y después las células se clasifican mediante métodos FACS. En algunas realizaciones, se emplea una combinación de marcadores de la superficie celular para determinar la cantidad de células madre del cáncer en la muestra. Por ejemplo, puede usarse una clasificación de células positiva y negativa para evaluar la cantidad de células madre del cáncer en la muestra. En una realización específica, se determina la población de células madre del cáncer en una muestra, por ejemplo, una muestra de tejido, tal como una biopsia de un tumor sólido, empleando técnicas de inmunohistoquímica. Este método aprovecha la expresión diferencial de ciertos marcadores de la superficie de las células. Pueden usarse anticuerpos marcados (por ejemplo, anticuerpos fluorescentes) específicos para antígenos de células madre del cáncer (por ejemplo, EphA2) para hacerlos reaccionar con las células en la muestra y después el tejido se tiñe. En algunas realizaciones, se emplea una combinación de marcadores de la superficie celular para determinar la cantidad de células madre del cáncer en la muestra.

En otras realizaciones, puede emplearse la formación de esferas para determinar la cantidad de células madre del cáncer en una muestra (véase, Singh *et al.*, "Identification of a Cancer Stem Cell from Human Brain Tumors", *Cancer Res.*, 63:5821-5828 (2003).

En otras realizaciones, una muestra (por ejemplo, una muestra de tumor o tejido normal, una muestra de sangre o una muestra de médula ósea) obtenida de un paciente se analiza en sistemas *in vivo* para determinar la población de células madre del cáncer o la cantidad de células madre del cáncer. En ciertas realizaciones, se emplea, por ejemplo, el injerto *in vivo* para cuantificar la cantidad de células madre del cáncer en una muestra. El injerto *in vivo* implica la implantación de un espécimen humano con el objetivo de que se forman tumores en un animal, tal como en ratones inmunocomprometidos o inmunodeficientes (tales como ratones NOD/SCID). Generalmente, la muestra del paciente se cultiva o se manipula *in vitro* y después se inyecta en los ratones. En estos ensayos, los ratones pueden inyectarse con una cantidad decreciente de células procedentes de muestras de pacientes, y puede representarse gráficamente la frecuencia de la formación de tumores frente a la cantidad de células inyectadas para determinar la cantidad de células madre del cáncer en la muestra. Como alternativa, puede medirse la velocidad de crecimiento del tumor resultante y los tumores más grandes o de avance más rápido indicarán una mayor cantidad de células madre del cáncer en la muestra del paciente. De esta forma, puede emplearse un ensayo/modelo de injerto *in vivo* para medir la cantidad de células madre del cáncer antes y después de la terapia para evaluar el cambio en la cantidad de células madre del cáncer que surge de una terapia o régimen concreto.

En ciertas técnicas *in vivo*, se emplea un agente de formación de imágenes o un agente de diagnóstico que se une a moléculas biológicas sobre células del cáncer o células madre del cáncer, por ejemplo, se une a EphA2 sobre células madre del cáncer. Por ejemplo, se une un marcador fluorescente, radionúclido, metal pesado, o emisor de fotones a un anticuerpo (que incluye un fragmento de anticuerpo) que se une a EphA2. El médico encargado puede infundir el anticuerpo marcado al paciente antes, durante o después del tratamiento y después el médico puede colocar al paciente en un revelador/escáner corporal total que puede detectar el marcador unido (por ejemplo, marcador fluorescente, radionúclido, metal pesado, emisor de fotones). El revelador/escáner (por ejemplo, CT, MRI u otro escáner, por ejemplo, un detector del marcador fluorescente, que pueda detectar el marcador) registra la presencia, la cantidad, y la localización corporal del anticuerpo unido. De esta manera, el cartografiado y la cuantificación del marcador (por ejemplo, fluorescencia, radiactividad, etc.) en patrones (es decir, diferentes de los patrones de las células madre normales dentro de un tejido) dentro de un tejido o tejidos indica la eficacia del tratamiento dentro del cuerpo del paciente cuando se compara con un control de referencia, tal como el mismo paciente en un momento anterior o un paciente o individuo sano sin cáncer detectable. Por ejemplo, una señal grande (con relación a un intervalo de referencia o a una fecha de tratamiento anterior o a antes del tratamiento) en una localización concreta indica la presencia de células madre del cáncer. Si esta señal aumenta con relación a una fecha anterior, esto sugiere el agravamiento de la enfermedad y el fracaso de la terapia o régimen. Como alternativa, una disminución de la señal indica que la terapia o régimen ha sido eficaz.

En una realización específica, la cantidad de células madre del cáncer se detecta *in vivo* en un sujeto según un método que comprende las etapas de: (a) administrar al sujeto una cantidad eficaz de un agente de unión marcado que se une específicamente a un antígeno de las células madre del cáncer (por ejemplo, EphA2 o CD133), y (b) detectar el agente marcado en el sujeto después de un intervalo de tiempo suficiente para permitir que el agente marcado se concentre en sitios del sujeto en los que se expresa el marcador de la superficie de células madre del cáncer. Según esta realización, el agente de unión se administra al sujeto según cualquier método adecuado en la técnica, por ejemplo, por vía parenteral (tal como intravenosa), o intraperitoneal. Según esta realización, la cantidad eficaz del agente es la cantidad que permite la detección del agente en el sujeto. Esta cantidad variará según el sujeto concreto, el marcador utilizado y el método de detección empleado. Por ejemplo, en la técnica se sabe que el tamaño del sujeto y el sistema de formación de imágenes utilizado determinarán la cantidad de agente marcado necesario para detectar el agente en un sujeto empleando medios de formación de imágenes. En el caso de un agente radiomarcado para un sujeto humano, la cantidad de agente marcado administrada se mide en términos de radiactividad, por ejemplo, de aproximadamente 5 a 20 milicurios de ⁹⁹Tc. El intervalo de tiempo después de la administración del agente marcado que es suficiente para permitir al agente marcado concentrarse en sitios en el

5 sujeto en los que el marcador de la superficie de las células madre del cáncer se expresa variará dependiendo de varios factores, por ejemplo, el tipo de marcador utilizado, el modo de administración y la parte del cuerpo del sujeto de la cual se está formando la imagen. En una realización concreta, el intervalo de tiempo que es suficiente es de 6 a 48 horas, de 6 a 24 horas, o de 6 a 12 horas. En otra realización, el intervalo de tiempo es de 5 a 20 días, o de 5 a 10 días. La presencia del agente marcado que se une al marcador de la superficie de las células madre del cáncer puede detectarse en el sujeto empleando medios de formación de imágenes conocidos en la técnica. En general, el medio de formación de imágenes empleado depende del tipo de marcador utilizado. Los expertos en la técnica podrán determinar el medio apropiado para detectar un marcador concreto. Los métodos y los dispositivos que pueden utilizarse incluyen, pero no se limitan a tomografía computerizada (CT), barridos del cuerpo completo, tal como tomografía de emisión de positrones (PET), formación de imágenes por resonancia magnética (MRI), un aparato para la formación de imágenes que pueda detectar y localizar el marcador fluorescente, y sonografía. En una realización específica, el agente de unión al cáncer se marca con un radioisótopo y se detecta en el paciente empleando un instrumento quirúrgico que responde a la radiación (Thurston *et al.*, patente de EE. UU. n.º 5.441.050). En otra realización, el agente de unión se marca con un compuesto fluorescente y se detecta en el paciente utilizando un instrumento de barrido que responde a la fluorescencia. En otra realización, el agente de unión se marca con un metal emisor de positrones y se detecta en el paciente empleando la tomografía de emisión de positrones. En otra realización, el agente de unión se marca con un marcador paramagnético y se detecta en el paciente utilizando la formación de imágenes de resonancia magnética (MRI).

20 Cualquier ensayo *in vitro* o *in vivo* (*ex vivo*) conocido por los expertos en la técnica que pueda detectar y/o cuantificar células madre del cáncer puede utilizarse para controlar las células madre del cáncer en un sujeto o de un sujeto para evaluar la utilidad profiláctica y/o terapéutica de una terapia o régimen para el cáncer descrito en la presente para el cáncer o uno o más de sus síntomas, o estos ensayos pueden emplearse para evaluar la prognosis de un paciente. Los resultados de estos ensayos entonces pueden emplearse para posiblemente mantener o alterar la terapia o régimen para el cáncer.

25 La cantidad de células madre del cáncer en un espécimen puede compararse con un intervalo de referencia predeterminado y/o una cantidad anterior de células madre del cáncer previamente determinada para el sujeto (antes o durante la terapia) para calibrar la respuesta del sujeto a los regímenes descritos en la presente. En una realización específica, la estabilización o la reducción en la cantidad de células madre del cáncer con relación a un intervalo de referencia predeterminado y/o una cantidad anterior de células madre del cáncer previamente determinada para el sujeto (antes o durante la terapia) indica que la terapia o régimen ha sido eficaz y, así, probablemente se produzca una mejora en la prognosis del sujeto, mientras que un aumento con relación al intervalo de referencia predeterminado y/o la cantidad de células madre del cáncer detectada en un momento anterior indica que la terapia o régimen no ha sido eficaz y, así, probablemente la prognosis del sujeto sea igual o peor. La cantidad de células madre del cáncer puede utilizarse con otras mediciones convencionales del cáncer para evaluar la prognosis del sujeto y/o la eficacia de la terapia o régimen, tal como la tasa de respuesta, la durabilidad de la respuesta, la supervivencia sin recaída, la supervivencia sin enfermedad, la supervivencia sin avance y la supervivencia global. En ciertas realizaciones, se modifica la dosificación, la frecuencia y/o la duración de la administración de una terapia como resultado de la determinación de la cantidad o del cambio en la cantidad de células madre del cáncer en diversos momentos que pueden incluir antes, durante y/o después de la terapia.

40 En la presente también se describen métodos para determinar que una terapia o régimen para el cáncer es eficaz para dirigirse y/o alterar las células madre del cáncer en virtud del control de las células madre del cáncer a lo largo del tiempo y detectar una estabilización o una disminución en la cantidad de las células madre del cáncer durante y/o después del desarrollo de la terapia o régimen para el cáncer.

45 Una terapia o régimen puede describirse o comercializarse como una terapia o régimen anticélulas madre del cáncer basado en la determinación de que una terapia o régimen es eficaz para dirigirse y/o alterar las células madre del cáncer en virtud de haber controlado o detectado una estabilización o una disminución en la cantidad de las células madre del cáncer durante la terapia.

50 En la presente también se proporcionan composiciones que comprenden un péptido de EphA2 para su uso en métodos para tratar un cáncer, que implican i) determinar que una terapia para el cáncer basada en EphA2 es eficaz en virtud de su capacidad para disminuir las células madre del cáncer, según se determina mediante el control de las células madre del cáncer, y ii) administrar la terapia a uno o más seres humanos con cáncer. En la presente también se proporcionan composiciones que comprenden un péptido de EphA2 para su uso en métodos para tratar un cáncer, que implican i) administrar a un ser humano con cáncer una terapia para el cáncer basada en EphA2, ii) determinar la cantidad de células madre del cáncer antes, durante y/o después de la terapia mediante el control de las células madre del cáncer, y iii) continuar, alterar o detener la terapia basándose en dicho control. En la presente también se proporcionan métodos para ensayar/seleccionar una o más terapias basadas en EphA2 para la actividad anticélulas madre del cáncer, que implican i) administrar la terapia a un ser humano con cáncer, ii) controlar las células madre del cáncer en el ser humano o del ser humano antes, durante y/o después de la terapia, y iii) determinar si la terapia produce una disminución en la cantidad de células madre del cáncer.

60 En la presente también se describen métodos para tratar el cáncer, que implican i) determinar que una terapia para el cáncer basada en IL-13R α 2 es eficaz en virtud de su capacidad para disminuir las células madre del cáncer,

según se determina mediante el control de las células madre del cáncer, y ii) administrar la terapia a uno o más seres humanos con cáncer. En la presente también se describen métodos para tratar el cáncer, que implican i) administrar a un ser humano con cáncer una terapia para el cáncer basada en IL-13R α 2, ii) determinar la cantidad de células madre del cáncer antes, durante y/o después de la terapia mediante el control de las células madre del cáncer, y iii) continuar, alterar o detener la terapia basándose en dicho control. En la presente también se describen métodos para ensayar/seleccionar una o más terapias basadas en IL-13R α 2 para la actividad anticélulas madre del cáncer, que implica i) administrar la terapia a un ser humano con cáncer, ii) controlar las células madre del cáncer en el ser humano o del ser humano antes, durante y/o después de la terapia, y iii) determinar si la terapia produce una disminución en la cantidad de células madre del cáncer.

5.2 Tipos de cánceres

En cualquier tipo de cáncer para el cual puede tratarse un paciente, sus células madre del cáncer pueden controlarse según los métodos descritos en la presente. El médico encargado puede diagnosticar al paciente empleando cualquiera de los métodos de selección del cáncer convencionales que incluyen, pero no se limitan al examen físico (por ejemplo, el examen de la próstata, un examen rectal, el examen de las mamas, el examen de los nódulos linfáticos, un examen abdominal, la inspección de la piel, un examen testicular, un palpamiento general), métodos visuales (por ejemplo, colonoscopia, broncoscopia, endoscopia), análisis de frotis PAP (cáncer cervical), análisis con guayacol de deposiciones, ensayos de sangre (por ejemplo, ensayo de recuento sanguíneo completo ("complete blood count", CBC), ensayo del antígeno específico de la próstata ("prostate specific antigen", PSA), ensayo del antígeno carcinoembrionario ("carcinoembryonic antigen", CEA), ensayo del antígeno del cáncer (CA)-125, ensayos de alfa-fetoproteína (AFP), ensayos de la función hepática), análisis de cariotipo, análisis de médula ósea (por ejemplo, en casos de malignidades hematológicas), histología, citología, citometría de flujo, análisis de esputo y métodos de formación de imágenes (por ejemplo, tomografía computerizada (CT), formación de imágenes de resonancia magnética (MRI), ultrasonido, formación de imágenes de rayos X, mamografía, barridos PET, barridos de hueso).

Los ejemplos no limitantes de cánceres incluyen leucemias, tales como, pero sin limitarse a leucemia aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemias mielocíticas agudas, tales como leucemia mieloblástica, promielocítica, mielomonocítica, monocítica, eritroleucemia y síndrome mielodisplásico (MDS); leucemias crónicas, tales como, pero sin limitarse a leucemia mielocítica (granulocítica) crónica, leucemia linfocítica crónica, y leucemia de células pilosas; policitemia vera; linfomas, tales como, pero sin limitarse a enfermedad de Hodgkin y enfermedad no hodgkiniana; mielomas múltiples, tales como, pero sin limitarse a mieloma múltiple indolente, mieloma no secretor, mieloma osteoesclerótico, leucemia de células plasmáticas, plasmacitoma solitario, y plasmacitoma extramedular; macroglobulinemia de Waldenstrom; gammopatía monoclonal de importancia indeterminada; gammopatía monoclonal benigna; enfermedad de la cadena pesada; sarcomas óseos y del tejido conectivo, tales como, pero sin limitarse a sarcoma óseo, osteosarcoma, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, tumor de células gigantes maligno, fibrosarcoma de hueso, cordoma, sarcoma periosteal, sarcomas de tejidos blandos, angiosarcoma (hemangiosarcoma), fibrosarcoma, sarcoma de Kaposi, leiomiomasarcoma, liposarcoma, linfangiosarcoma, neurilemoma, rabdomiosarcoma, y sarcoma sinovial; tumores cerebrales, que incluyen, pero no se limitan a glioma, astrocitoma, glioma del tronco cerebral, ependimoma, oligodendroglioma, tumor no glial, neurinoma acústico, craneofaringioma, meduloblastoma, meningioma, pineocitoma, pineoblastoma, y linfoma cerebral primario; cáncer de mama, que incluye, pero no se limita a carcinoma ductal, adenocarcinoma, carcinoma lobular (microcítico), carcinoma intraductal, cáncer de mama medular, cáncer de mama mucinoso, cáncer de mama tubular, cáncer de mama papilar, enfermedad de Paget, y cáncer de mama inflamatorio; cáncer adrenal, tal como, pero sin limitarse a feocromocitoma y carcinoma adrenocortical; cáncer de tiroides, tal como, pero sin limitarse a cáncer de tiroides papilar o folicular, cáncer de tiroides medular, y cáncer de tiroides anaplásico; cáncer pancreático, que incluye, pero no se limita a insulinooma, gastrinoma, glucagonoma, vipoma, tumor secretor de somatostatina, y tumor de células de islotes o carcinoide; cánceres de la pituitaria, tal como, pero sin limitarse a enfermedad de Cushing, tumor secretor de prolactina, acromegalia, y diabetes insípida; cánceres del ojo, tales como, pero sin limitarse a melanoma ocular, tal como melanoma de iris, melanoma coroidal, y melanoma de cuerpos ciliares, y retinoblastoma; cánceres vaginales, tales como, pero sin limitarse a carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, y melanoma; cáncer vulvar, tal como, pero sin limitarse a carcinoma de células escamosas, melanoma, adenocarcinoma, carcinoma de células basales, sarcoma, y enfermedad de Paget; cánceres cervicales, tales como, pero sin limitarse a carcinoma de células escamosas, y adenocarcinoma; cánceres uterinos, tales como, pero sin limitarse a carcinoma endometrial y sarcoma uterino; cánceres de ovario, tales como, pero sin limitarse a carcinoma epitelial de ovario, tumor de bajo potencial de malignidad, tumor de células germinales, y tumor estromático; cánceres esofágicos, tales como, pero sin limitarse a cáncer escamoso, adenocarcinoma, carcinoma quístico adenoide, carcinoma mucoepidermoide, carcinoma adenoescamoso, sarcoma, melanoma, plasmacitoma, carcinoma verrugoso, y carcinoma de células en grano de avena (microcítico); cánceres de estómago, tales como, pero sin limitarse a adenocarcinoma, linfoma fungoso (polipoide), ulcerante, de propagación superficial, de propagación difusa, maligno, liposarcoma, fibrosarcoma, y carcinosarcoma; cánceres de colon; cánceres rectales; cánceres de hígado, tales como, pero sin limitarse a carcinoma hepatocelular y hepatoblastoma; cánceres de la vesícula biliar, tales como adenocarcinoma; colangiocarcinomas, tales como, pero sin limitarse a papilar, nodular, y difuso; cánceres de pulmón, tales como cáncer de pulmón no microcítico, carcinoma de células escamosas (carcinoma epidermoide), adenocarcinoma, carcinoma de células grandes, y cáncer de pulmón microcítico; cánceres testiculares, tales como, pero sin limitarse a

tumor germinal, seminoma, anaplásico, clásico (típico), espermatocítico, no seminoma, carcinoma embrionario, carcinoma teratoma, y coriocarcinoma (tumor del saco vitelino); cánceres de próstata, tales como, pero sin limitarse a neoplasia, intraepitelial prostática, adenocarcinoma, leiomiocarcinoma, y rhabdomiocarcinoma; cánceres de pene; cánceres orales, tales como, pero sin limitarse a carcinoma de células escamosas; cánceres basales; cánceres de glándulas salivares, tales como, pero sin limitarse a adenocarcinoma, carcinoma mucoepidermoide, y carcinoma adenoidequístico; cánceres de faringe, tales como, pero sin limitarse a cáncer de células escamosas y verrugoso; cánceres de piel, tales como, pero sin limitarse a carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas y melanoma, melanoma de propagación superficial, melanoma nodular, melanoma de lentigo maligno, y melanoma lentiginoso acral; cánceres de riñón, tales como, pero sin limitarse a carcinoma de células renales, adenocarcinoma, hipernefoma, fibrosarcoma, y cáncer de células de transición (pelvis renal y/o uréter); tumor de Wilms; cánceres de vejiga, tales como, pero sin limitarse a carcinoma de células de transición, cáncer de células escamosas, adenocarcinoma, y carcinosarcoma. Además, los cánceres incluyen mixosarcoma, sarcoma osteogénico, endoteliosarcoma, linfangio-endoteliosarcoma, mesotelioma, sinovioma, hemangioblastoma, carcinoma epitelial, cistadenocarcinoma, carcinoma broncogénico, carcinoma de glándulas sudoríparas, carcinoma de glándulas sebáceas, carcinoma papilar, y adenocarcinomas papilares (para un análisis de dichos trastornos, véase Fishman *et al.*, 1985, *Medicine*, 2ª ed., J.B. Lippincott Co., Filadelfia; y Murphy *et al.*, 1997, *Informed Decisions: The Complete Book of Cancer Diagnosis, Treatment, and Recovery*, Viking Penguin, Penguin Books U.S.A., Inc., EE. UU.).

Otros cánceres u otras enfermedades proliferativas anómalas incluyen, pero no se limitan a las siguientes: carcinoma, incluyendo el de vejiga, mama, colon, riñón, hígado, pulmón, ovario, páncreas, estómago, cérvix, tiroides y piel (que incluye carcinoma de células escamosas); tumores hematopoyéticos de linaje linfocítico, que incluyen leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfoblástica aguda, linfoma de células B, linfoma de células T, y linfoma de Burkett; tumores hematopoyéticos de linaje mielocítico, que incluyen leucemias mielógenas agudas y crónicas, y leucemia promielocítica; tumores de origen mesenquimático, que incluyen fibrosarcoma y rhabdomiocarcinoma; otros tumores, que incluyen melanoma, seminoma, teratocarcinoma, neuroblastoma y glioma; tumores del sistema nervioso central y periférico, que incluyen astrocitoma, neuroblastoma, glioma y schwannomas; tumores de origen mesenquimático, que incluyen fibrosarcoma, rhabdomiocarcinoma y osteosarcoma; y otros tumores, que incluyen melanoma, xeroderma pigmentoso, queratocantoma, seminoma, cáncer folicular de tiroides y teratocarcinoma. Los cánceres asociados con aberraciones en la apoptosis también se incluyen, y no se limitan a linfomas foliculares, carcinomas con mutaciones en p53, tumores de mama, próstata y ovario dependientes de hormonas, y lesiones precancerosas, tales como poliposis adenomatosa familiar, y síndromes mielodisplásicos. En realizaciones específicas, las malignidades o cambios disproliferativos (tales como metaplasias y displasias), o trastornos hiperproliferativos de la piel, pulmón, hígado, hueso, cerebro, estómago, colon, mama, próstata, vejiga, riñón, páncreas, ovario y/o útero se incluyen en la invención.

Los ejemplos no limitantes de leucemias y otros cánceres de la sangre incluyen la leucemia linfoblástica aguda "LLA", la leucemia de células B linfoblástica aguda, la leucemia de células T linfoblástica aguda, la leucemia mieloblástica aguda "LMA", la leucemia promielocítica aguda "LPA", la leucemia monoblástica aguda, la leucemia eritroleucémica aguda, la leucemia megacarioblástica aguda, la leucemia mielomonocítica aguda, la leucemia no linfocítica aguda, la leucemia indiferenciada aguda, la leucemia mielocítica crónica "LMC", la leucemia linfocítica crónica "LLC", y la leucemia de células pilosas.

Los ejemplos no limitantes de linfomas incluyen la enfermedad de Hodgkin, el linfoma no hodgkiniano, el mieloma múltiple, la macroglobulinemia de Waldenström, la enfermedad de la cadena pesada y la policitemia vera.

Los ejemplos no limitantes de tumores sólidos incluidos en la invención incluyen, pero no se limitan a fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leiomiocarcinoma, rhabdomiocarcinoma, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de riñón, cáncer pancreático, cáncer de hueso, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer esofágico, cáncer de estómago, cáncer oral, cáncer nasal, cáncer de garganta, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de glándulas sudoríparas, carcinoma de glándulas sebáceas, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, carcinoma de células renales, hepatoma, carcinoma del conducto biliar, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilms, cáncer cervical, cáncer uterino, cáncer testicular, carcinoma pulmonar microcítico, carcinoma de vejiga, cáncer de pulmón, carcinoma epitelial, glioma, glioblastoma multiforme, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, meningioma, cáncer de piel, melanoma, neuroblastoma, y retinoblastoma.

5.2.1 Cánceres cerebrales

En una realización específica, la invención puede utilizarse en la prevención, el tratamiento y/o la gestión del cáncer cerebral. En ciertas realizaciones, la invención comprende una etapa de controlar los niveles de células madre del cáncer en un sujeto con cáncer cerebral que ha sido tratado según la invención, por ejemplo, al sujeto se le ha administrado una terapia para el cáncer basada en EphA2, es decir, un péptido de EphA2 o un compuesto (por ejemplo, un anticuerpo) que se dirige específicamente a EphA2 (por ejemplo, se dirige a EphA2 presente sobre células madre del cáncer que expresan EphA2).

En otra realización específica, las composiciones y los compuestos para su uso en la invención pueden emplearse en la prevención, el tratamiento y/o la gestión del cáncer cerebral. En ciertas realizaciones, la invención comprende una etapa de controlar los niveles de células madre del cáncer en un sujeto con cáncer cerebral que ha sido tratado según los métodos descritos en la presente, por ejemplo, al sujeto se le ha administrado una terapia para el cáncer basada en IL-13R α 2, es decir, un péptido de IL-13R α 2 o un compuesto (por ejemplo, un anticuerpo) que se dirige específicamente a IL-13R α 2 (por ejemplo, se dirige a IL-13R α 2 presente sobre células madre del cáncer que expresan IL-13R α 2).

Cualquier tipo de cáncer cerebral puede tratarse según la invención. Los ejemplos de cánceres cerebrales incluyen, pero no se limitan a gliomas (que incluyen astrocitoma (por ejemplo, astrocitoma pilocítico, astrocitoma difuso, y astrocitoma anaplásico), glioblastoma, oligodendroglioma, glioma del tronco cerebral, glioma no del tronco cerebral, ependimoma, y tumores mixtos que comprenden más de un tipo de célula gliales), schwannoma acústico, craneofaringioma, meningioma, meduloblastoma, linfoma del sistema nervioso central primario, y tumores de las glándulas pineal (por ejemplo, tumores astrocíticos pineales y tumores parenquimáticos pineales) y pituitaria. Los gliomas incluyen además gliomas malignos recurrentes, astrocitomas de grado II de la OMS de alto riesgo, oligoastrocitomas, gliomas de grado II de la OMS recurrentes, gliomas del tronco cerebral malignos o intrínsecos recién diagnosticados, gliomas no del tronco cerebral extirpados de modo incompleto, y gliomas de grado bajo no extirpables recurrentes. Otros tipos de cánceres cerebrales que pueden tratarse según los métodos descritos en la presente incluyen astrocitoma/oligodendroglioma supratentorial infiltrante de grado bajo en adultos, astrocitoma supratentorial infiltrante de grado bajo en adultos, oligodendroglioma supratentorial infiltrante de grado bajo en adultos (excluyendo el astrocitoma pilocítico), astrocitoma supratentorial infiltrante de grado bajo en adultos (excluyendo el astrocitoma pilocítico), oligodendroglioma supratentorial infiltrante de grado bajo en adultos (excluyendo el astrocitoma pilocítico), ependimoma intracraneal en adultos, ependimoma intracraneal en adultos (excluyendo el mixopapilar y subependimoma), ependimoma anaplásico intracraneal en adultos, glioma anaplásico, glioblastoma anaplásico, astrocitoma pilocítico, subependimoma, mixopapilar, de 1 a 3 lesiones metastásicas limitadas (intraparenquimáticas), más de 3 lesiones metastásicas (intraparenquimáticas), metástasis leptomeningiales (meningitis neoplásica), linfoma del SNC primario, tumores espinales metastásicos o meningiomas.

En una realización, el cáncer cerebral tratado según la invención es un glioma. En una realización específica, el cáncer cerebral tratado según la invención es el glioma maligno recurrente. En otra realización específica, el cáncer cerebral tratado según la invención es el glioma de grado II de la OMS recurrente. En otra realización específica, el cáncer cerebral tratado según la invención es el glioma del tronco cerebral intrínseco o maligno recién diagnosticado. En otra realización específica, el cáncer cerebral tratado según la invención es el glioma no del tronco cerebral extirpado de modo incompleto. En otra realización específica, el cáncer cerebral tratado según la invención es el glioma de grado bajo no extirpable recurrente.

En una realización, un paciente tratado según la invención es un adulto con glioma maligno recurrente, glioblastoma recurrente, astrocitoma anaplásico, oligodendroglioma anaplásico, u oligoastrocitoma mixto anaplásico. En otra realización, el paciente es un adulto con glioma de grado bajo de alto riesgo recién diagnosticado. En otra realización, el paciente es un adulto con astrocitoma de grado bajo de alto riesgo recién diagnosticado. En otra realización, el paciente es un adulto con oligoastrocitoma de grado bajo de alto riesgo recién diagnosticado. En otra realización, el paciente es un adulto con astrocitoma de grado bajo de alto riesgo recurrente. En otra realización, el paciente es un adulto con oligoastrocitoma de grado bajo de alto riesgo recurrente. En otra realización, el paciente es un niño con glioma maligno recién diagnosticado. En otra realización, el paciente es un niño con glioma del tronco cerebral intrínseco. En otra realización, el paciente es un niño con glioma de grado alto no del tronco cerebral extirpado de modo incompleto. En otra realización, el paciente es un niño con glioma de grado bajo no extirpable recurrente. En otra realización, el paciente es un niño con glioma pontino intrínseco difuso recién diagnosticado. En otra realización, el paciente es un niño con cualquier glioma de grado alto que implica al tronco cerebral y tratado con TR o sin quimioterapia durante la TR. En otra realización, el paciente es un niño con glioma de grado alto no del tronco cerebral recién diagnosticado tratado con TR con quimioterapia. En otra realización, el paciente es un niño con glioma de grado alto no del tronco cerebral recién diagnosticado tratado con TR sin quimioterapia. En otra realización, el paciente es un niño con glioma de grado alto no del tronco cerebral recurrente que ha recurrido después del tratamiento.

En una realización, el cáncer cerebral tratado según la invención es un astrocitoma. En una realización específica, el cáncer cerebral tratado según la invención es el astrocitoma de grado II de la OMS de alto riesgo. En otra realización específica, el cáncer cerebral tratado según la invención es el oligoastrocitoma.

5.3 Péptidos

5.3.1 Péptidos derivados de EphA2

EphA2 es un receptor de tirosina quinasa que está implicado en la formación del notocordio a través de la interacción con efrina A1 (véase, por ejemplo, Naruse-Nakajima *et al.*, Mech. Dev., 102:95-105, 2001).

Cualquier péptido de EphA2 capaz de actuar como epitopo de linfocitos T citotóxicos (LTC) restringido a HLA-A2 puede usarse según la invención. En algunas realizaciones, el péptido de EphA2 usado en una vacuna descrita en la presente comprende SEQ ID NO:1. En algunas realizaciones, el péptido de EphA2 usado en una vacuna descrita en la presente consiste en SEQ ID NO:1.

- 5 En algunas realizaciones, el péptido de EphA2 usado según la invención comprende una versión mutada de un péptido de EphA2, por ejemplo, una versión mutada de SEQ ID NO:1, en el que la versión mutada comprende al menos 1, al menos 2, o al menos 3 sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones conservativas), adiciones o deleciones.

- 10 En algunas realizaciones, el péptido de EphA2 usado según la invención comprende una secuencia de aminoácidos con al menos 50%, 60%, 70%, 80%, o 90% de identidad con SEQ ID NO:1. En otras realizaciones, el péptido de EphA2 usado según la invención comprende una secuencia de aminoácidos con al menos 50% a 60%, 50% a 70%, 60% a 70%, 70% a 80%, 70% a 90%, o 80% a 90% de identidad con SEQ ID NO:1. En algunas realizaciones, el péptido de EphA2 usado según la invención comprende una secuencia de aminoácidos con al menos 50%, 60%, 70%, 80%, o 90% de similitud con SEQ ID NO:1. En otras realizaciones, el péptido de EphA2 usado según la invención comprende una secuencia de aminoácidos con al menos 50% a 60%, 50% a 70%, 60% a 70%, 70% a 80%, 70% a 90%, o 80% a 90% de similitud con SEQ ID NO:1. En realizaciones específicas, el péptido de EphA2 usado según la invención no comprende ni consiste en SEQ ID NO:1, es decir, el péptido de EphA2 se deriva de una porción diferente de EphA2 que SEQ ID NO:1.

5.3.2 Péptidos derivados de IL-13R α 2

- 20 IL-13R α 2 es una glicoproteína de membrana que se une como componente de un heterodímero a la citoquina de Th2 IL-13, que induce a monocitos y macrófagos para que produzcan TGF β (véase, por ejemplo, Fichtner-Feigl *et al.*, *Nat. Med.*, 12:99-106, 2006).

- 25 Cualquier péptido de IL-13R α 2 capaz de actuar como epitopo de linfocitos T citotóxico (LTC) restringido a HLA-A2 puede usarse en una vacuna descrita en la presente. En algunos ejemplos, el péptido de IL-13R α 2 usado según los métodos descritos en la presente comprende una cualquiera de SEQ ID NO:2-5.

En algunos ejemplos, el péptido de IL-13R α 2 usado en una vacuna descrita en la presente comprende una versión mutada de SEQ ID NO:2, en el que la versión mutada de SEQ ID NO:2 comprende al menos 1, al menos 2, o al menos 3 sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, sustituciones conservativas), adiciones o deleciones.

- 30 En algunos ejemplos, el péptido de IL-13R α 2 usado en una vacuna descrita en la presente comprende una secuencia de aminoácidos con al menos 50%, 60%, 70%, 80%, o 90% de identidad con SEQ ID NO:2. En otros ejemplos, el péptido de IL-13R α 2 usado en una vacuna descrita en la presente comprende una secuencia de aminoácidos con al menos 50% a 60%, 50% a 70%, 60% a 70%, 70% a 80%, 70% a 90%, o 80% a 90% de identidad con SEQ ID NO:2. En algunos ejemplos, el péptido de IL-13R α 2 usado en una vacuna descrita en la presente comprende una secuencia de aminoácidos con al menos 50%, 60%, 70%, 80%, o 90% de similitud con SEQ ID NO:2. En otros ejemplos, el péptido de IL-13R α 2 usado en una vacuna descrita en la presente comprende una secuencia de aminoácidos con al menos 50% a 60%, 50% a 70%, 60% a 70%, 70% a 80%, 70% a 90%, o 80% a 90% de similitud con SEQ ID NO:2.

5.4 Modificadores de la respuesta inmunológica

- 40 En algunas realizaciones, los péptidos de EphA2 para su uso en la invención y sus composiciones se administran al mismo tiempo que un modificador de la respuesta inmunológica. Las modificaciones de la respuesta inmunológica incluyen agentes capaces de modificar la respuesta inmunológica de un sujeto. En algunas realizaciones, un modificador de la respuesta inmunológica polariza la respuesta inmunológica de un sujeto hacia una respuesta de Th1. En otras realizaciones, un modificador de la respuesta inmunológica polariza la respuesta inmunológica de un sujeto hacia una respuesta de Th2. En una realización específica, el modificador de la respuesta inmunológica se une a un receptor similar a toll (TLR), tal como TLR3. Los ejemplos de modificadores de la respuesta inmunológica que pueden administrarse al mismo tiempo que el péptido de EphA2 para su uso en la invención incluyen, sin limitación, ácido poliinosínico-policitidílico estabilizado con polilisina y carboximetilcelulosa (poli-ICLC; también conocido como Hiltonol), imiquimod (Aldara®; Beselna®), y MIS-416 (Innate Therapeutics).

5.5 Adyuvantes

- 50 En algunas realizaciones, los péptidos de EphA2 para su uso en la invención se administran al mismo tiempo que un adyuvante. En algunas realizaciones, el término "adyuvante" se refiere a un agente que, cuando se administra al mismo tiempo o en la misma composición que un péptido de EphA2, aumenta, acelera, prolonga, potencia y/o refuerza la respuesta inmunológica frente al péptido de EphA2. En algunas realizaciones, el adyuvante genera una respuesta inmunológica frente al péptido de EphA2 y no produce alergia ni otra reacción adversa. Los adyuvantes pueden potenciar una respuesta inmunológica a través de varios mecanismos que incluyen, por ejemplo, el reclutamiento de linfocitos, la estimulación de células B y/o T, la estimulación de células dendríticas y la estimulación de macrófagos.

Los ejemplos específicos de adyuvantes incluyen, pero no se limitan a Montanide ISA-51, Montanide ISA 50V, Montanide, ISA 206, Montanide IMS 1312, VaxImmune® (CpG7909; Coley Pharmaceuticals), sales de aluminio (alumbre) (tales como hidróxido de aluminio, fosfato de aluminio, y sulfato de aluminio), monofosforil lípido A 3 des-O-acilado (MPL) (véase el documento GB 2220211), MF59 (Novartis), AS03 (GlaxoSmithKline), AS04 (GlaxoSmithKline), polisorbato 80 (Tween 80; ICL Americas, Inc.), compuestos de imidazopiridina (véase la solicitud internacional n.º PCT/US2007/064857, publicada como la publicación internacional n.º WO2007/109812), compuestos de imidazoquinoxalina (véase la solicitud internacional n.º PCT/US2007/064858, publicada como la publicación internacional n.º WO2007/109813) y saponinas, tales como QS21 (véase Kensil *et al.*, en Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach (eds. Powell y Newman, Plenum Press, NY, 1995); la patente de EE.UU. n.º 5.057.540). En algunas realizaciones, el adyuvante es adyuvante de Freund (completo o incompleto). Otros adyuvantes son emulsiones de aceite en agua (tal como escualeno o aceite de cacahuete), opcionalmente en combinación con estimulantes inmunológicos, tales como monofosforil lípido A (véase Stoute *et al.*, N. Engl. J. Med., 336, 86-91 (1997)). Otro adyuvante es CpG (Bioworld Today, 15 de noviembre, 1998). Estos adyuvantes pueden usarse con o sin otros agentes inmunoestimuladores específicos, tales como MPL o 3-DMP, QS21, aminoácidos poliméricos o monoméricos, tales como poli(ácido glutámico) o polilisina, u otros agentes inmunopotenciadores. Debe entenderse que diferentes formulaciones de péptidos de EphA2 pueden comprender diferentes adyuvantes o pueden comprender el mismo adyuvante.

5.6 Epitopos de células T auxiliares

En algunas realizaciones, los péptidos de EphA2 para su uso en la invención se administran al mismo tiempo que un epitopo de células T auxiliares. Los epitopos de células T auxiliares incluyen agentes que son capaces de inducir una respuesta de células T auxiliares por el sistema inmunológico. Las células T auxiliares son células T CD4+. En algunas realizaciones, los epitopos de células T auxiliares son presentados por moléculas de MHC de clase II y pueden ser reconocidos por el receptor de células T (TCR) de células T auxiliares (células T CD4+), activando con ello a las células T CD4+ y provocando que proliferen, segreguen citoquinas, tales como IL-2, y activen a células presentadoras de antígenos profesionales. A través de una diversidad de mecanismos, las células T auxiliares activadas también estimulan a las células T asesinas (también denominadas células T CD8+), prolongando y aumentando con ello la respuesta de células T CD8+. Los ejemplos de epitopos de células T auxiliares que pueden administrarse al mismo tiempo que los péptidos de EphA2 para su uso en la invención incluyen, sin limitación, PADRE (véase, por ejemplo, Alexander *et al.*, Immunity, 1:751-761, 1994), HBVcore₁₂₈₋₁₄₀, y el toxoide del tétanos.

5.7 Producción y purificación de péptidos de EphA2

Los péptidos de EphA2 y/o IL-13Rα2 descritos en la presente pueden fabricarse mediante técnicas de ADN recombinante convencionales o mediante técnicas de síntesis de proteínas, por ejemplo, mediante el uso de un sintetizador de péptidos. Por ejemplo, una molécula de ácido nucleico que codifica un péptido de EphA2 y/o IL-13Rα2 puede sintetizarse mediante técnicas convencionales que incluyen sintetizadores de ADN automáticos. Como otro ejemplo, los péptidos de EphA2 y/o IL-13Rα2 descritos en la presente pueden generarse empleando la síntesis en fase sólida o en disolución discontinua convencional (véase, por ejemplo, Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins, Williams *et al.*, eds., 1997, CRC Press, Boca Ratón, Fla., y las referencias citadas en el artículo; Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach, Atherton y Sheppard, eds., 1989, IRL Press, Oxford, Reino Unido, y las referencias citadas en el artículo) o mediante el uso de la condensación de segmentos (véase, por ejemplo, Liu *et al.*, 1996, Tetrahedron Lett., 37(7):933-936; Baca, *et al.*, 1995, J. Am. Chem. Soc., 117:1881-1887; Tam *et al.*, 1995, Int. J. Peptide Protein Res., 45:209-216; Schnolzer y Kent, 1992, Science, 256:221-225; Liu y Tam, 1994, J. Am. Chem. Soc., 116(10):4149-4153; Liu y Tam, 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91:6584-6588; Yamashiro y Li, 1988, Int. J. Peptide Protein Res., 31:322-334).

Los péptidos de EphA2 o IL-13Rα2 descritos en la presente pueden obtenerse a partir de cualquier información disponible para los expertos en la técnica (concretamente, de Genbank, de la bibliografía o mediante clonación de la forma habitual). Una secuencia de nucleótidos que codifica un péptido de EphA2 o IL-13Rα2 puede insertarse en un vector de expresión apropiado, es decir, un vector que contenga los elementos necesarios para la transcripción y la traducción de la secuencia codificadora de proteína insertada. Puede utilizarse una diversidad de sistemas de hospedante-vector para expresar la secuencia codificadora de proteína. Estos incluyen, pero no se limitan a sistemas de células de mamífero infectadas con virus (por ejemplo, virus de vaccinia, adenovirus, etc.); sistemas de células de insecto infectadas con virus (por ejemplo, baculovirus); microorganismos, tales como levaduras (por ejemplo, *Pichia*) que contienen vectores de levadura; o bacterias (tales como *E. coli*) transformadas con ADN de bacteriófago, ADN plasmídico o ADN cosmídico. Los elementos de expresión de los vectores varían en su potencia y especificidades. Dependiendo del sistema de hospedante-vector utilizado, puede emplearse cualquiera de una serie de elementos de la transcripción y la traducción adecuados. En una realización específica, el péptido se expresa en *E. coli*. En otra realización específica, el péptido se expresa en *Pichia*.

Tras haber producido un péptido de EphA2 o IL-13Rα2 mediante expresión recombinante o mediante síntesis química, este puede purificarse mediante cualquier método conocido en la técnica para la purificación de una proteína, por ejemplo, mediante cromatografía (por ejemplo, de intercambio iónico, de afinidad, en particular de afinidad por un antígeno específico después de proteína A, y cromatografía en columna de exclusión molecular), centrifugación, solubilidad diferencial o mediante cualquier otra técnica convencional para la purificación de

proteínas.

5.8 Composiciones farmacéuticas y vías de administración

En la presente se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden péptidos de EphA2 para su uso en los métodos descritos en la presente. En ciertas realizaciones, una composición que comprende un péptido de EphA2 para su uso en la invención puede comprender uno o más péptidos o agentes adicionales. En ciertas realizaciones, las composiciones que comprenden un péptido de EphA2 para su uso en la invención pueden comprender además un epitopo de células T auxiliares, un adyuvante y/o un modificador de la respuesta inmunológica. Las composiciones farmacéuticas para su uso en la invención son adecuadas para la administración veterinaria y/o humana.

Las composiciones farmacéuticas para su uso en la invención pueden estar en cualquier forma que permita que la composición se administre a un sujeto, y dicho sujeto es preferiblemente un animal, que incluye, pero no se limita a un ser humano, un mamífero o un animal no humano, tal como una vaca, caballo, oveja, cerdo, ave de corral, gato, perro, ratón, rata, conejo, cobaya, etc., y más preferiblemente es un mamífero y lo más preferiblemente un ser humano.

En realizaciones específicas, las composiciones para su uso en la invención están en forma de un líquido (por ejemplo, un elixir, jarabe, disolución, emulsión o suspensión). Las vías de administración típicas de las composiciones líquidas proporcionadas en la presente pueden incluir, sin limitación, la vía parenteral, intradérmica, intratumoral, intracerebral, e intratecal. La administración parenteral incluye, sin limitación, técnicas de administración subcutánea, intranodal, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, e intrapleural. En una realización específica, las composiciones se administran por vía parenteral. En una composición para la administración mediante inyección, pueden incluirse uno o más de un tensioactivo, conservante, agente humectante, agente dispersante, agente suspensor, tampón, estabilizante y agente isotónico. En una realización específica puede usarse una bomba para administrar las vacunas (véase, por ejemplo, Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng., 1987, 14, 201; Buchwald *et al.*, Surgery, 1980, 88:507; Saudek *et al.*, N. Engl. J. Med., 1989, 321:574). En una realización específica, la bomba puede ser, pero no se limita a una bomba similar a la empleada para la insulina.

Los materiales usados para preparar las composiciones farmacéuticas para su uso en la invención pueden ser no tóxicos en las cantidades empleadas. A los expertos en la técnica les será evidente que la dosificación óptima del ingrediente o ingredientes activos en la composición farmacéutica dependerá de una diversidad de factores. Los factores pertinentes incluyen, sin limitación, el tipo de sujeto (por ejemplo, ser humano), la salud global del sujeto, el tipo de cáncer para el cual el sujeto necesite tratamiento, el uso de la composición como parte de un régimen de múltiples fármacos, la forma concreta del péptido que se está administrando, la manera de la administración y la composición empleada.

Las composiciones líquidas para su uso en la invención, tanto si son disoluciones, suspensiones u otra forma similar, pueden incluir también uno o más de los siguientes: diluyentes estériles, tales como agua para inyección, disolución salina, preferiblemente disolución salina fisiológica, disolución de Ringer, cloruro de sodio isotónico, aceites no volátiles, tales como mono- o diglicéridos sintéticos que pueden actuar como disolvente o medio de suspensión, polietilenglicoles, glicerina, ciclodextrina, propilenglicol u otros disolventes; agentes antibacterianos, tales como alcohol bencílico o metilparabeno; antioxidantes, tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes, tales como ácido etilendiaminotetraacético; tampones, tales como acetatos, citratos o fosfatos; y agentes para ajustar la tonicidad, tales como cloruro de sodio o dextrosa. Una composición parenteral puede introducirse en una ampolla, una jeringa desechable o un vial de múltiples dosis fabricado de vidrio, plástico u otro material. Una composición inyectable es preferiblemente estéril.

Las composiciones para su uso en la invención pueden comprender un vehículo o portador farmacéuticamente aceptable. Tal como se emplea en la presente, la expresión "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora de un gobierno federal o estatal o listado en la Farmacopea de EE. UU. u otra farmacopea reconocida en general para su uso en animales y, más en concreto, en seres humanos. El término "vehículo" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el que se administra la composición farmacéutica. También pueden emplearse disoluciones salinas y disoluciones acuosas de dextrosa y glicerol como vehículos líquidos, en particular para disoluciones inyectables. Los excipientes adecuados incluyen almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, creta, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro de sodio, leche desnatada en polvo, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol y similares. Se describen ejemplos de vehículos farmacéuticos adecuados en "Remington's Pharmaceutical Sciences", de E.W. Martin. La formulación debe adecuarse al modo de administración.

En una realización, las composiciones para su uso en la invención se formulan según procedimientos habituales como una composición farmacéutica adaptada para la administración parenteral a animales, en particular a seres humanos. En general, los ingredientes en las composiciones se suministran por separado o se mezclan en una forma de dosificación unitaria, por ejemplo, como un polvo liofilizado seco o un concentrado sin agua en un recipiente herméticamente sellado, tal como una ampolla o un sobre que indica la cantidad del agente activo. Cuando una composición descrita en la presente se administra mediante inyección, puede proporcionarse una

ampolla de agua estéril para inyección o disolución salina de modo que los ingredientes puedan mezclarse antes de la administración si fuera necesario.

- Las composiciones descritas en la presente pueden comprender un agente activo adicional seleccionado entre los que incluyen, pero no se limitan a un agente profiláctico adicional, un agente terapéutico adicional, un agente antiemético, un factor estimulante de colonias hematopoyético, una terapia adyuvante, un agente basado en anticuerpos/fragmentos de anticuerpos, un antidepresivo y un agente analgésico. En realizaciones específicas, el agente activo adicional es un segundo péptido de EphA2 y/o IL-13Rα2 (es decir, un péptido de EphA2 y/o IL-13Rα2 diferente del que forma la base de la composición. En realizaciones específicas, el agente activo adicional es un segundo péptido que no es un péptido de EphA2 y/o IL-13Rα2.
- 5 Las composiciones farmacéuticas para su uso en la invención pueden prepararse mediante metodologías muy conocidas en la técnica farmacéutica. Por ejemplo, una composición prevista para ser administrada mediante inyección puede prepararse combinando los péptidos de EphA2 descritos en la presente con agua y/u otros componentes líquidos para formar una disolución. Puede añadirse un tensioactivo para facilitar la formación de una suspensión o una disolución homogénea.
- 10 Las composiciones farmacéuticas para su uso en la invención pueden estar incluidas en un recipiente, paquete o dispensador junto con instrucciones para la administración.

5.8.1 Dosificación y frecuencia de la administración

La cantidad de una composición para su uso en la invención (por ejemplo, una composición que comprende un péptido de EphA2; una composición que comprende un péptido de EphA2 y un epitopo de células T auxiliares, un adyuvante) que sea eficaz para el tratamiento, la prevención y/o la gestión de un cáncer puede depender del estado del cáncer, del paciente al cual se le va a administrar la composición o composiciones, de la vía de administración y/o del tipo de cáncer. Estas dosis pueden ser determinadas mediante técnicas clínicas convencionales y pueden ser decididas según el criterio del médico.

Por ejemplo, la dosis eficaz puede variar dependiendo del medio de administración, el sitio diana, el estado fisiológico del paciente (incluyendo la edad, el peso corporal, la salud), si el paciente es un ser humano o un animal, otras medicaciones administradas, y si el tratamiento es profiláctico o terapéutico. Habitualmente, el paciente es un ser humano pero también pueden tratarse mamíferos no humanos, que incluyen mamíferos transgénicos. Las dosificaciones de tratamiento se titulan de modo óptimo para optimizar la seguridad y la eficacia.

En ciertas realizaciones se emplea un ensayo *in vitro* para ayudar a identificar los intervalos de dosificación óptimos. Las dosis eficaces pueden extrapolarse a partir de curvas de dosis-respuestas derivadas de sistemas de ensayos de modelos animales o *in vitro*.

En ciertas realizaciones, una composición para su uso en la invención comprende aproximadamente 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 550, 600, 650, 700, 750 o 800 µg de un péptido de EphA2 por dosis. En otras realizaciones, las composiciones para su uso en la invención comprenden de aproximadamente 25 a 50, de 25 a 75, de 25 a 100, de 50 a 100, de 50 a 150, de 50 a 200, de 100 a 150, de 100 a 200, de 100 a 250, de 100 a 300, de 150 a 200, de 150 a 250, de 150 a 300, de 200 a 250, de 250 a 300, de 250 a 350, de 250 a 400, de 300 a 350, de 300 a 400, de 300 a 450, de 300 a 500, de 350 a 400, de 350 a 450, de 400 a 500, de 400 a 600, de 500 a 600, de 500 a 700, de 600 a 700, de 600 a 800, o de 700 a 800 µg de un péptido de EphA2 por dosis. En otras realizaciones, las composiciones para su uso en la invención comprenden de aproximadamente 5 µg a 100 mg, de 15 µg a 50 mg, de 15 µg a 25 mg, de 15 µg a 10 mg, de 15 µg a 5 mg, de 15 µg a 1 mg, de 15 µg a 100 µg, de 15 µg a 75 µg, de 5 µg a 50 µg, de 10 µg a 50 µg, de 15 µg a 45 µg, de 20 µg a 40 µg, o de 25 a 35 µg de un péptido de EphA2 por kilogramo del paciente.

En ciertas realizaciones, las composiciones que comprende un péptido de EphA2 para su uso en la invención se administran al mismo tiempo que un epitopo de células T auxiliares. En algunas realizaciones, dichas composiciones se administran al mismo tiempo que aproximadamente 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 550 o 600 µg de un epitopo de células T auxiliares. En otras realizaciones, dichas composiciones se administran al mismo tiempo que aproximadamente 25 a 50, de 25 a 75, de 25 a 100, de 50 a 100, de 50 a 150, de 50 a 200, de 100 a 150, de 100 a 200, de 100 a 250, de 100 a 300, de 150 a 200, de 150 a 250, de 150 a 300, de 200 a 250, de 250 a 300, de 250 a 350, de 250 a 400, de 300 a 350, de 300 a 400, de 300 a 450, de 300 a 500, de 350 a 400, de 350 a 450, de 400 a 500, de 400 a 600, o de 500 a 600 µg de un epitopo de células T auxiliares.

En ciertas realizaciones, las composiciones que comprenden un péptido de EphA2 para su uso en la invención se administran al mismo tiempo que un modificador de la respuesta inmunológica, por ejemplo, aproximadamente 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700 o 1800 µg de un modificador de la respuesta inmunológica; o aproximadamente 100 a 300, de 200 a 400, de 400 a 800, de 600 a 800, de 800 a 1000, de 800 a 1200, de 1000 a 1200, de 1000 a 1400, de 1200 a 1400, de 1200 a 1600, de 1400 a 1600, de 1400 a 1800, o de 1600 a 1800 µg de un modificador de la respuesta inmunológica.

En ciertas realizaciones, las composiciones que comprende un péptido de EphA2 para su uso en la invención se administran al mismo tiempo que un adyuvante. En algunas realizaciones, las composiciones que comprende un péptido de EphA2 para su uso en la invención se mezclan 0,5 a 1, 1 a 0,5, 1 a 1, 1 a 2, 1 a 3, 2 a 1, o 3 a 1 con un adyuvante.

5 En ciertas realizaciones, una composición para su uso en la invención se administra a un sujeto una vez como una dosis única. En algunas realizaciones, una composición para su uso en la invención se administra en múltiples dosis (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, o más de 10 dosis), en la que las dosis pueden estar separadas por al menos 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 8 días, 9 días, 10 días, 15 días, o 30 días.

10 En algunas realizaciones, una composición para su uso en la invención se administra a lo largo de 21 semanas, y las administraciones se producen en las semanas 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 y 21. En ciertas realizaciones, la composición se administra al mismo tiempo que un epitopo de células T auxiliares, un adyuvante y/o un modificador de la respuesta inmunológica. En realizaciones específicas, una composición que comprende un péptido de EphA2 para su uso en la invención se administra a lo largo de 21 semanas, y las administraciones se producen en las semanas 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 y 21, y la composición se administra al mismo tiempo que un modificador de la respuesta inmunológica, en la que el modificador de la respuesta inmunológica se administra en el día de cada administración de la composición que comprende un péptido de EphA2 y en el día 4 después de cada administración de la composición que comprende un péptido de EphA2. En otra realización específica, una composición para su uso en la invención se administra a lo largo de 21 semanas, y las administraciones se producen en las semanas 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 y 21, y la composición se administra al mismo tiempo que un modificador de la respuesta inmunológica, en la que el modificador de la respuesta inmunológica se administra en el día de cada administración de la composición que comprende un péptido de EphA2.

5.8.2 Poblaciones de pacientes

25 En ciertas realizaciones, un péptido de EphA2 o una composición de este puede administrarse a un sujeto sin exposición, es decir, un sujeto que no tiene cáncer. En una realización, un péptido de EphA2 o una composición de este puede administrarse a un sujeto sin exposición que está en riesgo de adquirir cáncer.

En ciertas realizaciones, un péptido de EphA2 o una composición de este puede administrarse a un paciente al que se le ha diagnosticado un cáncer. En algunas realizaciones, un péptido de EphA2 o una composición de este se administra a un paciente con cáncer antes de que se manifiesten los síntomas o de que los síntomas sean graves. En una realización específica, el cáncer es cáncer cerebral.

30 En ciertas realizaciones, un péptido de EphA2 o una composición de este se administra a un paciente que necesita el tratamiento, la prevención y/o la gestión de un cáncer. Dichos sujetos pueden o no haber sido previamente tratados para el cáncer o pueden estar en remisión, recaída o su tratamiento puede haber fracasado. Dichos pacientes también pueden presentar una citogenética anómala.

35 En una realización específica, al sujeto se le ha diagnosticado un cáncer empleando técnicas conocidas por los expertos en la técnica que incluyen, pero no se limitan a un examen neurológico; métodos de formación de imágenes (por ejemplo, tomografía computerizada (CT), formación de imágenes por resonancia magnética (MRI), ultrasonidos, formación de imágenes por rayos X, secuencias de recuperación de inversión atenuada por fluidos ("fluid-attenuated inversion-recovery", FLAIR), formación de imágenes potenciada en T2, y barridos con tomografía de emisión de positrones (PET)); y biopsia (por ejemplo, biopsia esterotáctica). La respuesta del tumor a la terapia puede evaluarse mediante el criterio McDonald o la evaluación de la respuesta con criterios de neuro-oncología (RANO). El tamaño del tumor o la respuesta al tratamiento puede evaluarse por medio de diversas técnicas de formación de imágenes por resonancia magnética, que incluyen la formación de imágenes potenciada en difusión, la formación de imágenes potenciada en perfusión, la formación de imágenes de permeabilidad de T1 potenciada por contraste dinámico, el contraste de susceptibilidad dinámico, la formación de imágenes de tensor-difusión, y la espectroscopía de resonancia magnética, las imágenes potenciadas en T2 de MRI anatómicas, las imágenes potenciadas en T2 de recuperación de inversión atenuada por fluidos (FLAIR), y las imágenes potenciadas en T1 potenciadas por gadolinio. Estas técnicas de formación de imágenes pueden emplearse para evaluar la celularidad del tumor, la invasión de materia blanca, el trastorno metabólico, que incluye hipoxia y necrosis, el volumen de la sangre capilar neovascular o la permeabilidad. También puede usarse la tecnología de tomografía de emisión de positrones (PET) para formar imágenes de la respuesta del tumor, tal como la PET de 18F-fluoromisonidazol y la PET de 3'-desoxi-3'-18F-fluorotimidina.

45 En algunas realizaciones, un péptido de EphA2 o una composición de este se administra a un sujeto que se encuentra en remisión de un cáncer cerebral. En una realización específica, el sujeto no tiene un cáncer cerebral detectable, es decir, no se detecta cáncer cerebral empleando un método convencional descrito en la presente (por ejemplo, MRI) o conocido por los expertos en la técnica.

50 En una realización, un péptido de EphA2 o una composición de este se administra a un sujeto diagnosticado con glioma. En una realización específica, un péptido de EphA2 o una composición de este se administra a un sujeto diagnosticado con astrocitoma (por ejemplo, astrocitoma pilocítico, astrocitoma difuso y astrocitoma anaplásico). En

otra realización específica, un péptido de EphA2 o una composición de este se administra a un sujeto diagnosticado con glioblastoma. En otra realización específica, un péptido de EphA2 o una composición de este se administra a un sujeto diagnosticado con oligodendroglioma. En otra realización específica, un péptido de EphA2 o una composición de este se administra a un sujeto diagnosticado con glioma del tronco cerebral. En otra realización específica, un péptido de EphA2 o una composición de este se administra a un sujeto diagnosticado con ependimoma. En otra realización específica, un péptido de EphA2 o una composición de este se administra a un sujeto diagnosticado con un tumor mixto que comprende más de un tipo de células gliales.

En una realización específica, un péptido de EphA2 o una composición de este se administra a un sujeto diagnosticado con glioma maligno recurrente. En otra realización específica, un péptido de EphA2 o una composición de este se administra a un sujeto diagnosticado con astrocitomas de grado II de la OMS de alto riesgo. En otra realización específica, un péptido de EphA2 o una composición de este se administra a un sujeto diagnosticado con oligoastrocitoma. En otra realización específica, un péptido de EphA2 o una composición de este se administra a un sujeto diagnosticado con glioma de grado II de la OMS recurrente. En otra realización específica, un péptido de EphA2 o una composición de este se administra a un sujeto diagnosticado con glioma del tronco cerebral intrínseco o maligno recién diagnosticado. En otra realización específica, un péptido de EphA2 o una composición de este se administra a un sujeto diagnosticado con glioma no del tronco cerebral extirpado de modo incompleto. En otra realización específica, un péptido de EphA2 o una composición de este se administra a un sujeto diagnosticado con glioma de grado bajo no extirpable recurrente.

En una realización específica, un péptido de EphA2 o una composición de este se administra a un sujeto diagnosticado con schwannoma acústico. En otra realización específica, un péptido de EphA2 o una composición de este se administra a un sujeto diagnosticado con faringioma craneal. En otra realización específica, un péptido de EphA2 o una composición de este se administra a un sujeto diagnosticado con meningioma. En otra realización específica, un péptido de EphA2 o una composición de este se administra a un sujeto diagnosticado con meduloblastoma. En otra realización específica, un péptido de EphA2 o una composición de este se administra a un sujeto diagnosticado con linfoma del sistema nervioso central primario. En otra realización específica, un péptido de EphA2 o una composición de este se administra a un sujeto diagnosticado con un tumor de la glándula pineal (por ejemplo, un tumor astrocítico pineal o un tumor parenquimático pineal). En otra realización específica, un péptido de EphA2 o una composición de este se administra a un sujeto diagnosticado con un tumor de la glándula pituitaria.

5.8.3 Terapias de combinación

En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan composiciones que comprenden un péptido de EphA2 para su uso en métodos para tratar, prevenir y/o gestionar un cáncer, que comprenden administrar a un paciente (por ejemplo, un paciente humano) que lo necesite una cantidad profiláctica y/o terapéuticamente eficaz de dicha composición y una o más terapias adicionales. Un péptido de EphA2 o una composición de este para su uso en la invención y una terapia adicional pueden administrarse por separado, al mismo tiempo o de modo secuencial. Las terapias de combinación pueden actuar de manera aditiva o sinérgica. En una realización específica, una terapia de combinación para su uso en la invención comprende un péptido de EphA2 y una IL-13R α 2.

Las terapias de combinación pueden administrarse a un sujeto en la misma composición farmacéutica. Como alternativa, las terapias de combinación pueden administrarse al mismo tiempo a un sujeto en composiciones farmacéuticas distintas. Las terapias de combinación pueden administrarse a un sujeto mediante la misma vía de administración o mediante vías de administración diferentes.

Cualquier terapia (por ejemplo, un agente terapéutico o profiláctico) que sea útil, ha sido empleada o se esté empleando en ese momento para la prevención, el tratamiento y/o la gestión de un cáncer (por ejemplo, un cáncer cerebral) puede usarse en combinación con un péptido de EphA2 o una composición para su uso en la invención en los métodos descritos en la presente. Las terapias incluyen, pero no se limitan a péptidos, polipéptidos, anticuerpos, conjugados, moléculas de ácidos nucleicos, moléculas pequeñas, agentes miméticos, fármacos sintéticos, moléculas inorgánicas y moléculas orgánicas. Los ejemplos no limitantes de terapias para el cáncer incluyen quimioterapia, terapia de radiación, terapia hormonal, cirugía, terapia de moléculas pequeñas, terapia antiangiogénica, terapia de diferenciación, terapia epigenética, radioinmunoterapia, terapia de transporte dirigido y/o terapia biológica, incluyendo la inmunoterapia. En ciertas realizaciones, un régimen profiláctica y/o terapéuticamente eficaz de la invención comprende la administración de una combinación de terapias.

Los ejemplos de terapias para el cáncer que pueden usarse en combinación con un péptido de EphA2 o una composición de este para su uso en la invención según los métodos descritos en la presente incluyen, pero no limitan a acivicina; aclarubicina; clorhidrato de acodazol; acronina; adozelesina; aldesleuquina; altretamina; ambomicina; acetato de ametantrona; aminoglutetimida; amsacrina; anastrozol; antraciclina; antramina; asparaginasa; asperlina; azacitidina (Vidaza); azetepa; azotomicina; batimastato; benzodepa; bicalutamida; clorhidrato de bisantreno; dimesilato de bisnafida; bisfosfonatos (por ejemplo, pamidronato (Aredria), clondronato de sodio (Bonefos), ácido zoledrónico (Zometa), alendronato (Fosamax), etidronato, ibandronato, cimadronato, risedronato, y tiludronato); bizelesina; sulfato de bleomicina; brequinar sodio; bropirimina; busulfano; cactinomicina; calusterona; caracemida; carbetimero; carboplatino; carmustina; clorhidrato de carubicina; carzelesina; cedefingol; clorambucilo; cirolemicina; cisplatino; cladribina; mesilato de crisnatol; ciclofosfamida; citarabina (Ara-C); dacarbazina; dactinomicina; clorhidrato

de daunorubicina; decitabina (Dacogen); agentes de desmetilación, dexormaplatino; dezaguanina; mesilato de dezaguanina; diaziquona; docetaxel; doxorubicina; clorhidrato de doxorubicina; droloxifeno; citrato de droloxifeno; propionato de dromostanolona; duazomicina; edatrexato; clorhidrato de eflornitina; inhibidores de EphA2; elsamitricina; enloplatio; enpromato; epipropidina; clorhidrato de epirubicina; erbulozol; clorhidrato de esorubicina; estramustina; fosfato de estramustina sodio; etanidazol; etopósido; fosfato de etopósido; etoprina; clorhidrato de fadrozol; fazarabina; fenretinida; floxuridina; fosfato de fludarabina; fluorouracilo; flurocitabina; fosquidona; fostriecina sodio; gemcitabina; inhibidores de la histona desacetilasa (HDAC); clorhidrato de gemcitabina; hidroxidurea; clorhidrato de idarubicina; ifosfamida; ilmofosina; mesilato de imatinib (Gleevec, Glivec); interleuquina II (que incluye interleuquina recombinante II, o rIL2); interferón alfa-2a; interferón alfa-2b; interferón alfa-n1; interferón alfa-n3; interferón beta-1a; interferón gamma-1b; ioprolatino; clorhidrato de irinotecano; acetato de lanreotida; lenalidomida (Revlimid); letrozol; acetato de leuprolida; clorhidrato de liarozol; lometrexol sodio; lomustina; clorhidrato de losoxantrona; masoprocol; maitansina; clorhidrato de mecloretamina; anticuerpos anti-CD2 (por ejemplo, siplizumab (MedImmune Inc.; publicación internacional n.º WO 02/098370)); acetato de megestrol; acetato de melengestrol; melfalano; menogarilo; mercaptopurina; metotrexato; metotrexato sodio; metoprina; meturedepa; mitindomida; mitocarfina; mitopósido; mitogilina; testolactona; tiamiciprina; tioguanina; mitosper; mitotano; clorhidrato de mitoxantrona; ácido micofenólico; nocodazol; nogalamicina; ormaplatino; oxaliplatino; oxisurano; paclitaxel; pegaspargasa; peliomicina; pentamustina; sulfato de peplomicina; perfosfamida; pipobromano; piposulfano; clorhidrato de piroxantrona; plicamicina; plomestano; porfímero sodio; porfíromicina; prednimustina; clorhidrato de procarbazona; puromicina; clorhidrato de puromicina; pirazofurina; riboprina; rogletimida; safingol; clorhidrato de safingol; semustina; simtrazeno; esparfosato sodio; esparsomicina; clorhidrato de espirogermanio; espiromustina; espiroplatino; estreptonigrina; estreptozocina; sulofenur; talisomicina; tecogalano sodio; tegafur; clorhidrato de teloxantrona; temoporfina; tenipósido; teroxirona; testolactona; tiamiprina; tioguanina; tiotepa; tiazofurina; tirapazamina; citrato de toremifeno; acetato de trestolona; fosfato de triciribina; trimetrexato; glucuronato de trimetrexato; triptorelina; clorhidrato de tubulozol; mostaza de uracilo; uredepa; vapreotida; verteporfina; sulfato de vinblastina; sulfato de vincristina; vindesina; sulfato de vindesina; sulfato de vinepidina; sulfato de vinglicinato; sulfato de vinleurosina; tartrato de vinorelbina; sulfato de vinrosidina; sulfato de vinzolidina; vorozol; zeniplatino; zinostatina; clorhidrato de zorubicina.

Otros ejemplos de terapias para el cáncer que pueden emplearse en combinación con un péptido de EphA2 o una composición de este para su uso en la invención según los métodos descritos en la presente incluyen, pero no se limitan a 20-epi-1,25 dihidroxivitamina D3; 5-etiniluracilo; abiraterona; aclarubicina; acifulveno; adecipenol; adozelesina; aldesleuquina; antagonistas de ALL-TK; altretamina; ambamustina; amidox; amifostina; ácido aminolevulínico; amrubicina; amsacrina; anagrelida; anastrozol; andrografolida; inhibidores de la angiogénesis; antagonista D; antagonista G; antarelix; proteína 1 morfogenética antidorsalizante; antiandrógeno, carcinoma prostático; antiestrógeno; antineoplastona; oligonucleótidos antisentido; glicinato de afidicolina; moduladores del gen de la apoptosis; reguladores de la apoptosis; ácido apurínico; ara-CDP-DL-PTBA; arginina desaminasa; asulacrina; atamestano; atrimustina; axinastatina 1; axinastatina 2; axinastatina 3; azasetrona; azatoxina; azatirosina; derivados de bacatina III; balanol; batimastato; antagonistas de BCR/ABL; benzoclorinas; benzoilestaurosoprina; derivados de beta-lactama; beta-aletina; betaclamina B; ácido betulínico; inhibidor de bFGF; bicalutamida; bisantreno; bisaziridinilespermina; bisnafida; bistrateno A; bizelesina; breflato; bropirimina; budotitano; butionina sulfoximina; calcipotriol; calfofina C; derivados de camptotecina; IL-2 de la viruela del canario; capecitabina; carboxamida-amino-triazol; carboxiamidotriazol; CaRest M3; CARN 700; inhibidor derivado del cartílago; carzelesina; inhibidores de caseína quinasa (ICOS); castanospermina; cecropina B; cetorelix; clorinas; cloroquinoxalina sulfonamida; cicaprost; cis-porfirina; cladribina; análogos de clomifeno; clotrimazol; colismicina A; colismicina B; combretastatina A4; análogo de combretastatina; conagenina; crambescidina 816; crisnatol; criptoficina 8; derivados de criptoficina A; curacina A; ciclopentantraquinonas; cicloplatamo; cipemicina; ocfosfato de citarabina; factor citolítico; citostatina; dacliximab; decitabina; deshidrodidemnina B; deslorelina; dexametasona; dexifosfamida; dexrazoxano; dexverapamilo; diaziquona; didemnina B; didox; dietilnoespermina; dihidro-5-azacidina; dihidrotaxol; dioxamicina; difenil espiromustina; docetaxel; docosanol; dolasetrona; doxifluridina; droloxifeno; dronabinol; duocarmicina SA; ebseleno; ecomustina; edelfosina; edrecolomab; eflornitina; elemeno; emitefur; epirubicina; epristerida; análogo de estramustina; agonistas del estrógeno; antagonistas del estrógeno; etanidazol; fosfato de etopósido; exemestano; fadrozol; fazarabina; fenretinida; filgrastimo; finasterida; flavopiridol; flezelastina; fluasterona; fludarabina; clorhidrato de fluorodaunorubicina; forfenimex; formestano; fostriecina; fotemustina; texafirina gadolinio; nitrato de galio; galocitabina; ganirelix; inhibidores de gelatinasa; gemcitabina; inhibidores de glutatión; inhibidores de HMG CoA reductasa (por ejemplo, atorvastatina, cerivastatina, fluvastatina, lescol, lupitor, lovastatina, rosuvastatina, y simvastatina); hepsulfamo; heregulina; hexametileno bisacetamida; hipericina; ácido ibandrónico; idarubicina; idoxifeno; idramantona; ilmofosina; ilomastato; imidazoacridonas; imiquimod; péptidos inmunoestimulantes; inhibidor del receptor del factor 1 de crecimiento similar a la insulina; agonistas del interferón; interferones; interleuquinas; iobenguano; yododoxorubicina; ipomeanol, 4-iropact; irsogladina; isobengazol; isohomohalicondrina B; itasetrona; jasplakinolida; kahalalida F; triacetato de lamelarina-N; lanreotida; leinamicina; lenograstimo; sulfato de lentinano; leptolestatina; letrozol; factor inhibidor de leucemia; interferón-alfa de leucocitos; leuprolida+estrógeno+progesterona; leuprorelina; levamisol; LFA-3TIP (Biogen, Cambridge, MA; publicación internacional n.º WO 93/0686 y patente de EE. UU. n.º 6.162.432); liarozol; análogo de poliamina lineal; péptido de disacárido lipófilo; compuestos de platino lipófilos; lisoclinamida 7; lobaplatino; lombricina; lometrexol; lonidamina; losoxantrona; lovastatina; loxoribina; lurtotecano; texafirina de lutecio; lisofilina; péptidos líticos; maitansina; manoestatina A; marimastato; masoprocol; maspina; inhibidores de matrilisina; inhibidores de metaloproteinasas de

matriz; menogarilo; merbarona; meterelina; metioninasa; metoclopramida; inhibidor de MIF; mifepristona; miltefosina; mirimostimo; ARN bicatenario desapareado; mitoguazona; mitolactol; análogos de mitomicina; mitonafida; factor de crecimiento de fibroblastos mitotoxina-saporina; mitoxantrona; mofaroteno; molgramostimo; anticuerpo monoclonal, gonadotrofina coriónica humana; monofosfíril lípido A+sk de la pared celular de miobacterias; mopidamol; inhibidor del gen de resistencia a múltiples fármacos; terapia basada en el supresor de tumor múltiple 1; agente anticáncer de mostaza; micaperóxido B; extracto de pared celular micobacteriana; miriaporona; N-acetil-dinalina; benzamidas N-sustituidas; nafarelina; nagrestip; naloxona+pentazocina; napavina; nafterpina; nartograstimo; nedaplatino; nemorubicina; ácido neridróico; endopeptidasa neutra; nilutamida; nisamicina; moduladores del óxido nítrico; antioxidante de nitróxido; nitrulina; O6-bencilguanina; octreotida; okicenona; oligonucleótidos; onapristona; ondansetrona; ondansetrona; oracina; inductor de citoquina oral; ormaplatino; osaterona; oxaliplatino; oxaunomicina; paclitaxel; análogos de paclitaxel; derivados de paclitaxel; palauamina; palmitoilirizoxina; ácido pamidróico; panaxitriol; panomifeno; parabactina; pazeliptina; pegaspargasa; peldesina; polisulfato de pentosano sodio; pentostatina; pentrozol; perflubrona; perfosfamida; alcohol perilílico; frenazinomina; acetato de fenilo; inhibidores de fosfatasa; picibanilo; clorhidrato de pilocarpina; pirarubicina; piritreximo; placetina A; placetina B; inhibidor del activador de plasminógeno; complejo de platino; compuestos de platino; complejo de platino-triamina; porfímero sodio; porfiromicina; prednisona; propil bis-acridona; prostaglandina J2; inhibidores de proteasoma; modulador inmunológico basado en la proteína A; inhibidor de proteína quinasa C; inhibidores de proteína quinasa C, microalgales; inhibidores de proteína tirosina quinasa; inhibidores de purina nucleósido fosforilasa; purpurinas; pirazoloacridina; conjugado de hemoglobina piridoxilada-polioxiétileno; antagonistas de raf; raltitrexed; ramosetrona; inhibidores de la ras farnesil proteína transferasa; inhibidores de ras; inhibidor de ras-GAP; reteliptina desmetilada; etidronato de renio Re 186; rizoxina; ribozimas; RII retinamida; rogletimida; rohituquina; romurtida; roquinimex; rubiginona B1; ruboxilo; safingol; saintopina; SarCNU; sarcófitol A; sargramostimo; miméticos de Sdi 1; semustina; inhibidor derivado de la senescencia 1; oligonucleótidos sentido; inhibidores de la transducción de señales; moduladores de la transducción de señales; proteína de unión al antígeno monocatenaria; sizofirano; sobuzoxano; borocaptato de sodio; fenilacetato de sodio; solverol; proteína de unión a somatomedina; sonermina; ácido esparfósico; espicamicina D; espiromustina; esplenopentina; espongiestatina 1; escualamina; inhibidor de células madre; inhibidores de la división de células madre; estipiámidas; inhibidores de estromelina; sulfinosina; antagonista del péptido intestinal vasoactivo superactivo; suradista; suramina; swainsonina; glicosaminoglucanos sintéticos; talimustina; 5-fluorouracilo; leucovorina; metoyoduro de tamoxifeno; tauromustina; tazaroteno; tecogalano sodio; tegafur; telurapirilio; inhibidores de telomerasa; temoporfin; temozolomida; tenipósido; tetraclorodecaóxido; tetrazomina; taliblastina; tiocoralina; trombopoyetina; mimético de trombopoyetina; timalfasina; agonista del receptor de timopoyetina; timotrinano; hormona estimulante del tiroides; etiopurpurina de etilo estaño; tirapazamina; bicloruro de titanoceno; topsentina; toremifeno; factor de células pluripotenciales totipotente; inhibidores de la traducción; tretinoína; triacetiluridina; triciribina; trimetrexat; triptorelina; tropisetrona; turosterida; inhibidores de tirosina quinasa; tirfostinas; inhibidores de UBC; ubenimex; factor inhibidor del crecimiento derivado del seno urogenital; antagonistas del receptor de uroquinasa; vapreotida; variolina B; sistema de vector, terapia génica de eritrocitos; talidomida; velaresol; veramina; verdinas; verteporfina; vinorelbina; vinxaltina; VITAXIN™ (véase publicación de patente de EE. UU. n.º US 2002/0168360 A1, con fecha del 14 de noviembre, 2002, titulada "Métodos para prevenir o tratar trastornos inflamatorios o autoinmunitarios mediante la administración de antagonistas de integrina $\alpha\beta 3$ en combinación con otros agentes profilácticos o terapéuticos"); vorozol; zanoterona; zeniplatino; zilascorb; y zinostatina estimalámero.

En algunas realizaciones, la terapia o terapias empleadas en combinación con un péptido de EphA2 y/o IL-13R $\alpha 2$ o una composición de estos descritos en la presente según los métodos descritos en la presente es un agente inmunomodulador. Los ejemplos no limitantes de agentes inmunomoduladores incluyen agentes proteicos, tales como citoquinas, miméticos de péptidos, y anticuerpos (por ejemplo, humanos, humanizados, quiméricos, monoclonales, policlonales, fragmentos Fv, ScFv, Fab o F(ab) $_2$ o fragmentos de unión al epítipo), moléculas de ácidos nucleicos (por ejemplo, moléculas de ácidos nucleicos antisentido y triples hélices), moléculas pequeñas, compuestos orgánicos y compuestos inorgánicos. En particular, los agentes inmunomoduladores incluyen, pero no se limitan a metotrexato, leflunomida, ciclofosfamida, citoxano, inmurano, ciclosporina A, minociclina, azatioprina, antibióticos (por ejemplo, FK506 (tacrolimus)), metilprednisolona (MP), corticosteroides, esteroides, micofenolato mofetilo, rapamicina (sirolimus), mizoribina, desoxiespergualina, brequinar, malononitriloamindas (por ejemplo, leflunamida), moduladores del receptor de células T, moduladores del receptor de citoquinas, y moduladores de células cebadas. Otros ejemplos de agentes inmunomoduladores pueden encontrarse, por ejemplo, en la publicación de EE. UU. n.º 2005/0002934 A1 en los párrafos 259-275. En una realización, el agente inmunomodulador es un agente quimioterapéutico. En una realización alternativa, el agente inmunomodulador es un agente inmunomodulador distinto de un agente quimioterapéutico. En algunas realizaciones, la terapia o terapias usadas según la invención no son un agente inmunomodulador.

En algunas realizaciones, la terapia o terapias empleadas en combinación con un péptido de EphA2 o una composición de este para su uso en la invención según los métodos descritos en la presente son un agente antiangiogénico. Los ejemplos no limitantes de agentes antiangiogénicos incluyen proteínas, polipéptidos, péptidos, conjugados anticuerpos (por ejemplo, humanos, humanizados, quiméricos, monoclonales, policlonales, fragmentos Fv, ScFv, Fab o F(ab) $_2$ o fragmentos de unión al antígeno), tales como anticuerpos que se unen específicamente a TNF- α , moléculas de ácidos nucleicos (por ejemplo, moléculas antisentido y triples hélices), moléculas orgánicas, moléculas inorgánicas y moléculas pequeñas que reducen o inhiben la angiogénesis. Otros ejemplos de agentes

antiangiogénicos pueden encontrarse, por ejemplo, en la publicación de EE. UU. n.º 2005/0002934 A1 en los párrafos 277-282. En una realización preferida, la terapia antiangiogénica es bevacizumab (Avastin®). En otras realizaciones, la terapia o terapias usadas según la invención no son un agente antiangiogénico.

5 En algunas realizaciones, la terapia o terapias empleadas en combinación con un péptido de EphA2 o una composición de este para su uso en la invención según los métodos descritos en la presente son un agente antiinflamatorio. Los ejemplos no limitantes de agentes antiinflamatorios incluyen cualquier agente antiinflamatorio, que incluyen agentes útiles en terapias para trastornos inflamatorios, muy conocidos por los expertos en la técnica. Los ejemplos no limitantes de agentes antiinflamatorios incluyen fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAID), fármacos antiinflamatorios esteroideos, anticolinérgicos (por ejemplo, sulfato de atropina, metilnitrato de atropina, y bromuro de ipratropio (ATROVENT™)), beta2-agonistas (por ejemplo, abuterol (VENTOLIN™ y PROVENTIL™), bitolterol (TORNALATE™), levalbuterol (XOPONEX™), metaproterenol (ALUPENT™), pirbuterol (MAXAIR™), terbutalina (BRETHAIRE™ y BRETHINE™), albuterol (PROVENTIL™, REPETABS™, y VOLMAX™), formoterol (FORADIL AEROLIZER™), y salmeterol (SEREVENT™ y SEREVENT DISKUS™)), y metilxantinas (por ejemplo, teofilina (UNIPHYL™, THEO-DUR™, SLO-BID™, y TEHO-42™)). Los ejemplos de NSAID incluyen, pero no se limitan a aspirina, ibuprofeno, celecoxib (CELEBREX™), diclofenaco (VOLTAREN™), etodolaco (LODINE™), fenoprofeno (NALFON™), indometacina (INDOCIN™), cetoralaco (TORADOL™), oxaprozina (DAYPRO™), nabumentona (RELAFEN™), sulindaco (CLINORIL™), tolmantina (TOLECTIN™), rofecoxib (VIOXX™), naproxeno (ALEVE™, NAPROSYN™), cetoprofeno (ACTRON™) y nabumetona (RELAFEN™). Estos NSAID actúan inhibiendo una enzima ciclooxigenasa (por ejemplo, COX-1 y/o COX-2). Los ejemplos de fármacos antiinflamatorios esteroideos incluyen, pero no se limitan a glucocorticoides, dexametasona (DECADRON™), corticosteroides (por ejemplo, metilprednisolona (MEDROL™)), cortisona, hidrocortisona, prednisona (PREDNISONE™ y DELTASONE™), prednisolona (PRELONE™ and PEDIAPRED™), triamcinolona, azulfidina, e inhibidores de eicosanoides (por ejemplo, prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos). Otros ejemplos de agentes antiinflamatorios pueden encontrarse, por ejemplo, en la publicación de EE. UU. n.º 005/0002934 A1 en los párrafos 290-294. En otras realizaciones, la terapia o terapias usadas según la invención no son un agente antiinflamatorio.

En ciertas realizaciones, la terapia o terapias empleadas en combinación con un péptido de EphA2 o una composición de este para su uso en la invención según los métodos descritos en la presente son un agente alquilante, una nitrosourea, un antimetabolito, y antraciclina, un inhibidor de topoisomerasa II, o un inhibidor mitótico. Los agentes alquilantes incluyen, pero no se limitan a busulfano, cisplatino, carboplatino, colorambucilo, ciclofosfamida, ifosfamida, decarbazina, mecloretamina, melfalano y temozolomida. Las nitrosoureas incluyen, pero no se limitan a carmustina (BCNU) y lomustina (CCNU). Los antimetabolitos incluyen, pero no se limitan a 5-fluorouracilo, capecitabina, metotrexato, gemcitabina, citarabina, y fludarabina. Las antraciclinas incluyen, pero no se limitan a daunorubicina, doxorubicina, epirubicina, idarubicina, y mitoxantrona. Los inhibidores de topoisomerasa II incluyen, pero no se limitan a topotecano, irinotecano, etopósido (VP-16), y tenipósido. Los inhibidores mitóticos incluyen, pero no se limitan a taxanos (paclitaxel, docetaxel), y los vinca-alcaloides (vinblastina, vincristina, y vinorelbina).

Las terapias para el cáncer disponibles en la actualidad y sus dosificaciones, vías de administración y utilización recomendada son conocidas en la técnica y han sido descritas en la bibliografía, tal como Physician's Desk Reference (60ª ed., 2006).

40 6. Ejemplos

Los siguientes ejemplos ilustran más a fondo la invención.

6.1 Ejemplo 1

Este ejemplo demuestra que EphA2 e IL-13R α 2 son antígenos de las células madre del cáncer.

6.1.1 Materiales y métodos

45 Se realizó una citometría de flujo con la línea celular de cáncer cerebral A-172 para evaluar la expresión de EphA2 e IL-13R α 2 en estas células de cáncer. El protocolo experimental incluyó las siguientes etapas.

Se descongelaron células A-172 y se cultivaron en placas de cultivo de 10 cm bajo condiciones estériles y empleando una técnica aséptica. Las células A-172 se cultivaron en MEM que contenía FBS al 10%. Ambas líneas celulares se cultivaron a 37 °C con 5% de CO₂ en aire humidificado. Las células A-172 se transfirieron 1:5 cada 3 días.

55 En el día de los experimentos, las células se lavaron una vez con 1x PBS y se incubaron durante 3 minutos con 2 ml de tripsina-EDTA al 0,25% a 37 °C. Las células después se desprendieron de las placas de cultivo de tejidos con una agitación suave y se diluyeron con 10 ml de DMEM. Las células después se colocaron en un tubo cónico de 50 ml y se centrifugaron a 350 x g durante 5 minutos. El sobrenadante se aspiró y las células se resuspendieron en 10 ml de DMEM. Se mezclaron 50 μ l de las células con un volumen igual de azul de tripano y la mezcla se colocó cuidadosamente en un hemacitómetro para el recuento. Después los volúmenes celulares se ajustaron con DMEM hasta una concentración de 5 x 10⁶/ml.

Se prepararon veinte tubos de citometría de flujo (Fisher Scientific) y se añadieron 100 µl de las células a cada tubo (5 x 10⁵ células/tubo) (10 tubos con células A-172).

Se añadieron 20 µl de reactivo de bloqueo de Fc a cada tubo y los tubos se incubaron a temperatura ambiente durante 10 minutos.

- 5 Se diluyeron 10 µl de cada anticuerpo, tal como se proporciona en la siguiente tabla 1, hasta la concentración de trabajo descrita proporcionada en la siguiente tabla 2, y se añadieron a cada tubo apropiado. Los tubos se incubaron durante 30 minutos a 4 °C con agitación suave.

Tabla 1: Células A-172

Tubo	n.º 1	n.º 2-3	n.º 4-5	n.º 6	n.º 7	n.º 8	n.º 9	n.º 10
Anticuerpo primario	No teñido	Control de isotipo	Solo anticuerpos secundarios	α-CD133	α-IL13Rα2	α-EphA2	α-CD133 + α-IL13Rα2	α-CD133 + α-EphA2
Anticuerpo secundario		Antirratón o anticabra	Antirratón o anticabra	Antirratón	Anticabra	Anticabra	Antirratón + anticabra	Antirratón + anticabra

10

Tabla 2

Anticuerpo	Concentración de trabajo
CD133	16,5 µg/ml
IL 13Rα2	10 µg/ml
EphA2	50 µg/ml
Antirratón-APC	1:200
Anticabra-FITC	1:200

Después de la incubación, las células se centrifugaron a 300 x g durante 1 minuto en una microcentrífuga refrigerada de mesa. Se retiró el sobrenadante y las células se lavaron con tampón FACS enfriado en hielo 3 veces. Las células después se resuspendieron en 100 µl de tampón FACS y se añadieron 10 µl de los anticuerpos secundarios a los tubos apropiados. Los tubos se incubaron durante 30 minutos a 4 °C con agitación suave en la oscuridad.

15

Después de la incubación, las células se centrifugaron a 300 x g durante 1 minuto en una microcentrífuga refrigerada de mesa. Se retiró el sobrenadante y las células se lavaron con tampón FACS enfriado en hielo 3 veces. Las células después se resuspendieron en 200 µl de tampón FACS y se analizaron en un citómetro de flujo FACSCalibur (BD Biosciences).

20 6.1.2 Resultados

En el cáncer cerebral, las células madre del cáncer cerebral pueden identificarse empleando el marcador CD133, es decir, se sabe que las células madre del expresan el antígeno CD133 (véase, por ejemplo, Singh *et al.*, 2004, Nature 432:396-401). Las células madre del cáncer de la línea de células de cáncer cerebral A-172 expresan CD133 (véase, por ejemplo, Qiang *et al.*, 2009, Cancer Letters, 271:13-21).

- 25 Tal como se demuestra en la figura 1, todas las células de la línea A-172 fueron positivas a EphA2 e IL-13Rα2, mientras que una pequeña población de dichas células también fue positiva a CD133. Por tanto, esta subpoblación de células CD133+ representa la subpoblación de células madre del cáncer de la línea celular A-172, y se observó el mismo patrón de expresión de CD133 en células A-172 en un posterior experimento repetido exactamente (véanse las figuras 6 y 7).

- 30 Tal como se demuestra en la figura 2, la población CD133+ también es positiva para la expresión de EphA2, lo cual demuestra que EphA2 está presente en la población de células madre del cáncer obtenida de la línea celular A-172 y, por tanto, que EphA2 es un antígeno de las células madre del cáncer. Este hecho se verificó en un posterior

experimento repetido exactamente (véase la figura 8). Además, tal como se muestra en la figura 4, EphA2 fue expresado a mayores niveles sobre células CD133+, comparado con células CD133-.

- 5 De modo similar, tal como se demuestra en la figura 2, la población CD133+ de la línea celular A-172 también es positiva para la expresión de IL-13R α 2, lo cual demuestra que IL-13R α 2 está presente en la población de células madre del cáncer obtenida de la línea celular A-172 y, por tanto, que IL-13R α 2 es un antígeno de las células madre del cáncer. Este hecho se verificó en un posterior experimento repetido exactamente (véase la figura 8). Además, tal como se muestra en la figura 5, IL-13R α 2 se expresa a mayores niveles sobre células CD133+, comparado con células CD133-.

6.1.3 Conclusión

- 10 Estos datos demuestran que EphA2 es un antígeno de las células madre del cáncer y, así, puede utilizarse en métodos para el tratamiento de un cáncer, tal como el cáncer cerebral.

REIVINDICACIONES

- 1.- Una composición que comprende un péptido de EphA2 para su uso en un método para tratar, prevenir o gestionar un cáncer en un sujeto que lo necesita, que comprende:
- (i) administrar dicha composición a dicho sujeto, y
- 5 (ii) medir la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto.
- 2.- La composición para su uso según la reivindicación 1, en la que el método comprende, además:
- (iii) comparar la cantidad de células madre del cáncer en una muestra obtenida del paciente con la cantidad de células madre del cáncer en una muestra de referencia, o con un intervalo de referencia predeterminado,
- 10 en el que una estabilización o una disminución en la cantidad de células madre del cáncer en la muestra con relación a la muestra de referencia, o a un intervalo de referencia predeterminado, indica que el método es eficaz.
- 3.- La composición para su uso según la reivindicación 1 o 2, en la que dicho péptido de EphA2 se carga sobre células dendríticas.
- 4.- La composición para su uso según la reivindicación 1 o 2, en la que dicho EphA2:
- (i) es un epitopo de células T de EphA2, preferiblemente en el que dicho epitopo de células T de EphA2 induce una respuesta inmunológica en un sujeto; o
- 15 (ii) comprende SEQ ID NO:1 o consiste en SEQ ID NO:1.
- 5.- Un método para controlar la eficacia de una terapia para el cáncer basada en un péptido de EphA2 en un paciente con cáncer, comprendiendo dicho método:
- (a) medir la cantidad de células madre del cáncer extraídas del paciente antes y después de la administración de la terapia para el cáncer basada en un péptido de EphA2; y
- 20 (b) comparar la cantidad de células madre del cáncer extraídas del paciente antes de la administración de la terapia para el cáncer con la cantidad de células madre del cáncer extraídas del paciente después de la administración de la terapia para el cáncer basada en el péptido de EphA2, en el que se determina que la terapia para el cáncer es eficaz si la cantidad de células madre del cáncer extraídas del paciente después de la administración de la terapia para el cáncer es equivalente o es menor que la cantidad de células madre del cáncer extraídas del paciente antes de la administración de la terapia para el cáncer.
- 25 6.- La composición para su uso según las reivindicaciones 1 a 4 o el método según la reivindicación 5, en el que dicha cantidad de células madre del cáncer se mide empleando una biopsia, un fluido biológico, una biopsia de médula ósea, una biopsia de tumor, o una biopsia de tejido normal del sujeto o paciente, respectivamente.
- 30 7.- La composición para su uso según las reivindicaciones 1 a 4 o el método según la reivindicación 5, en el que dicha cantidad de células madre del cáncer se mide determinando la cantidad de células madre del cáncer que expresan EphA2, o células madre del cáncer que expresan CD133.
- 8.- La composición para su uso según las reivindicaciones 1 a 4 o el método según la reivindicación 5, en el que dicha cantidad de células madre del cáncer se mide:
- 35 (i) empleando un inmunoensayo, en el que el inmunoensayo se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en transferencias Western, inmunohistoquímica, radioinmunoensayos, ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas), inmunoensayos de "sandwich", ensayos de inmunoprecipitación, reacciones de precipitina, reacciones de precipitina de difusión en gel, ensayos de inmunodifusión, ensayos de aglutinación, ensayos de fijación del complemento, ensayos inmunoradiométricos, inmunoensayos fluorescentes, inmunofluorescencia, inmunoensayos de proteína A, citometría de flujo y análisis FACS;
- 40 (ii) empleando un citómetro de flujo, en el que la cantidad de células madre del cáncer se determina preferiblemente con uno o más anticuerpos que se unen a marcadores de la superficie celular, o en el que las células madre del cáncer se ponen preferiblemente en contacto con uno o más tintes antes de la detección en el citómetro de flujo;
- (iii) usando la inmunohistoquímica;
- 45 (iv) usando un ensayo formador de esferas;
- (v) cultivando una muestra obtenida del sujeto, o una porción de esta, y cuantificando las células en un ensayo *in vitro*;
- (vi) empleando un ensayo de injerto *in vivo* con un ratón inmunocomprometido; o

(vii) empleando la formación de imágenes, en la que dicha formación de imágenes es preferiblemente MRI, PET, FDG-PET, barrido de CT, o rayos X.

9.- La composición para su uso según las reivindicaciones 1 a 4 o el método según la reivindicación 5, en el que dichas células madre del cáncer están asociadas con un cáncer cerebral.

5 10.- Un compuesto que se dirige a EphA2 para su uso en un método para tratar un cáncer en un sujeto, en el que dicho compuesto es un anticuerpo que se une a EphA2 o a células madre del cáncer que expresan EphA2, preferiblemente en el que dicho anticuerpo es un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo monocatenario, un anticuerpo biespecífico o un fragmento de un anticuerpo específico de EphA2 y en el que dicho método comprende además medir la cantidad de células madre del cáncer en dicho sujeto.

10 11.- El compuesto para su uso según la reivindicación 10, en el que dicha medición se realiza antes, durante y después de la administración de dicho compuesto.

12.- El compuesto para su uso según las reivindicaciones 10 u 11, en el que dicho cáncer es cáncer cerebral.

15 13.- La composición para el uso o el método según la reivindicación 9, o la composición para el uso según la reivindicación 12, en el que dicho cáncer cerebral es un glioma, glioblastoma, oligodendroglioma, glioma del tronco cerebral, glioma no del tronco cerebral, ependimoma, schwannoma acústico, craniofaringioma, meningioma, meduloblastoma, linfoma del sistema nervioso central primario, tumores de las glándulas pineal y pituitaria, astrocitoma/oligodendroglioma supratentorial infiltrante de grado bajo en adultos, astrocitoma supratentorial infiltrante de grado bajo en adultos, oligodendroglioma supratentorial infiltrante de grado bajo en adultos (excluyendo el astrocitoma pilocítico), astrocitoma/oligodendroglioma supratentorial infiltrante de grado bajo en adultos (excluyendo el astrocitoma pilocítico), astrocitoma supratentorial infiltrante de grado bajo en adultos (excluyendo el astrocitoma pilocítico), oligodendroglioma supratentorial infiltrante de grado bajo en adultos (excluyendo el astrocitoma pilocítico), ependimoma intracraneal en adultos, ependimoma intracraneal en adultos (excluyendo el mixopapilar y subependimoma), ependimoma anaplásico intracraneal en adultos, glioma anaplásico, glioblastoma anaplásico, astrocitoma pilocítico, subependimoma, mixopapilar, metástasis leptomeningiales, linfoma del SNC primario, tumor espinal metastásico, o meningioma.

20

25

14.- La composición para el uso o el método según la reivindicación 13, en el que dicho glioma es un astrocitoma, astrocitoma pilocítico, astrocitoma difuso, astrocitoma anaplásico, astrocitoma de grado II de la OMS de alto riesgo, oligoastrocitoma, glioma maligno recurrente, glioma de grado II de la OMS recurrente, glioma del tronco cerebral maligno o intrínseco recién diagnosticado, glioma no del tronco cerebral extirpado de modo incompleto, o glioma de grado bajo no extirpable recurrente.

30

15.- Un método para mejorar el transporte dirigido de una vacuna del cáncer a células madre del cáncer, que comprende determinar el motivo de unión de un epítipo de clase I o de clase II de EphA2, y realizar sustituciones en la secuencia de aminoácidos de modo que los péptidos modificados son capaces de inducir una respuesta inmunológica que es al menos tan eficaz para destruir células madre del cáncer como el péptido de tipo salvaje.

35 16.- El método según la reivindicación 15, en el que las sustituciones son en al menos un aminoácido implicado en (i) la unión a la molécula de MHC, (ii) el contacto con el receptor de células T, o (iii) la alteración de la conformación del péptido, de modo que la sustitución afecta a la unión de la molécula de MHC o al contacto con el receptor de células T.

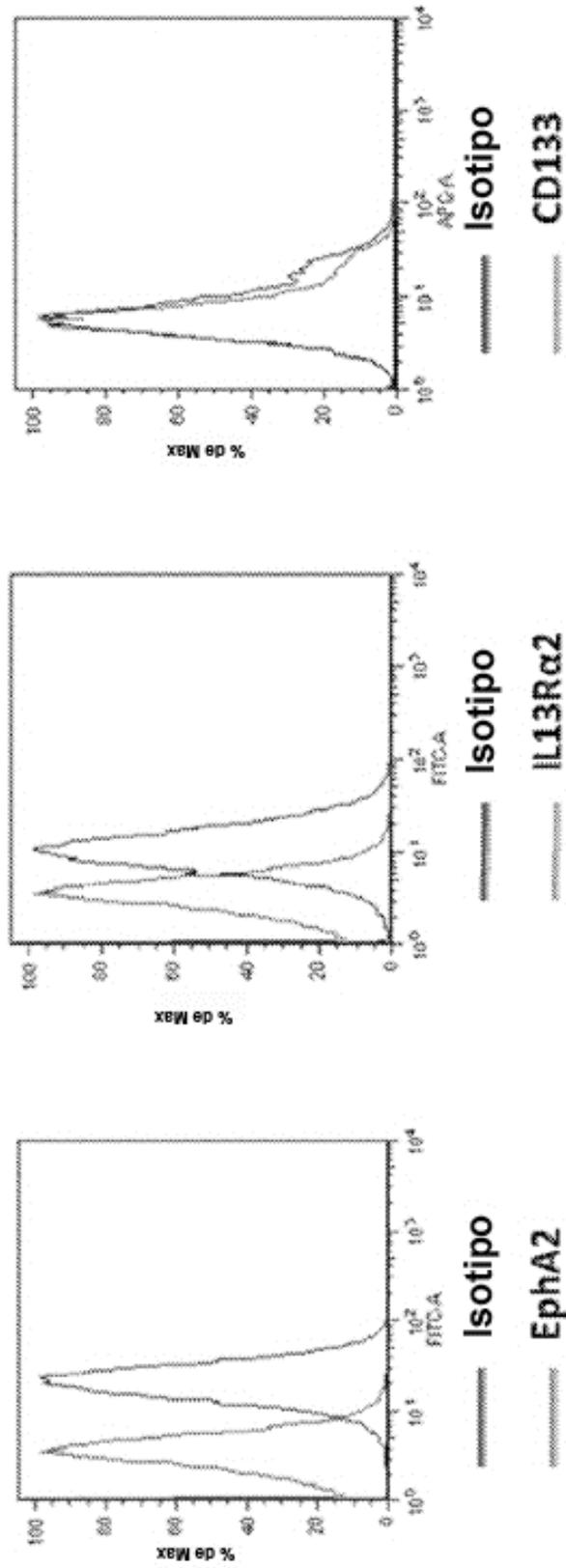


FIG. 1

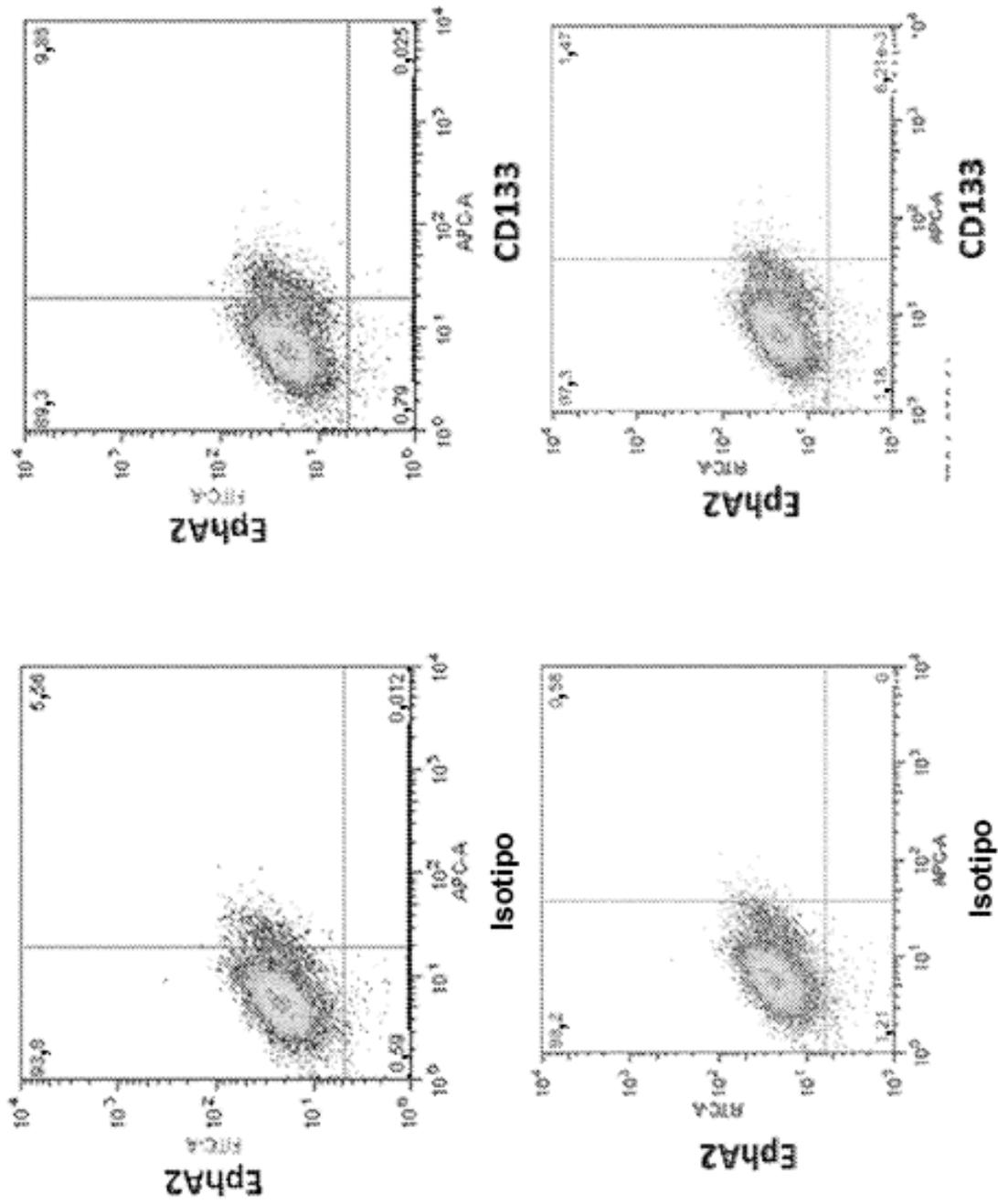


FIG. 2

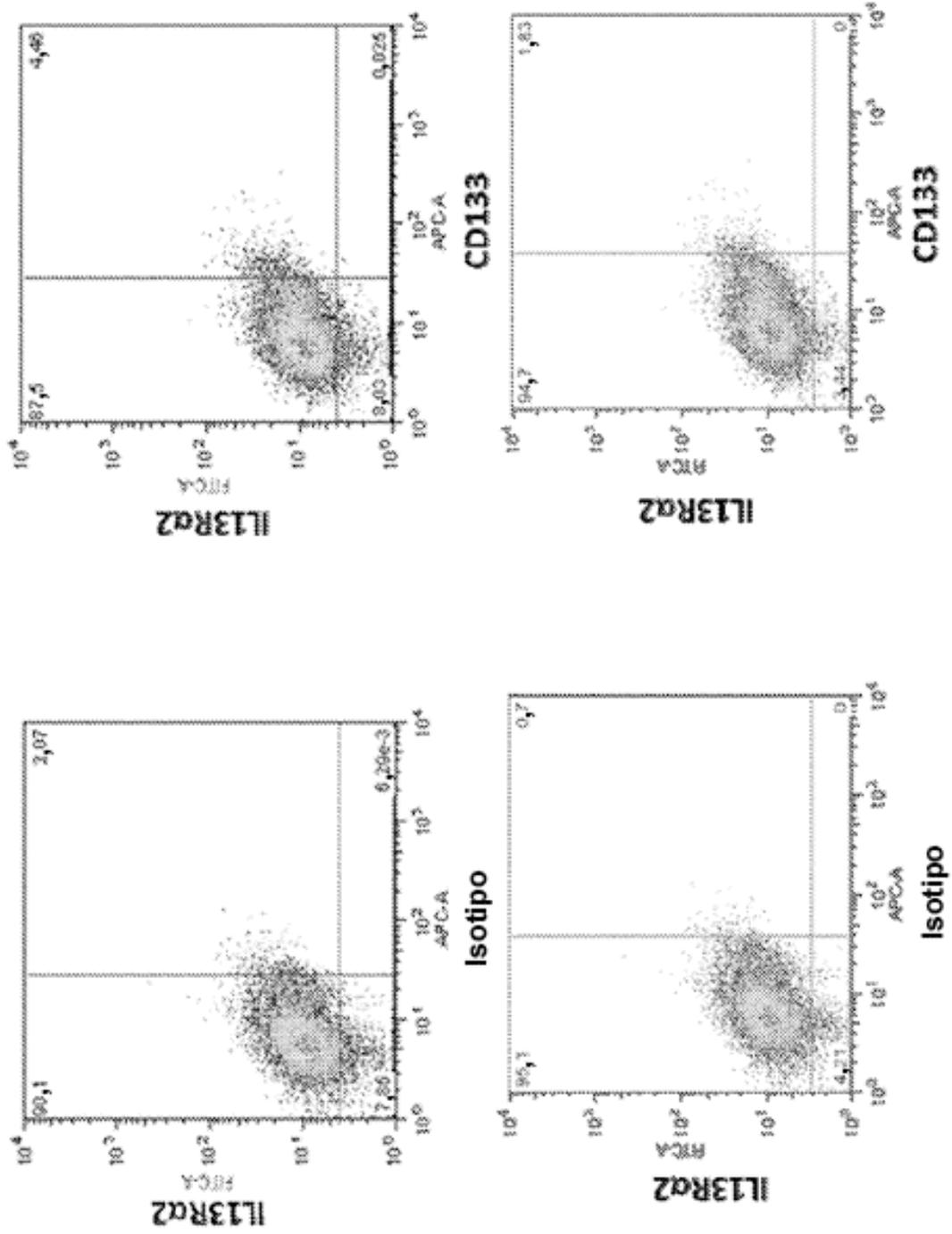


FIG. 3

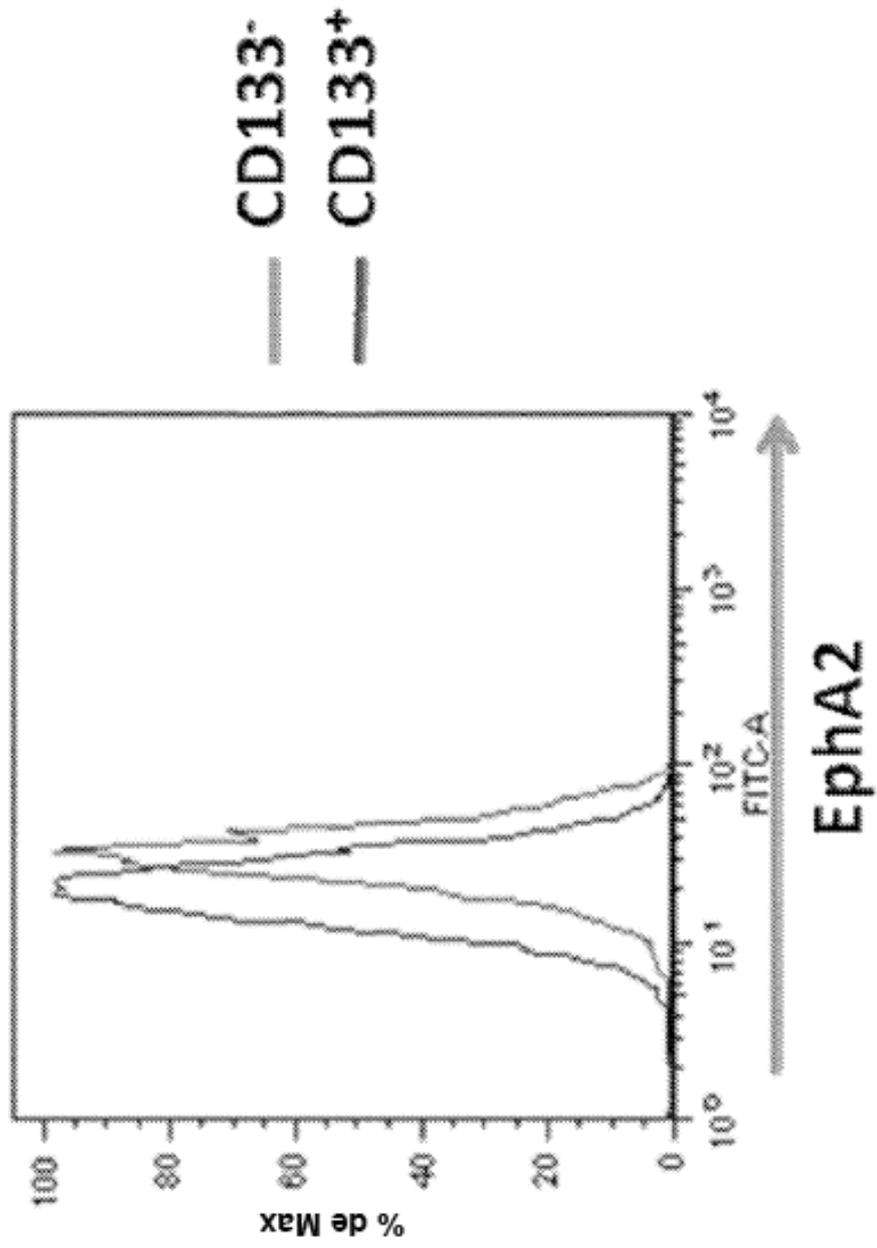


FIG. 4

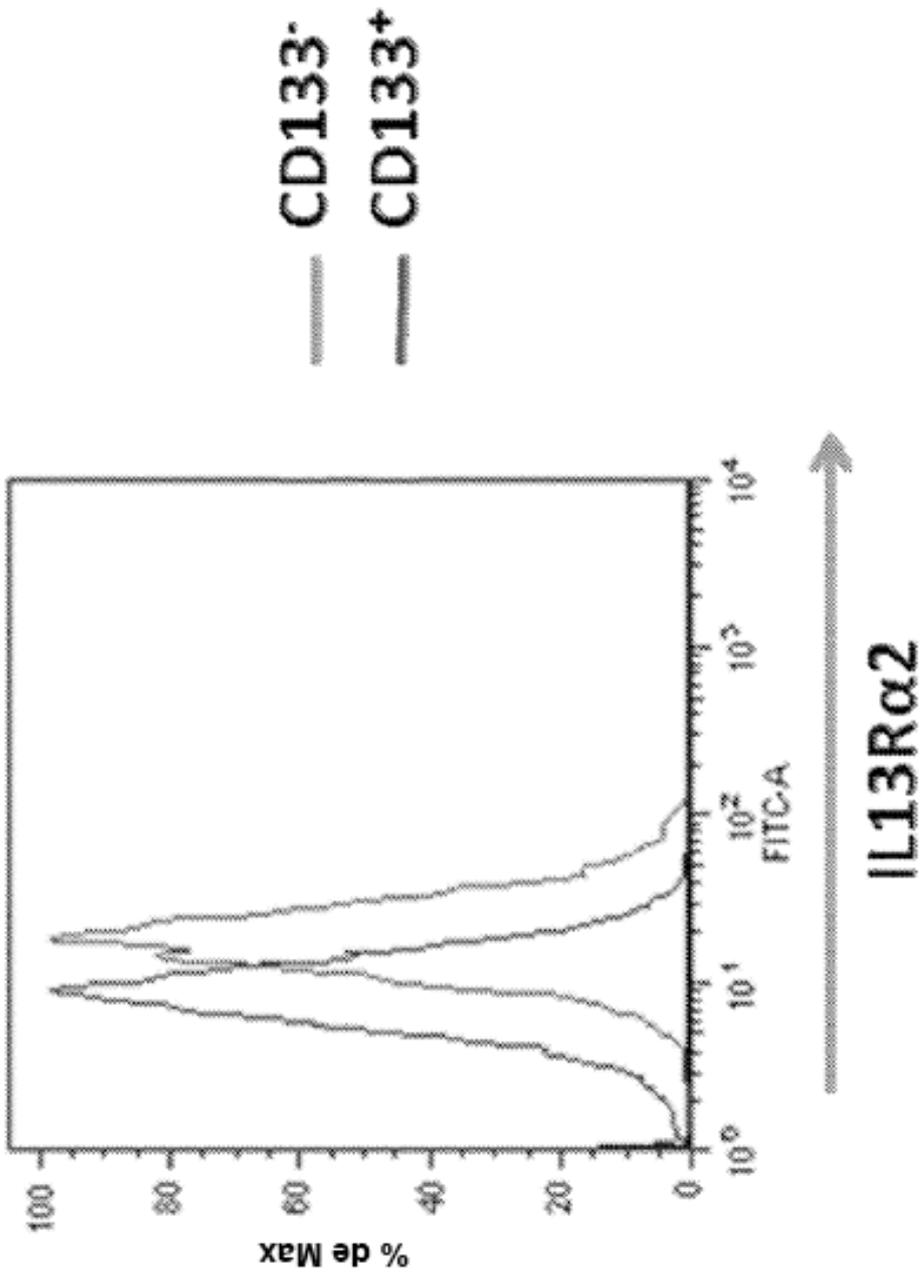


FIG. 5

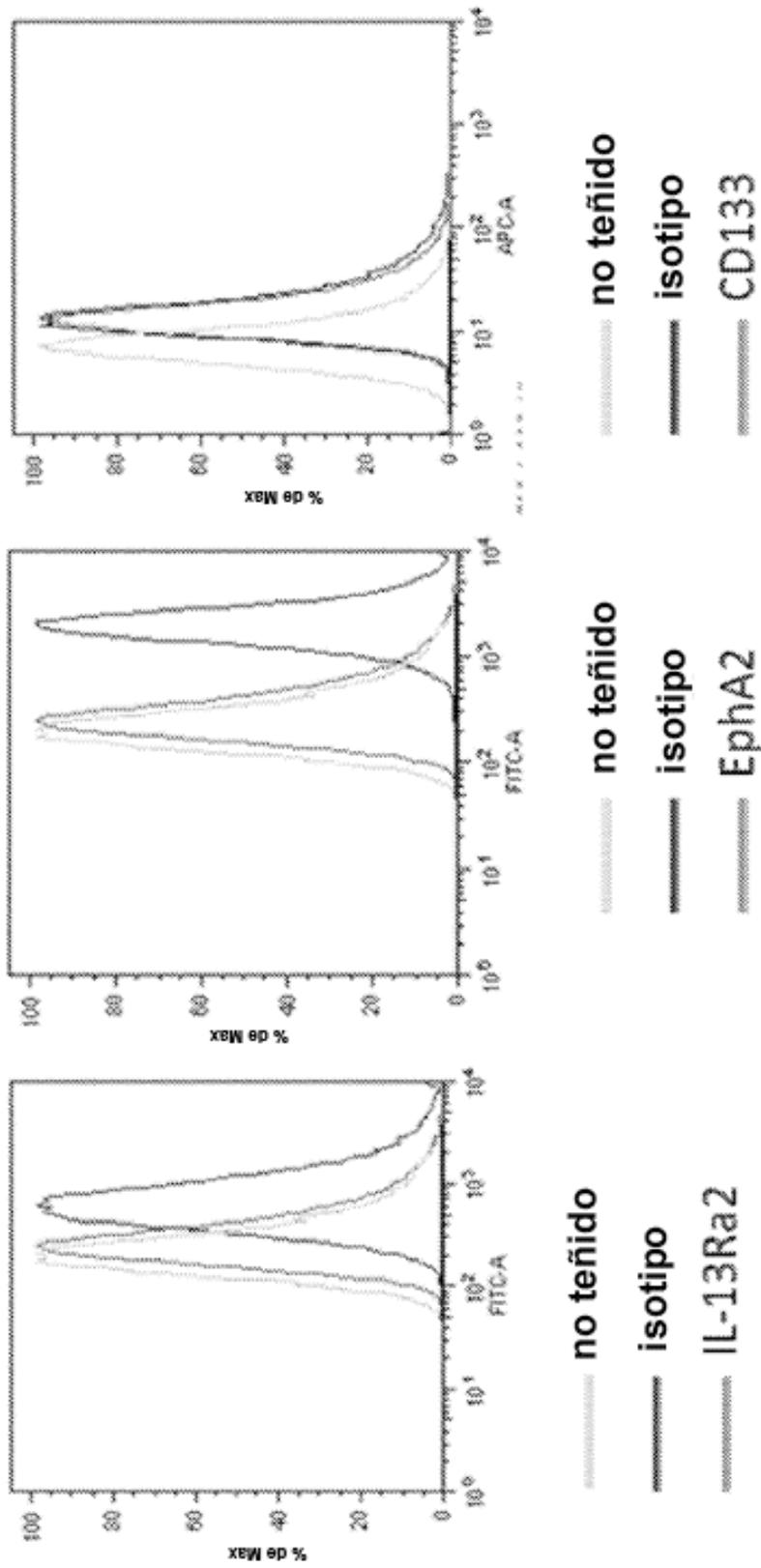


FIG. 6

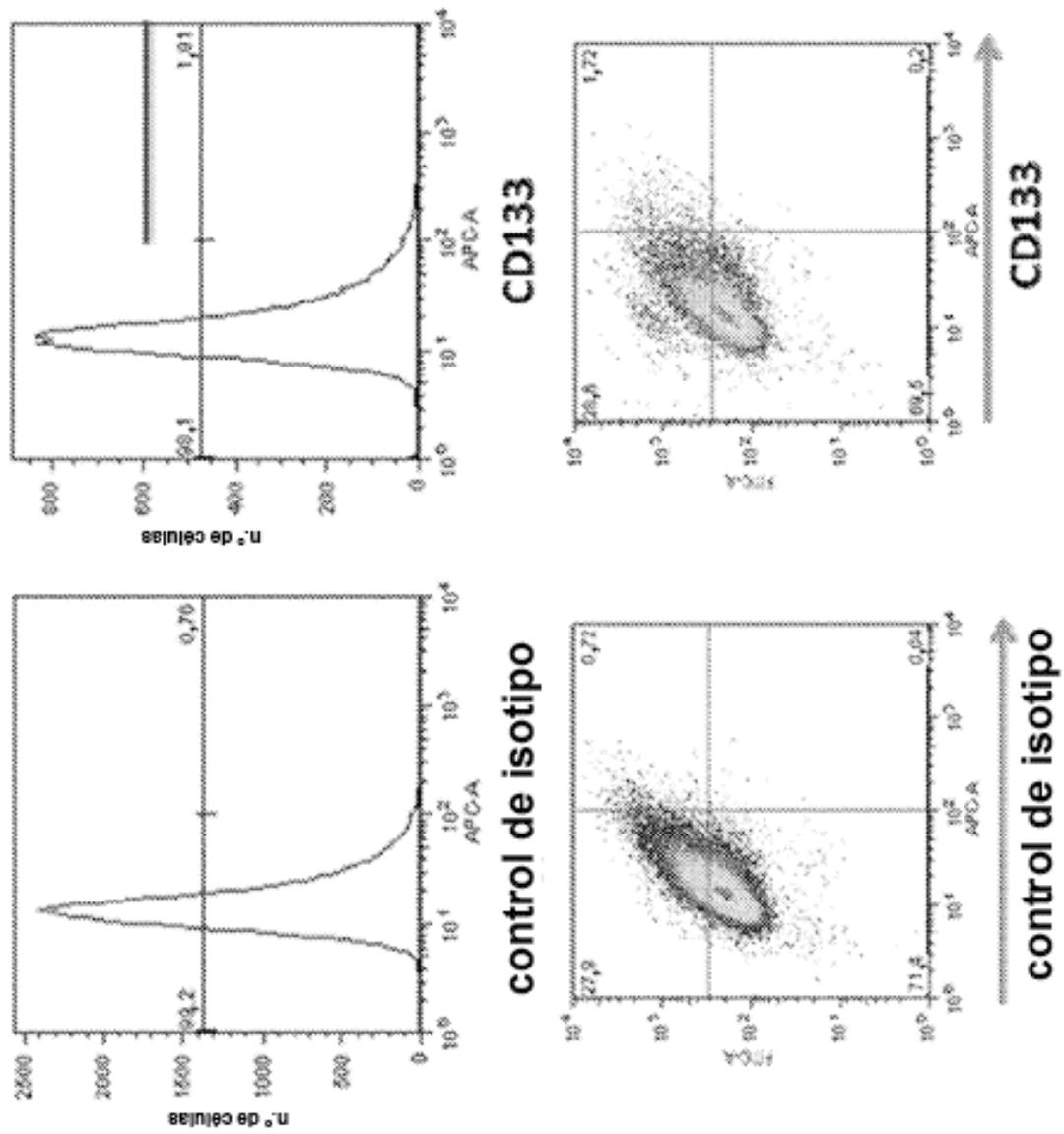


FIG. 7

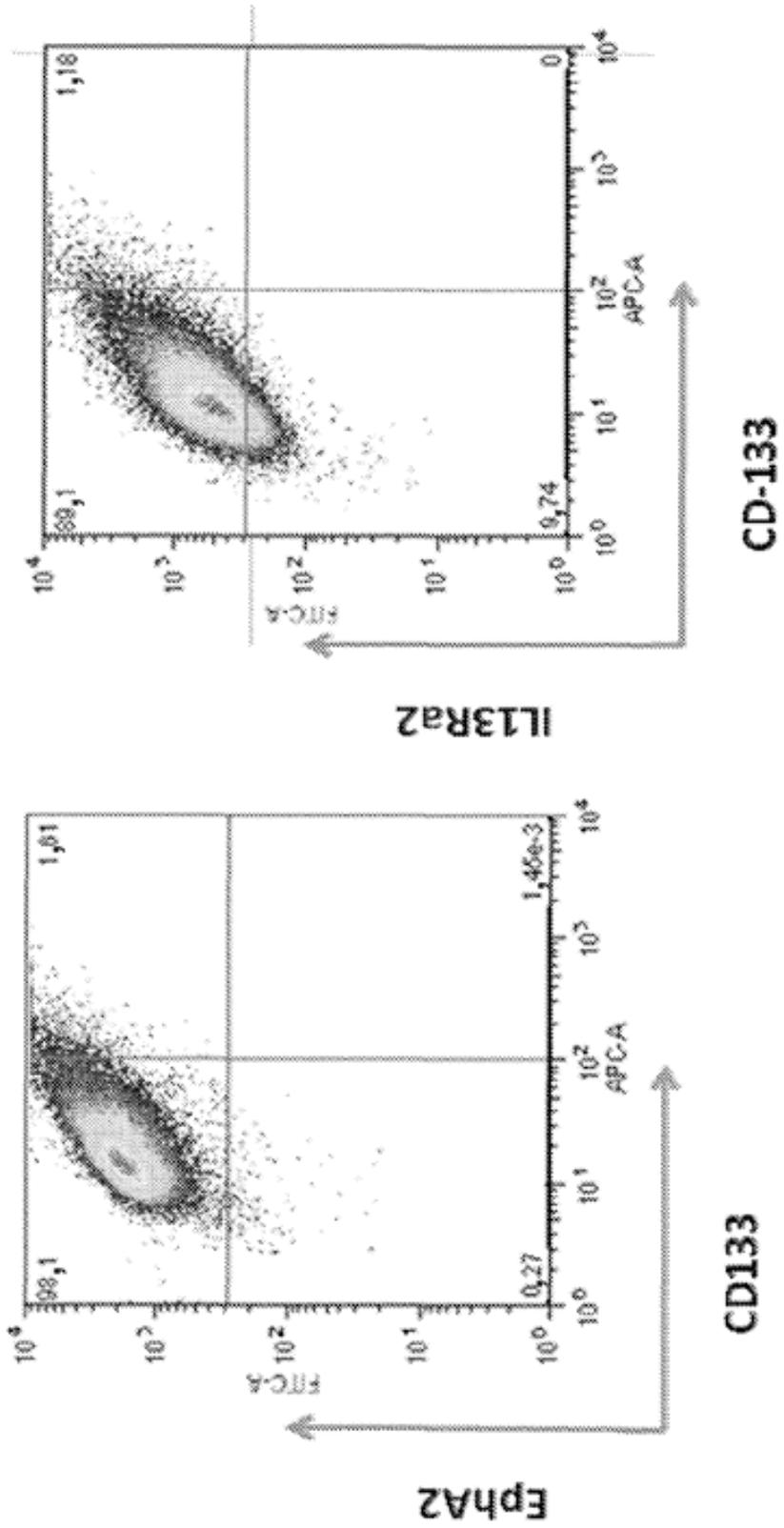


FIG. 8