

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 773 917**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/10** (2006.01)

**A61P 37/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.07.2014** E 14179106 (1)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.11.2019** EP 2979704

54 Título: **Péptidos de la desmogleína 3 en péfigo vulgar**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**15.07.2020**

73 Titular/es:

**TOPAS THERAPEUTICS GMBH (100.0%)  
Falkenried 88  
20251 Hamburg, DE**

72 Inventor/es:

**EMING, RÜDIGER y  
HERTL, MICHAEL**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**Observaciones:**

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

ES 2 773 917 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**

Péptidos de la desmogleína 3 en pénfigo vulgar

5 La presente invención se refiere a una inmunoterapia basada en células T para enfermedades autoinmunes mediadas por anticuerpos en mamíferos, principalmente en humanos, principalmente al uso de péptidos derivados de desmogleína humana 3 (Dsg 3) para el tratamiento de la enfermedad pénfigo vulgar (PV). Mediante la aplicación de un preparado medicinal que comprende un péptido o una combinación de los péptidos Seq-ID 1-5 se produce una tolerancia inmunitaria específica de la desmogleína 3 en humanos.

10 La presente invención también se refiere a una inmunoterapia basada en células T para enfermedades autoinmunes mediadas por anticuerpos en perros o caballos, principalmente al uso de péptidos de la desmogleína 3 específica para una especie (Dsg 3) para el tratamiento de la enfermedad pénfigo vulgar (PV). Mediante la aplicación de uno o una combinación de los péptidos Seq-ID 1-5 se produce una tolerancia inmunitaria específica de la desmogleína 3 en un perro o caballo.

15 Los anticuerpos son proteínas de la clase de las globulinas que se forman en respuesta a los antígenos de humanos o animales y también se designan como inmunoglobulinas.

20 Los epítomos son aquellas áreas de un antígeno a las que se une específicamente un anticuerpo o un receptor de células T.

Los autoanticuerpos son anticuerpos que se forman en respuesta a antígenos endógenos (autoantígenos) de humanos o animales. Los autoanticuerpos son característicos de las enfermedades autoinmunes.

25 El sistema HLA (sistema de antígeno leucocitario humano) describe un grupo de genes que son esenciales para la función del sistema inmune humano. Estos genes se encuentran en el cromosoma 6 en humanos y se pueden dividir en dos clases: clase I con los isotipos A, B y C, y clase II con los isotipos DR, DP y DQ. Estos genes codifican los complejos de proteínas MHC, que representan antígenos en la superficie de las células del cuerpo (por ejemplo, leucocitos) y se utilizan para identificar las células endógenas del cuerpo.

30 Descripción del campo general de la invención

35 La enfermedad pénfigo vulgar (PV, cianosis, clasificación ICD-10 L10.0) es una enfermedad autoinmune de la piel y las membranas mucosas cercanas a la piel y pertenece al grupo de las dermatosis autoinmunitarias con formación de ampollas. La causa de la enfermedad son los anticuerpos autógenos (autoanticuerpos IgG), que se dirigen contra la proteína autógena desmogleína 3. La desmogleína 3 funge, por lo tanto, como un autoantígeno. La desmogleína 3 es un componente proteico del desmosoma. Los desmosomas son estructuras celulares en las células epiteliales que producen una cohesión mecánica, por ejemplo, entre dos queratinocitos epidérmicos de la piel o entre células epiteliales de la membrana mucosa.

40 Los autoanticuerpos IgG contra la desmogleína 3 inducen diversos efectos a nivel celular y molecular que finalmente alteran la unión intercelular de las desmogleínas y provocan una pérdida de adhesión de los queratinocitos epidérmicos, por lo cual se causan los síntomas clínicos de la enfermedad pénfigo vulgar, es decir, la formación de ampollas y erosiones.

45 Las células T CD4<sup>+</sup> autoagresivas, es decir dirigidas contra estructuras endógenas son esenciales como iniciadores de la respuesta autoinmune en la enfermedad pénfigo vulgar para la activación de las células B productoras de autoanticuerpos. Las células T CD4<sup>+</sup> reconocen epítomos de desmogleína 3 en asociación con los antígenos leucocitarios humanos (HLA) de clase II HLA-DRB1\*04:02 y HLA-DQB1\*05:03 asociados con pénfigo vulgar. La inducción de tolerancia, es decir la inhibición específica de células T CD4<sup>+</sup> autorreactivas, es decir dirigidas contra las proteínas endógenas, requieren el conocimiento de los epítomos de desmogleína 3 que conducen a la estimulación de células T CD4<sup>+</sup> autoagresivas.

50 Estado de la técnica

55 La terapia actualmente habitual para la enfermedad pénfigo vulgar consiste en la administración sistémica de dosis altas de glucocorticoides, por ejemplo, prednisolona, y de inmunosupresores, por ejemplo, azatioprina. Es esencial que esta sea generalmente una terapia a largo plazo, lo que significa que los posibles efectos secundarios de los glucocorticoides e inmunosupresores pueden afectar gravemente el éxito de la terapia a medida que aumenta la duración de la enfermedad y pueden provocar una comorbilidad considerable (comorbilidades). Estas incluyen, entre otras, osteoporosis, diabetes mellitus, hipertensión arterial, síndrome de Cushing, hepatitis, pancitopenia, infecciones oportunistas y tromboembolismos.

60 Otra opción de tratamiento es la inmunoadsorción auxiliar, es decir empleada adicionalmente a la medicación inmunosupresora en la que se intenta eliminar selectivamente del cuerpo del paciente los anticuerpos IgG que circulan

en la sangre del paciente y, por lo tanto, también los autoanticuerpos reactivos con desmogleína 3 utilizando una columna de unión. Esta terapia es limitada, ya que puede conducir solo a la remisión clínica a corto plazo y está relacionada con efectos secundarios potenciales al emplear un catéter venoso central como, por ejemplo, tromboembolismos e infecciones bacterianas hasta la sepsis.

5 Las inmunoglobulinas intravenosas en dosis altas también se usan en la terapia del pénfigo vulgar y conducen a una reducción en los autoanticuerpos específicos de desmogleína 3 circulantes a través de mecanismos que aún no se han aclarado por completo. Las posibles complicaciones incluyen trombosis, meningitis aséptica y leucopenia.

10 Desde el 15 de marzo de 2019, el Parlamento Europeo aprobó el anticuerpo monoclonal quimérico rituximab preparado biotecnológicamente, que se dirige contra el receptor de superficie CD20 en los linfocitos B, para el tratamiento del pénfigo vulgar de moderado a severo. Con rituximab, como una posible complicación, existe el riesgo de infecciones bacterianas y virales graves, incluida la leucoencefalopatía multifocal progresiva (LMP), potencialmente mortal.

15 Yokoyama T. et al. describen en su publicación "Antigen-independent development of Foxp3+ regulatory T cells suppressing autoantibody production in experimental pemphigus vulgaris" (International Immunology 2011 Oxford University Press GBR, Vol. 23, No. 6, 2011, páginas 365-373) el desarrollo de células T reguladoras de Fox3+ (Tregs) para la supresión de autoanticuerpos en pénfigo vulgar. Los autores señalan el importante papel de Tregs en el control de los linfocitos reactivos con Dsg3.

20 Yokoyama T. y Amagei M. describen en su publicación "Immune dysregulation of pemphigus in humans and mice" (Journal of Dermatology, Vol. 37, No. 3, 2010, páginas 205-213) la desregulación inmunológica en pénfigo vulgar en humanos y ratones, en donde los linfocitos autorreactivos son suprimidos por subunidades reguladoras de células T como las células productoras de CD4 +, CD25 +, Treg e IL-10 (Tr1).

25 En la solicitud de patente WO 2013/014247 A1, los inventores reivindican péptidos como parte de un epítipo de antígenos de un grupo de polipéptidos que también contienen, entre otros, los de desmogleína 3 para el tratamiento de enfermedades autoinmunes como el pénfigo. Sin embargo, no indican un péptido o una combinación de péptidos que provoque una tolerancia inmune específica a la desmogleína 3.

30 La publicación de patente US 7 255 861 B1 divulga péptidos aislados en relación con el pénfigo vulgar y la esclerosis múltiple, en donde pénfigo son partes o epítopos de la proteína humana desmogleína 3. Sin embargo, estos péptidos no están acoplados a un portador.

35 **Objetivo**

El objetivo de la presente invención es proporcionar un preparado medicinal con el que se logre una terapia más específica y mejor tolerada de la enfermedad pénfigo vulgar.

40 **Logro del objetivo**

El objeto de la invención se logra por medio de las reivindicaciones.

45 La invención consiste en proporcionar un preparado medicinal para usar en mamíferos, en particular en humanos, que sufren de pénfigo vulgar (PV). El preparado medicinal comprende al menos uno o una combinación de péptidos Seq-ID 1 - 5 de los epítopos de células T CD4<sup>+</sup> inmunodominantes de la proteína humana desmogleína 3, que se acoplan a portadores adecuados de tal manera que se activan las células T CD4<sup>+</sup>. Los portadores adecuados son nanopartículas o células mononucleares o eritrocitos o células dendríticas. Estos péptidos inducen una tolerancia inmunitaria específica de antígeno a la desmogleína 3 en mamíferos, principalmente en humanos, en donde los péptidos Seq-ID 1-5 actúan como antígenos nominales e inducen una tolerancia inmunitaria en el paciente.

50 La invención consiste además en el uso de un preparado medicinal en el tratamiento de la enfermedad pénfigo vulgar (PV) en humanos.

55 Además, la invención consiste en proporcionar un preparado medicinal para usar en perros o caballos que sufren de pénfigo vulgar (PV). El preparado medicinal comprende al menos uno o una combinación de los péptidos de Seq-ID 1-5 de los epítopos de células T CD4<sup>+</sup> inmuno-dominantes de la proteína desmogleína 3 canina o equina, que se acoplan a portadores adecuados para que se activen las células T CD4<sup>+</sup>. Los portadores adecuados son nanopartículas o células mononucleares o eritrocitos o células dendríticas. Estos péptidos inducen una tolerancia inmunitaria específica de antígeno a la desmogleína 3 en perros o caballos, y los péptidos Seq-ID 1-5 actúan como antígenos nominales e inducen una tolerancia inmunitaria en el paciente.

60 La invención consiste además en el uso de un preparado medicinal en el tratamiento de la enfermedad pénfigo vulgar (PV) en perros o caballos.

65

Mediante la administración de un preparado medicinal que comprende uno o más epítomos de célula T CD4<sup>+</sup> que se enlazan a HLA-DRB1\*04:02 y HLA-DQB1\*05:03 de la desmogleína 3 humana (Seq-ID 1-5) en condiciones generadoras de inmunotolerancia en pacientes con pénfigo vulgar se induce una tolerancia inmunológica a estos epítomos de células T CD4<sup>+</sup> de desmogleína 3 (Sec. ID 1-5), de modo que se inhiba la activación de las células T autoagresivas. Esto da como resultado una activación deficiente y dependiente de las células T de las células B específicas de desmogleína 3, de modo que los pacientes con pénfigo vulgar ya no forman autoanticuerpos contra el autoantígeno desmogleína 3 (Seq-ID 1-5) y la enfermedad pénfigo vulgar queda paralizada. Por lo tanto, es esencial para el logro del objetivo proporcionar un preparado medicinal que influya en la función de las células T CD4<sup>+</sup> reactivas a la desmogleína 3 de tal manera que se genere una tolerancia inmunitaria a la desmogleína 3 en los pacientes con pénfigo vulgar.

Mediante la administración de uno o más de los epítomos de células T CD4<sup>+</sup>, que se enlazan a HLADRB1\*04:02 y HLA-DQB1\*05:03, de la desmogleína 3 humana (Seq-ID 1-5) en condiciones generadoras de tolerancia inmunitaria en pacientes con pénfigo vulgar se desarrolla una tolerancia inmunitaria a la desmogleína 3 humana por lo cual se sustrae la base de la enfermedad pénfigo vulgar.

Mediante la administración de uno o más de los epítomos de células T CD4<sup>+</sup>, que se enlazan a HLADRB1\*04:02 y HLA-DQB1\*05:03, de desmogleína 3 humana (Seq-ID 1-5) en condiciones generadoras de tolerancia inmunitaria en pacientes con el pénfigo vulgar disminuye la cantidad de células T CD4<sup>+</sup> autorreactivas específicas de desmogleína 3 en la sangre periférica de los pacientes con pénfigo vulgar, disminuye el título de los autoanticuerpos específicos de desmogleína 3 en el suero de estos pacientes. Por lo tanto, se mejoran los síntomas clínicos y disminuye el consumo de los glucocorticoides y los inmunosupresores sistémicos empleados.

### Ejemplos de realización

En nuestros propios experimentos, se aislaron clones de células T CD4<sup>+</sup> específicas de desmogleína 3 de la sangre periférica de pacientes con pénfigo vulgar y se identificaron cinco epítomos de células T CD4<sup>+</sup> de la desmogleína 3 humana en ensayos de proliferación de células T (Seq-ID 1-5). Los cinco epítomos tienen motivos de unión definidos para el alelo HLA-DRB1\*04:02 restrictivo. También se demostró que el reconocimiento de estos cinco epítomos de células T CD4<sup>+</sup> de desmogleína 3 por parte de las células T CD4<sup>+</sup> autorreactivas también está restringido, es decir limitado, por un segundo alelo HLA clase II asociado con pénfigo vulgar, a saber: HLA-DQB1\*05:03. Tanto HLA-DRB1\*04:02, como también HLA-DQB1\*05:03, tienen una carga negativa en las posiciones 70 y 71 de la cadena  $\beta$ 1. Esta carga negativa en el sitio de unión denominado p4 de la molécula de HLA es esencial para la unión de los cinco epítomos de células T CD4<sup>+</sup> de la desmogleína 3 humana (Seq-ID 1-5). Al unir los cinco epítomos de células T CD4<sup>+</sup> de la desmogleína 3 humana (Seq ID 1-5) a HLA-DRB1\*04:02 y HLA-DQB1\*05:03, se presentan los cinco epítomos de células T CD4<sup>+</sup> de la desmogleína 3 humana (Seq-ID 1-5) a las células T autoagresivas y estas células T CD4<sup>+</sup> específicas de desmogleína 3 se activan, lo cual es esencial para la producción de autoanticuerpos específicos de desmogleína 3 y, por lo tanto, para la formación de pénfigo vulgar.

1. Modelo de ratón para la detección de la activación de células T CD4<sup>+</sup> por los cinco epítomos de células T CD4<sup>+</sup> de la desmogleína humana 3 (Seq-ID 1-5)

En un modelo de ratón transgénico HLA-DRB1\*04:02 de la enfermedad pénfigo vulgar se mostró que la activación de las células T CD4<sup>+</sup> por los cinco epítomos de células T CD4<sup>+</sup> de la desmogleína 3 humana (Seq-ID 1-5) conduce a la inducción de autoanticuerpos patógenos específicos de desmogleína 3, que en última instancia son la causa de la enfermedad pénfigo vulgar.

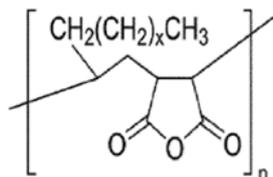
Después de que los ratones transgénicos se inmunizaron con desmogleína 3 recombinante humana, se generaron células T CD4<sup>+</sup> que reconocen los epítomos de desmogleína 3 humana junto con HLA-DRB1\*04:02. La inmunización de los ratones transgénicos HLA-DRB1\*04:02 con los cinco epítomos de células T CD4<sup>+</sup> de la desmogleína 3 (Seq-ID 1-5) conduce a la inducción de autoanticuerpos IgG reactivos a la desmogleína 3 patógena. Con esto se demostró por primera vez in vivo que las células T CD4<sup>+</sup> específicas de desmogleína 3, que reconocen epítomos inmuno-dominantes de autoantígeno humano en el contexto de HLA-DRB1\*04:02 asociado a la enfermedad, desempeñan un papel central para la producción de autoanticuerpos específicos de desmogleína 3 y, por lo tanto, en la patogénesis del pénfigo vulgar.

2. Preparación y administración de un preparado medicinal que comprende uno o más epítomos de células T CD4<sup>+</sup>, que se enlazan a HLA-DRB1\*04:02 y HLA-DQB1\*05:03, de desmogleína 3 humana (Seq-ID 1-5) en condiciones generadoras de inmunotolerancia para el tratamiento de pacientes con pénfigo vulgar

Para la administración de uno o más de los epítomos de células T CD4<sup>+</sup>, que se enlazan a HLA-DRB1\*04:02 y HLA-DQB1\*05:03, de la desmogleína 3 humana (Seq-ID 1-5) en condiciones generadoras de tolerancia inmunitaria en pacientes con pénfigo vulgar están disponibles las siguientes opciones:

2.1 Preparado medicinal que comprende conjugados de los epítomos de células T CD4<sup>+</sup>, que se enlazan a HLA-DRB1\*04:02 y HLA-DQB1\*05:03, de la desmogleína 3 (Seq-ID 1-5) con nanopartículas:

Los epítomos de célula T CD4<sup>+</sup>, que se enlazan a HLA-DRB1\*04:02 y HLA-DQB1\*05:03, de la desmogleína 3 humana (Seq-ID 1-5) acopladas a nanopartículas adecuadas se administran por vía intravenosa (i-v) a un paciente. Un ejemplo de nanopartículas adecuadas son las nanopartículas recubiertas con polímeros, a las que se unen los péptidos. Estas nanopartículas pueden ser, por ejemplo, nanocristales de óxido de hierro superparamagnéticos, que pueden etiquetarse con <sup>59</sup>Fe. Otro ejemplo de nanopartículas adecuadas son las nanopartículas recubiertas de polímeros en forma de puntos cuánticos. Estos puntos cuánticos pueden consistir en un núcleo con seleniuro de cadmio, una primera envoltura con sulfuro de cadmio y una segunda envoltura con sulfuro de zinc (puntos cuánticos de envoltura-envoltura-núcleo de CdSe/Cd/S/ZnS). El polímero adecuado para recubrir las nanopartículas puede ser un polímero anfífilico. Un ejemplo de un polímero anfífilico es poli(anhídrido maleico-*alt*-1-octadeceno) (copolímero de ácido maleico, poli(anhídrido maleico-*alt*-1-octadeceno), polímero maleado).



El acoplamiento de las nanopartículas adecuadas con los péptidos (epítomos de células T CD4<sup>+</sup>, que se enlazan a HLA-DRB1\*04:02 y HLA-DQB1\*05:03, de la desmogleína 3 humana (Seq-ID 1-5)) se puede realizar con 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC). Para esto se pueden usar nanopartículas adecuadas en una concentración de 6 µmol/l y EDC en una concentración de 6 mmol/l. Para incubar los péptidos (epítomos de células T CD4<sup>+</sup>, que se enlazan a HLA-DRB1\*04:02- y HLA-DQB1\*05:03, de la desmogleína 3 humana (Seq-ID 1-5)), se puede usar EDC durante la noche en un exceso de 100 a 1000 veces.

2.2 Preparado medicinal, así como su preparación y administración, que comprende conjugados de los epítomos de células T CD4<sup>+</sup>, que se enlazan a HLA-DRB1\*04:02 y HLA-DQB1\*05:03, de la desmogleína 3 humana (Seq-ID 1-5) con células mononucleares de sangre periférica o con eritrocitos:

Epítomos de células T CD4<sup>+</sup>, que se enlazan a HLA-DRB1\*04:02 y HLA-DQB1\*05:03, de la desmogleína 3 humana (Seq-ID 1-5) se acoplan a las células mononucleares o los eritrocitos propios del paciente con 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) y se administran por vía intravenosa al paciente afectado. La administración intravenosa puede ser una infusión corta.

Los epítomos de células T CD4<sup>+</sup>, que se enlazan a HLA-DRB1\*04:02- y HLA-DQB1\*05:03, de la desmogleína 3 humana (Seq-ID 1-5) se acoplan por medio de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropilo)-carbodiimida (EDC) a las superficies celulares de las células mononucleares (autólogas) o eritrocitos propios del paciente. La dosis de las células mononucleares o eritrocitos propios del paciente preparadas de esta manera para la terapia del pénfigo vulgar se encuentra entre  $1 \times 10^3$  y  $3 \times 10^9$  células y puede variarse en el transcurso de la terapia.

2.3 Preparado medicinal, así como su preparación y administración, que comprende conjugados de los epítomos de células T CD4<sup>+</sup>, que se enlazan a HLA-DRB1\*04:02 y HLA-DQB1\*05:03, de la desmogleína 3 humana (Seq-ID 1-5) con células dendríticas:

Las células dendríticas son células inmunes presentadoras de antígeno muy eficientes, que son de gran interés debido a sus propiedades inmunomoduladoras en el campo de la investigación en inmunoterapia, principalmente en el contexto de enfermedades tumorales y autoinmunes. Debido a la capacidad especial de las células dendríticas para inducir tanto respuestas inmunes, como también tolerancia inmunológica, estas desempeñan un papel central en el control de las respuestas inmunes. Para el tratamiento del pénfigo vulgar, las células dendríticas se generan primero a partir de los monocitos sanguíneos del paciente y luego estas células dendríticas se cargan con uno o más de los epítomos de células T CD4<sup>+</sup>, que se enlazan a HLA-DRB1\*04:02 y HLA-DQB1\*05:03, de la desmogleína 3 (Sec. ID 1-5). Las células dendríticas cargadas ex vivo con los epítomos de desmogleína 3 humana (Seq-ID 1-5) se vuelven a administrar de manera comparable a una vacuna a pacientes con pénfigo vulgar en condiciones generadoras de tolerancia inmunitaria, por ejemplo, mediante una inyección intramuscular o subcutánea. Por condiciones generadoras de tolerancia inmunitaria se entiende que las células dendríticas se mantienen en un estado lo más inmaduro posible.

3. Administración de un preparado medicinal que comprende uno o más epítomos de células T CD4<sup>+</sup>, que se enlazan a HLA-DRB1\*04:02 y HLA-DQB1\*05:03, de la desmogleína 3 animal en condiciones de generación de tolerancia inmunitaria en pacientes animales para el tratamiento de pénfigo vulgar

Los preparados medicinales descritos en el punto 2 también se pueden usar en animales con pénfigo vulgar, por ejemplo, perros o caballos. El preparado medicinal comprende en tal caso, en lugar de los epítomos de desmogleína 3 humana (Seq-ID 1-5), los epítomos respectivos de desmogleína 3 canina (en perros) o equina (en caballos). Cuando

se usan los preparados medicinales descritos en el punto 2 en animales distintos de perros o caballos, estos comprenden respectivamente el epítipo de desmogleína 3 específico de la especie.

5 4. Caracterización de epítipos inmuno-dominantes por medio de hibridomas de células T que son reactivos con 3 desmogleína

10 La caracterización funcional de los epítipos de células T CD4<sup>+</sup>, que se enlazan a HLA-DRB1\*04:02 y HLA-DQB1\*05:03, de la desmogleína humana 3 (Seq-ID 1-5) se muestra a manera de ejemplo para un epítipo restringido de célula T CD4<sup>+</sup>, que se enlaza a HLA-DRB1\*04:02, de la desmogleína humana 3 con la secuencia aa 505-521, SSPSVVVSARTLNNRYT (Seq-ID 6). Esta caracterización se realizó utilizando hibridomas de células T CD4<sup>+</sup> inmortalizados. Los hibridomas de células T se generaron después de la inmunización de ratones transgénicos HLA con proteína desmogleína 3 humana recombinante. Mediante fusión de células T CD4<sup>+</sup>, específicas de desmogleína 3, provenientes de ganglios linfáticos regionales derivados de ratones transgénicos HLA, inmunizados con desmogleína 3, con la línea celular de timoma BW5147 de murino surgen hibridomas específicos de desmogleína 3 que secretan interleucina-2 (IL-2) después de activación antígeno-específica. Los resultados del hibridoma de células T reactivo con desmogleína 3, que es específico para el epítipo restringido de células T CD4<sup>+</sup> de HLA-DRB1\*04:02 de la desmogleína 3 con la secuencia aa 505-521, SSPSVVVSARTLNNRYT (Seq-ID 6), se muestran en la Figura 1. Mediante el uso de variantes acortadas del epítipo nativo de desmogleína 3 con la secuencia aa 505-521, SSPSVVVSARTLNNRYT (Seq-ID 6) es posible definir la llamada área central (epítipo central) del epítipo; en este caso, el epítipo central tiene la secuencia VVVSARTLN (epítipo central de Seq-ID 6). Como epítipo central se designa el área del epítipo que interactúa con la fosa de unión de la molécula HLA-DRB1\*04:02. El epítipo central es la región peptídica requerida para la activación de las células T.

25 Leyendas de la ilustración

30 La Figura 1 muestra la concentración del factor de crecimiento de células T interleucina-2 (IL-2) en el sobrenadante del cultivo, que fue secretado por el hibridoma de células reactivas a la desmogleína 3 después de la activación antígeno-específica. Este es específico para el epítipo de células T CD4<sup>+</sup>, que se enlaza a HLA-DRB1\*04:02, de la desmogleína 3 humana con la secuencia aa 505-521, SSPSVVVSARTLNNRYT. Las concentraciones de interleucina-2 en los sobrenadantes de cultivo se cuantificaron por medio de un ensayo de inmuno-sorbente ligado a enzima de interleucina-2 (ELISA) y se indican como densidad óptica (DO) a una longitud de onda de 450 nm. Las variantes acortadas del epítipo de desmogleína 3 (aa 505-521, SSPSVVVSARTLNNRYT) se representan en el eje y.

35 Listado de secuencias

<110> Philipps-Universität Marburg

<120> Péptidos de la desmogleína 3 en pénfigo vulgar

40 <130> TM819

<140> EP

45 <141> 2014-07-21

<160> 6

<170> PatentIn version 3.5

50 <210> 1

<211> 15

<212> PRT

55 <213> Homo sapiens

<220>

60 <221> característica\_misc

<222> (1)..(15)

65 <223> Péptido 15-mero de Dsg3 que se enlaza a HLA-DRB1\*04:02 y a HLA-DQB1\*05:03

<400> 1

ES 2 773 917 T3

Phe Gly Ile Phe Val Val Asp Lys Asn Thr Gly Asp Ile Asn Ile  
1 5 10 15

- 5 <210> 2
- <211> 15
- <212> PRT
- 10 <213> homo sapiens
- <220>
- <221> característica\_misc
- 15 <222> (1)..(15)
- <223> Péptido 15-mero de Dsg3 que se enlaza a HLA-DRB1\*04:02 y a HLA-DQB1\*05:03
- 20 <400> 2

Leu Asn Ser Lys Ile Ala Phe Lys Ile Val Ser Gln Glu Pro Ala  
1 5 10 15

- 25 <210> 3
- <211> 15
- <212> PRT
- 30 <213> homo sapiens
- <220>
- <221> característica\_misc
- 35 <222> (1)..(15)
- <223> Péptido 15-mero de Dsg3 que se enlaza a HLA-DRB1\*04:02 y a HLA-DQB1\*05:03
- 40 <400> 3

Thr Pro Met Phe Leu Leu Ser Arg Asn Thr Gly Glu Val Arg Thr  
1 5 10 15

- 45 <210> 4
- <211> 15
- <212> PRT
- 50 <213> homo sapiens
- <220>
- <221> característica\_misc
- 55 <222> (1)..(15)
- <223> Péptido 15-mero de Dsg3 que se enlaza a HLA-DRB1\*04:02 y a HLA-DQB1\*05:03
- 60 <400> 4

ES 2 773 917 T3

Cys Glu Cys Asn Ile Lys Val Lys Asp Val Asn Asp Asn Phe Pro  
1 5 10 15

- 5 <210> 5
- <211> 17
- <212> PRT
- 10 <213> homo sapiens
- <220>
- <221> característica\_misc
- 15 <222> (1)..(17)
- <223> Péptido 17-mero de Dsg3 que se enlaza a HLA-DRB1\*04:02 y a HLA-DQB1\*05:03
- 20 <400> 5

Ile Asn Val Arg Glu Gly Ile Ala Phe Arg Pro Ala Ser Lys Thr Phe  
1 5 10 15

Thr

- 25 <210> 6
- <211> 17
- <212> PRT
- 30 <213> homo sapiens
- <220>
- <221> Epítipo central
- 35 <222> (5)..(13)
- <223> Epítipo central, área del péptido que interactúa con la fosa de unión de la molécula HLA-DRβ1\*04:02; el área peptídica requerida para la activación de células T.
- 40 <220>
- <221> Sitio de enlace de receptor de célula T de péptido
- 45 <222> (5)..(8)
- <223> Sitio de enlace de receptor de célula T de péptido en posición 5 y posición 8
- <220>
- 50 <221> Sitio de enlace de HLA-DRB1\*04:02-péptido
- <222> (7)..(13)
- 55 <223> Sitio de enlace de HLA-DRB1\*04:02-péptido en posición 7, posición 10, posición 12, posición 13
- <400> 6

Ser Ser Pro Ser Val Val Val Ser Ala Arg Thr Leu Asn Asn Arg Tyr  
 1 5 10 15

Thr

Organización solicitante

5 Calle: Biegenstr. 10

Ciudad: Marburg

Estado: Hessen

10

País: Alemania

Código postal: 36037

15 Número telefónico: 0641-94364-0

Número de fax: 0641-94364-55

Dirección de correo electrónico: patente@transmit.de

20

<110> Nombre de organización: Philipps-Universität Marburg

Proyecto de la solicitud

25 <120> Título: Péptidos de la desmogleína 3 en péufigo vulgar

<130> Referencia expediente solicitud: TM819

<140> Número de solicitud actual: EP

30

<141> Fecha de presentación actual: 2014-07-21

Secuencia

35 <213> Nombre de organismo: Homo sapiens

<400> Hilo de presecuencia:

FGIFVVDKNT

40

GDINI 15

<212> Tipo: PRT

45 <211> Longitud: 15 Nombre de secuencia: Dsg3 (97-111)-\* descripción de secuencia:

Característica

Secuencia: Dsg3 (97-111)\*:

50

<221> Clave característica: característica\_misc

<222> Ubicación desde: 1

55 <222> Ubicación a: 15 Otra información: péptido 15-mero de Dsg3 que se enlaza a HLA-DRB1\*04:02 y a HLA-DQB1\*05:03 CDSJoin : No

Secuencia

60 <213> nombre de organismo: homo sapiens

## ES 2 773 917 T3

<400> Hilo de presecuencia:  
LNSKIAFKIV

5 SQEPA 15  
<212> Tipo: PRT  
<211> Longitud: 15 Nombre de secuencia: Dsg3 (190-204)\* Descripción de secuencia:  
10 Característica  
Secuencia: Dsg3 (190-204)\*:  
15 <221> Clave característica: característica\_misc  
<222> Ubicación desde: 1  
<222> Ubicación a: 15 Otra Información: péptido 15-mero de Dsg3 que se enlaza a HLA-DRB1\*04:02 y a HLA-DQB1\*05:03 CDSJoin : No  
20 Secuencia  
<213> nombre de organismo: homo sapiens  
25 <400> Hilo de presecuencia: TPMFLLSRNT GEVRT 15  
<212> Tipo: PRT  
30 <211> Longitud: 15 Nombre de secuencia: Dsg3 (206-220)\* Descripción de secuencia:  
Característica  
Secuencia: Dsg3 (206-220)\*:  
35 <221> Clave característica: característica\_misc  
<222> Ubicación desde: 1  
40 <222> Ubicación a: 15 Otra información: péptido 15-mero de Dsg3 que se enlaza a HLA-DRB1\*04:02 y a HLA-DQB1\*05:03 CDSJoin: No  
Secuencia  
45 <213> nombre de organismo: homo sapiens  
<400> Hilo de presecuencia:  
CECNKVKDV  
50 NDNFP 15  
<212> Tipo: PRT  
55 <211> Longitud: 15 Nombre de secuencia: Dsg3(251-265)\* Descripción de secuencia:  
Característica  
Secuencia: Dsg3(251-265)\*:  
60 <221> Clave característica: característica\_misc  
<222> Ubicación desde: 1  
65 <222> Ubicación a: 15 Otra información: péptido 15-mero de Dsg3 que se enlaza a HLA-DRB1\*04:02 y a HLA-DQB1\*05:03 CDSJoin: No

## ES 2 773 917 T3

### Secuencia

5 <213> nombre de organismo: homo sapiens  
<400> Hilo de presecuencia: INVREGIAFR PASKTFT 17  
<212> Tipo: PRT  
10 <211> Longitud: 17 Nombre de secuencia: Dsg3 (375-391)\* Descripción de secuencia:  
Característica  
Secuencia: Dsg3 (375-391)\*:  
15 <221> Clave característica: característica\_misc  
<222> Ubicación desde: 1  
20 <222> Ubicación a: 17 Otra información: péptido 17-mero de Dsg3 que se enlaza a HLA-DRB1\*04:02 y a HLA-DQB1\*05:03 CDSJoin: No

### Secuencia

25 <213> nombre de organismo: homo sapiens  
<400> Hilo de presecuencia: SSPSVVVSAR TLNNRYT 17  
<212> Tipo: PRT  
30 <211> Longitud: 17 Nombre de secuencia: Dsg3 (aa505-521) Descripción de secuencia:  
Característica  
35 Secuencia: Dsg3 (aa505-521):  
<221> Clave característica: Epítipo central  
<222> Ubicación desde: 5  
40 <222> Ubicación a: 13 otra información: Epítipo central, área del péptido que interactúa con la fosa de enlace de la molécula HLADRB1\*04:02; el área de péptido requerida para la activación de células T. CDSJoin: No

### Característica

45 Secuencia: Dsg3 (aa505-521):  
<221> Clave característica: sitio de enlace de HLA-DRB1\*04:02-péptido  
50 <222> Ubicación desde: 7  
<222> Ubicación a: 13 otra información: sitio de enlace de HLA-DRB1\*04:02-péptido en posición 7, posición 10, posición 12, posición 13 CDSJoin : No

### Característica

55 Secuencia: Dsg3 (aa505-521):  
<221> Clave característica: sitio de enlace receptor de célula T-péptido  
60 <222> Ubicación desde: 5  
<222> Ubicación a: 8 otra información: sitio de enlace de receptor de célula T-péptido en posición 5 y posición 8  
65 CDSJoin: No

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Preparado medicinal para el uso en mamíferos, principalmente en humanos, que sufren de la enfermedad pénfigo vulgar (PV), el cual comprende al menos uno o una combinación de los péptidos de Seq-ID 1 - 5 de los epítomos de célula T CD4<sup>+</sup> inmuno-dominantes de la proteína desmogleína 3 humana, que se acoplan a portadores adecuados de modo que se activan células T CD4<sup>+</sup>, caracterizado porque los portadores adecuados son nanopartículas o células mononucleares o eritrocitos o células dendríticas y porque estos péptidos inducen una tolerancia inmunitaria antígeno-específica frente a la desmogleína 3 en mamíferos, principalmente en personas, en cuyo caso los péptidos de Seq-ID 1 - 5 actúan como antígenos nominales e inducen una tolerancia inmunitaria en el paciente.
- 10 2. Preparado medicinal para usar en perros y caballos que sufren de la enfermedad pénfigo vulgar (PV), que incluye al menos uno o una combinación de los péptidos de Seq-ID 1 - 5 de los epítomos de célula T CD4<sup>+</sup> inmuno-dominantes de la proteína desmogleína 3 canina o equina, los cuales se acoplan a portadores adecuados, caracterizados porque los portadores adecuados son nanopartículas o células mononucleares o eritrocitos o células dendríticas y porque estos péptidos inducen una tolerancia inmunitaria antígeno-específica a la desmogleína 3 en perros o caballos, en donde los péptidos de Seq-ID 1 - 5 actúan como antígenos nominales e inducen una tolerancia inmunitaria en el paciente.
- 15 3. Preparado medicinal según la reivindicación 1 para usarse en el tratamiento de la enfermedad pénfigo vulgar (PV) en personas.
- 20 4. Preparado medicinal según la reivindicación 2 para usarse en el tratamiento de la enfermedad pénfigo vulgar (PV) en perros o caballos.

Figura 1

