



(11) **MX 2018011169 A**

(12)

SOLICITUD de PATENTE

(43) Fecha de publicación: **06/12/2018** (51) Int. Cl: **C07K 16/28** (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
(22) Fecha de presentación: **14/09/2018**
(21) Número de solicitud: **2018011169** (86) Número de solicitud PCT: **US 2017/022065**
(87) Número de publicación PCT: **WO 2017/160699 (21/09/2017)**

(30) Prioridad(es): **14/03/2016 US 62/307,896**

(71) Solicitante:
MILLENNIUM PHARMACEUTICALS, INC.
40 Landsdowne Street 02139 Cambridge
Massachusetts US

(72) Inventor(es):
Jessica A. SACHS
16 Hawthorn Avenue Needham Massachusetts 02492
US
John E. FORD

(74) Representante:
José F. HINOJOSA CUELLAR
Paseo de los Tamarindos 400 A Piso 9 CUAJIMALPA
DE MORELOS Ciudad de México 05120 MX

(54) Título: **METODO PARA PREVENIR LA ENFERMEDAD DEL INJERTO CONTRA HUESPED.**

(54) Title: **METHOD OF PREVENTING GRAFT VERSUS HOST DISEASE.**

(57) Resumen

Un método para prevenir la GvHD en un paciente humano, que comprende administrarle a un paciente que padece GvHD, o en riesgo de GvHD, un anticuerpo humanizado que tiene especificidad de unión a la integrina $\alpha 4\beta 7$ humana, en donde el paciente humano tiene o va a tener un trasplante alogénico de células madre y en donde el régimen de dosificación previene, mejora o elimina la GvHD.

(57) Abstract

A method for preventing GvHD in a human patient, comprising administering to a patient suffering from GvHD or at risk for GvHD, a humanized antibody having binding specificity for human $\alpha 4\beta 7$ integrin, wherein the human patient has or is going to have an allogeneic stem cell transplantation, and wherein the dosing regimen prevents, improves or eliminates GvHD.

MÉTODO PARA PREVENIR LA ENFERMEDAD DEL INJERTO CONTRA HUÉSPED

SOLICITUDES RELACIONADAS

La presente solicitud reivindica el beneficio de la
5 solicitud provisional estadounidense n.º 62/307,896
presentada el 14 de marzo de 2016. La totalidad del contenido
de la solicitud que antecede se incorpora a la presente
mediante referencia.

ANTECEDENTES

10 El trasplante alogénico de células hematopoyéticas, tal
como el trasplante de células madre hematopoyéticas (allo-
HSCT, por sus siglas en inglés) es una terapia importante que
se usa para tratar trastornos de neoplasia maligna
hematológica y enfermedades genéticas hematológicas, pero su
15 uso está limitado por la importante complicación de la
enfermedad del injerto contra huésped (GvHD, por sus siglas
en inglés). La GvHD, después de un allo-HSCT, es una de las
principales causas de morbilidad y mortalidad. El riesgo de
GvHD es variable y depende de factores del paciente, factores
20 del donante, el grado de histocompatibilidad entre donante y
receptor, el régimen de acondicionamiento y la estrategia de
profilaxis de GvHD utilizada. El acondicionamiento del
paciente para allo-HSCT permite el injerto de células
hematopoyéticas del donante e implica quimioterapia o
25 radiación y se suministra inmediatamente antes de un

trasplante. El objetivo del acondicionamiento es ayudar a erradicar la enfermedad del paciente antes de la infusión de células madre hematopoyéticas (HSC, por sus siglas en inglés) y para suprimir las reacciones inmunitarias. El pronóstico posterior al trasplante a menudo incluye la enfermedad del injerto contra huésped aguda y crónica que puede ser mortal. En los pacientes que reciben células madre hematopoyéticas alogénicas después del acondicionamiento mieloablativo, el riesgo de GvHD aguda Grado 2 a 4 es aproximadamente 40 % a 50 %.

La reducción de GvHD sin provocar una inmunosupresión sistémica significativa puede mejorar los resultados generales después del allo-HSCT.

La GvHD resulta de una activación de los linfocitos alorreactivos del donante por antígenos de histocompatibilidad en células del huésped presentadoras de antígeno (APC, por sus siglas en inglés). Se ha postulado que la microflora intestinal y la endotoxina ejercen una etapa fundamental en la activación de APC y que este proceso ocurre en los tejidos linfoides asociados con el intestino (GALT, por sus siglas en inglés). Clínicamente, la GvHD puede reducirse mediante el uso de estrategias de agotamiento de linfocitos T y descontaminación del intestino, con énfasis en los papeles respectivos de tanto los linfocitos T como la microflora gastrointestinal (GI) en el desarrollo de GvHD. En el HSCT clínico, se ha demostrado que la expresión de la

integrina $\alpha 4\beta 7$ de linfocitos humanos aumenta significativamente en linfocitos T sin tratamiento previo y de memoria en pacientes que luego desarrollaron GvHD aguda intestinal en comparación con los pacientes que desarrollaron GvHD aguda de la piel o no GvHD. Se ha estudiado el tráfico de linfocitos T a GALT y la interacción entre $\alpha 4\beta 7$ y la molécula de adhesión celular de adresina mucosal 1 (MAdCAM-1) en modelos murinos de GvHD aguda.

El riesgo de GvHD es variable y depende de factores del paciente, factores del donante, el grado de histocompatibilidad entre donante y receptor, el régimen de acondicionamiento y la estrategia de profilaxis de GvHD. En los pacientes que reciben células madre hematopoyéticas de una fuente donante no relacionada después del acondicionamiento mieloablativo, el riesgo de GvHD aguda Grado 2, 3 o 4 es aproximadamente 40 % a 50 %. Los pacientes que desarrollan una GvHD aguda tienen un riesgo aumentado de eventos adversos, incluso infecciones relacionadas con las terapias de inmunosupresión para GvHD y el desarrollo de GvHD crónica. La mortalidad combinada atribuible a GvHD y la infección es alta en los pacientes después de allo-HSCT, precedida únicamente por la muerte a causa de una enfermedad primaria. De manera adicional, el pronóstico para los pacientes que no logran una respuesta después de la terapia inicial para GvHD aguda es negativo. Por tanto, existe aún

una necesidad médica urgente sin satisfacer de un agente inmunosupresor del anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ selectivo (por ejemplo, vedolizumab) que pueda utilizarse para la prevención de la GvHD aguda.

5

COMPENDIO DE LA INVENCION

La invención se refiere a la prevención de la enfermedad del injerto contra huésped (GVHD) con un antagonista de la integrina $\alpha 4\beta 7$, tal como un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$, tal como un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ humanizado (por ejemplo, vedolizumab).

10 En algunas modalidades, el paciente tiene leucemia linfoblástica aguda (ALL, por sus siglas en inglés) o leucemia mieloide aguda (AML, por sus siglas en inglés).

La GvHD es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en los pacientes que se someten a allo-HSCT. La mortalidad significativa por GvHD limita el uso de HSCT como una terapia potencialmente curativa de la enfermedad, por ejemplo, una enfermedad maligna. Reducir la mortalidad libre de recaída (tal como de la GvHD e infección) puede mejorar la supervivencia general después de allo-HSCT. Los esteroides y otros agentes inmunosupresores sistémicos (tales como tacrolimus + metotrexato a corto plazo) son la práctica estándar (SOC, por sus siglas en inglés) actual utilizada para prevenir y tratar la GvHD. Sin embargo, esta práctica estándar puede aumentar el riesgo de infecciones y tampoco es completamente efectiva. La inmunosupresión dirigida a la

15
20
25

reducción de GvHD puede también disminuir los efectos del injerto contra tumor (GvT, por sus siglas en inglés). Por lo tanto, reducir la GvHD sin inmunosupresión sistémica, tal como se describe en la presente invención, tiene el potencial para mejorar los resultados generales del allo-HSCT y posiblemente prolongar y/o salvar vidas de esta enfermedad.

Después de allo-HSCT, los linfocitos T sin tratamiento previo en el inóculo de células madre hematopoyéticas (HSC) que expresan niveles bajos de la integrina $\alpha 4 \beta 7$ circulan a las placas de Peyer (PP) huéspedes, o a los ganglios linfáticos mesentéricos (MLN, por sus siglas en inglés), en donde encuentran antígenos microbianos intestinales en el contexto de aloantígenos, y se activan. Estos linfocitos T efectores activados regulan por aumento la integrina $\alpha 4 \beta 7$, luego se dirigen a la mucosa intestinal a través de la vía $\alpha 4 \beta 7$ /MADCAM-1, y generan daño a la mucosa intestinal. La interacción entre linfocitos T efectores alorreactivos, microbios intestinales y tejidos de la mucosa intestinal conduce a la liberación de diversos mediadores inflamatorios, lo que crea un ciclo de retroalimentación positivo. La combinación de la expansión de linfocitos T alorreactivos, la ruptura de barreras intestinales que conducen a la translocación microbiana y estímulos microbianos y una tormenta de citocinas sistémicas conducen a síntomas sistémicos difusos de GvHD.

Para la prevención de GvHD, sin desear limitarse a ninguna teoría en particular, se considera que la presente invención bloquea el tráfico inicial de linfocitos T a órganos linfoides secundarios, por ejemplo, PP o MLN, al interferir con la vía $\alpha 4\beta 7$ /MADCAM-1. Por tanto, la presente invención suprime y/o previene la evolución de la GvHD aguda. En algunas modalidades, la presente invención proporciona una reducción del 50 % de la gravedad e incidencia acumulada de la GVHD aguda en el Día 100 y una reducción del 25 % en la mortalidad a 1 año en comparación con la práctica estándar (SOC) actual. En otra modalidad, la presente invención mejora la supervivencia libre de GvHD a los 6 meses y mejora la supervivencia libre de GvHD y libre de recaída a 1 año; la gravedad e incidencia acumulada mejorada de la GvHD aguda a los 6 meses después de HSCT; la incidencia acumulada mejorada de la GVHD crónica que requiere la inmunosupresión a los 12 meses; o GRFS (supervivencia libre de GvHD y libre de recaída) mejorada en comparación con SOC. En algunas modalidades, la administración de un antagonista de la integrina $\alpha 4\beta 7$, tal como un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$, resulta en una reducción del 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 % del riesgo de mortalidad, por ejemplo, de 40 % a, por ejemplo, 35 % o 30 % o menos del riesgo de mortalidad de GvHD aguda.

En un aspecto, la invención se refiere a un método para prevenir la enfermedad del injerto contra huésped (GvHD), en

donde el método comprende las siguientes etapas:

administrarle a un paciente humano que se somete a trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas (allo-HSCT), un anticuerpo humanizado que tenga especificidad de unión por integrina $\alpha 4\beta 7$ humana, en donde el anticuerpo humanizado se administra al paciente de acuerdo con el siguiente régimen de dosificación:

- a. una dosis inicial de 75 mg, 300 mg, 450 mg o 600 mg del anticuerpo humanizado como una infusión intravenosa el día antes del allo-HSCT;
- b. seguida por una segunda dosis posterior de 75 mg, 300 mg, 450 mg o 600 mg del anticuerpo humanizado como una infusión intravenosa a alrededor de dos semanas después de la dosis inicial;
- c. seguida por una tercera dosis posterior de 75 mg, 300 mg, 450 mg o 600 mg del anticuerpo humanizado como una infusión intravenosa a alrededor de seis semanas después de la dosis inicial;

opcionalmente en donde el régimen de dosificación resulta en GvHD Grado II, GvHD Grado I o no GvHD, en donde además el anticuerpo humanizado comprende una región de unión al antígeno de origen no humano y al menos una parte de un anticuerpo de origen humano, en donde el anticuerpo humanizado tiene una especificidad de unión al complejo $\alpha 4\beta 7$, en donde la región de unión al antígeno comprende las CDR de

cadena ligera de SEQ ID NO:7 (CDR1), SEQ ID NO:8 (CDR2) y SEQ ID NO:9 (CDR3) y las CDR de cadena pesada: SEQ ID NO:4 (CDR1), SEQ ID NO:5 (CDR2) y SEQ ID NO:6 (CDR3).

En otro aspecto, la invención se refiere a un método
5 para reducir la aparición de la enfermedad del injerto contra huésped (GvHD) aguda, en donde el método comprende las siguientes etapas:

administrarle a un paciente humano que se somete a un trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas (allo-
10 HSCT), un anticuerpo humanizado que tenga una especificidad de unión a la integrina $\alpha 4\beta 7$ humana,

en donde el anticuerpo humanizado se administra al paciente de acuerdo con el siguiente régimen de dosificación:

a. una dosis inicial de 75 mg, 300 mg, 450 mg o 600 mg del
15 anticuerpo humanizado como una infusión intravenosa el día antes del allo-HSCT;

b. seguida por una segunda dosis posterior de 300 mg del anticuerpo humanizado como una infusión intravenosa a alrededor de dos semanas después de la dosis inicial;

20 c. seguida por una tercera dosis posterior de 300 mg del anticuerpo humanizado como una infusión intravenosa a alrededor de seis semanas después de la dosis inicial;

en donde el anticuerpo humanizado comprende una región de unión al antígeno de origen no humano y al menos una parte de
25 un anticuerpo de origen humano, en donde el anticuerpo

humanizado tiene una especificidad de unión al complejo $\alpha 4\beta 7$, en donde la región de unión al antígeno comprende las CDR de cadena ligera de SEQ ID NO:7 (CDR1), SEQ ID NO:8 (CDR2) y SEQ ID NO:9 (CDR3) y las CDR de cadena pesada: SEQ ID NO:4 (CDR1), SEQ ID NO:5 (CDR2) y SEQ ID NO:6 (CDR3). En algunas modalidades, reducir la aparición de GvHD aguda resulta en GvHD Grado I o Grado II, según criterios de Glucksberg modificados, o una gravedad similar de GvHD según otros sistemas de calificación, o no GvHD. En otras modalidades, reducir la aparición de GvHD aguda es una reducción del 50 % en la incidencia acumulada y gravedad de GvHD aguda Grado II-IV o Grado III-IV al Día 100 en comparación con el tratamiento solo con metotrexato y el inhibidor de calcineurina. En otras modalidades, reducir la aparición de la enfermedad del injerto contra huésped (GvHD) aguda es una reducción en la mortalidad a 1 año en comparación con el tratamiento solo con metotrexato y el inhibidor de calcineurina.

En otro aspecto, la invención se refiere a un método para tratar a un paciente que padece cáncer o una enfermedad hematológica no maligna, inmunológica o autoinmunitaria, que comprende las siguientes etapas

- a. acondicionar el sistema inmunitario del paciente para el trasplante de células madre hematopoyéticas,
- b. administrarle un anticuerpo humanizado que tenga

especificidad de unión a la integrina $\alpha 4\beta 7$ humana,

c. esperar al menos 12 horas,

d. administrar células madre hematopoyéticas alogénicas,

e. esperar trece días, luego administrar una segunda dosis
5 del anticuerpo humanizado que tenga especificidad de unión a
la integrina $\alpha 4\beta 7$ humana, y

f. esperar cuatro semanas, luego administrar una tercera
dosis del anticuerpo humanizado que tenga especificidad de
unión a la integrina $\alpha 4\beta 7$ humana.

10 En otro aspecto, la invención se refiere a un método para
suprimir una respuesta inmunitaria en un paciente con cáncer,
en donde el método comprende las siguientes etapas:

administrarle a un paciente humano que se somete a un
trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas (allo-
15 HSCT), un anticuerpo humanizado que tenga una especificidad
de unión a la integrina $\alpha 4\beta 7$ humana,

en donde el anticuerpo humanizado se administra al paciente
de acuerdo con el siguiente régimen de dosificación:

a. una dosis inicial de 75 mg, 300 mg, 450 mg o 600 mg del
20 anticuerpo humanizado como una infusión intravenosa el día
antes del allo-HSCT;

b. seguida por una segunda dosis posterior de 300 mg del
anticuerpo humanizado como una infusión intravenosa a
alrededor de dos semanas después de la dosis inicial;

25 c. seguida por una tercera dosis posterior de 300 mg del

anticuerpo humanizado como una infusión intravenosa a
alrededor de seis semanas después de la dosis inicial;
en donde además el anticuerpo humanizado comprende una región
de unión al antígeno de origen no humano y al menos una parte
5 de un anticuerpo de origen humano, en donde el anticuerpo
humanizado tiene una especificidad de unión al complejo $\alpha 4\beta 7$,
en donde la región de unión al antígeno comprende las CDR de
cadena ligera de SEQ ID NO:7 (CDR1), SEQ ID NO:8 (CDR2) y SEQ
ID NO:9 (CDR3) y las CDR de cadena pesada: SEQ ID NO:4
10 (CDR1), SEQ ID NO:5 (CDR2) y SEQ ID NO:6 (CDR3).

El anticuerpo humanizado puede tener una secuencia de región
variable de cadena pesada de aminoácidos 20 a 140 de la SEQ
ID NO:1.

El anticuerpo humanizado puede tener una secuencia de región
15 variable de cadena ligera de aminoácidos 20 a 131 de la SEQ
ID NO:2.

El anticuerpo humanizado puede tener una cadena pesada que
comprenda los aminoácidos 20 a 470 de la SEQ ID NO:1 y una
cadena ligera que comprenda los aminoácidos 20 a 238 de la
20 SEQ ID NO:2. En algunas modalidades, el anticuerpo humanizado
es vedolizumab.

En otro aspecto, la invención se refiere a un método
para tratar a un paciente de trasplante, en donde el paciente
de trasplante es un receptor de una infusión de células
25 hematopoyéticas alogénicas, que comprende administrar un

antagonista anti- $\alpha 4\beta 7$. En algunas modalidades, el antagonista de la integrina $\alpha 4\beta 7$ es un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$. En algunas modalidades, el anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ es un anticuerpo humanizado.

5 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 es un esquema que ilustra un resumen del diseño de estudio de los días -1 a +50. Allo-HSCT sucede en el día 0. Vedolizumab se administra el día antes del allo-HSCT (día -1) y en los días +13 y +42 después de allo-HSCT.

10 La Figura 2 ilustra cómo bloquear la interacción de $\alpha 4\beta 7$ /MADCAM-1 en GALT y MLN puede reducir la generación de linfocitos T de memoria alorreactivos y su posterior entrada en el intestino, lo que reduce la aparición de GvHD.

La Figura 3 es un gráfico que muestra datos PK simulados y observados de tres pacientes. Los datos PK simulados se muestran en la región entre las líneas irregulares (percentiles 2.5 y 97.5 de los datos simulados), la línea punteada negra sin puntos representa la media de los datos simulados, los puntos y las líneas son datos individuales observados graficados mediante el uso de los tiempos nominales y la línea punteada horizontal representa el LLOQ de 0.2 mcg/mL.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente invención se refiere a un método para tratar la enfermedad a través de la prevención de GvHD. El método

comprende administrar un antagonista de la integrina $\alpha 4\beta 7$, tal como un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$, a un paciente que se somete a un trasplante alogénico de células hematopoyéticas, tal como un trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas (allo-HSCT). En algunas modalidades, la enfermedad padecida por el paciente es cáncer, por ejemplo, cáncer hematológico (tal como leucemia, linfoma, mieloma o síndrome mielodisplásico). En otras modalidades, la enfermedad padecida por el paciente se caracteriza por un defecto hematológico no maligno o inmunológico (tal como un síndrome de insuficiencia de la médula ósea, hemoglobinopatía o SCID). En un aspecto, el paciente de trasplante está acondicionado, por ejemplo, se somete a un proceso para preparar el cuerpo para recibir el trasplante. En algunas modalidades, el acondicionamiento es acondicionamiento mieloablativo ("acondicionamiento mieloide") o un acondicionamiento de intensidad reducida (RIC, por sus siglas en inglés), por ejemplo, menor que, por ejemplo, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 20-40 %, 30-50 % o 50 % menor, de los agentes utilizados en el acondicionamiento mieloablativo. En algunas modalidades, el acondicionamiento se induce químicamente, por ejemplo, mediante ciclofosfamida y/o busulfán y/o fludarabina, se induce por radiación, por ejemplo, mediante radiación de todo el cuerpo, o se induce mediante una combinación de tratamiento químico y radiación, tal como ciclofosfamida y

radiación de todo el cuerpo.

En un aspecto, se le administran al paciente, por ejemplo, paciente de trasplante, células hematopoyéticas alogénicas, por ejemplo, como una infusión. En algunas 5 modalidades, las células hematopoyéticas alogénicas son células madre hematopoyéticas alogénicas, es decir, el paciente recibe un trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas (allo-HSCT). En algunas modalidades, las células hematopoyéticas alogénicas son células leucocitarias 10 alogénicas. En algunas modalidades, las células leucocitarias alogénicas comprenden linfocitos, por ejemplo, linfocitos T. En algunas modalidades, las células leucocitarias alogénicas comprenden linfocitos que expresan un receptor de antígenos quiméricos. En algunas modalidades, las células leucocitarias 15 alogénicas comprenden linfocitos citolíticos naturales. En algunas modalidades, las células leucocitarias alogénicas comprenden linfocitos T citotóxicos, por ejemplo, linfocitos T que expresan CD8. En algunas modalidades, las células leucocitarias alogénicas se seleccionan para consistir en al 20 menos 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de linfocitos. En algunas modalidades, las células leucocitarias alogénicas se seleccionan para consistir en al menos 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 25 % de linfocitos T. En algunas modalidades, las células

hematopoyéticas alogénicas tienen una o más modificaciones recombinantes conocidas en la técnica para controlar su comportamiento en el paciente.

En algunas modalidades, el antagonista $\alpha 4\beta 7$, tal como un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$, previene la enfermedad del injerto contra huésped (GVHD). En algunas modalidades, el antagonista $\alpha 4\beta 7$, tal como un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$, no previene la actividad injerto contra tumor. En algunas modalidades, las células trasplantadas se injertan con tolerancia en los tejidos del paciente. En algunas modalidades, la invención se refiere a métodos para prevenir la enfermedad del injerto contra huésped (GvHD) al administrar un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ a un paciente que se somete a allo-HSCT. En algunas modalidades, el antagonista de $\alpha 4\beta 7$ se administra a un paciente antes de recibir células hematopoyéticas, tal como células madre hematopoyéticas alogénicas, y se proporciona además durante el injerto de células hematopoyéticas, lo que previene la GVHD. En otras modalidades, el antagonista de $\alpha 4\beta 7$ se administra a un paciente poco después, tal como hasta siete días después, de recibir las células hematopoyéticas. En algunas modalidades, el anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ es un anticuerpo humanizado, por ejemplo, un anticuerpo humanizado con la especificidad epitópica del anticuerpo monoclonal de ratón Act-1. En algunas modalidades, el anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ es vedolizumab.

Las células hematopoyéticas, por ejemplo, células madre, pueden derivarse de la médula ósea o de sangre (por ejemplo, sangre periférica o sangre de cordón umbilical) de un donante externo, es decir, alogénico. En algunas modalidades, las

5 células hematopoyéticas, por ejemplo, células madre, pueden manipularse antes de la infusión, por ejemplo, enriquecidas o agotadas de determinadas células mediante una selección de anticuerpo u otro mecanismo, expandidas in vitro, o sometidas a edición génica o terapia génica. Los ejemplos de

10 composiciones de células hematopoyéticas que están enriquecidas o agotadas para infusión incluyen células que pueden recolectarse mediante, por ejemplo, selección negativa, por ejemplo, separación de leucocitos de glóbulos rojos (por ejemplo, centrifugación diferencial a través de

15 una solución densa polimérica o de azúcar (por ejemplo, solución FICOLL® (Amersham Biosciences, departamento de GE healthcare, Piscataway, NJ) o solución HISTOPAQUE®-1077, Sigma-Aldrich Biotechnology LP y Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO)) y/o selección positiva al unir células a un

20 agente de selección (por ejemplo, un reactivo que se une a un marcador de linfocito B, tal como CD19 o CD20, un marcador de progenitor mieloide, tal como CD34, CD38, CD117, CD138, CD133 o ZAP70, o a un marcador de linfocito T, tal como CD2, CD3, CD4, CD5 o CD8 para el aislamiento directo (por ejemplo, la

25 aplicación de un campo magnético a las soluciones de células

que comprenden esferas magnéticas (por ejemplo, de Miltenyi Biotec, Auburn, CA) u otras esferas, por ejemplo, en una columna (R&D Systems, Minneapolis, MN) que se unen a los marcadores celulares) o clasificación de célula activada por fluorescencia). En una modalidad, la centrifugación diferencial concentra una capa celular que comprende leucocitos.

En algunas modalidades, el paciente padece una enfermedad, tal como un cáncer o una enfermedad no maligna.

10 En algunas modalidades, el paciente tiene leucemia, por ejemplo, leucemia linfoblástica aguda (ALL) o leucemia mieloide aguda (AML). En algunas modalidades, el paciente tiene una enfermedad mielodisplásica o mieloproliferativa. En algunas modalidades, el paciente tiene un linfoma, tal como

15 un linfoma no Hodgkin o linfoma de Hodgkin. En algunas modalidades, el paciente tiene un trastorno hematológico no maligno, tal como una hemoglobinopatía, por ejemplo, enfermedad de células falciformes o talasemia, síndrome de insuficiencia de la médula ósea, por ejemplo, anemia

20 aplásica, anemia de Fanconi u otros síndromes de insuficiencia de médula, una enfermedad inmunitaria, tal como inmunodeficiencia combinada grave (SCID, por sus siglas en inglés) o enfermedad autoinmunitaria, tal como diabetes. En algunas modalidades, el paciente tiene un trastorno tratable

25 con un trasplante de órgano, tal como colangitis

esclerosante, cirrosis o hemocromatosis (por ejemplo, para un trasplante de hígado); enfermedad cardíaca congestiva, miocardiopatía dilatada o enfermedad de las arterias coronarias grave (por ejemplo, para un trasplante de corazón); fibrosis cística, enfermedad pulmonar obstructiva crónica o fibrosis pulmonar (por ejemplo, para un trasplante de pulmón); o diabetes, enfermedad poliquística renal, lupus eritematoso sistémico o glomeruloesclerosis focal y segmentaria (por ejemplo, para un trasplante de riñón). En algunas modalidades, el paciente recibe dos trasplantes, por ejemplo, un trasplante de célula hematopoyética, por ejemplo, con el fin de inducción de tolerancia, y un trasplante de órgano sólido, por ejemplo, trasplante de un hígado, un corazón, un pulmón o un riñón. En otro ejemplo, el paciente recibe dos trasplantes, en primer lugar, un allo-HSCT y en segundo lugar linfocitos T alogénicos mediante una infusión de leucocitos del donante (DLI, por sus siglas en inglés). En este ejemplo, hay potencial para el desarrollo de GvHD aguda en ambos procedimientos de trasplantes y, por tanto, la administración de un antagonista de integrina $\alpha 4\beta 7$, tal como un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$, a un paciente puede ser útil para ambos trasplantes.

La enfermedad del injerto contra huésped aguda se caracteriza por el daño a tejidos como el hígado, la piel (sarpullido), tracto gastrointestinal y otras mucosas

provocado por las células inmunitarias alorreactivas como los linfocitos T. En algunas modalidades, las células inmunitarias autorreactivas pueden provocar la enfermedad del injerto contra huésped aguda. Las células inmunitarias pueden
5 hacerse reactivas a partir de la infusión de células hematopoyéticas o activarse tras el reconocimiento de señales en tejidos del paciente, por ejemplo, el paciente de trasplante. Las señales reconocidas por las células hematopoyéticas alorreactivas o células inmunitarias
10 autorreactivas pueden inducirse del régimen de acondicionamiento o del síndrome de lisis tumoral, por ejemplo, como un resultado de la actividad de GVT. La prevención de GvHD puede resultar de un bloqueo de $\alpha 4\beta 7$ sostenido que comienza al momento de la infusión de células
15 hematopoyéticas, por ejemplo, células madre hematopoyéticas. La administración profiláctica de vedolizumab a pacientes que se someten a allo-HSCT puede impedir el tráfico de linfocitos T alorreactivos a GALT (por ejemplo, placas de Peyer) o ganglios linfáticos mesentéricos, y la mucosa GI, lo que
20 previene el desarrollo de la GvHD aguda. El bloqueo de $\alpha 4\beta 7$ sostenido puede prevenir además la GvHD durante el injerto de células hematopoyéticas, por ejemplo, para bloquear las células inmunitarias autorreactivas. El anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ se proporciona a una dosis suficiente para lograr una
25 saturación del receptor sostenida a través de los primeros

100 días después de allo-HSCT, el período de tiempo en el cual la gran mayoría de GvHD aguda ocurre. GvHD aguda de Grado III-IV o de índice C-D es un factor de riesgo para el desarrollo de GvHD crónica, por lo que las terapias que
5 pueden prevenir la GvHD aguda pueden reducir el riesgo del desarrollo de GvHD crónica (Flowers M.E.D. et ál. Blood, 17 de marzo de 2011, 117(11):3214-19).

Un aspecto de la invención comprende un antagonista de integrina $\alpha 4\beta 7$ (por ejemplo, vedolizumab) para uso en la
10 prevención de GvHD. Al contrario que los sujetos saludables, se espera que los pacientes que se someten al régimen de acondicionamiento, por ejemplo, el acondicionamiento mieloablativo o de intensidad reducida, seguido por el trasplante de células hematopoyéticas, tal como allo-HSCT,
15 tengan poblaciones de linfocitos T cambiantes notoriamente con expresión de integrina $\alpha 4\beta 7$ variable durante el período posterior al trasplante. Por ejemplo, el injerto de HSC comprende la migración dirigida del injerto de HSC a la médula ósea y la maduración y migración dirigida de
20 linfocitos del donante a órganos linfoides secundarios y otros tejidos que provocan la alta susceptibilidad del paciente a infecciones mientras ocurre el injerto. Los tratamientos sistémicos, por ejemplo, la administración de agentes inmunosupresores (tales como corticosteroides,
25 ciclosporina, metotrexato y micofenolato mofetil y las

terapias de anticuerpos como alemtuzumab, globulina antitimocítica o rituximab, y terapias anti-TNF) usados para controlar la activación aberrante de los linfocitos puede afectar el injerto y la respuesta al injerto o la enfermedad, por ejemplo, cáncer o trastorno hematológico no maligno. Las terapias selectivas del intestino (tal como anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$) ofrecen el potencial de disminuir la generación y migración dirigida de linfocitos específicos al intestino alorreactivos en esta configuración mientras preserva potencialmente el efecto de GVT del injerto.

Definiciones

La expresión "formulación farmacéutica" se refiere a a una preparación que contiene un antagonista de $\alpha 4\beta 7$, tal como un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$, de modo de permitir que la actividad biológica del anticuerpo sea eficaz y que no contenga ningún componente adicional inaceptablemente tóxico para un sujeto al cual se administraría la formulación.

La molécula de superficie celular, "integrina $\alpha 4\beta 7$ " o " $\alpha 4\beta 7$ ", es un heterodímero de una cadena $\alpha 4$ (CD49D, ITGA4) y una cadena $\beta 7$ (ITGB7). Cada cadena puede formar un heterodímero con una cadena de integrina alternativa para formar $\alpha 4\beta 1$ o $\alpha E\beta 7$. Los genes humanos $\alpha 4$ y $\beta 7$ (GenBank (National Center for Biotechnology Information, Bethesda, MD) números de acceso RefSeq NM_000885 y NM_000889, respectivamente) se expresan por linfocitos B y T,

particularmente linfocitos CD4+ de memoria. Como es típico para muchas integrinas, $\alpha 4 \beta 7$ pueden existir en un estado de reposo o activo. Los ligandos para $\alpha 4 \beta 7$ incluyen molécula de adhesión celular vascular (VCAM), fibronectina, y adresina mucosal (MAdCAM (por ejemplo, MAdCAM-1)).

Un "antagonista de $\alpha 4 \beta 7$ " es una molécula que antagoniza, reduce o inhibe la función de la integrina $\alpha 4 \beta 7$. Dicho antagonista puede antagonizar la interacción de la integrina $\alpha 4 \beta 7$ con uno o más de sus ligandos. Un antagonista de $\alpha 4 \beta 7$ puede unirse a cualquiera de las cadenas del heterodímero o un complejo que requiera ambas cadenas de la integrina $\alpha 4 \beta 7$, o puede unirse a un ligando, tal como MAdCAM. Un antagonista de $\alpha 4 \beta 7$ puede ser un anticuerpo que cumpla dicha función de unión, tal como un anticuerpo anti-integrina $\alpha 4 \beta 7$ o "anticuerpo anti- $\alpha 4 \beta 7$ ". En algunas modalidades, un antagonista de $\alpha 4 \beta 7$, tal como un anticuerpo anti- $\alpha 4 \beta 7$, tiene "especificidad de unión al complejo $\alpha 4 \beta 7$ " y se une a $\alpha 4 \beta 7$, pero no a $\alpha 4 \beta 1$ o $\alpha E \beta 7$.

El término "anticuerpo" o "anticuerpos" en la presente se usa en el sentido más amplio y cubre específicamente anticuerpo de longitud completa, péptido/s o inmunoglobulina/s de anticuerpo, anticuerpos monoclonales, anticuerpos quiméricos (incluso anticuerpos primatizados), anticuerpos policlonales, anticuerpos humanos, anticuerpos humanizados y anticuerpos de especies no humanas, incluso

anticuerpos humanos derivados de una secuencia de inmunoglobulina de línea germinal humana transducida en la especie no humana, por ejemplo, ratón, oveja, gallina o cabra, formas de unión al antígeno recombinante tales como monocuerpos y diacuerpos, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos) formados a partir de al menos dos anticuerpos de longitud completa (por ejemplo, cada parte comprende la región de unión al antígeno de un anticuerpo a un epítipo o antígeno diferente) y fragmentos de unión al antígeno individuales de cualquiera de los que anteceden, por ejemplo, de un anticuerpo o el anticuerpo del cual deriva, incluso, dAbs, Fv, scFv, Fab, F(ab)'₂, Fab'.

El término "anticuerpo monoclonal" tal como se usa en la presente se refiere a un anticuerpo obtenido a partir de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos y/o se unen al mismo epítipo. El modificador "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo como obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogénea y no debe interpretarse que requiere la producción del anticuerpo mediante ningún método en particular.

Los "fragmentos de unión al antígeno" de un anticuerpo comprenden preferentemente al menos las regiones variables de cadenas pesada y/o ligera de un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$. Por ejemplo, un fragmento de unión al antígeno de vedolizumab

puede comprender residuos de aminoácidos 20-131 de la secuencia de cadena ligera humanizada de la SEQ ID NO:2 y los residuos de aminoácidos 20-140 de la secuencia de cadena pesada humanizada de la SEQ ID NO:1. Los ejemplos de dichos fragmentos de unión al antígeno incluyen fragmentos Fab, fragmentos Fab', fragmentos Fv y fragmentos scFv y F(ab')₂. Los fragmentos de unión al antígeno de un anticuerpo pueden producirse mediante escisión enzimática o mediante técnicas recombinantes. Por ejemplo, se puede utilizar escisión de papaina o pepsina para generar fragmentos Fab o F(ab')₂, respectivamente. También pueden producirse anticuerpos en una variedad de formas truncadas mediante el uso de genes de anticuerpos en los cuales se han introducido uno o más codones de terminación en una posición anterior al sitio de terminación natural. Por ejemplo, una construcción recombinante que codifica la cadena pesada de un fragmento F(ab')₂ puede diseñarse para que incluya secuencias de ADN que codifiquen el dominio CH₁ y la región bisagra de la cadena pesada. En un aspecto, los fragmentos de unión al antígeno inhiben la unión de integrina $\alpha 4\beta 7$ a uno o más de sus ligandos (por ejemplo, adresina mucosal MAdCAM (por ejemplo, MAdCAM-1), fibronectina).

Un "anticuerpo monoclonal terapéutico" es un anticuerpo utilizado para terapia de un sujeto humano. Los anticuerpos monoclonales terapéuticos descritos en la presente incluyen

anticuerpos anti- $\alpha 4\beta 7$.

Las "funciones efectoras" de anticuerpo se refieren a aquellas actividades biológicas que se pueden atribuir a la región Fc (una región Fc de secuencia natural o una región Fc de variante de secuencia de aminoácidos) de un anticuerpo. Los ejemplos de funciones efectoras de anticuerpo incluyen la unión a C1q; la citotoxicidad dependiente de complemento; unión al receptor Fc; citotoxicidad mediada por células dependiente del anticuerpo (ADCC, por sus siglas en inglés); fagocitosis; regulación por disminución de los receptores de superficie celular (por ejemplo, receptor de linfocitos B; BCR) y similares. Para evaluar la actividad de ADCC de una molécula de interés, se puede llevar a cabo un ensayo ADCC *in vitro*, tal como los que se describen en las patentes estadounidenses n.º 5,500,362 o 5,821,337.

En función de la secuencia de aminoácidos del dominio constante de sus cadenas pesadas, los anticuerpos de longitud completa pueden asignarse a diferentes "clases". Existen cinco clases principales de anticuerpos de longitud completa: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, y varios de estos pueden dividirse adicionalmente en "subclases" (isotipos), por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA e IgA2. Los dominios constantes de cadena pesada que corresponden a las clases diferentes de anticuerpos se conocen como α , δ , ϵ , γ y μ , respectivamente. Son conocidas las estructuras de las subunidades y las

configuraciones tridimensionales de las diferentes clases de anticuerpos.

Las "cadenas ligeras" de anticuerpos de cualquier especie de vertebrados puede asignarse a uno de dos tipos
5 claramente distintos, llamados kappa (κ) y lambda (λ), con base en las secuencias de aminoácidos de sus dominios constantes.

El término "región hipervariable" cuando se usa en la presente se refiere a residuos de aminoácidos de un
10 anticuerpo que son responsables de la unión al antígeno. La región hipervariable comprende generalmente residuos de aminoácidos de una "región determinante de la complementariedad" o "CDR" (por ejemplo, residuos 24-34 (L1), 50-56 (L2) y 89-97 (L3) en el dominio variable de cadena
15 ligera y 31-35 (H1), 50-65 (H2) y 95-102 (H3) en el dominio variable de cadena pesada; Kabat et ál., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5ª Ed. Servicio de Salud Pública, Institutos Nacionales de la Salud, Bethesda, Md. (1991)) y/o residuos de un "bucle hipervariable" (por
20 ejemplo, residuos 26-32 (L1), 50-52 (L2) y 91-96 (L3) en la región variable de cadena ligera y 26-32 (H1), 53-55 (H2) y 96-101 (H3) en la región variable de cadena pesada; Chothia y Lesk *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)). Residuos de "región marco" o de "FR" son aquellos residuos de dominio variable
25 diferentes a los residuos de región hipervariable tal como se

describe en la presente. La región hipervariable o las CDR de esta pueden transferirse de una cadena de anticuerpo a otra o a otra proteína para conferir especificidad de unión al antígeno al anticuerpo (compuesto) o proteína de unión
5 resultante.

Las formas "humanizadas" de anticuerpos no humanos (por ejemplo, roedores) son anticuerpos quiméricos que contienen una mínima cantidad de secuencia derivada del anticuerpo no humano. En la mayoría de los casos, los anticuerpos
10 humanizados son inmunoglobulinas humanas (anticuerpo receptor) en las que los residuos de una región hipervariable del receptor se reemplazan con residuos de una región hipervariable de una especie no humana (anticuerpo donante), tales como de ratón, rata, conejo o primate no humano que
15 tiene la especificidad, afinidad y capacidad deseadas. En algunos casos, los residuos de la región marco (FR) del anticuerpo humano se reemplazan con los residuos no humanos correspondientes. Además, los anticuerpos humanizados pueden comprender residuos que no se encuentran en el anticuerpo
20 receptor o en el anticuerpo donante. Estas modificaciones se realizan para perfeccionar adicionalmente el desempeño de los anticuerpos. Para más detalles, véase Jones et ál., *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann et ál., *Nature* 332:323-329 (1988); y Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992).

25 Un anticuerpo "madurado por afinidad" tiene una o más

alteraciones en una o más regiones hipervariables de este que provocan una mejora en la afinidad del anticuerpo por el antígeno, comparado con un anticuerpo original que no posee esa alteración o alteraciones. En un aspecto, los anticuerpos madurados por afinidad tendrán afinidades nanomolares o incluso picomolares con el antígeno diana. Los anticuerpos madurados por afinidad se producen mediante procedimientos conocidos en la técnica. Marks *et ál.* *Bio/Technology* 10:779-783 (1992) describe la maduración por afinidad por transposiciones de dominios VH y VL. La mutagénesis aleatoria de CDR y/o residuos de marco se describe en: Barbas *et ál.* *Proc Nat. Acad. Sci, EUA* 91:3809-3813 (1994); Schier *et ál.* *Gene* 169:147-155 (1995); Yelton *et ál.* *J. Immunol.* 155:1994-2004 (1995); Jackson *et ál.*, *J. Immunol.* 154(7):3310-9 (1995); y Hawkins *et ál.*, *J. Mol. Biol.* 226:889-896 (1992).

Un anticuerpo "aislado" es aquel que se identificó y separó y/o recuperó a partir de un componente de su entorno natural. En determinadas modalidades, el anticuerpo se purificará (1) a más de un 95 % en peso de proteína, tal como se determina por el método Lowry y, de manera alternativa, más de 99 % en peso, (2) a un punto suficiente como para obtener al menos 15 residuos de la secuencia de aminoácidos interna o de extremo N, mediante el uso de un secuenciador de taza giratoria, o (3) a homogeneidad por SDS-PAGE en condiciones reductoras o no reductoras, mediante el uso de

azul de Coomassie o tinción de plata. El anticuerpo aislado incluye el anticuerpo *in situ* dentro de células recombinantes ya que al menos un componente del entorno natural del anticuerpo no estará presente. Generalmente, sin embargo, el anticuerpo aislado se preparará mediante al menos una etapa de purificación.

Se pretende que "cáncer" o "tumor" incluya cualquier crecimiento neoplásico o maligno en un paciente, incluso un tumor inicial y metástasis. El cáncer puede ser de tipo hematológico o de tumor sólido. Los tumores hematológicos incluyen tumores de origen hematológico, que incluyen, por ejemplo, mielomas (por ejemplo, mieloma múltiple), leucemias (por ejemplo, síndrome de Waldenström, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia granulocítica, leucemia monocítica, leucemia linfocítica aguda, otras leucemias), linfomas (por ejemplo, linfomas de linfocitos B, tal como linfoma difuso de linfocitos B grandes, linfoma folicular, linfoma de células del manto, linfoma de Hodgkin, linfoma no de Hodgkin, plasmocitoma o sarcoma de células reticulares) y neoplasias mieloproliferativas, tales como síndrome mielodisplásico, trombocitemia, policitemia vera o mielofibrosis. Los tumores sólidos pueden originarse en los órganos e incluyen cánceres como de piel, pulmón, cerebro, mama, próstata, ovarios, colon, riñón, páncreas, hígado, esófago, estómago, intestino,

vejiga, útero, cuello uterino, testículos, glándula adrenal, etc. Tal como se usa en la presente, las células cancerosas, incluso células tumorales, se refieren a células que se dividen a una velocidad anormal (aumentada) o cuyo control de crecimiento o supervivencia es diferente que para las células en el mismo tejido en donde la célula cancerosa surge o vive. Las células cancerosas incluyen, de modo no taxativo, células en carcinomas, sarcomas, mielomas, leucemias, linfomas y tumores del sistema nervioso, que incluyen, glioma, meningoma, meduloblastoma, schwannoma o ependimoma.

“Tratamiento” se refiere al tratamiento terapéutico. Los individuos que necesitan tratamiento incluyen los que ya poseen la enfermedad. Por lo tanto, el paciente, por ejemplo, humano, a tratarse en la presente puede haber sido diagnosticado con una enfermedad, tal como cáncer o una enfermedad hematológica no maligna, o padecer por el régimen de acondicionamiento. De manera alternativa, el paciente puede no tener GvHD, pero es un paciente de trasplante, por ejemplo, un paciente que se somete a un acondicionamiento para un trasplante alogénico de células hematopoyéticas, un candidato o paciente que se somete a un trasplante alogénico de células hematopoyéticas, por ejemplo, allo-HSCT, o que fue sometido recientemente a un trasplante alogénico de células hematopoyéticas, por ejemplo, allo-HSCT, dentro de los cinco meses previos. De manera adicional o alternativa, puede

planificarse que el paciente reciba linfocitos T alogénicos mediante una infusión de leucocitos del donante (DLI), por ejemplo, después de allo-HSCT. Los términos "paciente" y "sujeto" se utilizan de manera indistinta en la presente.

5 "Prevención" se refiere a un tratamiento que resulta en la ausencia o reducción de la gravedad de un evento adverso. En una población de pacientes, cuando el tratamiento típicamente resulta en un determinado porcentaje de eventos adversos, o un determinado porcentaje de eventos adversos que
10 son graves, pero un tratamiento administrado con fines de prevención en cambio resulta en un menor porcentaje de eventos adversos (es decir, un menor riesgo o riesgo reducido de eventos adversos) o un menor porcentaje de eventos adversos que son graves (es decir, un menor riesgo o riesgo
15 reducido de que el evento adverso sea grave).

En el contexto de pacientes de trasplantes alogénicos de células madre hematopoyéticas, tal como pacientes que se someten a un acondicionamiento de intensidad reducida o mieloablatoivo y reciben trasplantes alogénicos de células
20 madre hematopoyéticas, el evento adverso de la enfermedad del injerto contra huésped tiene al menos un riesgo del 25 %, un riesgo del 30 % al 60 %, un riesgo del 35 % al 55 %, un riesgo del 40 % al 50 % o un riesgo del 45 % al 65 % y puede resultar en un 30 % a 50 % de la mortalidad relacionada con
25 el tratamiento grave que resulta de todos eventos adversos.

La prevención de la GVHD adversa, o la prevención de la GVHD de grado alto, por ejemplo, grado III o IV o índice C o D, puede reducir el porcentaje de riesgo del evento adverso o puede reducir el porcentaje de riesgo que la GVHD conduce a la mortalidad relacionada con el tratamiento de pacientes de trasplantes. En algunas modalidades, la administración de un antagonista de $\alpha 4\beta 7$, tal como un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$, previene la GVHD en un paciente. En otras modalidades, la administración de un antagonista de $\alpha 4\beta 7$, tal como un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$, previene la manifestación intestinal de la GVHD en un paciente. En algunas modalidades, la administración de un antagonista de $\alpha 4\beta 7$, tal como un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$, previene la manifestación intestinal de la GVHD en un paciente, pero no previene una o más manifestaciones de la GVHD en la piel o el hígado. En algunas modalidades, la administración de un antagonista de $\alpha 4\beta 7$, tal como un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$, reduce el uso de la terapia inmunosupresora en el paciente. En algunas modalidades, la administración de un antagonista de $\alpha 4\beta 7$, tal como un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$, a un paciente que se somete a allo-HSCT resulta en un injerto de las células madre. En algunas modalidades, la administración de un antagonista de $\alpha 4\beta 7$, tal como un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$, a un paciente que se somete a allo-HSCT resulta en un injerto de las células madre y un efecto de injerto contra tumor (GVT).

El anticuerpo anti- $\alpha_4\beta_7$ es sustancialmente puro y, de forma conveniente, sustancialmente homogéneo (es decir, libre de proteínas contaminantes, etc.). Un anticuerpo "sustancialmente puro" significa una composición que comprende al menos alrededor de 90 % en peso del anticuerpo, en función del peso total de la proteína en la composición, al menos alrededor de 95 % o 97 % en peso. Un anticuerpo "sustancialmente homogéneo" significa una composición que comprende proteína, en donde al menos alrededor de 99 % en peso de la proteína es un anticuerpo específico, por ejemplo, anticuerpo anti- $\alpha_4\beta_7$, en función del peso total de la proteína.

Un anticuerpo anti- $\alpha_4\beta_7$, vedolizumab, un anticuerpo monoclonal humanizado que tiene especificidad de unión a la integrina $\alpha_4\beta_7$, ya se indica para el tratamiento de pacientes con colitis ulcerosa (UC) y enfermedad de Crohn (CD) activa de forma moderada a grave. Vedolizumab también puede usarse en la prevención de GvHD. Vedolizumab tiene un mecanismo de acción selectivo del intestino novedoso. Al unirse a $\alpha_4\beta_7$ expresada en la superficie celular, vedolizumab es un antagonista de $\alpha_4\beta_7$ y bloquea que un subconjunto de linfocitos T de memoria dirigidos al intestino interactúe con la molécula de adhesión celular de adresina mucosal 1 (MAdCAM-1) expresada en células endoteliales.

Diversos factores se asocian con la depuración acelerada

de anticuerpos, incluso la presencia de anticuerpos antifármacos, sexo, tamaño del cuerpo, uso de inmunosupresores concomitantes, tipo de enfermedad, concentración de albúmina y grado de inflamación sistémica.

5 Además, se ha observado una relación coherente entre la eficacia y la exposición, a diferencia de la dosis del fármaco, para muchos de estos agentes, de modo que mayores concentraciones mínimas de fármaco se asocian con una mayor eficacia. Las diferencias en la depuración del fármaco pueden

10 ser una explicación importante de esta observación. Por ejemplo, los pacientes con cáncer se someten a un tratamiento inmunosupresor del tumor y tratamiento para la infección. Por lo tanto, una comprensión sobre los determinantes de la depuración para los anticuerpos terapéuticos en pacientes de

15 trasplante puede resultar en la optimización de regímenes de fármacos.

En estudios previos, se investigaron la farmacocinética de dosis única, farmacodinámica (saturación del receptor $\alpha_4\beta_7$), seguridad y tolerabilidad de vedolizumab en un

20 intervalo de dosis de 0.2 a 10 mg/kg en voluntarios saludables (infusión intravenosa [IV]) (datos sin publicar). Después de alcanzar las concentraciones pico, las concentraciones en suero de vedolizumab cayeron de modo generalmente biexponencial hasta que las concentraciones

25 alcanzaron aproximadamente 1 a 10 ng/mL. De ahí en adelante,

las concentraciones parecieron caer de manera no lineal. Se han investigado la farmacocinética y la farmacodinámica de dosis múltiple de vedolizumab después de infusiones IV de 0.5 a 2 mg/kg en pacientes con CD e infusión de 2, 6 y 10 mg/kg en pacientes con UC. La farmacocinética de vedolizumab fue generalmente lineal después de una infusión IV en el intervalo de dosis de 2 a 10 mg/kg en pacientes con UC. Después de una administración de dosis múltiple, se logró la saturación del receptor $\alpha_4\beta_7$ de forma rápida y casi completa después de la dosis inicial de vedolizumab.

La eficacia y seguridad de la terapia de mantenimiento e inducción de vedolizumab se demostró en pacientes con CD en los ensayos GEMINI 2 (número de ClinicalTrials.gov NCT00783692) y GEMINI 3 (número de ClinicalTrials.gov NCT01224171). Las relaciones de exposición-respuesta (eficacia) de vedolizumab en pacientes con CD para la terapia de mantenimiento e inducción fueron presentadas en otras partes.

Prevención de la enfermedad del injerto contra huésped (GvHD) con un antagonista de $\alpha_4\beta_7$

La invención se refiere a un método para tratar una enfermedad en un paciente al prevenir la GvHD o un evento adverso relacionado con la GvHD, en un paciente de trasplante alogénico de células hematopoyéticas, por ejemplo, paciente humano, por ejemplo, que se somete a allo-HSCT. El paciente

humano puede ser un adulto (por ejemplo, 18 años o mayor), un adolescente o un niño. Se puede usar una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ tal como se describió en la presente para tratar a un paciente de trasplante, un paciente con cáncer, un paciente con enfermedad hematológica no maligna o prevenir la GvHD en un sujeto que padece estas afecciones.

La gravedad de la GvHD aguda se mide de acuerdo con los criterios Glucksberg modificados (Tabla 2) y el Índice de Base de Datos del Registro Internacional de Trasplantes de Médula Ósea (IBMTR, por sus siglas en inglés) modificado por la Red de Ensayos Clínicos sobre Transfusión de Sangre y Trasplante de Médula Ósea (BMT CTN, por sus siglas en inglés), Tabla 3). Las etapas clínicas y grados de GvHD se dividen tal como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1: Etapa clínica de la enfermedad del injerto contra huésped aguda

Etapa	Piel	Hígado	Tracto intestinal
		Bilirrubina: Unidades SI (unidades estándares)	Diarrea/día
1	Sarpullido maculopapular <25 % de la superficie del cuerpo (a)	34-50 $\mu\text{mol/L}$ (2-3 mg/dL)	> 500 mL diarrea/día
2	Sarpullido maculopapular 25 %-50 % de la superficie del cuerpo	51-102 $\mu\text{mol/L}$ (3.1-6 mg/dL)	> 1000 mL diarrea/día
3	Sarpullido > 50 % de la superficie del cuerpo	103-225 $\mu\text{mol/L}$ (6.1-15 mg/dL)	> 1500 mL diarrea/día
4	Eritroderma generalizado con formación ampollosa	> 255 $\mu\text{mol/L}$ (> 15 mg/dL)	Dolor abdominal grave, con o sin íleo

Tabla 2: Grado de la enfermedad del injerto contra huésped aguda (Glucksberg modificado)

Grado	Piel	Hígado	Tracto intestinal
I	Etapa 1-2	Ninguna	Ninguna
5 II	Etapa 3 o →	Etapa 1 o →	Etapa 1
III	-	Etapa 2-3 o →	Etapa 2-4
IV	Etapa 4 o →	Etapa 4	-

Tabla 3: Criterios para el Índice de Gravedad de la Base de Datos de Registro Internacional de Trasplante de Médula Ósea (IBMTR) para la enfermedad del injerto contra huésped aguda

Índice	Piel		Hígado		Tracto intestinal	
	Etapa (máx)	Extensión del sarpullido	Etapa (máx)	Bilirrubina total ($\mu\text{mol/L}$)	Etapa (máx)	Volumen de diarrea (mL/día)
A	1	< 25 %	0	<34	0	<500
15 B	2	25-50 %	o 1-2	34-102	o 1-2	550-1500
C	3	>50 %	o 3	103-255	o 3	>1500
D	4	Ampolla	o 4	>255	o 4	Dolor grave e íleo

Las células hematopoyéticas alogénicas, por ejemplo, allo-HSC, pueden injertarse sin GvHD, únicamente GvHD de piel, únicamente GvHD de hígado, únicamente GvHD de piel e hígado, sin GvHD intestinal y únicamente GvHD de piel o hígado, sin GvHD de grado IV, sin GvHD de grado III o IV, únicamente GvHD intestinal de etapa 1 o etapa 2 y únicamente GvHD de piel y/o hígado de etapa 2-3, únicamente GvHD de grado I a II, o sin o únicamente GvHD de piel, únicamente

GvHD de índice A, únicamente GvHD de índice A o B, sin GvHD de índice C o D o cualquiera de los que anteceden junto con GVT, después de la administración del antagonista de $\alpha 4\beta 7$, por ejemplo, un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$.

5 Prevenir el desarrollo de GvHD aguda puede ser el resultado de disminuir o bloquear el tráfico de linfocitos T alorreactivos a GALT, ganglios linfáticos mesentéricos y/o la mucosa GI. La prevención de GvHD, por ejemplo, GVHD aguda, puede considerarse exitosa si, a alrededor de los 50 días, 10 alrededor de los 75 días, alrededor de los 90 días, alrededor de los 100 días, alrededor de los 110 días, alrededor de los 120 días, alrededor de los 150 días o alrededor de los 180 días, después del trasplante alogénico de células hematopoyéticas, por ejemplo, allo-HSCT, el paciente no 15 muestra signos de GvHD aguda. En algunas modalidades, el paciente que se somete al trasplante alogénico de células hematopoyéticas, por ejemplo, allo-HSCT, se trata con un régimen que no comprende una administración adicional de terapia inmunosupresora, por ejemplo, sin administración de 20 terapia inmunosupresora después del tratamiento de acondicionamiento o después del período de trasplante inicial, por ejemplo, inmediatamente antes y/o inmediatamente después, por ejemplo, 0 a 1 semana, 0 a 2 semanas, 0 a 3 semanas o 0 a 4 semanas después del trasplante alogénico de 25 células hematopoyéticas.

La remisión se define por los criterios convencionales de la Organización Mundial de la Salud (WHO, por sus siglas en inglés): < 5 % de blastos, recuperación del conteo y sin evidencia de la enfermedad extramedular. La remisión de la GvHD aguda y/o crónica puede durar hasta alrededor de 4, alrededor de 5, alrededor de 6, alrededor de 9 o alrededor de 12 meses después de allo-HSCT.

La supervivencia libre de progresión o recaída de GvHD (GRFS) se define como GvHD aguda de Grado 3-4, GvHD crónica que requiere inmunosupresión sistémica, progresión o recaída de la enfermedad, o muerte debido a cualquier causa.

El injerto es un proceso mediante el cual las células hematopoyéticas trasplantadas pueblan en el paciente o se ajustan al entorno tisular del paciente, por ejemplo, proliferan, se diferencian, comienzan a llevar a cabo la función característica de la célula hematológica de la cual derivan o que están programadas para ser con las señales de maduración. El injerto de allo-HSCT se mide al cuantificar los componentes sanguíneos, como neutrófilos y plaquetas. La duración del injerto depende de la fuente de las células madre hematopoyéticas, por ejemplo, más tiempo para las células madre de la sangre de cordón umbilical que para las células madre de la sangre periférica. El injerto de neutrófilos (recuperación del recuento absoluto de neutrófilos [ANC]) se define por un ANC > 500/mm³ durante 3

días consecutivos o $> 2000/\text{mm}^3$ durante 1 día. El primer día del período de 3 días se considera el día del injerto de neutrófilos.

La expresión promedio de $\alpha 4\beta 7$ en los linfocitos de la sangre periférica puede medirse mediante el ensayo de inhibición de unión de MAdCAM-1-Fc antes y después de la dosificación con un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ (por ejemplo, vedolizumab) en el paciente de trasplante alogénico de células hematopoyéticas, por ejemplo, la población allo-HSCT mieloablativa.

Los cambios en los biomarcadores de suero o sangre, que incluyen, de modo no taxativo, interleucina-6 (IL-6), interleucina-17 (IL-17) y el supresor de tumorigenicidad 2 (ST2) y/o biomarcadores celulares, que incluyen, de modo no taxativo, linfocitos T de memoria efectores CD8+ bright, CD38+, CD8+ y linfocitos T de memoria CD4+, pueden predecir la aparición o la gravedad de la GVHD aguda. La detección de un aumento de uno o más de dichos marcadores después de allo-HSCT puede indicar la aparición de la GVHD aguda. La detección de los biomarcadores puede lograrse mediante la inmunodetección del biomarcador, por ejemplo, mediante el anticuerpo que se une a las células, por ejemplo, glóbulos rojos, que expresan el biomarcador y la medición de la cantidad de unión al anticuerpo, por ejemplo, mediante citometría de flujo o mediante la unión del anticuerpo a los

biomarcadores solubles en suero y la medición de la cantidad de unión al anticuerpo, por ejemplo, mediante ELISA. La comparación de la cantidad del biomarcador con un control o una muestra obtenida de forma temprana en el proceso del trasplante o antes de este, o con un estándar predeterminado, por ejemplo, la cantidad del biomarcador en una población de sujetos no trasplantados, puede proporcionar una indicación de si la cantidad del biomarcador cambió, por ejemplo, aumentó. En algunas modalidades, la administración de un antagonista de $\alpha 4\beta 7$, tal como un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$, a un paciente que se somete a un trasplante alogénico de células hematopoyéticas, por ejemplo, allo-HSCT, previene un cambio o un aumento de uno o más de estos biomarcadores.

Los pacientes pueden ser analizados para ver si son positivos a anticuerpos dirigidos contra el antagonista de $\alpha 4\beta 7$, tal como un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$, por ejemplo, positivos al anticuerpo anti-vedolizumab en diversos puntos de tiempo, por ejemplo, al valor de referencia, día 20 y día 100 después de allo-HSCT.

Los pacientes pueden ser analizados para el desarrollo de GvHD que requiera una inmunosupresión sistémica.

Un antagonista de $\alpha 4\beta 7$, tal como un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$, se administra en una cantidad eficaz que inhiba la unión de integrina $\alpha 4\beta 7$ con un ligando de esta. Para la terapia, una cantidad efectiva será suficiente para lograr el

efecto profiláctico deseado (por ejemplo, disminuir o eliminar el tráfico de linfocitos T alorreactivos a GALT, ganglios linfáticos mesentéricos y/o mucosa GI y reducir la incidencia o gravedad de GvHD). Una cantidad efectiva de un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$, por ejemplo, una titulación efectiva suficiente para mantener la saturación, por ejemplo, neutralización, de la integrina $\alpha 4\beta 7$, puede resultar en el bloqueo de $\alpha 4\beta 7$ sostenido al momento de la infusión de células madre hematopoyéticas. Un antagonista de $\alpha 4\beta 7$, tal como un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$, puede administrarse en una dosis unitaria o en múltiples dosis. La dosificación se puede determinar mediante métodos conocidos en la técnica y puede depender, por ejemplo, de la edad del individuo, su sensibilidad, tolerancia y bienestar general. Los ejemplos de modos de administración incluyen vías tópicas, tales como administración nasal, por inhalación o transdérmica, vías enterales, tales como a través de una sonda de alimentación o un supositorio, y vías parenterales, tales como administración intravenosa, intramuscular, subcutánea, intraarterial, intraperitoneal o intravítrea. Las dosificaciones adecuadas para los anticuerpos pueden ser de 0.1 mg/kg de peso corporal a alrededor de 10.0 mg/kg de peso corporal por tratamiento, por ejemplo, de alrededor de 2 mg/kg a alrededor de 7 mg/kg, alrededor de 3 mg/kg a alrededor de 6 mg/kg o alrededor de 3.5 a alrededor de 5

mg/kg. En modalidades particulares, la dosis administrada es alrededor de 0.3 mg/kg, alrededor de 0.5 mg/kg, alrededor de 1 mg/kg, alrededor de 2 mg/kg, alrededor de 3 mg/kg, alrededor de 4 mg/kg, alrededor de 5 mg/kg, alrededor de 6 mg/kg, alrededor de 7 mg/kg, alrededor de 8 mg/kg, alrededor de 9 mg/kg o alrededor de 10 mg/kg. En algunas modalidades, el vedolizumab se administra a una dosis de 50 mg, 75 mg, 100 mg, 300 mg, 450 mg, 500 mg o 600 mg. En algunas modalidades, el vedolizumab se administra a una dosis de 108 mg, 90 a 120 mg, 216 mg, 160 mg, 165 mg, 155 a 180 mg, 170 mg o 180 mg. En algunas modalidades, el vedolizumab se administra a una dosis de 180 a 250 mg, 300 a 350 mg o 300 a 500 mg.

En el caso de un antagonista de $\alpha 4\beta 7$, tal como un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ que se almacena como un sólido liofilizado, el anticuerpo se reconstituye en una solución, tal como agua, para su inyección previa a la administración. Si se prepara para infusión, la forma de dosificación final, por ejemplo, después de la dilución del anticuerpo reconstituido (por ejemplo, en una solución salina, de Ringer o un sistema de infusión de dextrosa al 5 %) del anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ puede ser de alrededor de 0.5 mg/ml a alrededor de 5 mg/ml para su administración. La forma de dosificación final puede ser a una concentración de entre alrededor de 0.3 mg/ml a alrededor de 3.0 mg/ml, alrededor de 1.0 mg/ml a alrededor de 1.4 mg/ml, alrededor de 1.0 mg/ml a alrededor de

1.3 mg/ml, alrededor de 1.0 mg/ml a alrededor de 1.2 mg/ml, alrededor de 1.0 a alrededor de 1.1 mg/ml, alrededor de 1.1 mg/ml a alrededor de 1.4 mg/ml, alrededor de 1.1 mg/ml a alrededor de 1.3 mg/ml, alrededor de 1.1 mg/ml a alrededor de 1.2 mg/ml, alrededor de 1.2 mg/ml a alrededor de 1.4 mg/ml, alrededor de 1.2 mg/ml a alrededor de 1.3 mg/ml, o alrededor de 1.3 mg/ml a alrededor de 1.4 mg/ml. La forma de dosificación final puede ser a una concentración de alrededor de 0.6 mg/ml, 0.8 mg/ml, 1.0 mg/ml, 1.1 mg/ml, alrededor de 1.2 mg/ml, alrededor de 1.3 mg/ml, alrededor de 1.4 mg/ml, alrededor de 1.5 mg/ml, alrededor de 1.6 mg/ml, alrededor de 1.8 mg/ml o alrededor de 2.0 mg/ml. En una modalidad, la dosis total es de 75 mg. En una modalidad, la dosis total es de 150 mg, 225 mg, 375 mg o 525 mg. En otra modalidad, la dosis total es de 300 mg. En una modalidad, la dosis total es de 450 mg. En una modalidad, la dosis total es de 600 mg. Una dosis del anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ puede diluirse en una solución salina, de Ringer o solución de dextrosa al 5 % de 250 ml para su administración.

La dosis puede administrarse al paciente en el transcurso de alrededor de 20 minutos, alrededor de 25 minutos, alrededor de 30 minutos, alrededor de 35 minutos o alrededor de 40 minutos.

El régimen de dosificación puede optimizarse para resultar en la prevención de GvHD o la reducción del riesgo

de Grado grave o nivel de índice, por ejemplo, Grado III o IV, índice C o índice D de GvHD padecida por el paciente. En algunas modalidades, el régimen de dosificación no altera la relación entre CD4 y CD8 en el líquido cefalorraquídeo de
5 pacientes que reciben el tratamiento. Por ejemplo, el antagonista anti- $\alpha 4\beta 7$ no obstaculiza la inmunovigilancia del sistema nervioso, por ejemplo, el cerebro o la médula espinal.

En una modalidad, el régimen de dosificación comprende
10 una dosis inicial el día antes de un trasplante de células madre alogénicas (allo-HSCT), una dosis posterior aproximadamente dos semanas después de la dosis inicial y una segunda dosis posterior aproximadamente seis semanas después de la dosis inicial. En una modalidad, la dosis inicial del
15 anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ es al menos 12 horas antes de la infusión de células madre alogénicas. Si bien este régimen de dosificación del anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ es útil para la dosis de inducción y la programación del vedolizumab aprobado para el tratamiento de la enfermedad de Crohn o la colitis
20 ulcerosa, se espera que los sujetos que se someten a un trasplante alogénico de células hematopoyéticas, tal como en tratamiento con un régimen de acondicionamiento seguido por el trasplante, por ejemplo, allo-HSCT, tengan poblaciones de linfocitos T cambiantes notoriamente con expresión de la
25 integrina $\alpha 4\beta 7$ variable durante el período posterior al

trasplante. Además, si el paciente contrae infecciones o GVHD o tiene otros efectos adversos del procedimiento de trasplante, la depuración del anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ puede verse afectada. Por ejemplo, si hay daño en los riñones
5 resultante de los agentes utilizados para el acondicionamiento, el tratamiento con diálisis podría aumentar la depuración de los anticuerpos del flujo sanguíneo. De manera alternativa, después de la terapia mieloablativa, puede haber otras condiciones fisiológicas que
10 puedan resultar en una alta depuración inesperada del anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ durante la terapia inicial.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ se administra antes del trasplante alogénico de células hematopoyéticas, por ejemplo, allo-HSCT. En algunas
15 modalidades, un antagonista de $\alpha 4\beta 7$, tal como un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$, se administra a un paciente antes y después del trasplante alogénico de células hematopoyéticas, por ejemplo, allo-HSCT. En algunas modalidades, un antagonista de $\alpha 4\beta 7$, tal como un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$, se administra a un paciente
20 después del trasplante alogénico de células hematopoyéticas, por ejemplo, allo-HSCT, por ejemplo, 1 día después, dentro de 1 a 2 días después, 1 a 3 días después, 2 a 3 días después o 2 a 4 días después, 2 días después, 3 días después, 4 días después, 5 días después, 6 días después o 7 días después del
25 trasplante alogénico de células hematopoyéticas, por ejemplo,

allo-HSCT. Por ejemplo, un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$, por ejemplo, vedolizumab, puede administrarse mediante infusión intravenosa como una dosis inicial el día antes del trasplante alogénico de células hematopoyéticas, por ejemplo, 5 allo-HSCT, y luego nuevamente a las dos y seis semanas después de la dosis inicial.

El antagonista de $\alpha 4\beta 7$, tal como el anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$, puede administrarse a un individuo (por ejemplo, un ser humano) solo o en combinación con otro agente. El antagonista 10 de $\alpha 4\beta 7$, tal como un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$, puede administrarse antes, junto con o después de la administración del agente adicional. En una modalidad, se administra más de un antagonista de $\alpha 4\beta 7$ que inhibe la unión de la integrina $\alpha 4\beta 7$ a sus ligandos. En dicha modalidad, un agente, por 15 ejemplo, se puede administrar un anticuerpo monoclonal, tal como un anticuerpo monoclonal anti-MAdCAM (por ejemplo, anti-MAdCAM-1) o anti-VCAM-1. En otra modalidad, el agente adicional inhibe la unión de leucocitos a un ligando endotelial en una vía distinta de la vía de $\alpha 4\beta 7$. Dicho 20 agente puede inhibir la unión, por ejemplo, de linfocitos que expresan el receptor 9 de quimiocina (motivo C-C) (CCR9) a quimiocina expresada en el timo (TECK o CCL25) o un agente que previene la unión de LFA-1 a la molécula de adhesión intercelular (ICAM). Por ejemplo, se administra un anticuerpo 25 anti-TECK o anti-CCR9 o un inhibidor de CCR9 de moléculas

pequeñas, como los inhibidores descritos en la publicación PCT WO03/099773 o WO04/046092, o un anticuerpo anti-ICAM-1 o un oligonucleótido que evita la expresión de ICAM además de una formulación de la presente invención. En aun otra
5 modalidad, uno o más ingredientes activos adicionales (por ejemplo, metotrexato o un inhibidor de calcineurina, por ejemplo, tacrolimus o ciclosporina) comúnmente administrados para la terapia de profilaxis de GvHD, pueden administrarse junto con un antagonista de $\alpha 4\beta 7$, tal como un anticuerpo
10 anti- $\alpha 4\beta 7$, en un método de la presente invención. En una modalidad, la dosis de la medicación administrada conjuntamente puede disminuirse en el tiempo durante el período de tratamiento mediante el antagonista de $\alpha 4\beta 7$, tal como un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$.

15 En algunas modalidades, la medicación administrada conjuntamente es un inhibidor de calcineurina, tal como tacrolimus. En algunas modalidades, el tratamiento con inhibidor de calcineurina se inicia antes del trasplante alogénico de células hematopoyéticas, por ejemplo, allo-HSCT,
20 y se continúa hasta al menos el día 100. En una modalidad, el tratamiento con tacrolimus puede iniciarse durante el acondicionamiento para el trasplante alogénico de células hematopoyéticas, por ejemplo, allo-HSCT. El tratamiento con tacrolimus puede lograr una concentración mínima de alrededor
25 de 1 ng/dL, alrededor de 2 ng/dL, alrededor de 3 ng/dL,

alrededor de 4 ng/dL, alrededor de 5 ng/dL, alrededor de 6 ng/dL, alrededor de 7 ng/dL, alrededor de 8 ng/dL, alrededor de 9 ng/dL, alrededor de 10 ng/dL o alrededor de 5-10 ng/dL. El tratamiento con tacrolimus se debe mantener a niveles terapéuticos durante alrededor de 2 semanas, alrededor de 6 semanas, alrededor de 2 meses, alrededor de 3 meses, alrededor de 100 días después del trasplante alogénico de células hematopoyéticas, por ejemplo, allo-HSCT, si no se observan signos de GvHD. El tratamiento con tacrolimus puede interrumpirse a alrededor de los 5 meses, alrededor de los 6 meses, alrededor de los 7 meses después del trasplante alogénico de células hematopoyéticas, por ejemplo, allo-HSCT.

En algunas modalidades, la medicación administrada en conjunto es metotrexato. En una modalidad, el metotrexato se administra al paciente a alrededor de 2, 4, 6, 8, 10 o 12 mg/m² IV después del trasplante alogénico de células hematopoyéticas, por ejemplo, allo-HSCT (por ejemplo, en los días 1, 3, 6 y 11). La cantidad de metotrexato administrada al paciente puede modificarse, o mantenerse, en función de la toxicidad.

En una modalidad, el método comprende la administración de una cantidad eficaz de un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ a un paciente. Si el anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ se encuentra en una formulación en estado sólido, por ejemplo, en estado seco, el proceso de administración puede comprender una etapa de

conversión de la formulación a un estado líquido. En un aspecto, una formulación seca se puede reconstituir, por ejemplo, mediante un líquido, como se describió anteriormente, para su uso en una inyección, por ejemplo, intravenosa, intramuscular o subcutánea. En otro aspecto, una formulación sólida o seca puede administrarse tópicamente, por ejemplo, en un parche, crema, aerosol o supositorio.

El antagonista de $\alpha 4\beta 7$, que es un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$, se puede unir a un epítipo en la cadena $\alpha 4$ (por ejemplo, MAb 21.6 humanizado (Bendig *et ál.*, patente estadounidense n.º 5,840,299), en la cadena $\beta 7$ (por ejemplo, FIB504 o un derivado humanizado (por ejemplo, Fong *et ál.*, patente estadounidense n.º 7,528,236)), o con un epítipo combinatorio formado por la asociación de la cadena $\alpha 4$ con la cadena $\beta 7$. AMG-181 u otros anticuerpos descritos en US 2010/0254975 son anticuerpos anti- $\alpha 4\beta 7$. En un aspecto, el anticuerpo se une a un epítipo combinatorio en el complejo $\alpha 4\beta 7$, pero no se une a un epítipo en la cadena $\alpha 4$ o la cadena $\beta 7$ a menos que las cadenas estén asociadas entre sí. La asociación de integrina $\alpha 4$ con integrina $\beta 7$ puede crear un epítipo combinatorio, por ejemplo, al acercar residuos presentes en ambas cadenas que juntos comprenden el epítipo o al exponer de forma conformacional en una cadena, por ejemplo, la cadena de integrina $\alpha 4$ o la cadena de integrina $\beta 7$, un sitio de unión epitópico que sea inaccesible para la unión de anticuerpos en

ausencia del compañero de integrina adecuado o en ausencia de activación de integrina. En otro aspecto, el anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ se une tanto a la cadena de integrina $\alpha 4$ como a la cadena de integrina $\beta 7$ y, por lo tanto, es específico para el complejo de integrina $\alpha 4\beta 7$. El anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ puede unirse a $\alpha 4\beta 7$, pero no unirse a $\alpha 4\beta 1$, y/o no unirse a $\alpha E\beta 7$, por ejemplo. En otro aspecto, el anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ se une al mismo o sustancialmente el mismo epítipo que el anticuerpo Act-1 (Lazarovits, A. I. et ál., *J. Immunol.*, 133(4): 1857-1862 (1984), Schweighoffer et ál., *J. Immunol.*, 151(2): 717-729, 1993; Bednarczyk et ál., *J. Biol. Chem.*, 269(11): 8348-8354, 1994). La línea celular de hibridoma ACT-1 murino, que produce el anticuerpo monoclonal Act-1 murino, fue depositada de acuerdo con las disposiciones del Tratado de Budapest el 22 de agosto de 2001, en nombre de Millennium Pharmaceuticals, Inc., 40 Landsdowne Street, Cambridge, Mass. 02139, EUA, en la Colección Americana de Cultivos Tipo, 10801 University Boulevard, Manassas, Va. 20110-2209, EUA, con el número de acceso PTA-3663. En otro aspecto, el anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ es un anticuerpo humano o una proteína de unión a $\alpha 4\beta 7$ que usa las CDR proporcionadas en la publicación de solicitud de patente estadounidense n.º 2010/0254975.

En un aspecto, el antagonista de $\alpha 4\beta 7$ es un anticuerpo anti-MAdCAM (ver, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 8,277,808, PF-00547659 o anticuerpos descritos en

WO2005/067620) o una forma modificada genéticamente de un ligando, tal como una quimera MAdCAM-Fc, tal como se describió en la patente estadounidense n.º 7,803,904.

En un aspecto, el anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ inhibe la unión
5 de $\alpha 4\beta 7$ con uno o más de sus ligandos (por ejemplo, la
adhesina mucosal, por ejemplo, MAdCAM (por ejemplo, MAdCAM-
1), fibronectina, y/o adhesina vascular (VCAM)). Se describen
MAdCAM de primate en la publicación PCT WO 96/24673, cuyas
indicaciones se incorporan a la presente en su totalidad
10 mediante esta referencia. En otro aspecto, el anticuerpo
anti- $\alpha 4\beta 7$ inhibe la unión de $\alpha 4\beta 7$ con MAdCAM (por ejemplo,
MAdCAM-1) y/o fibronectina sin inhibir la unión de VCAM.

En un aspecto, los anticuerpos anti- $\alpha 4\beta 7$ para utilizar
en los tratamientos son versiones humanizadas del anticuerpo
15 Act-1 de ratón. Los métodos adecuados para preparar
anticuerpos humanizados son conocidos en la técnica.
Generalmente, el anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ humanizado contendrá
una cadena pesada que contiene las 3 regiones determinantes
de la complementariedad de cadena pesada (CDR, CDR1, SEQ ID
20 NO:4, CDR2, SEQ ID NO:5 y CDR3, SEQ ID NO:6) del anticuerpo
Act-1 de ratón y las regiones marco de cadena pesada humanas
adecuadas; y también contienen una cadena ligera que contiene
las 3 CDR de cadena ligera (CDR1, SEQ ID NO:7, CDR2, SEQ ID
NO:8 y CDR3, SEQ ID NO:9) del anticuerpo Act-1 de ratón y
25 regiones marco de cadena ligera humanas adecuadas. El

anticuerpo Act-1 humanizado puede contener cualesquiera regiones marco humanas adecuadas, que incluyen regiones marco de consenso, con o sin sustituciones de aminoácidos. Por ejemplo, uno o más de los aminoácidos marco se pueden

5 replazar con otro aminoácido, tal como el aminoácido en la posición correspondiente en el anticuerpo Act-1 de ratón. La región constante humana o porción de esta, si está presente, se puede derivar de las cadenas ligeras κ o λ , y/o las cadenas pesadas de anticuerpos humanos γ (por ejemplo, $\gamma 1$,

10 $\gamma 2$, $\gamma 3$, $\gamma 4$), μ , α (por ejemplo, $\alpha 1$, $\alpha 2$), δ o ϵ , incluyendo las variantes alélicas. Una región constante particular (por ejemplo, IgG1) variante o partes de esta se pueden seleccionar para confeccionar la función efectora. Por ejemplo, una región constante mutada (variante) se puede

15 incorporar a una proteína de fusión para minimizar la unión con los receptores de Fc y/o la capacidad de fijar el complemento (ver, por ejemplo, Winter *et ál.*, GB 2,209,757 B; Morrison *et ál.*, WO 89/07142; Morgan *et ál.*, WO 94/29351, 22 de dic. 1994). Las versiones humanizadas de anticuerpo Act-1

20 se describen en las publicaciones PCT n.º WO98/06248 y WO07/61679, cuyo contenido se incorpora en su totalidad a la presente mediante esta referencia. Los métodos de tratamiento que usan anticuerpos anti-integrina $\alpha 4\beta 7$ se describen en las publicaciones n.º U.S. 2005/0095238, U.S. 2005/0095238,

25 WO2012151248 y WO 2012/151247.

En un aspecto, el anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ es vedolizumab. Vedolizumab IV (también llamado MLN0002, ENTYVIO™ o KYNTELES™) es un mAb de anticuerpo (Ig) G1 humanizado dirigido contra la integrina $\alpha 4\beta 7$ de linfocitos humanos. La
5 integrina $\alpha 4\beta 7$ media el tráfico de linfocitos a la mucosa GI, el tejido linfoide asociado al intestino (GALT) y los ganglios linfáticos mesentéricos a través de interacción adhesiva con la molécula de adhesión celular de adresina mucosal 1 (MAdCAM-1), que se expresa en el endotelio de
10 ganglios linfáticos mesentéricos y mucosa GI. Vedolizumab se une a la integrina $\alpha 4\beta 7$, antagoniza su adherencia a MAdCAM-1 y, en sí, obstaculiza la migración de linfocitos T sin tratamiento previo al GALT y los ganglios linfáticos mesentéricos y de leucocitos dirigidos al intestino hacia la
15 mucosa GI.

En otro aspecto, el anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ humanizado para su uso en el tratamiento comprende una región variable de cadena pesada que comprende los aminoácidos 20 a 140 de la SEQ ID NO:1, y una región variable de cadena ligera que
20 comprende los aminoácidos 20 a 131 de la SEQ ID NO:2 o los aminoácidos 1 a 112 de la SEQ ID NO:3. Si se desea, pueden estar presente una o más regiones constantes humanas. Por ejemplo, el anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ humanizado puede comprender una cadena pesada que comprenda los aminoácidos 20 a 470 de
25 la SEQ ID NO:1 y una cadena ligera que comprenda los

aminoácidos 1 a 219 de la SEQ ID NO:3. En otro ejemplo, el anticuerpo anti- $\alpha\beta$ 7 humanizado puede comprender una cadena pesada que comprenda los aminoácidos 20 a 470 de la SEQ ID NO:1 y una cadena ligera que comprenda los aminoácidos 20 a 238 de la SEQ ID NO:2. Vedolizumab está catalogado en el Registro del Chemical Abstract Service (CAS, American Chemical Society) n.º 943609-66-3).

Las sustituciones a la secuencia del anticuerpo anti- $\alpha\beta$ 7 pueden ser por ejemplo, mutaciones de las regiones marco de cadena ligera y pesada, tales como una mutación de isoleucina a valina en el residuo 2 de la SEQ ID NO:10; una mutación de metionina a valina en el residuo 4 de la SEQ ID NO:10; una mutación de alanina a glicina en el residuo 24 de la SEQ ID NO:11; una mutación de arginina a lisina en el residuo 38 de la SEQ ID NO:11; una mutación de alanina a arginina en el residuo 40 de la SEQ ID NO:11; una mutación de metionina a isoleucina en el residuo 48 de la SEQ ID NO:11; una mutación de isoleucina a leucina en el residuo 69 de la SEQ ID NO:11; una mutación de arginina a valina en el residuo 71 de la SEQ ID NO:11; una mutación de treonina a isoleucina en el residuo 73 de la SEQ ID NO:11; o cualquier combinación de estas; y el remplazo de las CDR de cadena pesada con las CDR (CDR1, SEQ ID NO:4, CDR2, SEQ ID NO:5 y CDR3, SEQ ID NO:6) del anticuerpo Act-1 de ratón; y el remplazo de las CDR de cadena ligera con las CDR de cadena ligera (CDR1, SEQ ID

NO:7, CDR2, SEQ ID NO:8 y CDR3, SEQ ID NO:9) del anticuerpo Act-1 de ratón.

La presente invención proporciona un método para prevenir GvHD en un paciente de trasplante alogénico de células hematopoyéticas, por ejemplo, trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas con vedolizumab. El método comprende las etapas de administrar una dosis inicial de 300 mg de un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ a un paciente con cáncer hematológico, tal como una persona que padezca leucemia, llevar a cabo un allo-HSCT un día después de la dosis inicial de vedolizumab, administrar una dosis posterior de 300 mg dos semanas después de la dosis inicial y una segunda dosis posterior de 300 mg seis semanas después de la dosis inicial. De manera alternativa, en algunas modalidades, la dosis del anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ es menor, por ejemplo, 75 mg o 150 mg, o mayor, por ejemplo, 450 mg o 600 mg, que 300 mg.

La invención proporciona un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ para uso en la prevención de GVHD en un paciente con un trasplante alogénico de células hematopoyéticas, por ejemplo, allo-HSCT, en donde el uso comprende administrar una dosis inicial del anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ el día antes del allo-HSCT, dos semanas después de la dosis inicial y seis semanas después de la dosis inicial. El uso en la prevención puede comprender además la administración de tacrolimus y/o metotrexato. En algunas modalidades, el anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ es vedolizumab.

La invención se comprenderá con mayor detalle en relación con los siguientes ejemplos. Sin embargo, no debería considerarse que limiten el alcance de la invención. Toda la bibliografía y las menciones de patentes se incorporan a la presente mediante referencia.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

Un estudio de determinación de dosis, abierto, de fase 1b se diseña para evaluar la seguridad, tolerabilidad y actividad clínica de agregar vedolizumab a la profilaxis estándar de la enfermedad del injerto contra huésped (GvHD) (tacrolimus más metotrexato a corto plazo) en pacientes adultos que se someten a un trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas (allo-HSCT). La determinación de dosis de vedolizumab se basa en la cohorte y sigue un diseño de estudio de determinación de dosis con base en reglas con directrices de farmacocinética (PK). Después de identificar una dosis tolerada con PK aceptable, la cohorte en ese nivel de dosis puede expandirse para evaluar adicionalmente la tolerabilidad y eficacia del vedolizumab.

La elegibilidad se determina durante el período de evaluación, que puede durar hasta 28 días antes del Día -1 (designación del día de la primera infusión IV de vedolizumab). Los pacientes que cumplen todos los criterios de elegibilidad y proporcionan un consentimiento informado

por escrito se registran en este estudio. El fármaco de estudio se administra inicialmente en el Día -1 antes de allo-HSCT y luego a los Días +13 y +42 después de allo-HSCT. Los pacientes que se someten a un trasplante mieloablativo de donante no relacionado para el tratamiento de neoplasias malignas hematológicas y que tienen 60 años o menos son elegibles para registrarse. Después de identificar una dosis recomendada de fase 2, la cohorte a ese nivel de dosis puede expandirse para incluir pacientes adicionales que reciben un acondicionamiento mieloablativo o un acondicionamiento de intensidad reducida "RIC" (de 75 años o menos) que se someten a un HSCT alogénico relacionado o no relacionado para el tratamiento de neoplasias malignas hematológicas o neoplasias mieloproliferativas.

Los pacientes son excluidos del estudio si han recibido trasplantes alogénicos anteriormente o si está pautado que se someterán a una transfusión de sangre de cordón umbilical, recibirán células madre hematopoyéticas (HSC) con agotamiento de linfocitos T ex vivo, recibirán anticuerpos de agotamiento de linfocitos T in vivo o RIC (en la parte de descubrimiento de dosis únicamente). También se excluyen los pacientes con enfermedad cerebral/meningea activa, colitis por citomegalovirus (CMV) activa o signos y síntomas de leucoencefalopatía multifocal progresiva (PML) o historia de PML. Además, los pacientes con trastornos hematológicos no

malignos (por ejemplo, anemia aplásica, anemia de células falciformes, talasemias, anemia de Fanconi) se excluyen en ambas partes del estudio.

Para los criterios de valoración de PK, un paciente
5 evaluable es uno que recibe vedolizumab y tiene al menos 1 muestra PK recolectada.

A los pacientes que se mantienen en remisión se les realiza un seguimiento de la seguridad y desarrollo de GvHD aguda y crónica durante 1 año después de allo-HSCT o hasta la
10 muerte del paciente o retiro del consentimiento o finalización del estudio por parte del patrocinador. Se les realiza un seguimiento a todos los pacientes respecto a la supervivencia general (OS, por sus siglas en inglés) hasta su muerte, retiro de consentimiento, finalización del estudio
15 por parte del patrocinador, o durante un máximo de 1 año después del registro del último paciente en el estudio. Los pacientes asisten a una visita al Día +100 (\pm 7 días) en cuyo momento ingresan a un seguimiento posterior al tratamiento.

El incremento de la dosis comienza con una cohorte de
20 dosis baja que recibe vedolizumab a 75 mg IV en el Día -1 y en los Días +13 y +42 después de allo-HSCT. La infusión de HSC ocurre al Día 0 (no antes de las 12 horas después de completar la infusión IV de vedolizumab en el Día -1). El primer paciente en cada cohorte de dosificación se controla
25 respecto a las toxicidades que limitan la dosis (DLT, por sus

siglas en inglés) desde el inicio de la primera infusión IV de vedolizumab en el Día -1 al Día +28 después de allo-HSCT (el período de observación DLT), que incluye la evaluación de la recuperación de neutrófilos al Día +28. Si el primer

5 paciente en la primera cohorte tolera vedolizumab IV a 75 mg y el injerto se lleva a cabo, entonces se registrarán 2 pacientes más en la primera cohorte. Si ninguno de los primeros 3 pacientes experimentan DLT, la siguiente cohorte recibe vedolizumab 300 mg IV en el Día -1 y en los Días +13 y

10 +42 después de allo-HSCT. Si el primer paciente en esta cohorte tolera vedolizumab IV a 300 mg y el injerto se lleva a cabo, entonces se registran 2 pacientes más en la segunda cohorte. Si los primeros 3 pacientes a 300 mg toleran el tratamiento sin experimentar DLT, entonces la decisión de si

15 aumentar la dosis IV de vedolizumab en la siguiente cohorte se guiará mediante los resultados de PK. Si 1 de los primeros 3 pacientes en la cohorte experimenta una DLT, entonces se registran 3 pacientes adicionales en el mismo nivel de dosis y se controlan respecto a DLT desde el Día -1 hasta el Día

20 +28. Si ninguno de los pacientes adicionales experimenta una DLT, entonces la decisión de si aumentar la dosis IV de vedolizumab en la siguiente cohorte se guiará mediante los resultados de PK. Si 2 o más pacientes en una cohorte de entre 3 o 6 pacientes experimentan una DLT, entonces la dosis

25 IV de vedolizumab para la siguiente cohorte de 3 pacientes se

reduce. Estos pacientes serán controlados respecto a DLT del mismo modo que los pacientes en la cohorte previa.

Después de identificar un nivel de dosis tolerado con PK aceptable en pacientes que se someten a un trasplante mieloablativo de donante no relacionado para el tratamiento de neoplasias malignas hematológicas, la cohorte en ese nivel de dosis puede expandirse para incluir aproximadamente 18 pacientes adicionales que se someten a acondicionamiento mieloablativo o acondicionamiento de intensidad reducida (RIC) y reciben un allo-HSCT relacionado o no relacionado para el tratamiento de neoplasias malignas hematológicas o neoplasias mieloproliferativas. Este grupo de pacientes permite la evaluación adicional de la tolerabilidad y actividad clínica de vedolizumab IV.

Se obtienen signos vitales, exámenes físicos y neurológicos, evaluaciones de evento adverso (AE) y valores de laboratorio (químicos, hematológicos y análisis de orina) para evaluar la seguridad y tolerabilidad de vedolizumab IV. Para excluir los pacientes con leucoencefalopatía multifocal progresiva (PML), se administra un cuestionario de evaluación de riesgo y minimización de PML (RAMP, por sus siglas en inglés) en la evaluación y antes de la administración de vedolizumab IV en los Días -1 antes de allo-HSCT y en los Días +13 y +42 después de allo-HSCT.

Se obtienen muestras de sangre en serie para la

evaluación de PK de vedolizumab en puntos de tiempo predeterminados. Se analiza la PK de vedolizumab para cada uno de los primeros 3 pacientes en cada nivel de dosis. Se espera que el perfil de concentración-tiempo de vedolizumab se vea influenciado por el nivel de la saturación objetivo de $\alpha_4\beta_7$. Si $\alpha_4\beta_7$ está saturado, entonces la depuración de vedolizumab sería lineal; si $\alpha_4\beta_7$ no está saturado, entonces la depuración sería no lineal, lo que indica una eliminación rápida. Si la depuración de vedolizumab es no lineal en la dosis de 300 mg, entonces la posterior dosificación de todos los pacientes se aumenta en incrementos de aproximadamente 150 mg (hasta un máximo de 600 mg) hasta alcanzar la depuración de PK lineal.

Las muestras de sangre en serie para la determinación de la concentración en suero de vedolizumab y anticuerpos anti-vedolizumab y biomarcadores en suero (incluso, de modo no taxativo, interleucina-6 [IL-6], interleucina-17 [IL-17] y el supresor de tumorigenicidad 2 [ST2]) se obtienen en puntos de tiempo predeterminados. Además, se recolectarán muestras de sangre para llevar a cabo la citometría de flujo para la inmunofenotipificación celular para medir las poblaciones celulares tal como se determinan mediante niveles de diversos biomarcadores celulares (tales como linfocitos T de memoria efectoros CD8+, CD38+, CD8+ y linfocitos T de memoria CD4+) y para llevar a cabo ensayos de inhibición de unión a MADCAM-1-

FC en puntos de tiempo predeterminados.

Se evalúa la toxicidad de acuerdo con los criterios de terminología común para eventos adversos del National Cancer Institute (NCI CTCAE), Versión 4.03, fecha de vigencia 14 de junio de 2010.

Ejemplo 2

Se llevaron a cabo simulaciones Montecarlo en un modelo farmacocinético de población de la concentración en suero de vedolizumab en estudios clínicos. Las simulaciones incluyeron variabilidad residual e interindividual además de efectos de albúmina y peso. Todas las otras covariables se configuraron a sus valores de referencia. Se simularon mil pacientes adultos en este estudio. Se muestrearon aleatoriamente la albúmina y el peso de una distribución normal. El régimen de dosificación simulado fue 75 mg de vedolizumab mediante una infusión IV de 30 minutos en los días -1, +13, +42 (es decir, días 0, 14 y 43 con respecto a la primera dosis).

Los datos observados de los tres pacientes registrados en el estudio de descubrimiento de dosis, abierto, de fase 1b (Ejemplo 1) se superpusieron a los datos de simulación (ver Figura 3). La "falta de claridad" del área entre las líneas irregulares se debe a la variabilidad residual. La Figura 3 ilustra la concentración en suero de vedolizumab simulada y medida en el transcurso del tiempo. En esta figura, la concentración de vedolizumab en un paciente no alcanzó 10

$\mu\text{g/ml}$, excepto inmediatamente después de la dosificación. Otro paciente retuvo más de $10 \mu\text{g/ml}$ de vedolizumab durante varios días después de la segunda dosis, pero no de la primera dosis. Un tercer paciente retuvo más de $10 \mu\text{g/ml}$ de

5 vedolizumab durante varios días después de la primera dosis.

10

15

20

25

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo humanizado que tenga una especificidad de unión a la integrina $\alpha 4\beta 7$ humana para usarse en prevenir la enfermedad del injerto contra huésped (GvHD) en un paciente humano que se somete a un trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas (allo-HSCT), en donde el anticuerpo humanizado está adaptado para ser administrable al paciente de acuerdo con el siguiente régimen de dosificación:

a. una dosis inicial de 75 mg, 300 mg, 450 mg o 600 mg del anticuerpo humanizado como una infusión intravenosa el día antes del allo-HSCT;

b. seguida por una segunda dosis posterior de 75 mg, 300 mg, 450 mg o 600 mg del anticuerpo humanizado como una infusión intravenosa a alrededor de dos semanas después de la dosis inicial;

c. seguida por una tercera dosis posterior de 75 mg, 300 mg, 450 mg o 600 mg del anticuerpo humanizado como una infusión intravenosa a alrededor de seis semanas después de la dosis inicial;

en donde adicionalmente el anticuerpo humanizado comprende una región de unión al antígeno de origen no humano y al menos una parte de un anticuerpo de origen humano, en donde el anticuerpo humanizado tiene una especificidad de unión al complejo $\alpha 4\beta 7$, en donde la región de unión al antígeno comprende las CDR:

Cadena ligera: CDR1SEQ ID NO:7

CDR2 SEQ ID NO:8 y

CDR3 SEQ ID NO:9; y

Cadena pesada:CDR1 SEQ ID NO:4

5 CDR2 SEQ ID NO:5 y

CDR3 SEQ ID NO:6.

2. El anticuerpo humanizado para usarse de conformidad con la reivindicación 1, en donde el régimen de dosificación resulta en GvHD de Grado II, GvHD de Grado I o no GvHD.

10 3. El anticuerpo humanizado para usarse de conformidad con la reivindicación 1 o 2, en donde dicha prevención resulta en un bloqueo de $\alpha 4\beta 7$ sostenido al momento de la infusión de células madre hematopoyéticas.

15 4. El anticuerpo humanizado para usarse de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el anticuerpo humanizado está adaptado para ser administrable al paciente durante alrededor de 30 minutos.

20 5. Un anticuerpo humanizado que tenga una especificidad de unión a la integrina $\alpha 4\beta 7$ humana para usarse en el tratamiento de un paciente que padece cáncer o una enfermedad hematológica no maligna, inmunológica o autoinmunitaria, en donde el tratamiento comprende las etapas de:

25 a. acondicionar el sistema inmunitario del paciente para el trasplante de células madre hematopoyéticas,

b. administrar el anticuerpo humanizado que tenga especificidad de unión a la integrina $\alpha 4\beta 7$ humana,

c. esperar al menos 12 horas,

d. administrar células madre hematopoyéticas alogénicas,

e. esperar trece días, luego administrar una segunda dosis del anticuerpo humanizado que tenga especificidad de unión a la integrina $\alpha 4\beta 7$ humana, y

f. esperar cuatro semanas, luego administrar una tercera dosis del anticuerpo humanizado que tenga especificidad de unión a la integrina $\alpha 4\beta 7$ humana.

6. El anticuerpo humanizado para usarse de conformidad con la reivindicación 5, en donde el acondicionamiento del sistema inmunitario es acondicionamiento mieloablativo o acondicionamiento de intensidad reducida.

7. El anticuerpo humanizado para usarse de conformidad con la reivindicación 5 o 6, en donde el paciente tiene un evento adverso que no incluye GvHD de etapa 3 o etapa 4 del intestino, o un evento adverso que no incluye GvHD de grado III o grado IV, o leucemia o linfoma.

8. El anticuerpo humanizado para usarse de conformidad con la reivindicación 5 o 6, en donde las células madre hematopoyéticas alogénicas son de sangre periférica, o se injertan sin terapia inmunosupresora adicional.

9. El anticuerpo humanizado para usarse de conformidad

con la reivindicación 5 o 6, en donde el anticuerpo humanizado comprende una región de unión al antígeno de origen no humano y al menos una parte de un anticuerpo de origen humano, en donde el anticuerpo humanizado tiene una especificidad de unión al complejo $\alpha 4\beta 7$, en donde la región de unión al antígeno comprende las CDR:

Cadena ligera: CDR1SEQ ID NO:7

CDR2 SEQ ID NO:8 y

CDR3 SEQ ID NO:9; y

10 Cadena pesada:CDR1 SEQ ID NO:4

CDR2 SEQ ID NO:5 y

CDR3 SEQ ID NO:6.

10. Un anticuerpo humanizado que tenga una especificidad de unión a la integrina $\alpha 4\beta 7$ humana para usarse en reducir la aparición de la enfermedad del injerto contra huésped (GvHD) aguda en un paciente humano que se somete a un trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas (allo-HSCT), en donde el anticuerpo humanizado está adaptado para ser administrable al paciente de acuerdo con el siguiente régimen de dosificación:

a. una dosis inicial de 75 mg, 300 mg, 450 mg o 600 mg del anticuerpo humanizado como una infusión intravenosa el día antes del allo-HSCT;

b. seguida por una segunda dosis posterior de 300 mg del anticuerpo humanizado como una infusión intravenosa a

alrededor de dos semanas después de la dosis inicial;

c. seguida por una tercera dosis posterior de 300 mg del anticuerpo humanizado como una infusión intravenosa a alrededor de seis semanas después de la dosis inicial;

5 en donde el anticuerpo humanizado comprende una región de unión al antígeno de origen no humano y al menos una parte de un anticuerpo de origen humano, en donde el anticuerpo humanizado tiene una especificidad de unión al complejo $\alpha 4\beta 7$, en donde la región de unión al antígeno comprende las CDR:

10 Cadena ligera: CDR1 SEQ ID NO:7

 CDR2 SEQ ID NO:8 y

 CDR3 SEQ ID NO:9; y

 Cadena pesada: CDR1 SEQ ID NO:4

 CDR2 SEQ ID NO:5 y

15 CDR3 SEQ ID NO:6,

 lo que reduce la aparición de GvHD.

11. El anticuerpo humanizado para usarse de conformidad con la reivindicación 10, en donde reducir la aparición de la enfermedad del injerto contra huésped (GvHD) (a) aguda
20 resulta en GvHD Grado I o Grado II, según criterios de Glucksberg modificados, o una gravedad similar de GvHD según otros sistemas de calificación, o no GvHD; o (b) es una
reducción del 50 % en la incidencia acumulada y gravedad de GvHD aguda Grado II-IV o Grado III-IV al Día 100 en
25 comparación con el tratamiento solo con metotrexato y el

inhibidor de calcineurina; o (c) es una reducción en la mortalidad a 1 año en comparación con el tratamiento solo con metotrexato y el inhibidor de calcineurina.

12. Un anticuerpo humanizado que tenga una
5 especificidad de unión a la integrina $\alpha 4\beta 7$ humana para usarse en suprimir una respuesta inmunitaria en un paciente con cáncer que se somete a un trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas (allo-HSCT), en donde el anticuerpo humanizado está adaptado para ser administrable al paciente
10 de acuerdo con el siguiente régimen de dosificación:

a. una dosis inicial de 75 mg, 300 mg, 450 mg o 600 mg del anticuerpo humanizado como una infusión intravenosa el día antes del allo-HSCT;

b. seguida por una segunda dosis posterior de 300 mg
15 del anticuerpo humanizado como una infusión intravenosa a alrededor de dos semanas después de la dosis inicial;

c. seguida por una tercera dosis posterior de 300 mg del anticuerpo humanizado como una infusión intravenosa a alrededor de seis semanas después de la dosis inicial;

20 en donde adicionalmente el anticuerpo humanizado comprende una región de unión al antígeno de origen no humano y al menos una parte de un anticuerpo de origen humano, en donde el anticuerpo humanizado tiene una especificidad de unión al complejo $\alpha 4\beta 7$, en donde la región de unión al
25 antígeno comprende las CDR:

Cadena ligera: CDR1SEQ ID NO:7

CDR2 SEQ ID NO:8 y

CDR3 SEQ ID NO:9; y

Cadena pesada: CDR1 SEQ ID NO:4

5 CDR2 SEQ ID NO:5 y

CDR3 SEQ ID NO:6.

13. Un antagonista anti- $\alpha 4\beta 7$ para usarse en el tratamiento de un paciente de trasplante, en donde el paciente de trasplante es un receptor de una infusión de 10 células hematopoyéticas alogénicas.

14. El antagonista anti- $\alpha 4\beta 7$ para usarse de conformidad con la reivindicación 13, en donde, antes de la infusión, el paciente de trasplante es el receptor de una terapia de acondicionamiento seleccionada de acondicionamiento 15 mieloablativo o acondicionamiento de intensidad reducida.

15. El antagonista anti- $\alpha 4\beta 7$ para usarse de conformidad con la reivindicación 13 o 14, en donde el antagonista anti- $\alpha 4\beta 7$ está adaptado para ser administrable (a) antes de la infusión, opcionalmente en donde una dosis de antagonista 20 anti- $\alpha 4\beta 7$ está adaptada para ser administrable entre el acondicionamiento y la infusión; o (b) en dosis múltiples, con al menos una dosis es antes de la infusión, opcionalmente en donde una dosis de antagonista anti- $\alpha 4\beta 7$ está adaptada para ser administrable entre el acondicionamiento y la 25 infusión; o (c) en dosis múltiples, con la primera dosis es

en el mismo día que la infusión; o (d) en dosis múltiples, con la primera dosis es al día siguiente después de la infusión; o (e) como una dosis única el día antes, el mismo día de, o el día después de la infusión.

5 16. El antagonista anti- $\alpha 4\beta 7$ para usarse de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 13 a 15, en donde el paciente de trasplante padece de (a) cáncer, opcionalmente en donde el cáncer es un cáncer hematológico; opcionalmente en donde el cáncer hematológico es leucemia, linfoma, mieloma o
10 una neoplasia mieloproliferativa; opcionalmente en donde la leucemia es leucemia linfoblástica aguda (ALL) o leucemia mieloide aguda (AML); o (b) una enfermedad inmunitaria o hematológica no maligna; opcionalmente en donde la enfermedad inmunitaria o hematológica no maligna se selecciona del grupo
15 que consiste en hemoglobinopatía, síndrome de insuficiencia de la médula ósea y enfermedad inmunitaria.

 17. El antagonista anti- $\alpha 4\beta 7$ para usarse de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 13 a 16, en donde el antagonista anti- $\alpha 4\beta 7$ es un anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ que tiene
20 especificidad de unión al complejo de integrina $\alpha 4\beta 7$; opcionalmente en donde (a) el anticuerpo anti- $\alpha 4\beta 7$ es un anticuerpo humanizado, en donde la región de unión al antígeno del anticuerpo humanizado comprende las CDR:

Cadena ligera: CDR1SEQ ID NO:7

25

CDR2 SEQ ID NO:8 y

CDR3 SEQ ID NO:9; y

Cadena pesada:CDR1 SEQ ID NO:4

CDR2 SEQ ID NO:5 y

CDR3 SEQ ID NO:6; y/o

5 (b) en donde el anticuerpo humanizado está adaptado para ser administrable por vía intravenosa.

18. El antagonista anti- $\alpha 4\beta 7$ para usarse de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 13 a 17, que adicionalmente comprende detectar el injerto de las allo-
10 HSCTs al medir la cantidad de neutrófilos; opcionalmente adicionalmente comprende medir un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en interleucina-6 (IL-6), interleucina-17 (IL-17), supresor de tumorigenicidad 2 (ST2), células CD8+, células CD38+, linfocitos T de memoria
15 efectores CD8+ bright y linfocitos T de memoria CD4+, en donde la cantidad del biomarcador medida antes o una semana después de la infusión y la cantidad del biomarcador medida en un momento 20 a 100 días después de la infusión no cambia.

19. El antagonista anti- $\alpha 4\beta 7$ para usarse de conformidad
20 con cualquiera de las reivindicaciones 13 a 18, en donde el paciente tiene un evento adverso que no incluye GvHD de etapa 3 o etapa 4 del intestino.

20. El antagonista anti- $\alpha 4\beta 7$ para usarse de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 13 a 19, en donde las
25 células hematopoyéticas alogénicas son (a) células madre

hematopoyéticas alogénicas; o (b) células leucocitarias alogénicas; opcionalmente en donde las células leucocitarias alogénicas son linfocitos T.

21. El anticuerpo humanizado para usarse o antagonista anti- $\alpha 4\beta 7$ para usarse de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o 13 a 20, en donde el tacrolimus y/o metotrexato está adaptado para ser administrable en conjunto al paciente humano.

22. El anticuerpo humanizado para usarse o antagonista anti- $\alpha 4\beta 7$ para usarse de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o 13 a 21, en donde el anticuerpo humanizado se reconstituye a partir de una formulación liofilizada; opcionalmente en donde el anticuerpo humanizado se reconstituye para comprender una formulación líquida estable.

23. El anticuerpo humanizado para usarse o antagonista anti- $\alpha 4\beta 7$ para usarse de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o 13 a 22, en donde el anticuerpo humanizado tiene una secuencia de región variable de cadena pesada de aminoácidos 20 a 140 de la SEQ ID NO:1; y/o una secuencia de región variable de cadena ligera de aminoácidos 20 a 131 de la SEQ ID NO:2; opcionalmente en donde el anticuerpo humanizado tiene una cadena pesada que comprende los aminoácidos 20 a 470 de la SEQ ID NO:1 y una cadena ligera que comprende los aminoácidos 20 a 238 de la SEQ ID

NO:2.

24. El anticuerpo humanizado para usarse o antagonista anti- $\alpha 4\beta 7$ para usarse de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o 13 a 23, en donde el anticuerpo humanizado es vedolizumab.

10

15

20

25

RESUMEN

Un método para prevenir la GvHD en un paciente humano, que comprende administrarle a un paciente que padece GvHD, o en riesgo de GvHD, un anticuerpo humanizado que tiene 5 especificidad de unión a la integrina $\alpha 4\beta 7$ humana, en donde el paciente humano tiene o va a tener un trasplante alogénico de células madre y en donde el régimen de dosificación previene, mejora o elimina la GvHD.

10

15

20

25

RESUMEN DE DISEÑO DE ESTUDIO DE LOS DÍAS -1 A +50
 ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACO DE ESTUDIO, RECOLECCIÓN DE FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINÁMICA: DÍAS -1 A +50

- ALLO-HSCT EN EL DÍA 0
- VEDOLIZUMAB ADMINISTRADO EN DÍA -1 ANTES ALLO-HSCT Y EN DÍAS +13 Y +42 DESPUÉS DE ALLO-HSCT

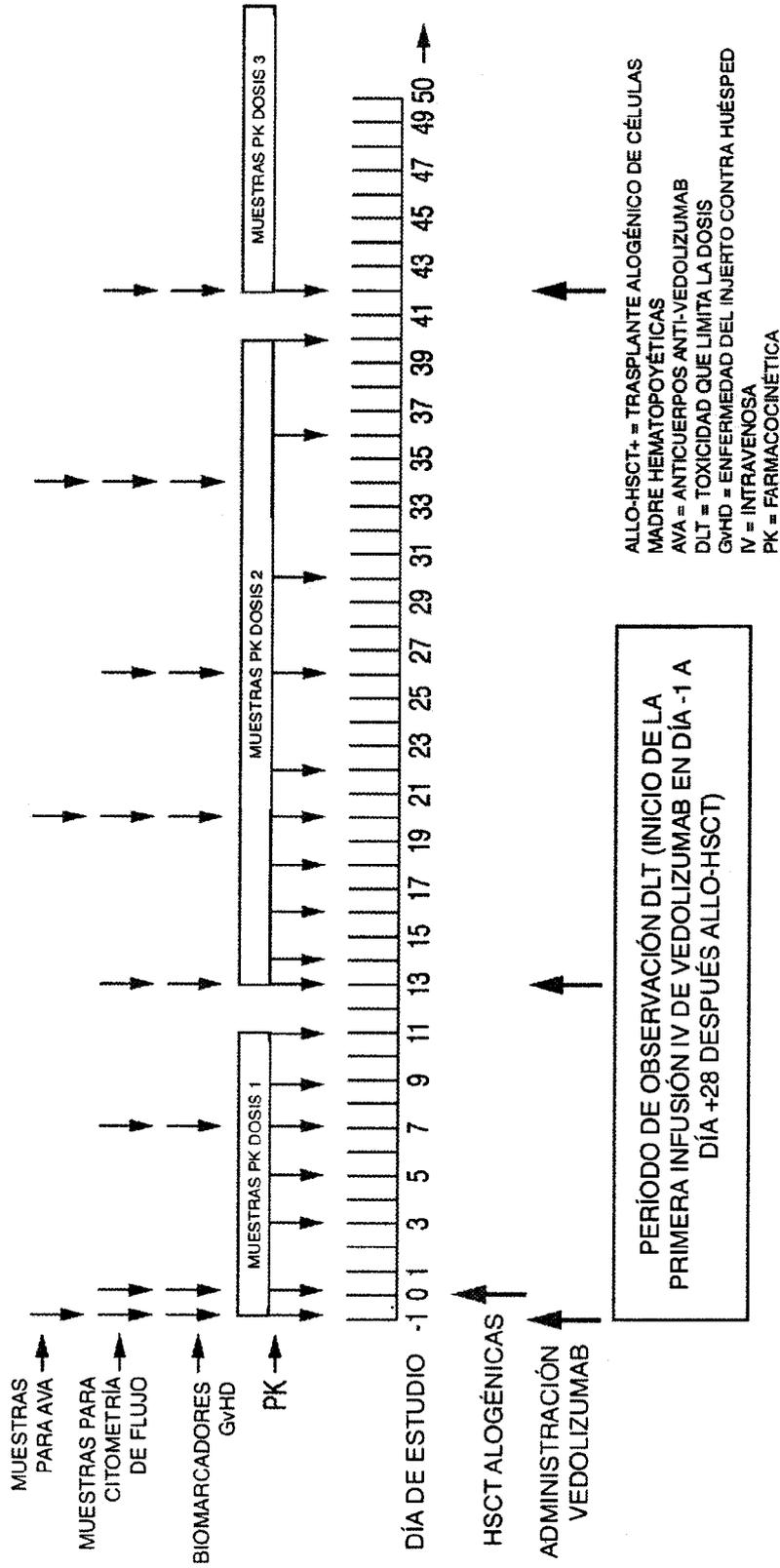
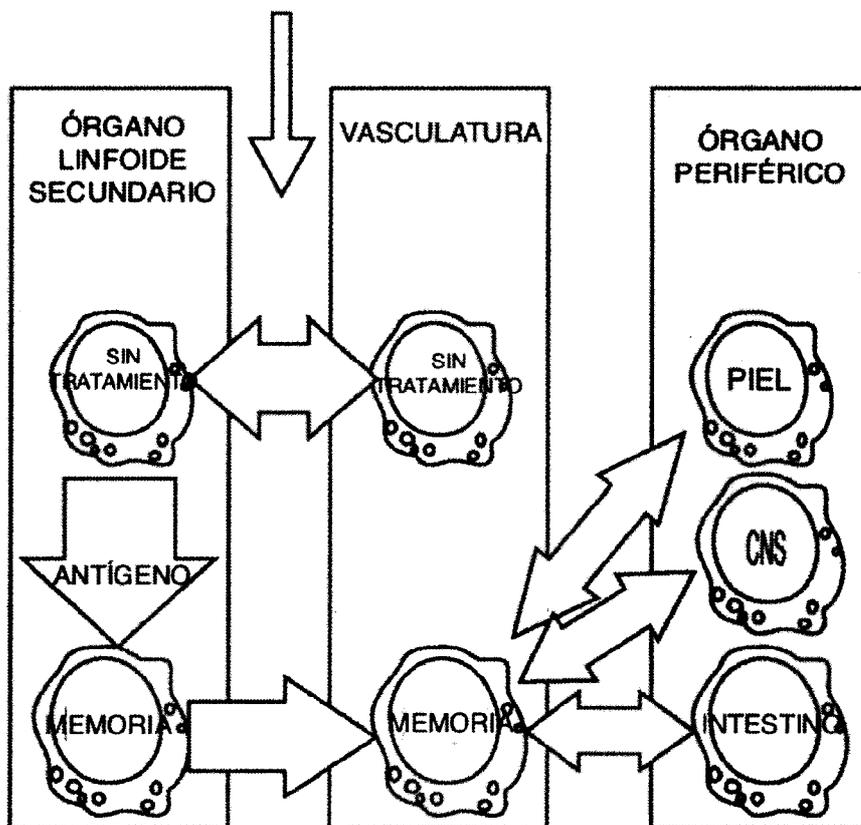


FIGURA 1

EL MUESTREO DE PK PARA PACIENTES QUE FUERON DADOS DE ALTA DEL HOSPITAL SE ALINEARÁ CON LAS VISTAS A LA CLÍNICA Y, POR LO TANTO, PUEDE NO SER TAN FRECUENTES COMO SE REPRESENTA EN ESTA FIGURA.

BLOQUEAR LA INTERACCIÓN DE $\alpha 4\beta 7$ /MADCAM-1 EN GALT Y MLN PUEDE REDUCIR LA GENERACIÓN DE LOS LINFOCITOS T DE MEMORIA ALORREACTIVOS, LO QUE REDUCE LA APARICIÓN DE GvHD



BLOQUEAR LA INTERACCIÓN $\alpha 4\beta 7$ /MADCAM-1 PUEDE REDUCIR LA APARICIÓN DE GvHD AL BLOQUEAR LA MIGRACIÓN DE LOS LINFOCITOS T ALORREACTIVOS Y OTROS LEUCOCITOS AL INTESTINO

FIGURA 2

CONCENTRACIÓN EN SUERO
DE VEDOLIZUMAB ($\mu\text{g/mL}$)

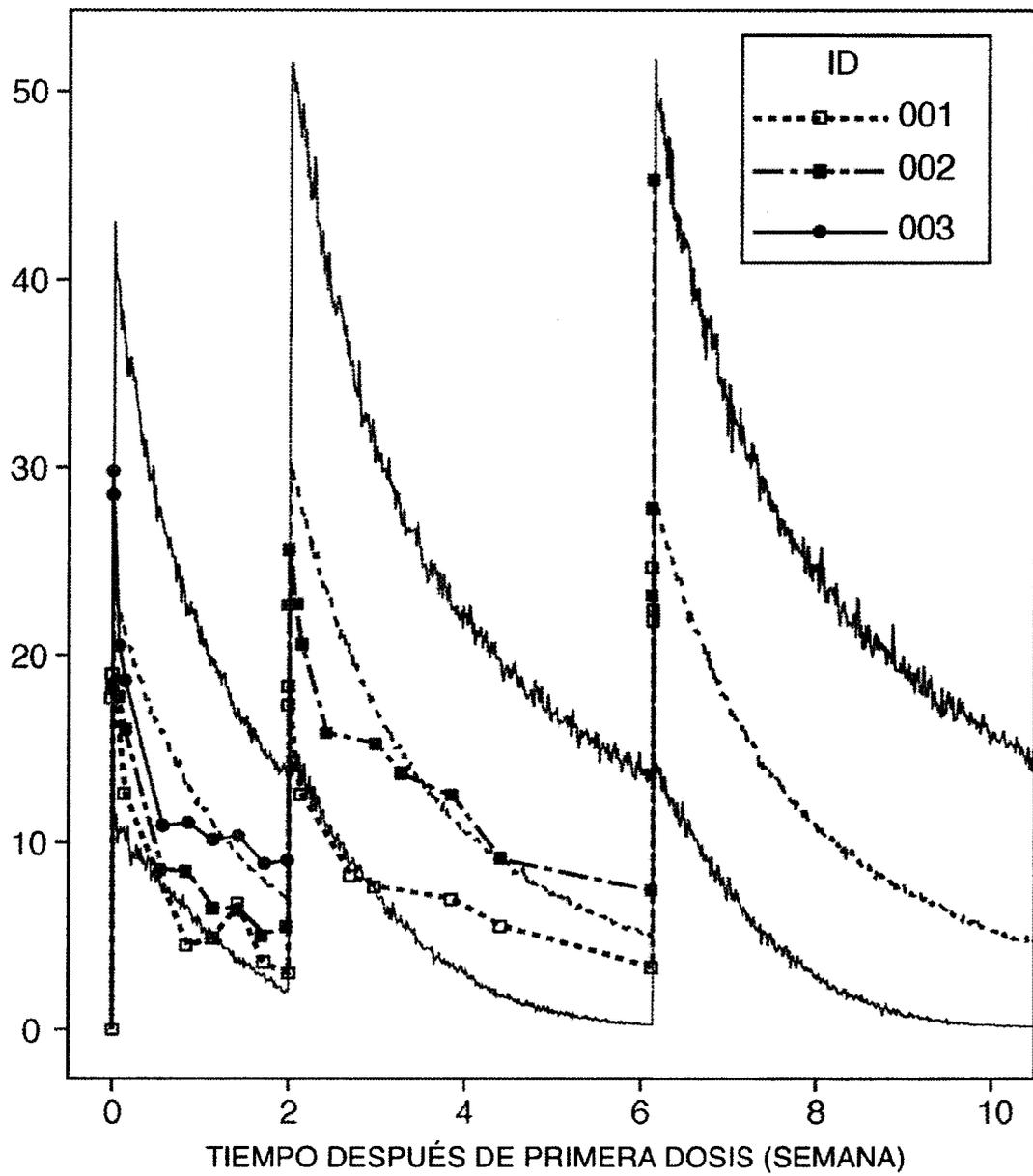


FIGURA 3

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> MILLENNIUM PHARMACEUTICALS, INC.

<120> MÉTODO PARA PREVENIR LA ENFERMEDAD DEL INJERTO CONTRA HUÉSPED

<130> 079259-0803

<140>

5 <141>

<150> 62/307,896

<151> 2016-03-14

<160> 11

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 470

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 1

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

15 Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Ser Tyr Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu
50 55 60

20 Glu Trp Ile Gly Glu Ile Asp Pro Ser Glu Ser Asn Thr Asn Tyr Asn
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Ile Ser Ala Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

25 Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Trp Asp Tyr Ala Ile Asp
115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 130 135 140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
 145 150 155 160

5

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 165 170 175

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 180 185 190

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 195 200 205

10

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
 210 215 220

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
 225 230 235 240

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
 245 250 255

15

Leu Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 260 265 270

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 275 280 285

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 290 295 300

20

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 305 310 315 320

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 325 330 335

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
 340 345 350

25

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
355 360 365

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
370 375 380

5 Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
385 390 395 400

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
405 410 415

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
420 425 430

10 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
435 440 445

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

15 <210> 2
<211> 238
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 2
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

20 Val His Ser Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu
35 40 45

Ala Lys Ser Tyr Gly Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
50 55 60

25

Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gly Ile Ser Asn Arg Phe Ser
65 70 75 80

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
85 90 95

5 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
100 105 110

Leu Gln Gly Thr His Gln Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val
115 120 125

Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
130 135 140

10 Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
145 150 155 160

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
165 170 175

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
180 185 190

15 Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
195 200 205

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
210 215 220

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

20 <210> 3
<211> 219
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 3
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

25

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Ala Lys Ser
 20 25 30

Tyr Gly Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

5 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gly Ile Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Gly
 85 90 95

10 Thr His Gln Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

Arg Ala Asp Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140

15 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190

20 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 4

<211> 5

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 4
 Ser Tyr Trp Met His
 1 5

5 <210> 5
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 5
 Glu Ile Asp Pro Ser Glu Ser Asn Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15

10 Gly

<210> 6
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 6
 Gly Gly Tyr Asp Gly Trp Asp Tyr Ala Ile Asp Tyr
 1 5 10

<210> 7
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 7
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Ala Lys Ser Tyr Gly Asn Thr Tyr Leu Ser
 1 5 10 15

25 <210> 8
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 8
 Gly Ile Ser Asn Arg Phe Ser
 1 5

5

<210> 9
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 9
 Leu Gln Gly Thr His Gln Pro Tyr Thr
 1 5

10

<210> 10
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

15

<400> 10
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

20

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95

25

Leu Gln Thr Pro Gln Thr Phe Gly Gln Gly Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 11
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 11
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

10 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Trp Ile Asn Ala Gly Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Ser Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

15 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Asn Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

20

25