

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 926 386**

51 Int. Cl.:

C07K 14/47 (2006.01)

C07K 14/82 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.11.2016** **PCT/US2016/062865**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.05.2017** **WO17087857**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.11.2016** **E 16867262 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.06.2022** **EP 3377516**

54 Título: **Composición para el tratamiento del cáncer**

30 Prioridad:

20.11.2015 US 201562258134 P

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

25.10.2022

73 Titular/es:

**MEMORIAL SLOAN KETTERING CANCER
CENTER (100.0%)**

**Office of Industrial Affairs, 1275 York Avenue
New York, NY 10065, US**

72 Inventor/es:

SCHEINBERG, DAVID A.

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

Observaciones:

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

ES 2 926 386 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición para el tratamiento del cáncer

5 **CAMPO DE LA INVENCIÓN**

[0001] Esta invención proporciona composiciones para usar en el tratamiento, la reducción de la incidencia y la inducción de respuestas inmunitarias contra un cáncer que expresa WT1.

10 **RESUMEN DE LA INVENCIÓN**

[0002] La invención es tal como se define en las reivindicaciones adjuntas.

15 **[0003]** La presente invención proporciona la combinación de los cuatro péptidos WT1 YMFPNAPYL (SEQ ID NO: 124), RSDLVRRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO: 1), PGCNKRYFKLSHLQMHRSRKHTG (SEQ ID NO: 2) y SGQAYMFPNAPYLPSCLES (SEQ ID NO: 125), y al menos un inhibidor de anticuerpo PD1, para usar en el tratamiento, reducción de la incidencia o inducción de una respuesta inmunitaria contra un cáncer que expresa WT1.

20 **[0004]** En una forma de realización, los péptidos WT1 se administran con un vehículo, excipiente o diluyente, o un adyuvante como QS21, Montanide, adyuvante completo o incompleto de Freund, fosfato de aluminio, hidróxido de aluminio, BCG, una citocina o alumbre.

[0005] En una forma de realización, el inhibidor de PD1 es nivolumab, pembrolizumab, pidilizumab o MEDI0680 (AMP-514).

25 **[0006]** En una forma de realización, uno o más de los péptidos WT1 se administran por separado.

[0007] En una forma de realización, dos o más de los péptidos WT1 se administran juntos dentro de la misma formulación.

30 **[0008]** En una forma de realización, los péptidos WT1 y el inhibidor de PD1 están presentes en la misma composición.

[0009] En una forma de realización, los péptidos WT1 y el inhibidor de PD1 se administran simultáneamente, o en un programa superpuesto, o donde la última administración de los péptidos WT1 precede a la primera administración del inhibidor de PD1.

35 **[0010]** En una forma de realización, el cáncer es cáncer de ovario, mesotelioma, leucemia, tumor de Wilms, leucemia mielógena aguda (LMA), leucemia mieloide crónica (LMC), síndrome mielodisplásico (SMD), melanoma, cáncer de estómago, cáncer de próstata, cáncer biliar, cáncer del sistema urinario, glioblastoma, sarcoma de tejidos blandos, osteosarcoma o cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP).

40 **[0011]** En una forma de realización, uno o más de los péptidos NLMNLGATL (SEQ ID NO: 21), WNLMLNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 26), LVRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO: 3), NKRYFKLSHLQMHRS (SEQ ID NO: 4), SGQARMFPNAPYLPSCLES (SEQ ID NO: 5), QARMFPNAPYLPSC (SEQ ID NO: 6), RMFPNAPYL (SEQ ID NO: 7), SLGEQQYSV (SEQ ID NO: 8), ALLPAVPSL (SEQ ID NO: 9), NLGATLKG (SEQ ID NO: 10), DLNALLPAV (SEQ ID NO: 11), GVFRGIQDV (SEQ ID NO: 12), KRYFKLSHL (SEQ ID NO: 13), ALLLRTPYS (SEQ ID NO: 14), CMTWQMNL (SEQ ID NO: 15), NMHQRNMTK (SEQ ID NO: 16), QMNLGATL (SEQ ID NO: 17), FMCAYPGCNK (SEQ ID NO: 18), KLSHLQMHRS (SEQ ID NO: 19), QAYMFPNAPYLPSC (SEQ ID NO: 126), YLGEQQYSV (SEQ ID NO: 127), YLLPAVPSL (SEQ ID NO: 128), YLGATLKG (SEQ ID NO: 129), YLNALLPAV (SEQ ID NO: 130), GLRRGIQDV (SEQ ID NO: 131), KLYFKLSHL (SEQ ID NO: 132), ALLLRTPYV (SEQ ID NO: 133), YMTWQMNL (SEQ ID NO: 134), NMYQRNMTK (SEQ ID NO: 135), NMHQRVMTK (SEQ ID NO: 136), NMYQRVMTK (SEQ ID NO: 137), QMYLGATL (SEQ ID NO: 138), QMNLGVTLK (SEQ ID NO: 139), QMYLGVT (SEQ ID NO: 140), FMYAYPGCNK (SEQ ID NO: 141), FMCAYPGCNK (SEQ ID NO: 142), FMYAYPGCNK (SEQ ID NO: 143), KLYHLQMHRS (SEQ ID NO: 144), KLSHLQMHRS (SEQ ID NO: 145), KLYHLQMHRS (SEQ ID NO: 146), NQMNLGATL (SEQ ID NO: 20), NYMNLGATL (SEQ ID NO: 22), CMTWQMNLGATLKG (SEQ ID NO: 23), CMTWNLMLNLGATLKG (SEQ ID NO: 24), WNQMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 25), MTWNLMLNLGATLKG (SEQ ID NO: 27), TWNLMLNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 28), MTWNLMLNLGATLKG (SEQ ID NO: 30), TWNLMLNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 31), MTWNYMNLGATLKG (SEQ ID NO: 33), TWNYMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 34), CMTWQMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 35), WNQMNLGATL (SEQ ID NO: 36), TWNLMLNLGATL (SEQ ID NO: 37), TWNLMLNLG (SEQ ID NO: 38), CMTWNLMLNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 39), WNLMLNLGATL (SEQ ID NO: 40), MNLGATLKG (SEQ ID NO: 41), CMTWNYMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 43), GALRNPTAC (SEQ ID NO: 46), GYLRNPTAC (SEQ ID NO: 47), GALRNPTAL (SEQ ID NO: 48), YALRNPTAC (SEQ ID NO: 49), GLLRNPTAC (SEQ ID NO: 50), RQRPHPGAL (SEQ ID NO: 51), RYRPHPGAL (SEQ ID NO: 52), YQRPHPGAL (SEQ ID NO: 53), RLRPHPGAL (SEQ ID NO: 54), RIRPHPGAL (SEQ ID NO: 55), QFPNHSFKHEDP MGQ (SEQ ID NO: 61), HSFKHEDPM (SEQ ID NO: 63), HSFKHEDPY (SEQ ID NO: 64), HSFKHEDPK (SEQ ID NO: 65), KRPFMCAYPGCYKRY (SEQ ID NO: 66), SEKRPFMCAYPGCNK (SEQ ID NO: 67), KRPFMCAYPGCNK (SEQ ID NO: 68), FMCAYPGCN (SEQ ID NO: 69), FMCAYPGCY (SEQ ID NO: 70) y FMCAYPGCK (SEQ ID NO: 71) también se administran.

[0012] En una forma de realización, se emulsionan 200 mcg de cada péptido con Montanide ISA 51 VG y se administran por vía subcutánea en las semanas 0, 2, 4, 6, 8 y 10.

[0013] En una forma de realización, se administran 3 mg/kg de nivolumab, administrado por vía intravenosa en las semanas 0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12.

[0014] En una forma de realización, el tratamiento, la reducción de la incidencia o la inducción de una respuesta inmunitaria contra un cáncer que expresa WT1 es mayor que la que se logra administrando los péptidos WT1 solos o al menos un inhibidor de PD1 solo.

[0015] La presente invención también proporciona una composición que comprende los cuatro péptidos WT1 YMFNPAPYL (SEQ ID NO: 124), RSDLVRRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO: 1), PGCNKRYFKLSHLQMHSRKHTG (SEQ ID NO: 2) y SGQAYMFNPAPYLPSCLES (SEQ ID NO: 125), y al menos un anticuerpo inhibidor de PD1.

[0016] En una forma de realización, el inhibidor de PD1 es nivolumab, pembrolizumab, pidilizumab o MEDI0680 (AMP-514).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0017] El cáncer de ovario es una de las neoplasias malignas ginecológicas más comunes y la quinta causa más frecuente de muerte por cáncer en mujeres en los Estados Unidos. Anualmente se diagnostican más de 22.000 casos y se estima que se producen unas 15.500 muertes al año [1]. La mayoría de los pacientes tienen enfermedad generalizada en el momento de la presentación [2]. La supervivencia a 5 años para la enfermedad en estadio avanzado sigue siendo inferior al 30 % [1]. Aunque se puede anticipar una remisión clínica completa después de la quimioterapia inicial para muchos pacientes, una revisión de la laparotomía de revisión, cuando a menudo se realizaba como parte de la atención de rutina, indica que menos del 50 % de los pacientes están realmente libres de enfermedad [3]. Además, casi la mitad de los pacientes con un procedimiento de segunda revisión negativo recaen y requieren tratamiento adicional [4]. Muchos pacientes lograrán una segunda respuesta clínica completa con quimioterapia adicional. Sin embargo, casi todos los pacientes recaerán después de un breve intervalo de remisión de 9 a 11 meses [5]. Se requieren estrategias efectivas para prolongar la remisión o prevenir la recaída, ya que las remisiones subsiguientes son de duración progresivamente más corta hasta que se desarrolla ampliamente la resistencia a la quimioterapia [2].

[0018] Se ha demostrado que tanto los efectores de células T como de anticuerpos proporcionan beneficios en modelos de cáncer de ovario. Se ha observado que los anticuerpos reducen la invasión tisular temprana [6]. Los modelos preclínicos también han demostrado la eliminación de las células tumorales circulantes y la eliminación de micrometástasis sistémicas mediante el uso de anticuerpos tanto administrados pasivamente como inducidos por vacunas. Con respecto a los efectores de células T, se ha demostrado que una respuesta inmunitaria activada globalmente está asociada con mejores resultados clínicos en pacientes con cáncer de ovario avanzado. Zhang et al demostraron que la presencia de células T infiltrantes en el tumor dentro de los islotes de células tumorales se asoció con una mejora tanto en la supervivencia libre de progresión como en la supervivencia general [7]. Por el contrario, la infiltración de células T reguladoras confiere un peor pronóstico [8].

[0019] Los datos en pacientes con cáncer de ovario en segunda o mayor remisión confirman que recaen de una manera predecible [9]. En los últimos años, el cáncer de ovario ha sido objeto de una variedad de nuevos enfoques basados en el sistema inmunitario. La terapia con anticuerpos ha incluido oregovomab [10], que es una terapia con anticuerpos monoclonales dirigida al antígeno CA125; abagovomab [11], que es un anticuerpo antiidiotípico dirigido a CA-125; y trastuzumab [12], que es un anticuerpo monoclonal humanizado antiHER2. Otras estrategias han incluido la terapia con citocinas como el interferón- γ [13, 14] y la IL-2 [15]. También se ha evaluado la inmunización activa con otros antígenos como Lewis y [16], MUC1 [17], el péptido restringido a HLA NY-ESO-1b [18] y el conjugado KH-1-KLH. Las estrategias anteriores han sido ineficaces y se necesitan nuevas modalidades terapéuticas para aumentar la eficacia de las terapias para el cáncer de ovario, así como para muchos otros cánceres que se tratan de manera ineficaz con las terapias disponibles en la actualidad.

[0020] WT1 se refiere al tumor 1 de Wilms o al producto génico del gen WT1. El gen supresor de tumores de Wilms, WT1, se identificó por primera vez en tumores renales infantiles, pero WT1 también se expresa en gran medida en otras muchas neoplasias malignas hematológicas y tumores sólidos, incluido el mesotelioma [19, 20]. WT1 se identificó originalmente mediante el mapeo de ADNc en una región del cromosoma 11p13. El ADNc de WT1 codifica una proteína que contiene cuatro dedos de zinc de Kruppel y contiene un patrón complejo de corte y empalme alternativo que da como resultado cuatro factores de transcripción diferentes. Cada isoforma de WT1 tiene diferentes actividades transcripcionales y de unión al ADN [21], y puede regular positiva o negativamente varios genes implicados en la proliferación celular, la diferenciación, la apoptosis, el desarrollo de órganos y la determinación del sexo. WT1 normalmente se expresa en tejidos de origen mesodérmico durante la embriogénesis, incluidos el riñón, las gónadas, el corazón, el mesotelio y el bazo [22]. En tejidos adultos normales, la expresión de WT1 se limita a niveles bajos en los núcleos de células madre hematopoyéticas CD34+ normales, células progenitoras mioepiteliales, podocitos renales y algunas células en los testículos y ovarios [23]. WT1 es altamente homólogo en ratones y humanos (96 % a nivel de aminoácidos) y tiene una distribución y función tisular similar [24, 25]. Aunque originalmente se describió como un gen supresor de tumores, las

proteínas WT1 parecen estar involucradas en la tumorigénesis.

[0021] La fuerte expresión de la proteína WT1 en el cáncer de ovario junto con su mecanismo de acción propuesto lo convierte en un objetivo racional para la inmunoterapia, entre muchos otros cánceres que también expresan la proteína WT1, como el mesotelioma, la leucemia, el tumor de Wilms, la leucemia mielógena aguda (LMA), leucemia mieloide crónica (LMC), síndrome mielodisplásico (SMD), melanoma, cáncer de estómago, cáncer de próstata, cáncer biliar, cáncer del sistema urinario, glioblastoma, sarcoma de tejidos blandos, osteosarcoma y cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP). En el cáncer de ovario, la expresión es tan frecuente que los patólogos utilizan rutinariamente tinciones inmunohistoquímicas para WT1 (con una convención estandarizada para describir la expresión y determinar como "positiva" o "negativa" para ayudar a distinguir los cánceres epiteliales de ovario de otros tumores. WT1 es un marcador particularmente sensible y específico para el cáncer de ovario seroso [26]. Los microarrays de tejido ovárico sugieren que el 70-80 % de los cánceres de ovario serosos expresan WT1, de modo que la mayoría de los pacientes tendrán el objetivo y serán elegibles para participar en el estudio. Se ha demostrado que la vacunación con cuatro péptidos sintéticos derivados de WT1 induce respuestas de células T en pacientes con remisión completa de la leucemia mieloide aguda [60].

[0022] En un aspecto, la presente invención proporciona la combinación de (a) los cuatro péptidos WT1 YMFPNAPYL (SEQ ID NO: 124), RSEDLVRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO: 1), PGCNKRYFKLSHLQMHSRKHTG (SEQ ID NO: 2) y SGQAYMFPNAPYLPSCLES (SEQ ID NO: 125), y (b) al menos un inhibidor de PD1 de anticuerpos, para usar en el tratamiento, reducción de la incidencia o inducción de una respuesta inmune contra un cáncer que expresa WT1.

[0023] Los péptidos de WT1 RSEDLVRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO: 1) y PGCNKRYFKLSHLQMHSRKHTG (SEQ ID NO: 2) son péptidos nativos que son fragmentos de la proteína WT1.

[0024] Los péptidos WT1 nativos se describen en los documentos WO2005053618, WO2007047764 y WO2007120673.

[0025] Los péptidos WT1 YMFPNAPYL (SEQ ID NO: 124) y SGQAYMFPNAPYLPSCLES (SEQ ID NO: 125) son fragmentos peptídicos WT1 modificados que contienen una o más modificaciones heterocliticas para potenciar la inmunogenicidad frente a la secuencia peptídica nativa.

[0026] Los péptidos WT1 modificados se describen en los documentos WO2005053618, WO2007047764 y WO2007120673.

[0027] En una forma de realización, los péptidos pueden administrarse en combinación con un vehículo, diluyente o excipiente. En una forma de realización, los péptidos se administran en combinación con un adyuvante. Cada péptido puede administrarse con un adyuvante o combinación de adyuvantes diferente, o los péptidos pueden administrarse en una combinación de dos o más péptidos, con un adyuvante o una combinación de adyuvantes. El inmunógeno o la composición que contiene uno o más péptidos puede denominarse en el presente documento vacuna, vacuna peptídica, vacuna WT1 y similares.

[0028] El adyuvante puede ser de cualquier clase, como sales de alumbre y otros adyuvantes minerales, productos bacterianos o adyuvantes derivados de bacterias, agentes tensioactivos (p. ej., saponinas), aceite en agua (o/w) y agua en aceite (w/o) emulsiones, adyuvantes de liposomas, citocinas (p. ej., IL-2, GM-CSF, IL-12 e IFN-gamma) y análogos de alfa-galactosilceramida. Los ejemplos no limitantes de adyuvantes incluyen emulsiones Montanide, QS21, adyuvante completo o incompleto de Freund, fosfato de aluminio, hidróxido de aluminio, Bacillus Calmette-Guerin (BCG) y alumbre. En una forma de realización, el adyuvante es un agente que mejora la respuesta LTC del sistema inmunitario contra el péptido WT1, como el monooleato de manida tensioactivo que contiene ácido oleico de grado vegetal (VG) derivado del aceite de oliva (Montanide ISA 51 VG sin emulsión). El adyuvante se puede administrar en la misma composición que uno o más péptidos WT1, o en la misma composición que al menos un inhibidor de PD1, o en la misma composición que uno o más péptidos WT1 y al menos un inhibidor de PD1, o en una composición separada de uno o más péptidos WT1 y al menos un inhibidor de PD1.

[0029] En una forma de realización, se pueden usar uno o más péptidos junto con la combinación mencionada anteriormente de los cuatro péptidos: YMFPNAPYL (SEQ ID NO: 124), RSEDLVRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO: 1), PGCNKRYFKLSHLQMHSRKHTG (SEQ ID NO: 2) y SGQAYMFPNAPYLPSCLES (SEQ ID NO: 125) para los fines del presente.

[0030] Por lo tanto, en una forma de realización, uno o más de los péptidos NLMNLGATL (SEQ ID NO: 21), WNLNMLGATLKGVA (SEQ ID NO: 26), LVRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO: 3), NKRYFKLSHLQMHSR (SEQ ID NO: 4), SGQARMFPNAPYLPSCLES (SEQ ID NO: 5), QARMFPNAPYLPSC (SEQ ID NO: 6), RMFPNAPYL (SEQ ID NO: 7), SLGEQQYSV (SEQ ID NO: 8), ALLPAVPSL (SEQ ID NO: 9), NLGATLKG (SEQ ID NO: 10), DLNALLPAV (SEQ ID NO: 11), GVFRGIQDV (SEQ ID NO: 12), KRYFKLSHL (SEQ ID NO: 13), ALLLRTPYS (SEQ ID NO: 14), CMTWMQMNL (SEQ ID NO: 15), NMHQRNMTK (SEQ ID NO: 16), QMNLGATLK (SEQ ID NO: 17), FMCAYPGCNK (SEQ ID NO: 18), KLSHLQMHSR (SEQ ID NO: 19), QAYMFPNAPYLPSC (SEQ ID NO: 126), YLGEQQYSV (SEQ ID NO: 127), YLLPAVPSL (SEQ ID NO: 128), YLGATLKG (SEQ ID NO: 129), YLNALLPAV (SEQ ID NO: 130), GLRRGIQDV (SEQ ID NO: 131), KLYFKLSHL (SEQ ID NO: 132), ALLLRTPYV (SEQ ID NO: 133), YMTWNQMNL (SEQ ID NO: 134),

NMYQRNMTK (SEQ ID NO: 135), NMHQRVMTK (SEQ ID NO: 136), NMYQRVMTK (SEQ ID NO: 137), QMYLGATLK (SEQ ID NO: 138), QMNLGVTLK (SEQ ID NO: 139), QMYLGVTLK (SEQ ID NO: 140), FMYAYP GCNK (SEQ ID NO: 141), FMCAYPFCNK (SEQ ID NO: 142), FMYAYPFCNK (SEQ ID NO: 143), KLYHLQMHSR (SEQ ID NO: 144), KLSHLQMHSK (SEQ ID NO: 145), KLYHLQMHSK (SEQ ID NO: 146), NQMNLGATL (SEQ ID NO: 20), NYMNLGATL (SEQ ID NO: 22), CMTWNQMNLGATLKG (SEQ ID NO: 23), CMTWNLMNLGATLKG (SEQ ID NO: 24), WNQMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 25), MTWNQMNLGATLKG (SEQ ID NO: 27), TWNQMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 28), MTWNLMNLGATLKG (SEQ ID NO: 30), TWNLMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 31), MTWNYMNLGATLKG (SEQ ID NO: 33), TWNYMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 34), CMTWNQMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 35), WNQMNLGAT (SEQ ID NO: 36), TWNQMNLGAT (SEQ ID NO: 37), MTWNQMNLG (SEQ ID NO: 38), CMTWNLMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 39), WNLMLGAT (SEQ ID NO: 40), MNLGATLKG (SEQ ID NO: 41), CMTWNYMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 43), GALRNPTAC (SEQ ID NO: 46), GYLRNPTAC (SEQ ID NO: 47), GALRNPTAL (SEQ ID NO: 48), YALRNPTAC (SEQ ID NO: 49), GLLRNPTAC (SEQ ID NO: 50), RQRPHPGAL (SEQ ID NO: 51), RYRPHPGAL (SEQ ID NO: 52), YQRPHPGAL (SEQ ID NO: 53), RLRPHPGAL (SEQ ID NO: 54), RIRPHPGAL (SEQ ID NO: 55), QFPNHS FKHEPDMGQ (SEQ ID NO: 61), HSFKHEDPM (SEQ ID NO: 63), HSFKHEDPY (SEQ ID NO: 64), HSFKHEDPK (SEQ ID NO: 65), KRPFMCAYPGCYKRY (SEQ ID NO: 66), SEKRPFMCAYPGCNK (SEQ ID NO: 67), KRPFMCAYPGCNK (SEQ ID NO: 68), FMCAYPGCN (SEQ ID NO: 69), FMCAYPGCY (SEQ ID NO: 70), FMCAYPGCK (SEQ ID NO: 71) también se administra.

[0031] En otra forma de realización, uno o más péptidos WT1 nativos o modificados de entre los descritos en WO2014113490, como NQMNLGATL (SEQ ID NO: 147), NLMNLGATL (SEQ ID NO: 148), NYMNLGATL (SEQ ID NO: 149), CMTWNQMNLGATLKG (SEQ ID NO: 150), CMTWNLMNLGATLKG (SEQ ID NO: 151), WNQMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 152), WNLMLGATLKGVA (SEQ ID NO: 153), MTWNQMNLGATLKG (SEQ ID NO: 154), TWNQMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 155), MTWNLMNLGATLKG (SEQ ID NO: 157), TWNLMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 158), MTWNYMNLGATLKG (SEQ ID NO: 160), TWNYMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 161), CMTWNQMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 162), WNQMNLGAT (SEQ ID NO: 163), TWNQMNLGA (SEQ ID NO: 164), MTWNQMNLG (SEQ ID NO: 165), CMTWNLMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 166), WNLMLGAT (SEQ ID NO: 167), MNLGATLKG (SEQ ID NO: 168), CMTWNYMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 170), GALRNPTAC (SEQ ID NO: 173), GYLRNPTAC (SEQ ID NO: 174), GALRNPTAL (SEQ ID NO: 175), YALRNPTAC (SEQ ID NO: 176), GLLRNPTAC (SEQ ID NO: 177), RQRPHPGAL (SEQ ID NO: 178), RYRPHPGAL (SEQ ID NO: 179), YQRPHPGAL (SEQ ID NO: 180), RLRPHPGAL (SEQ ID NO: 181), RIRPHPGAL (SEQ ID NO: 182), QFPNHSFKHEPDMGQ (SEQ ID NO: 188), HSFKHEDPM (SEQ ID NO: 190), HSFKHEDPY (SEQ ID NO: 191), HSFKHEDPK (SEQ ID NO: 192), KRPFMCAYPGCYKRY (SEQ ID NO: 194), SEKRPFMCAYPGCNK (SEQ ID NO: 194), KRPFMCAYPGCNK (SEQ ID NO: 195), FMCAYPGCN (SEQ ID NO: 196), FMCAYPGCY (SEQ ID NO: 197) o FMCAYPGCK (SEQ ID NO: 198) también se administra.

[0032] Cada péptido de una combinación puede administrarse por separado dentro de su propia formulación, o dos, tres, cuatro, cinco o más péptidos de una combinación pueden administrarse juntos dentro de la misma formulación.

[0033] El nivel de dosis de cada péptido, la frecuencia de administración de cada uno o combinaciones de péptidos, la duración de la administración y otros aspectos de la inmunización con péptidos WT1 pueden optimizarse de acuerdo con la presentación clínica del paciente, la duración o el curso de la enfermedades, comorbilidades y otros aspectos de la atención clínica.

[0034] En una forma de realización, la vacuna WT-1 comprende 280 mcg de cada uno de los cuatro péptidos mencionados anteriormente (YMFNPAPYL (SEQ ID NO: 124), RDELVRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO: 1), PGCNKRYFKLSHLQMHSRKHTG (SEQ ID NO: 2) y SGQAYMFNPAPYLPSCLES (SEQ ID NO: 125)) combinados en un volumen total de 0,7 ml (0,4 mg/ml de cada péptido). En una forma de realización, se administran 200 mcg de cada péptido en cada dosis (0,5 ml). En una forma de realización, se administran de 100 a 2000 mcg de cada péptido en cada dosis. En una forma de realización, la dosis anterior se administra cada dos semanas durante un curso de 10 semanas (es decir, 6 administraciones). En una forma de realización, la administración es subcutánea. En una forma de realización, se mezcla (emulsiona) un adyuvante con la vacuna antes de la dosificación. En una forma de realización, se emulsionan 0,5 ml de vacuna (es decir, 200 mcg de cada péptido) con 1,0 ml de adyuvante antes de la administración. En otra forma de realización, el adyuvante se inyecta en el mismo sitio que la vacuna, antes o después de inyectar la vacuna. En una forma de realización, el adyuvante es una emulsión. En una forma de realización, la emulsión es una emulsión Montanide. En una forma de realización, la emulsión Montanide es el adyuvante inmunológico Montanide ISA 51 VG. En la práctica de la invención, también se administra al sujeto un inhibidor de PD1 con la vacuna WT1, como se describe más adelante.

[0035] El inhibidor de PD1 es un inhibidor del punto de control inmunitario. Los puntos de control inmunitarios regulan la función de las células T en el sistema inmunitario. Las células T juegan un papel central en la inmunidad mediada por células. Las proteínas de punto de control interactúan con ligandos específicos que envían una señal a la célula T y esencialmente apagan o inhiben la función de la célula T. Las células cancerosas aprovechan este sistema al impulsar altos niveles de expresión de proteínas de punto de control en su superficie, lo que da como resultado el control de las células T que expresan proteínas de punto de control en la superficie de las células T que ingresan al microambiente del tumor, lo que suprime la respuesta inmunitaria contra el cáncer. Como tal, la inhibición de las proteínas del punto de control daría como resultado la restauración de la función de las células T y una respuesta inmunitaria a las células cancerosas. Un inhibidor de punto de control inmunitario (o inhibidor de punto de control) es un compuesto o agente que bloquea o inhibe proteínas de punto de control inmunitario (es decir, que bloquea o inhibe receptores de punto de control

o ligandos de receptor de punto de control). Otras proteínas de punto de control incluyen CTLA-4, PD-L1, PD-L2, PD1, B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, TIM3, GAL9, LAG3, VISTA, IDO, KIR, 2B4 (pertenece a la familia CD2 de moléculas y se expresa en todas las células NK y células T CD8⁺ de memoria), CD160 (también conocido como BY55), CGEN-15049, quinasas CHK 1 y CHK2, A2aR y varios ligandos de la familia B-7.

[0036] La muerte programada-1 (PD-1) es un miembro de la superfamilia de inmunoglobulinas (IGSF) de moléculas implicadas en la regulación de la activación de células T. PD-1 adquirió su nombre de "muerte programada" cuando se identificó en 1992 como un gen sobreexpresado en un hibridoma de células T que experimentaba muerte celular. La estructura de PD-1 está compuesta por un dominio IGSF, un dominio transmembrana y un dominio intracelular que contiene un motivo inhibidor basado en tirosina inmunorreceptora (ITIM) y un motivo interruptor basado en tirosina inmunorreceptora (ITSM) [38]. PD-1 tiene dos socios vinculantes: PD-L1 (B7-H1, CD274) y PD-L2 (B7-DC, CD273). PD-L1 se expresa ampliamente tanto en linajes hematopoyéticos como no hematopoyéticos [39, 40]. Se encuentra en células T, células B, macrófagos, células NK, DC y mastocitos, así como en tejidos periféricos [41, 42]. El compromiso de PD-1 representa un medio por el cual los tumores evaden la inmunovigilancia y la eliminación [43]. El bloqueo de la vía PD-1 ha sido demostrado por nivolumab, que muestra actividad en modelos de cáncer de ratón inmunocompetentes [44].

[0037] En esta invención, el inhibidor del punto de control de PD1 es un anticuerpo. Los ejemplos de anticuerpos incluyen nivolumab (OPDIVO), pembrolizumab (KEYTRUDA), pidilizumab (TC-011) y MEDI0680 (AMP-514).

[0038] Nivolumab (OPDIVO) es un anticuerpo monoclonal IgG4 completamente humano dirigido contra el receptor PD-1 en los linfocitos T y B activados [47]. Pembrolizumab (KEYTRUDA) es otro ejemplo de un anticuerpo que se dirige a PD-1. En la Tabla 1 se enumeran ejemplos de inhibidores de PD1. En la Tabla 2 se enumeran ejemplos de otros inhibidores de puntos de control.

Tabla 1. Ejemplos de inhibidores de PD1

Nombre	Clase de agente	Objetivo
Nivolumab (también conocido como ONO-4538; BMS-936558; MDX1106; comercializado como Opdivo)	mAb humano IgG4	Muerte programada-1 (PD-1)
Pembrolizumab (también conocido como MK-3475; lambrolizumab; comercializado como Keytruda)	mAb humanizado IgG4	PD-1
Pidilizumab (también conocido como CT-011)	mAb humanizado IgG1	PD-1
MEDI0680 (también conocido como AMP-514)	mAb humanizado IgG4	PD-1
AMP-224	Proteína de fusión Fc-PD-L2	PD-1
AUNP-12	Péptido ramificado de 29 aminoácidos	PD-1

Tabla 2: Ejemplos de otros inhibidores de puntos de control

Nombre	Clase de agente	Objetivo
Ipilimumab (también conocido como MDX-010; MDX-101; BMS-734016; comercializado como Yervoy)	mAb humano IgG1	Antígeno 4 de linfocitos T citotóxicos (CTLA-4)
Tremelimumab (también conocido como ticilimumab; CP-675-206)	mAb humano IgG2	CTLA-4
BMS-936559	mAb humano IgG4	Ligando-1 de muerte programada (PD-L1)
Atezolizumab (también conocido como MPDL3280A; RG7446)	mAb humanizado IgG1	PD-L1
Durvalumab (también conocido como MEDI4736)	mAb humano IgG1	PD-L1
Avelumab (también conocido como MSB0010718C)	mAb humano IgG1	PD-L1
BMS935559 (también conocido como MDX-1105)	mAb humano IgG4	PD-L1
rHIgM12B7	mAb humano IgM	Ligando-2 de muerte programada (PD-L2)
BMS-986016	mAB	Gen-3 de activación de linfocitos (LAG-3; también conocido como CD223)
GSK2831781	mAb afusado humanizado	LAG-3
IMP321	LAG-3 soluble	LAG-3

(Continuación)

Nombre	Clase de agente	Objetivo
Lirilumab (también conocido como BMS-986015)	mAb humano IgG4	Receptor tipo inmunoglobulina de células asesinas (KIR)
IPH2101 (también conocido como 1-7F9)	Ab monoclonal antiinhibidor	KIR
Indoximod (también conocido como NLG 9189; CAS # 110117-83-4)	Molécula pequeña (isómero D de 1-metil-triptófano)	Indolamina-2,3-dioxigenasa 1 (IDO)
NLG 919 (número de CAS 1402836-58-1)	Molécula pequeña	Ídolo
INCB024360 (número de CAS 914471-09-3)	Molécula pequeña	Ídolo
PF-05082566	mAb humano IgG2	4-1BB (también conocido como CD137)
Urelumab (también conocido como BMS-663513)	mAb humanizado IgG4	4-1BB
MEDI6469	Ab antihumano de ratón IgG1	OX40 (también conocido como CD134)

[0039] En una forma de realización, se administra al sujeto una combinación de dos o más inhibidores de puntos de control. En una forma de realización, la combinación de inhibidores se selecciona entre las de las Tablas 1 y 2. Los dos o más inhibidores se pueden administrar de forma simultánea o consecutiva entre sí y con respecto a los péptidos WT1. Por lo tanto, se pueden administrar dos o más inhibidores de puntos de control dirigidos a dos proteínas de puntos de control diferentes, como PD-1 (p. ej., nivolumab u otro inhibidor de PD-1 de anticuerpos) y CTLA-4 (p. ej., ipilimumab u otro inhibidor de CTLA-4). El sujeto simultánea o consecutivamente entre sí y con respecto a uno o más péptidos WT1.

[0040] El nivel de dosis, la frecuencia de dosificación, la duración de la dosificación y otros aspectos de la administración del inhibidor de puntos de control pueden optimizarse de acuerdo con la presentación clínica del paciente, la duración o el curso de la enfermedad, las comorbilidades y otros aspectos de la atención clínica.

[0041] En una forma de realización, se emplea una selección de dosis y programa de nivolumab de 3 mg/kg cada 2 semanas durante un curso de 12 semanas. En una forma de realización, la administración es intravenosa. En una forma de realización, el curso de la administración del inhibidor de PD1 coincide con el de la administración de la vacuna WT1. En una forma de realización, el curso de la administración del inhibidor de PD1 se solapa con el de la administración de la vacuna WT1. En una forma de realización, el curso de la administración del inhibidor de PD1 comienza aproximadamente al mismo tiempo que el curso de la administración de la vacuna WT1.

[0042] En una forma de realización, la vacuna WT1 comprende 200 mcg de cada uno de los péptidos YMFPNAPYL (SEQ ID NO: 124), RSDLVRRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO: 1), PGCNKRYFKLSHLQMHSRKHTG (SEQ ID NO: 2) y SGQAYMFPNAPYLPSCLES (SEQ ID NO: 125) combinados en un volumen total de 0,5 ml emulsionados con 1,0 ml de Montanide ISA 51 VG y administrados por vía subcutánea cada 2 semanas durante 6 administraciones; y nivolumab, 3 mg/kg, se administra por vía intravenosa en infusión de 60 minutos cada dos semanas durante 7 administraciones, comenzando al mismo tiempo que la vacuna WT1.

[0043] En una forma de realización, uno o más péptidos WT1 y uno o más anticuerpos inhibidores de PD1 se administran cada uno a un sujeto de acuerdo con un programa que beneficie al paciente al máximo. Por lo tanto, uno o más péptidos WT1 y uno o más inhibidores de PD1 no se administran necesariamente al mismo tiempo o incluso en la misma composición o cada uno durante la misma duración. Cada péptido WT1 puede administrarse de acuerdo con un programa particular, como puede serlo cada inhibidor de PD1. En una forma de realización no limitante, uno o más péptidos WT1 y uno o más inhibidores de PD1 están presentes en la misma composición.

[0044] Como se indica en el presente documento, el nivel de dosis y el programa de dosificación, incluidas la frecuencia y la duración del péptido o péptidos WT1 (por separado o administrados juntos) y la de uno o más inhibidores de PD1 (administrados por separado o juntos), la vía de administración, y otros aspectos de la administración se optimizan para obtener el máximo beneficio para el sujeto paciente.

[0045] En otro aspecto, la presente invención también proporciona una composición que comprende los cuatro péptidos YMFPNAPYL (SEQ ID NO: 124), RSDLVRRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO: 1), PGCNKRYFKLSHLQMHSRKHTG (SEQ ID NO: 2) y SGQAYMFPNAPYLPSCLES (SEQ ID NO: 125) y al menos un anticuerpo inhibidor de PD1. En una forma de realización, la composición comprende nivolumab, pembrolizumab o la combinación de los mismos. La composición puede comprender además un excipiente, diluyente o vehículo. La composición también puede comprender uno o más adyuvantes.

[0046] Las formas de realización anteriores proporcionan composiciones mejoradas para usar en el tratamiento, la

reducción de la incidencia y la inducción de respuestas inmunitarias contra un cáncer que expresa WT1.

[0047] En una forma de realización, las composiciones antes mencionadas para usar en el tratamiento de un cáncer que expresa WT1, reduciendo la incidencia de un cáncer que expresa WT1 o induciendo la formación y proliferación de una respuesta de células T específica de proteína WT1, se logran con mayor efecto que si tal las composiciones emplean solo los péptidos WT1 solos o el (los) inhibidor(es) de PD1 solos. En una forma de realización, el curso de administración de la vacuna WT1 y el curso de administración de uno o más inhibidores de PD1 son concurrentes, se superponen o son simultáneos de modo que la respuesta biológica a la vacuna se mejora mediante la administración de uno o más inhibidores de PD1. En una forma de realización, el curso de la administración de la vacuna WT1 puede finalizar antes de que comience el curso de la terapia con inhibidores de PD1, en la medida en que la terapia con inhibidores de PD1 mejora la eficacia de los LTC provocados por la administración de la vacuna WT1. En una forma de realización, la primera administración de la terapia inhibidora de PD1 es el mismo día que la última administración de la vacuna WT1. En una forma de realización, el final de la vacunación con WT1 y el comienzo de la terapia con inhibidor de PD1 están separados por 1 a 7 días o de 1 a 4 semanas.

[0048] En otra forma de realización, un péptido para usar en la presente invención es inmunogénico. El término "inmunogénico" se refiere a la capacidad de estimular, provocar o participar en una respuesta inmunitaria. En otra forma de realización, la respuesta inmunitaria provocada es una respuesta inmunitaria mediada por células. En otra forma de realización, la respuesta inmunitaria es una combinación de respuestas mediadas por células y humorales.

[0049] Como se describe en el presente documento, el encuentro de una célula T con un péptido para usar en esta invención induce su diferenciación en una célula T efectora y/o de memoria. Los encuentros posteriores entre la célula T efectora o de memoria y el mismo péptido o, en otra forma de realización, con un péptido heteroclítico, conducen a una respuesta inmunitaria más rápida e intensa. Dichas respuestas se miden, en otra forma de realización, midiendo el grado de proliferación de la población de células T expuesta al péptido.

[0050] En otra forma de realización, como se describe en el presente documento, cuando el sujeto se expone a un péptido, o una composición que comprende un péptido para usar en esta invención, que difiere de la proteína nativa expresada, posteriormente se produce una reacción cruzada de la respuesta inmunitaria del huésped con la se desarrolla una proteína/antígeno nativo.

[0051] En otra forma de realización, los péptidos, las composiciones y las vacunas para usar en esta invención estimulan una respuesta inmunitaria que da como resultado la lisis de las células tumorales. En todas las formas de realización anteriores, el uso concurrente del inhibidor de PD1 potencia la respuesta inmunitaria contra el tumor.

[0052] En una forma de realización, la molécula WT1 tiene la secuencia:

MGSDVRDLNALLPAVPSLGGGGGALPVSGAAQWAPVLDFAPPGASAYGSLGGPAP
PPAPPPPPPPPHSFIKQEPSWGGAEPHEEQCLSAFTVHFSGQFTGTAGACRYGPFGPPP
PSQASSGQARMFPNAPYLPSCLSQPAIRNQGYSTVTFDGTSPSYGHTPSHHAAQFPNH
SFKHEDPMGQQGSLGEQQYSVPPVYGCHTPTDSCSTGSQALLRTPYSSDNLQMTS
QLECMTNQMNLGATLKGVAAGSSSVKWTEGQSNHSTGYESDNHTTPILCGAQYR
IHTHGVRGIQDVRRVPGVAPTLVRSASETSEKRPFMCAYPGCNKRYFKLSHLQMH
RKHTGEKPYQCDFKDCERRFSRSDQLKRHRRTHTGVKPFQCKTCQRKFSRSDHLKTH
TRTHTGKTSEKPFSCRWPSCQKKFARSDLVRRHNMHQRNMTKLQAL (SEQ ID
NO:199; Número de acceso GenBank AY245105).

[0053] En otra forma de realización, la molécula WT1 tiene la secuencia:

AAEASAERLQGRSRGASGSEPQQMGSDVRDLNALLPAVPSLGGGGGALPVSGAA
QWAPVLDFAPPGASAYGSLGGPAPPPAPPPPPPPPHSFIKQEPSWGGAEPHEEQCLSA
FTVHFSGQFTGTAGACRYGPFGPPPSQASSGQARMFPNAPYLPSCLSQPAIRNQGY
STVTFDGTSPSYGHTPSHHAAQFPNHSFKHEDPMGQQGSLGEQQYSVPPVYGCHTPT
DSCSTGSQALLRTPYSSDNLQMTS
QLECMTNQMNLGATLKGHSTGYESDNHTTPILCGAQYRIHTHGVRGIQDVRRVPGVAPTLVRSASETSEKRPFMCAYPGCNKRYFKL
SHLQMH
SRKHTGEKPYQCDFKDCERRFSRSDQLKRHRRTHTGVKPFQCKTCQRKFS

RSDHLKTHTRTHTGEKPFSCRWPSCQKKFARSDELVRHHNMHQRNMTKLQAL
(SEQ ID NO:200; Número de acceso GenBank: NM_000378).

[0054] En otra forma de realización, la molécula WT1 tiene la secuencia:

MQDPASTCVPEPASQHTLRSGPGCLQQPEQQGVDPGGIWAKLGAAEASAERLQGR
RSRGASGSEPQQMGSDVRDLNALLPAVPSLGGGGGCALPVSGAAQWAPVLDFAPPG
ASAYGSLGGPAPPPAPPPPPPPPHSFIKQEPSWGGAEPHEEQCLSAFTVHFSGQFTGT
AGACRYGPFPPPPSQASSGQARMFPNAPYLPSCLESQPAIRNQGYSTVTFDGTSPSYG
HTPSHHAAQFPNHSFKHEDPMGQQGSLGEQQYSVPPVYGCHTPTDSTGSQALLLR
TPYSSDNLYQMTSQLECMTNQMNLGATLKGVAAGSSSSVKWTEGQSNHSTGYES
DNHTTPILCGAQYRIHTHGVRGIQDVRVPVGVAPTLVRSASETSEKRPFMCAYPGCN
KRYFKLSHLQMHSRKHTGEKPYQCDFKDCERRFSRSDQLKRHRQRHTGVKPFQCKT
CQRKFSRSDHLKTHTRTHTGEKPFSCRWPSCQKKFARSDELVRHHNMHQRNMTKLQ
LAL (SEQ ID NO:201; Número de acceso GenBank NP_077742).

[0055] En otra forma de realización, la molécula WT1 comprende la secuencia:

MGHHHHHHHHHSSGHIEGRHMRRVPGVAPTLVRSASETSEKRPFMCAYPGCNKRY
FKLSHLQMHSRKHTGEKPYQCDFKDCERRFSRSDQLKRHRQRHTGVKPFQCKTCQR
KFSRSDHLKTHTRTHTGEKPFSCRWPSCQKKFARSDELVRHHNMHQRNMTKLQAL
(SEQ ID NO:202).

[0056] En otras formas de realización, la proteína WT1 comprende una de las secuencias establecidas en una de las siguientes entradas de secuencia de GenBank: NM_024426, NM_024425, NM_024424, NM_000378, S95530, D13624, D12496, D12497, AH003034 o X77549.

[0057] En ciertas formas de realización, la composición de la presente invención es una vacuna.

[0058] En otra forma de realización, la combinación de agentes de tratamiento para usar en la presente invención puede ser para inducir una respuesta inmune anti-mesotelioma en un sujeto, tratar a un sujeto con mesotelioma, o para reducir la incidencia de un mesotelioma, o su recaída, en un sujeto.

[0059] En otra forma de realización, la composición que comprende los cuatro péptidos WT1 YMFPNAPYL (SEQ ID NO: 124), RSDHLVRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO: 1), PGCNKRYFKLSHLQMHSRKHTG (SEQ ID NO: 2) y SGQAYMFPNAPYLPSCLES (SEQ ID NO: 125) y el al menos un inhibidor de PD1 de anticuerpo comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable. En otra forma de realización, la composición comprende además un adyuvante. En otra forma de realización, la composición comprende además cualquiera de los aditivos, compuestos o excipientes establecidos en el presente documento a continuación. En otra forma de realización, el adyuvante es una sal de alumbre u otro adyuvante mineral, producto bacteriano o adyuvante derivado de bacterias, agente tensoactivo (p. ej., saponina), emulsión o/w o w/o, adyuvante de liposomas, citocina (p. ej., IL-2, GM-CSF, IL-12 e IFN-gamma) o análogo de alfa-galactosilceramida. En otra forma de realización, el adyuvante es QS21, adyuvante completo o incompleto de Freund, fosfato de aluminio, hidróxido de aluminio, BCG o alumbre. En otras formas de realización, el vehículo es cualquier vehículo enumerado en este documento. En otras formas de realización, el adyuvante es cualquier adyuvante enumerado en este documento.

[0060] En otra forma de realización, la composición puede ser una composición de vacuna o una composición inmunogénica.

[0061] En otra forma de realización, el término "vacuna" se refiere a un material o composición que, cuando se introduce en un sujeto, proporciona una respuesta profiláctica o terapéutica para una enfermedad, condición o síntoma particular de la misma. En otra forma de realización, esta invención comprende vacunas basadas en péptidos, que opcionalmente incluyen además compuestos inmunomoduladores tales como citocinas, adyuvantes, etc.

[0062] En otras formas de realización, la composición comprende además un adyuvante. En otra forma de realización, el adyuvante es Montanide ISA 51. Montanide ISA 51 contiene un aceite metabolizable natural y un emulsionante refinado. En otra forma de realización, el adyuvante es GM-CSF. En otra forma de realización, el adyuvante es hemocianina de lapa californiana (KLH), que se puede conjugar con el antígeno peptídico o se puede administrar junto con el péptido. El GM-CSF recombinante es una proteína humana cultivada, en otra forma de realización, en un vector de levadura (*S. cerevisiae*). GM-CSF promueve la expansión clonal y la diferenciación de células progenitoras hematopoyéticas, APC y células dendríticas y células T.

[0063] En otra forma de realización, el adyuvante es una citocina. En otra forma de realización, el adyuvante es un factor de crecimiento. En otra forma de realización, el adyuvante es una población celular. En otra forma de realización, el adyuvante es QS21. En otra forma de realización, el adyuvante es el adyuvante incompleto de Freund. En otra forma de realización, el adyuvante es fosfato de aluminio. En otra forma de realización, el adyuvante es hidróxido de aluminio. En otra forma de realización, el adyuvante es BCG. En otra forma de realización, el adyuvante es alumbre. En otra forma de realización, el adyuvante es una interleuquina. En otra forma de realización, el adyuvante es una quimiocina. En otra forma de realización, el adyuvante es cualquier otro tipo de adyuvante conocido en la técnica. En otra forma de realización, la vacuna WT1 comprende dos de los adyuvantes anteriores. En otra forma de realización, la vacuna WT1 comprende más de dos de los adyuvantes anteriores.

[0064] Esta invención proporciona la combinación de agentes de tratamiento para usar en el tratamiento de un sujeto con un cáncer que expresa WT1. En otra forma de realización, la presente invención proporciona la combinación de agentes de tratamiento para suprimir o detener la progresión de un cáncer que expresa WT1 en un sujeto. En otra forma de realización, la presente invención proporciona la combinación de agentes de tratamiento para usar en la reducción de la incidencia de un cáncer que expresa WT1 en un sujeto. En otra forma de realización, la presente invención proporciona la combinación de agentes de tratamiento para usar en la reducción de la incidencia de recaída de un cáncer que expresa WT1 en un sujeto. En otra forma de realización, la presente invención proporciona la combinación de agentes de tratamiento para su uso en la superación de la tolerancia de las células T de un sujeto a un cáncer que expresa WT1.

[0065] También se describe que la composición de la presente invención se puede usar en un método para tratar a un sujeto que tiene un cáncer que expresa WT1, que comprende (a) inducir la formación y proliferación de un donante de linfocitos T citotóxicos humanos (LTC) que reconocen una célula maligna del cáncer; y (b) infundir el LTC humano en el sujeto, tratando así a un sujeto que tiene cáncer. Los métodos para la inmunoterapia *ex vivo* son bien conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en Davis ID et al (Células dendríticas sanguíneas generadas con el ligando Flt3 y el ligando CD40 ceban las células T CD8⁺ de manera eficiente) en pacientes con cáncer. J Immunotro. 2006 Sep-Oct; 29(5):499-511) y Mitchell MS et al (The cytotoxic T cell response to peptide analogs of the HLA-A * 0201-restricted MUC1 Signal Sequence Epitope, M1.2. Cancer Immunol Immunother. 28 de julio de 2006).

[0066] Se describe que el tratamiento de la presente invención puede actuar induciendo en un sujeto la formación y proliferación de un LTC específico de la proteína WT1. En otra forma de realización, la composición inmunogénica puede comprender además una célula presentadora de antígeno (APC).

[0067] Se describe que el tratamiento de la presente invención puede actuar generando una respuesta inmunitaria heteroclítica en un sujeto, en el que la respuesta inmunitaria heteroclítica se dirige contra un cáncer que expresa WT1.

[0068] En una forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es una leucemia mielógena aguda (LMA). En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es una leucemia mielógena crónica (LMC). En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 está asociado con un síndrome mielodisplásico (SMD). En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un SMD. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP). En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un carcinoma de células escamosas de esófago. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es una leucemia linfoblástica aguda (LLA). En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un sarcoma de hueso o tejido blando. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un tumor de Wilms. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es una leucemia. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un cáncer hematológico. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un linfoma. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un tumor desmoplásico de células redondas pequeñas. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un mesotelioma. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un mesotelioma maligno. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un cáncer gástrico. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un cáncer de colon. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un cáncer de pulmón. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un cáncer de mama. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un tumor de células germinales. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un mesotelioma pleural maligno. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es mieloma múltiple. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es leucemia mieloide. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un cáncer astrocítico. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un glioblastoma (p. ej., glioblastoma multiforme). En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un adenocarcinoma colorrectal. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un cáncer de ovario (p. ej., seroso, epitelial o endometrial). En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es cáncer de mama. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es melanoma. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es carcinoma de células escamosas de cabeza

y cuello. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es carcinoma de células ductales pancreáticas. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un neuroblastoma. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un cáncer uterino. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un cáncer de tiroides. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un carcinoma hepatocelular. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un cáncer de tiroides. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un cáncer de hígado. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un cáncer renal (p. ej., carcinoma de células renales). En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un sarcoma de Kaposi. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un sarcoma. En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es cualquier otro carcinoma o sarcoma.

[0069] En otra forma de realización, el cáncer que expresa WT1 es un tumor sólido. En otra forma de realización, el tumor sólido está asociado con un cáncer que expresa WT1. En otra forma de realización, el tumor sólido está asociado con un síndrome mielodisplásico (SMD). En otra forma de realización, el tumor sólido está asociado con un cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP). En otra forma de realización, el tumor sólido está asociado con un cáncer de pulmón. En otra forma de realización, el tumor sólido está asociado con un cáncer de mama. En otra forma de realización, el tumor sólido está asociado con un cáncer colorrectal. En otra forma de realización, el tumor sólido está asociado con un cáncer de próstata. En otra forma de realización, el tumor sólido está asociado con un cáncer de ovario. En otra forma de realización, el tumor sólido está asociado con un cáncer renal. En otra forma de realización, el tumor sólido está asociado con un cáncer de páncreas. En otra forma de realización, el tumor sólido está asociado con un cáncer cerebral. En otra forma de realización, el tumor sólido está asociado con un cáncer gastrointestinal. En otra forma de realización, el tumor sólido está asociado con un cáncer de piel. En otra forma de realización, el tumor sólido está asociado con un melanoma.

[0070] En otra forma de realización, se sospecha que el cáncer o tumor tratado por la presente invención expresa WT1. En otra forma de realización, la expresión de WT1 no ha sido verificada mediante el análisis de la muestra de tumor real. En otra forma de realización, el cáncer o tumor es de un tipo conocido por expresar WT1 en muchos casos. En otra forma de realización, el tipo expresa WT1 en la mayoría de los casos.

[0071] En la Tabla 3 se proporciona una lista no exhaustiva de tipos de cáncer que expresan WT1 que pueden tratarse usando las composiciones de la invención.

Tabla 3. Ejemplos de tipos de cáncer

Leucemia linfoblástica aguda, Leucemia linfoblástica aguda en adultos, Leucemia mieloide aguda infantil, Leucemia mieloide aguda en adultos, Carcinoma adrenocortical infantil, Carcinoma adrenocortical, Cánceres relacionados con el SIDA infantil Linfoma relacionado con el SIDA Cáncer anal Astrocitoma, Astrocitoma cerebeloso infantil, Carcinoma basocelular cerebral infantil Cáncer de las vías biliares, Cáncer de vejiga extrahepático Cáncer de vejiga, Cáncer de hueso infantil, Osteosarcoma/Histiocitoma fibroso maligno Glioma de tronco encefálico, Tumor cerebral infantil, Tumor cerebral de adulto, Glioma de tronco encefálico, Tumor cerebral infantil, Astrocitoma cerebeloso, Tumor cerebral infantil, Astrocitoma cerebral/ Glioma maligno, Infantil Tumor cerebral, ependimoma, tumor cerebral infantil, meduloblastoma, tumor cerebral infantil, tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales, tumor cerebral infantil, vía visual e hipotalámico	Leucemia de células pilosas Cáncer de cabeza y cuello Cáncer hepatocelular (de hígado) en adultos (primario) Cáncer hepatocelular (de hígado) en niños Linfoma de Hodgkin (primario) en adultos Linfoma de Hodgkin en niños Linfoma de Hodgkin durante el embarazo Cáncer de hipofaringe Glioma hipotalámico y de la vía visual Melanoma intraocular infantil Carcinoma de células de los islotes (páncreas endocrino) Sarcoma de Kaposi Cáncer de riñón (células renales) Cáncer de riñón, cáncer de laringe infantil Cáncer de laringe, leucemia infantil, linfoblástica aguda, leucemia del adulto, linfoblástica aguda, leucemia infantil, mieloide aguda, leucemia del adulto, mieloide aguda, leucemia infantil, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica, cáncer de células peludas del labio y de la cavidad oral Cáncer de hígado, cáncer de hígado (primario) en adultos, cáncer de pulmón (primario) infantil, cáncer de pulmón de células no pequeñas, linfoma de células pequeñas, linfoma relacionado con el SIDA, linfoma de Burkitt, Células T cutáneas, véase Micosis fungoide y Linfoma del síndrome de Sezary, Hodgkin, Linfoma en adultos, linfoma infantil Hodgkin, linfoma de Hodgkin durante el embarazo, linfoma no Hodgkin, linfoma del adulto, linfoma no Hodgkin, linfoma infantil,
Glioma, tumor cerebral infantil, cáncer de mama infantil Cáncer de mama, cáncer de mama infantil, adenomas/carcinoides bronquiales masculinos, linfoma de Burkitt infantil Tumor carcinoide, tumor carcinoide infantil, carcinoma gastrointestinal de sistema nervioso central primario desconocido Linfoma, astrocitoma cerebeloso primario, astrocitoma cerebral infantil/Glioma maligno, cáncer de cuello uterino infantil Cánceres infantiles Leucemia linfocítica crónica Leucemia mielógena crónica Trastornos mieloproliferativos crónicos Cáncer de colon Cáncer colorrectal, linfoma cutáneo de células T infantil, véase Micosis fungoide y síndrome de Sézary Cáncer de endometrio Ependimoma, cáncer de esófago infantil Cáncer de esófago, infancia Familia de tumores de Ewing Tumor extracraneal de células germinativas, tumor extragonadal infantil de células germinativas de las vías biliares extrahepáticas	

(Continuación)

5	Cáncer de ojo, Melanoma intraocular	linfoma no Hodgkin durante el embarazo, macroglobulinemia primaria del sistema nervioso central, histiocitoma fibroso maligno de Waldenström del hueso/osteosarcoma meduloblastoma, melanoma infantil
10	Cáncer de vesícula biliar, Cáncer gástrico (estómago), Cáncer gástrico (estómago), infantil Tumor carcinoide gastrointestinal Tumor de células germinales, extracraneal, infantil Tumor de células germinales, extragonadal Tumor de células germinales, ovario Tumor trofoblástico gestacional Glioma, adulto Glioma infantil Glioma de tronco encefálico infantil Glioma infantil de astrocitoma cerebral Glioma infantil de la vía visual y cáncer de piel hipotalámico (melanoma) Carcinoma de piel, cáncer de pulmón de células pequeñas de células de Merkel Cáncer de intestino delgado Sarcoma de tejido blando del adulto Sarcoma de tejido blando del adulto Carcinoma de células escamosas infantil Cáncer (no melanoma) Cáncer escamoso de cuello con primario oculto, metastásico Cáncer de estómago (gástrico) Cáncer de estómago (gástrico), infantil Supratentorial Primitivo Tumores neuroectodérmicos, infantil Linfoma de células T, cutáneo, ver Micosis fungoide y síndrome de Sezary Cáncer testicular Timoma, timoma infantil y Carcinoma tímico Cáncer de tiroides Cáncer de tiroides infantil Cáncer de células de transición de la pelvis renal y el uréter Tumor trofoblástico gestacional Sitio primario desconocido Carcinoma del adulto Sitio primario desconocido Cáncer de la niñez Cánceres inusuales del uréter y la pelvis renal infantiles Cáncer de células de transición Cáncer de uretra Cáncer uterino Endometrio Sarcoma uterino Vaginal Vía visual del cáncer y glioma hipotalámico, cáncer de vulva infantil Macroglobulinemia de Waldenström Tumor de Wilms	Melanoma, Intraocular (ojo) Carcinoma de células de Merkel Mesotelioma, adulto Mesotelioma maligno, cáncer de cuello escamoso metastásico infantil con síndrome de neoplasia endocrina múltiple primaria oculta, mieloma múltiple infantil/neoplasia de células plasmáticas Micosis fungoide Síndromes mielodisplásicos Enfermedades mielodisplásicas/mieloproliferativas Leucemia mielógena, leucemia mielóide crónica, aguda en adultos Leucemia mielóide, mieloma agudo infantil, trastornos mieloproliferativos múltiples, cáncer crónico de cavidad nasal y senos paranasales Cáncer de nasofaringe Cáncer de nasofaringe, neuroblastoma infantil Linfoma no Hodgkin, linfoma no Hodgkin en adultos, linfoma no Hodgkin infantil durante el embarazo Cáncer de pulmón de células no pequeñas Cáncer oral, cáncer de cavidad oral infantil, cáncer de orofaringe y labio Osteosarcoma/histiocitoma fibroso maligno del hueso Cáncer de ovario, cáncer epitelial de ovario infantil Tumor de células germinales de ovario Ovario de bajo potencial maligno, Tumor Cáncer de páncreas Cáncer de páncreas, cáncer de páncreas infantil, cáncer de células de los islotes Seno paranasal y cáncer de cavidad nasal Cáncer de paratiroides Cáncer de pene Feocromocitoma Pineoblastoma y tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales, tumor de hipófisis infantil Neoplasia de células plasmáticas/mieloma múltiple Blastoma pleuropulmonar Embarazo y cáncer de mama Embarazo y linfoma de Hodgkin Embarazo y Linfoma no Hodgkin Linfoma primario del sistema nervioso central Cáncer de próstata Cáncer rectal Cáncer de células renales (riñón) Cáncer de células renales (riñón), cáncer infantil de pelvis renal y uréter, cáncer de células de transición Retinoblastoma Rhabdomyosarcoma, cáncer infantil de glándulas salivales Cáncer de glándulas salivales, sarcoma infantil, síndrome de Ewing Familia de tumores Sarcoma, sarcoma de Kaposi, tejido blando, adulto Sarcoma, tejido blando, sarcoma infantil, síndrome de Sézary uterino Cáncer de piel (no melanoma) Cáncer de piel, cáncer de estómago infantil

45

[0072] Como se proporciona en este documento, los péptidos heterocliticos para usar en la invención provocan respuestas de células T CD8⁺ específicas de antígeno. En otra forma de realización, las respuestas de células T CD4⁺ específicas de antígeno ayudan en la inducción y el mantenimiento de las respuestas de células T citotóxicas (LTC) CD8⁺.

50

[0073] Se divulga que, en otra forma de realización, los péptidos WT1 para usar en la presente invención, junto con al menos un inhibidor de PD1, exhiben una capacidad mejorada para provocar respuestas de LTC, debido a su capacidad para unirse tanto a HLA de clase I como a HLA. Moléculas HLA clase II. Esto podría deberse a la capacidad del inhibidor de PD1 para aumentar la supervivencia y proliferación de LTC específicos de WT1. En otra forma de realización, las vacunas de la presente invención con al menos un inhibidor de PD1 tienen la ventaja de activar o provocar células T CD4⁺ y CD8⁺ que reconocen antígenos WT1. En otra forma de realización, la activación o la provocación de células T CD4⁺ y CD8⁺ proporciona una respuesta inmunitaria anti-WT1 sinérgica, en relación con la activación de cualquiera de las poblaciones sola. En otra forma de realización, la inmunogenicidad mejorada de los péptidos WT1 para uso en la presente invención se exhibe en individuos de múltiples subtipos HLA clase II, debido a la capacidad de los péptidos para unirse a múltiples subtipos HLA clase II.

60

[0074] También se describe que, en otra forma de realización, las células CD4⁺ activadas mejoran la inmunidad al autorizar las células dendríticas, manteniendo así la activación y supervivencia de las células T citotóxicas. En otra forma de realización, las células T CD4⁺ activadas inducen la muerte de células tumorales por contacto directo con la célula tumoral o por activación de la ruta de apoptosis. Las células tumorales de mesotelioma, por ejemplo, son capaces de procesar y presentar antígenos en el contexto de moléculas HLA de clase I y clase II.

65

[0075] También se describe que los péptidos, vacunas y/o composiciones inmunogénicas administradas junto con al menos un inhibidor de PD1 tienen la ventaja de activar o provocar células T CD4⁺ específicas de WT1 que contienen múltiples alelos HLA de clase II diferentes. En otra forma de realización, las vacunas tienen la ventaja de activar o provocar células T CD4⁺ específicas de WT1 en una proporción sustancial de la población. En otra forma de realización, los péptidos activan las células T CD4⁺ específicas de WT1 en el 10 % de la población. En otra forma de realización, los péptidos activan las células T CD4⁺ específicas de WT1 en el 15 % de la población. En otra forma de realización, los péptidos activan las células T CD4⁺ específicas de WT1 en el 20 % de la población. En otra forma de realización, los péptidos activan las células T CD4⁺ específicas de WT1 en el 25 % de la población. En otra forma de realización, los péptidos activan las células T CD4⁺ específicas de WT1 en el 30 % de la población. En otra forma de realización, los péptidos activan las células T CD4⁺ específicas de WT1 en el 35 % de la población. En otra forma de realización, los péptidos activan las células T CD4⁺ específicas de WT1 en el 40 % de la población. En otra forma de realización, los péptidos activan las células T CD4⁺ específicas de WT1 en el 45 % de la población. En otra forma de realización, los péptidos activan las células T CD4⁺ específicas de WT1 en el 50 % de la población. En otra forma de realización, los péptidos activan las células T CD4⁺ específicas de WT1 en el 55 % de la población. En otra forma de realización, los péptidos activan las células T CD4⁺ específicas de WT1 en el 60 % de la población. En otra forma de realización, los péptidos activan las células T CD4⁺ específicas de WT1 en el 70 % de la población. En otra forma de realización, los péptidos activan las células T CD4⁺ específicas de WT1 en el 75 % de la población. En otra forma de realización, los péptidos activan las células T CD4⁺ específicas de WT1 en el 80 % de la población. En otra forma de realización, los péptidos activan las células T CD4⁺ específicas de WT1 en el 85 % de la población. En otra forma de realización, los péptidos activan las células T CD4⁺ específicas de WT1 en el 90 % de la población. En otra forma de realización, los péptidos activan las células T CD4⁺ específicas de WT1 en el 95 % de la población. En otra forma de realización, las vacunas activan o provocan células T CD4⁺ específicas de WT1 en más del 95 % de la población. En otra forma de realización, las vacunas activan o provocan células T CD4⁺ específicas de WT1 en una proporción sustancial de una población particular (p. ej., caucásicos americanos).

[0076] También se describe que, en otra forma de realización, las composiciones para usar en la presente invención proporcionan una mejora en una respuesta inmune que ya ha sido desarrollada por un sujeto. En otra forma de realización, las composiciones se pueden administrar una o dos veces más. En otra forma de realización, la combinación de agentes de tratamiento proporciona el inicio de una respuesta inmunitaria contra un antígeno de interés en un sujeto en el que aún no se ha iniciado una respuesta inmunitaria contra el antígeno de interés. En otra forma de realización, los LTC que se inducen proliferan en respuesta a la presentación del péptido en la APC o célula cancerosa. En otras formas de realización, la referencia a la modulación de la respuesta inmunitaria implica uno o ambos los brazos humoral y mediado por células del sistema inmunitario, que se acompaña de la presencia de células Th2 y Th1 T auxiliares, respectivamente, o en otra forma de realización, cada brazo individualmente.

[0077] También se describe que, en otras formas de realización, afectar el crecimiento de un tumor da como resultado (1) la inhibición directa de la división de células tumorales, o (2) la lisis de células tumorales mediada por células inmunitarias, o ambas, conduce a una supresión en la expansión neta de las células tumorales. El uso de los péptidos WT1 junto con al menos un inhibidor de PD1 aumenta la inhibición directa de la división de células tumorales, la lisis celular mediada por células inmunitarias, o ambas, más que sin el uso del inhibidor de PD1.

[0078] La inhibición del crecimiento tumoral por cualquiera de estos dos mecanismos puede determinarse fácilmente por un experto en la técnica basándose en una serie de métodos bien conocidos. En otra forma de realización, la inhibición tumoral se determina midiendo el tamaño real del tumor durante un período de tiempo. En otra forma de realización, la inhibición tumoral puede determinarse estimando el tamaño de un tumor (durante un período de tiempo) utilizando métodos bien conocidos por los expertos en la técnica. Más específicamente, una variedad de métodos de imágenes radiológicas (p. ej., tomografía computarizada por emisión de positrones y fotón único; véase en general, "Nuclear Medicine in Clinical Oncology", Winkler, C. (ed.) Springer-Verilog, Nueva York, 1986), pueden utilizarse para estimar el tamaño del tumor. Dichos métodos también pueden utilizar una variedad de agentes de formación de imágenes, incluidos, por ejemplo, agentes de formación de imágenes convencionales (p. ej., citrato de galio-67), así como reactivos especializados para formación de imágenes de metabolitos, formación de imágenes de receptores o formación de imágenes inmunológicas (p. ej., marcadores de tumores de anticuerpos monoclonales radiomarcados específicos). Además, también se pueden utilizar métodos no radiactivos como el ultrasonido (ver, "Ultrasonic Differential Diagnosis of Tumors", Kossoff y Fukuda, (eds.), Igaku-Shoin, Nueva York, 1984), para estimar el tamaño de un tumor.

[0079] Además de los métodos *in vivo* para determinar la inhibición tumoral discutidos anteriormente, se puede utilizar una variedad de métodos *in vitro* para determinar la inhibición tumoral *in vivo*. Los ejemplos representativos incluyen actividad citolítica antitumoral mediada por linfocitos determinada, por ejemplo, mediante un ensayo de liberación de ⁵¹Cr, proliferación de linfocitos dependiente de tumores (Ioannides, et al., J. Immunol. 146(5):1700-1707, 1991), generación *in vitro* de anticuerpos específicos de tumores (Herlyn, et al., J. Immunol. Meth. 73:157-167, 1984), células (p. ej., LTC, células T auxiliares) o humorales (p. ej., anticuerpos) mediada por la inhibición del crecimiento celular *en vitro* (Gazit, et al., Cancer Immunol Immunother 35:135-144, 1992) y, para cualquiera de estos ensayos, determinación de la frecuencia de precursores celulares (Vose, Int. J. Cancer 30:135-142 (1982), y otros.

[0080] En otra forma de realización, la supresión del crecimiento tumoral indica un estado de crecimiento que se reduce en comparación con el crecimiento sin contacto o exposición a un péptido administrado junto con al menos un inhibidor

de punto de control de esta invención. El crecimiento de células tumorales puede evaluarse por cualquier medio conocido en la técnica, incluida la medición del tamaño del tumor, la determinación de si las células tumorales son proliferación usando un ensayo de incorporación de 3H-timidina, o contando las células tumorales. "Suprimir" el crecimiento de células tumorales se refiere, en otras formas de realización, a ralentizar, retrasar o detener el crecimiento tumoral, o a la reducción del tumor.

[0081] En otra forma de realización, la expresión de WT1 se mide antes de la administración del tratamiento, después de la administración del tratamiento o antes y después de la administración del tratamiento. En otra forma de realización, se mide la expresión del transcrito de WT1. En otra forma de realización, se miden los niveles de proteína WT1 en las células tumorales o cancerosas. En otra forma de realización, se miden la proteína o los péptidos WT1 liberados de las células cancerosas o las células tumorales a la circulación u otros fluidos corporales, como la orina.

[0082] En otra forma de realización, la expresión de la proteína de punto de control PD1 dirigida por uno o más inhibidores de PD1 se mide (a nivel de transcripción o nivel de proteína) en las células tumorales o cancerosas, o en sangre completa, suero o plasma, antes de la administración del tratamiento (línea de base), después de la administración del tratamiento, o antes y después de la administración del tratamiento. En una forma de realización, la expresión de dos o más de PD1, PD2 y CTLA4 se mide antes de la administración del tratamiento, después de la administración del tratamiento, o antes y después de la administración del tratamiento. En una forma de realización, la expresión de proteínas se mide en un sitio de tumor primario. En otra forma de realización, el cáncer es metastásico y la expresión de la proteína se mide en un sitio metastásico, o en el sitio del tumor primario, o en ambos.

[0083] En otra forma de realización, uno o más de los siguientes marcadores se miden antes de la administración del tratamiento (línea de base), después de la administración del tratamiento, o antes y después de la administración del tratamiento: células supresoras derivadas de mieloides monocíticos (m-MDSC), proteína C reactiva (PCR), linfocitos absolutos, linfocitos absolutos y lactato deshidrogenasa (LDH). En otra forma de realización, se abarca aquí el uso de uno o más marcadores para predecir o identificar la capacidad de respuesta a la modulación del punto de control.

[0084] Los métodos para determinar la presencia y la magnitud de una respuesta inmunitaria son bien conocidos en la técnica. En otra forma de realización, los ensayos de proliferación de linfocitos, en los que la captación de células T de una sustancia radiactiva, por ejemplo, 3H-timidina, se mide en función de la proliferación celular. En otras formas de realización, la detección de la proliferación de células T se logra midiendo los aumentos en la producción de interleucina-2 (IL-2), el flujo de Ca^{2+} o la captación de colorante, como 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazolio. Cada posibilidad representa una forma de realización separada de la presente invención.

[0085] En otra forma de realización, la estimulación de LTC se determina por medios conocidos por los expertos en la técnica, incluida la detección de proliferación celular, producción de citoquinas y otros. El análisis de los tipos y cantidades de citocinas secretadas por las células T al ponerse en contacto con dianas pulsadas con ligando puede ser una medida de la actividad funcional. Las citocinas se pueden medir mediante ELISA, ensayos ELISPOT o clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS) para determinar la tasa y la cantidad total de producción de citocinas. (Fujishashi K. y col. (1993) J. Immunol. Meth. 160:181; Tanguay S. y Killion J. J. (1994) Lymphokine Cytokine Res. 13:259).

[0086] En otra forma de realización, la actividad de LTC se determina mediante un ensayo de lisis de liberación de 51Cr. La lisis de dianas marcadas con 51Cr pulsadas con péptido por células T específicas de antígeno puede compararse con células diana pulsadas con péptido de control. En otra forma de realización, las células T se estimulan con un péptido de esta invención y se puede determinar la lisis de las células diana que expresan el péptido nativo en el contexto del MHC. La cinética de la lisis así como la lisis objetivo global en un punto de tiempo fijo (p. ej., 4 horas) se usan, en otra forma de realización, para evaluar el rendimiento del ligando. (Ware C. F. y col. (1983) J Immunol 131: 1312).

[0087] En otras formas de realización, un péptido para usar en la invención se conjuga con una de varias otras moléculas, como se describe a continuación, que puede ser a través de un enlace covalente o no covalente (complejado), cuya naturaleza varía, en otra forma de realización, dependiendo del propósito particular. En otra forma de realización, el péptido forma un complejo covalente o no covalente con un vehículo macromolecular (p. ej., un vehículo inmunogénico), incluidos polímeros naturales y sintéticos, proteínas, polisacáridos, polipéptidos (aminoácidos), alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona y lípidos. En otra forma de realización, un péptido para usar en esta invención se une a un sustrato. En otra forma de realización, el péptido se conjuga con un ácido graso, para su introducción en un liposoma (Patente de EE. UU. Nº 5.837.249). En otra forma de realización, un péptido para uso en la invención forma un complejo de forma covalente o no covalente con un soporte sólido, una variedad de los cuales se conocen en la técnica. En otra forma de realización, la unión del péptido al vehículo, sustrato, ácido graso o soporte sólido sirve para aumentar una respuesta inmunitaria provocada.

[0088] En otras formas de realización, el vehículo es tiroglobulina, una albúmina (p. ej., albúmina sérica humana), toxoide tetánico, poliaminoácidos tales como poli (lisina: ácido glutámico), una proteína de la gripe, proteína central del virus de la hepatitis B, hemocianina de lapa californiana, una albúmina u otra proteína transportadora o péptido transportador; vacuna recombinante del virus de la hepatitis B, o una APC.

[0089] En otra forma de realización, los términos "cáncer", "neoplasma", "neoplásico" o "tumor" se usan indistintamente y

se refieren a células que han sufrido una transformación maligna que las vuelve patológicas para el organismo huésped. El cáncer puede estar en cualquier etapa dentro del sistema de estadificación numerado (p. ej., etapa 0, etapa 1, etapa 2, etapa 3 o etapa 4), y cualquier etapa en el sistema de estadificación TNM. Las células cancerosas primarias (es decir, las células obtenidas cerca del sitio de la transformación maligna) se pueden distinguir fácilmente de las células no cancerosas mediante técnicas bien establecidas, particularmente el examen histológico. La definición de una célula cancerosa, como se usa en este documento, incluye no solo una célula cancerosa primaria, sino también cualquier célula derivada de un ancestro de una célula cancerosa. Esto incluye células cancerosas metastatizadas y cultivos *in vitro* y líneas celulares derivadas de células cancerosas. En otra forma de realización, un tumor es detectable sobre la base de la masa tumoral; por ejemplo, mediante procedimientos tales como tomografía computarizada, imágenes por resonancia magnética (IRM), rayos X, ultrasonido o palpación, y en otra forma de realización, se identifica mediante hallazgos bioquímicos o inmunológicos, este último que también se usa para identificar células cancerosas, en otras formas de realización. Un tumor puede ser un tumor sólido o un tumor no sólido.

[0090] Los métodos para sintetizar péptidos son bien conocidos en la técnica. En otra forma de realización, los péptidos para usar en esta invención se sintetizan usando un procedimiento sintético de estado sólido apropiado (ver por ejemplo, Steward and Young, *Solid Phase Peptide Synthesis*, Freemantle, San Francisco, Calif. (1968); Merrifield (1967) *Recent Progress in Hormone Res* 23: 451). La actividad de estos péptidos se prueba, en otras formas de realización, utilizando ensayos como se describe en este documento.

[0091] En otra forma de realización, los péptidos se purifican mediante métodos estándar que incluyen cromatografía (p. ej., cromatografía en columna de intercambio iónico, afinidad y tamaño), centrifugación, solubilidad diferencial o mediante cualquier otra técnica estándar para la purificación de proteínas. En otra forma de realización, se utiliza la cromatografía de inmunoafinidad, en la que un epítipo se aísla uniéndolo a una columna de afinidad que comprende anticuerpos que se generaron contra ese péptido, o un péptido relacionado de la invención, y se fijaron a un soporte estacionario.

[0092] En otra forma de realización, etiquetas de afinidad tales como hexa-His (Invitrogen), dominio de unión a maltosa (New England Biolabs), secuencia de cubierta de influenza (Kolodziej et al. (1991) *Meth. Enzymol.* 194: 508-509), glutatión-S-transferasa, u otras, se unen a los péptidos de esta invención para permitir una fácil purificación mediante el paso por una columna de afinidad apropiada. Los péptidos aislados también se pueden caracterizar físicamente, en otras formas de realización, utilizando técnicas tales como proteólisis, resonancia magnética nuclear y cristalografía de rayos X.

[0093] En otra forma de realización, los péptidos se producen mediante traducción *in vitro*, a través de técnicas conocidas, como será evidente para un experto en la técnica. En otra forma de realización, los péptidos se modifican diferencialmente durante o después de la traducción, por ejemplo, mediante fosforilación, glicosilación, entrecruzamiento, acilación, escisión proteolítica, unión a una molécula de anticuerpo, molécula de membrana u otro ligando (Ferguson et al. (1988) *Ann. Rev. Biochem.* 57:285-320).

[0094] En otra forma de realización, los péptidos pueden comprender además un marcador detectable, que en otra forma de realización es fluorescente, o en otra forma de realización, luminiscente, o en otra forma de realización, radiactivo, o en otra forma de realización, densa en electrones. En otras formas de realización, el marcador detectable comprende, por ejemplo, proteína fluorescente verde (GFP), DS-Red (proteína fluorescente roja), fosfatasa alcalina secretada (SEAP), beta-galactosidasa, luciferasa, ^{32}P , ^{125}I , ^3H y ^{14}C , fluoresceína y sus derivados, rodamina y sus derivados, dansilo y umbeliferona, luciferina o cualquier número de otros marcadores conocidos por los expertos en la técnica. El marcador particular utilizado dependerá del tipo de inmunoensayo utilizado.

[0095] En otra forma de realización, un péptido para usar en esta invención se une a un sustrato que, en otra forma de realización, sirve como vehículo. En otra forma de realización, la unión del péptido a un sustrato sirve para aumentar y provocar una respuesta inmunitaria.

[0096] En otra forma de realización, los péptidos se unen a otras moléculas, como se describe en el presente documento, usando agentes de reticulación convencionales tales como carbodimididas. Ejemplos de carbodimididas son 1-ciclohexil-3-(2-morfolinil-(4-etil) carbodiimida (CMC), 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) y 1-etil-3-(4-azonia-44-dimetilpentil) carbodiimida.

[0097] En otras formas de realización, los agentes de reticulación comprenden bromuro de cianógeno, glutaraldehído y anhídrido succínico. En general, cualquiera de varios agentes homobifuncionales que incluyen un aldehído homobifuncional, un aldehído homobifuncional epóxido, un imidoéster homobifuncional, un éster de N-hidroxisuccinimida homobifuncional, una maleimida homobifuncional, un haluro de alquilo homobifuncional, un disulfuro de piridilo homobifuncional, un haluro de arilo homobifuncional, un haluro de arilo homobifuncional hidrazida, un derivado de diazonio homobifuncional y un compuesto fotorreactivo homobifuncional. También se prevén, en otras formas de realización, compuestos heterobifuncionales, por ejemplo, compuestos que tienen un grupo reactivo con amina y un grupo reactivo con sulfhidrilo, compuestos con una amina reactiva y una fotorreactiva grupo y compuestos con un grupo reactivo con carbonilo y un grupo reactivo con sulfhidrilo.

[0098] En otras formas de realización, los agentes de reticulación homobifuncionales incluyen los ésteres bifuncionales

de N-hidroxisuccinimida ditiobis(succinimidilpropionato), suberato de disuccinimidilo y tartrato de disuccinimidilo; los imidoésteres bifuncionales adipimidato de dimetilo, pimelimidato de dimetilo y suberimidato de dimetilo; los reticulantes bifuncionales reactivos con sulfhidrilo 1,4-di-[3'-(2'-piridilditio)propionamido]butano, bismaleimidoheptano y bis-N-maleimido-1,8-octano; los haluros de arilo bifuncionales 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenceno y 4,4'-difluoro-3,3'-dinitrofenilsulfona; agentes fotorreactivos bifuncionales tales como bis-[b-(4-azidosalicilamido)etil]disulfuro; los aldehídos bifuncionales formaldehído, malondialdehído, succinaldehído, glutaraldehído y adipaldehído; un epóxido bifuncional tal como 1,4-butanodiol diglicidil éter; las hidrazidas bifuncionales ácido adípico dihidrazida, carbohidrazida y ácido succínico dihidrazida; los diazonios bifuncionales o-tolidina, bencidina diazotada y bisdiazotada; los haluros de alquilo bifuncionales N1N'-etilen-bis(yodoacetamida), N1N'-hexametilen-bis(yodoacetamida), N1N'-undecametileno-bis(yodoacetamida), así como bencilhaluros y halomostazas, tales como ácido ala'-diyodo-p-xileno sulfónico y tri(2-cloroetil)amina, respectivamente.

[0099] En otras formas de realización, los agentes de reticulación heterobifuncionales utilizados para unir los péptidos a otras moléculas, como se describe en el presente documento, incluyen SMCC (succinimidil-4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato), MBS (éster de m-maleimidobenzoil-N-hidroxisuccinimida), SIAB (N-succinimidil(4-yodoacteil)aminobenzoato), SMPB (succinimidil-4-(p-maleimidofenil)butirato), GMBS (éster de N-(.gamma.-maleimidobutiriloxi)succinimida), MPBH (hidrazida del ácido 4-(4-N-maleimidopohenil) butírico), M2C2H (4-(N-maleimidometil) ciclohexano-1-carboxil-hidrazida), SMPT (succinimidiloxycarbonil-a-metil-a-(2-piridilditio)tolueno), y SPDP (3-(2-piridilditio)propionato de N-succinimidilo).

[0100] En otra forma de realización, los péptidos de la invención se formulan como unión no covalente de monómeros a través de interacciones iónicas, de adsorción o bioespecíficas. Los complejos de péptidos con moléculas altamente cargadas positiva o negativamente pueden lograrse, en otra forma de realización, a través de la formación de puentes salinos en entornos de baja fuerza iónica, como en agua desionizada. Pueden crearse complejos grandes, en otra forma de realización, usando polímeros cargados tales como ácido poli-(L-glutámico) o poli-(L-lisina), que contienen numerosas cargas negativas y positivas, respectivamente. En otra forma de realización, los péptidos se adsorben en superficies tales como perlas de látex de micropartículas o en otros polímeros hidrofóbicos, formando complejos de péptido-superantígeno asociados de forma no covalente que imitan de forma efectiva la proteína entrecruzada o químicamente polimerizada, en otras formas de realización. En otra forma de realización, los péptidos se unen de forma no covalente mediante el uso de interacciones bioespecíficas entre otras moléculas. Por ejemplo, la utilización de la fuerte afinidad de la biotina para proteínas tales como avidina o estreptavidina o sus derivados podría usarse para formar complejos peptídicos. Los péptidos, según este aspecto, y en otra forma de realización, pueden modificarse para que posean grupos de biotina usando reactivos de biotinilación comunes tales como el éster N-hidroxisuccinimidílico de D-biotina (NHS-biotina), que reacciona con los grupos amino disponibles.

[0101] En otra forma de realización, un péptido para usar en la presente invención se une a un vehículo. En otra forma de realización, el portador es KLH. En otras formas de realización, el vehículo es cualquier otro vehículo conocido en la técnica, incluyendo, por ejemplo, tiroglobulina, albúminas tales como albúmina de suero humano, toxoide tetánico, poliaminoácidos tales como poli(lisina:ácido glutámico), influenza, núcleo del virus de la hepatitis B proteína, vacuna recombinante del virus de la hepatitis B y similares.

[0102] En otra forma de realización, los péptidos se conjugan con un lípido, tal como P3 CSS. En otra forma de realización, los péptidos se conjugan con una perla.

[0103] En otra forma de realización, los compuestos inmunomoduladores también pueden administrarse al paciente. En otras formas de realización, el compuesto inmunomodulador es una citocina, quimiocina o componente del complemento que potencia la expresión de moléculas accesorias o de adhesión del sistema inmunitario, sus receptores o combinaciones de los mismos. En algunas formas de realización, el compuesto inmunomodulador incluye interleucinas, por ejemplo interleucinas 1 a 15, interferones alfa, beta o gamma, factor de necrosis tumoral, factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), quimiocinas como la proteína activadora de neutrófilos (NAP), factor activador y quimioatrayente de macrófagos (MCAF), RANTES, péptidos inflamatorios de macrófagos MIP-1a y MIP-1b, componentes del complemento o combinaciones de los mismos. En otras formas de realización, el compuesto inmunomodulador estimula la expresión o aumenta la expresión de OX40, OX40L (gp34), linfotactina, CD40, CD40L, B7.1, B7.2, TRAP, ICAM-1, 2 o 3, receptores de citoquinas o una combinación de los mismos.

[0104] En otra forma de realización, el compuesto inmunomodulador induce o potencia la expresión de moléculas coestimuladoras que participan en la respuesta inmunitaria.

[0105] En una forma de realización, a los pacientes a los que se les administró la combinación de agentes de acuerdo con la invención también se les administró GM-CSF antes o el día de la primera vacunación, o la combinación de los mismos. En una forma de realización, a un paciente se le administran 70 mcg de GM-CSF por vía subcutánea dos días antes y el día de la primera administración de la vacuna.

[0106] En otra forma de realización, la composición comprende un disolvente, que incluye agua, medios de dispersión, medios de cultivo celular, agentes isotónicos y similares. En otra forma de realización, el disolvente es una solución

tamponada isotónica acuosa con un pH de alrededor de 7,0. En otra forma de realización, la composición comprende un diluyente tal como agua, solución salina tamponada con fosfato o solución salina. En otra forma de realización, la composición comprende un disolvente, que no es acuoso, tal como propiletilenglicol, polietilenglicol y aceites vegetales.

5 **[0107]** En otra forma de realización, la composición se formula para la administración mediante cualquiera de las muchas técnicas conocidas por los expertos en la técnica. Por ejemplo, esta invención proporciona la administración de la composición farmacéutica por vía parenteral, intravenosa, subcutánea, intradérmica, intramucosa, tópica, oral o por inhalación.

10 **[0108]** En otra forma de realización, la vacuna puede comprender además una población celular que, en otra forma de realización, comprende linfocitos, monocitos, macrófagos, células dendríticas, células endoteliales, células madre o combinaciones de las mismas, que, en otra forma de realización, son autólogas, singénicas o alogénicas, entre sí. En otra forma de realización, la población celular capta el péptido. En una forma de realización, la célula es una célula presentadora de antígeno (APC). En otra forma de realización, el APC es un APC profesional.

15 **[0109]** En otra forma de realización, las poblaciones celulares se obtienen de fuentes *in vivo*, tales como, por ejemplo, sangre periférica, producto sanguíneo de leucoféresis, producto sanguíneo de aféresis, ganglios linfáticos periféricos, tejido linfoide asociado al intestino, bazo, timo, sangre del cordón umbilical, nódulos linfáticos mesentéricos, hígado, sitios de lesiones inmunológicas, por ejemplo, líquido sinovial, páncreas, líquido cefalorraquídeo, muestras de tumores, tejido granulomatoso o cualquier otra fuente de donde se puedan obtener tales células. En otra forma de realización, las poblaciones celulares se obtienen de fuentes humanas, que son, en otras formas de realización, de fuentes humanas fetales, neonatales, infantiles o adultas. En otra forma de realización, las poblaciones celulares se obtienen de fuentes animales, como, por ejemplo, porcino o simio, o cualquier otro animal de interés. En otra forma de realización, las poblaciones celulares se obtienen de sujetos que son normales, o en otra forma de realización, enfermos, o en otra forma de realización, susceptibles a una enfermedad de interés.

20 **[0110]** En otra forma de realización, las poblaciones celulares se separan mediante métodos de separación basados en afinidad. Las técnicas para la separación por afinidad incluyen, en otras formas de realización, separación magnética, utilizando perlas magnéticas recubiertas de anticuerpos, cromatografía de afinidad, agentes citotóxicos unidos a un anticuerpo monoclonal o uso junto con un anticuerpo monoclonal, por ejemplo, complemento y citotoxinas, y "panning" con un anticuerpo adherido a una matriz sólida, como una placa, o cualquier otra técnica conveniente. En otra forma de realización, las técnicas de separación incluyen el uso de clasificadores de células activados por fluorescencia, que pueden tener diversos grados de sofisticación, tales como múltiples canales de color, canales de detección de dispersión de luz obtusa y de ángulo bajo, canales de impedancia, etc.

30 **[0111]** Las células dendríticas proceden de la diversa población de tipos de células morfológicamente similares que se encuentran en una variedad de tejidos linfoides y no linfoides, calificados como tales (Steinman (1991) Ann. Rev. Immunol. 9:271-296). En otra forma de realización, las células dendríticas se aíslan de la médula ósea, o en otra forma de realización, se derivan de células progenitoras de la médula ósea, o, en otra forma de realización, se aíslan de/derivan de sangre periférica, o en otra forma de realización, se derivan de, o son una línea celular.

35 **[0112]** En otra forma de realización, las poblaciones de células se aíslan de la fracción de glóbulos blancos de un mamífero, tal como un murino, un simio o un humano (ver, por ejemplo, WO 96/23060). La fracción de glóbulos blancos puede aislarse, en otra forma de realización, de la sangre periférica del mamífero.

40 **[0113]** Los métodos para aislar células dendríticas son bien conocidos en la técnica. En otra forma de realización, las DC se aíslan mediante un método que incluye los siguientes pasos: (a) proporcionar una fracción de glóbulos blancos obtenida de una fuente de mamífero mediante métodos conocidos en la técnica, como la leucoforesis; (b) separar la fracción de glóbulos blancos del paso (a) en cuatro o más subfracciones mediante elutriación centrífuga a contracorriente; (c) estimulación de la conversión de monocitos en una o más fracciones del paso (b) a células dendríticas poniendo en contacto las células con ionóforo de calcio, GM-CSF e IL-13 o GM-CSF e IL-4, (d) identificación de las células dendríticas fracción enriquecida en células del paso (c); y (e) recolectar la fracción enriquecida del paso (d), preferiblemente a aproximadamente 4 °C.

45 **[0114]** En otra forma de realización, la fracción enriquecida en células dendríticas se identifica mediante clasificación de células activadas por fluorescencia, que identifica, en otra forma de realización, al menos uno de los siguientes marcadores: HLA-DR, HLA-DQ o B7.2, y la ausencia simultánea de los siguientes marcadores: CD3, CD14, CD16, 56, 57 y CD 19, 20.

50 **[0115]** En otra forma de realización, la población celular comprende linfocitos, que son, en otra forma de realización, células T, o en otra forma de realización, células B. Las células T, en otras formas de realización, se caracterizan como células NK, células T colaboradoras, linfocitos T citotóxicos (LTC), TIL, células T vírgenes o combinaciones de las mismas. Debe entenderse que pueden usarse células T que son primarias o líneas celulares, clones, etc. En otra forma de realización, las células T son LTC, o líneas de LTC, clones de LTC o LTC aislados de infiltrados tumorales, inflamatorios u otros.

[0116] En otra forma de realización, las poblaciones celulares pueden comprender células madre hematopoyéticas o progenitoras tempranas. En otra forma de realización, dichas poblaciones se aíslan o derivan mediante leucoféresis. En otra forma de realización, la leucaféresis sigue a la administración de citoquinas, de médula ósea, sangre periférica (PB) o sangre de cordón umbilical neonatal. En otra forma de realización, las células madre o progenitoras se caracterizan por su expresión superficial del marcador de antígeno de superficie conocido como CD34⁺, y la exclusión de la expresión de los marcadores de antígeno de linaje de superficie, Lin⁻.

[0117] En otra forma de realización, al sujeto se le administra la combinación de agentes junto con células de la médula ósea. En otra forma de realización, la administración junto con células de médula ósea sigue a la irradiación previa del sujeto, como parte del curso de la terapia, para suprimir, inhibir o tratar el cáncer en el sujeto.

[0118] En otra forma de realización, la combinación de agentes de tratamiento para usar en esta invención se administra a un sujeto en combinación con otros compuestos anticancerígenos y quimioterapéuticos, incluidos anticuerpos monoclonales dirigidos contra antígenos alternativos del cáncer o, en otra forma de realización, epítomos que consisten en una secuencia AA que corresponde, o en parte, a aquella de la que se derivan los péptidos de esta invención.

[0119] Como se usa en el presente documento, los términos "paciente", "sujeto" e "individuo" se usan indistintamente y pretenden incluir especies animales humanas y no humanas. Por ejemplo, el sujeto puede ser un mamífero humano o no humano. En algunas formas de realización, el sujeto es un modelo animal no humano o un paciente veterinario. El sujeto puede ser de cualquier edad o género.

[0120] Una composición inmunogénica de la presente invención comprende, en otra forma de realización, una APC asociada a la mezcla de los péptidos WT1.

[0121] Una composición de la presente invención es, en otra forma de realización, una composición inmunogénica. En otra forma de realización, la composición es una composición farmacéutica.

[0122] Esta invención contempla diversas formas de realización de intervalos de dosificación. En otra forma de realización, la dosificación es de 20 µg por péptido por día. En otra forma de realización, la dosificación es de 10 µg/péptido/día. En otra forma de realización, la dosificación es de 30 µg/péptido/día. En otra forma de realización, la dosificación es de 40 µg/péptido/día. En otra forma de realización, la dosificación es de 60 µg/péptido/día. En otra forma de realización, la dosificación es de 80 µg/péptido/día. En otra forma de realización, la dosificación es de 100 µg/péptido/día. En otra forma de realización, la dosificación es de 150 µg/péptido/día. En otra forma de realización, la dosificación es de 200 µg/péptido/día. En otra forma de realización, la dosificación es de 300 µg/péptido/día. En otra forma de realización, la dosificación es de 400 µg/péptido/día. En otra forma de realización, la dosificación es de 600 µg/péptido/día. En otra forma de realización, la dosificación es de 800 µg/péptido/día. En otra forma de realización, la dosificación es de 1000 µg/péptido/día.

[0123] En otra forma de realización, la dosificación es de 10 µg/péptido/dosis. En otra forma de realización, la dosificación es de 30 µg/péptido/dosis. En otra forma de realización, la dosificación es de 40 µg/péptido/dosis. En otra forma de realización, la dosificación es de 60 µg/péptido/dosis. En otra forma de realización, la dosificación es de 80 µg/péptido/dosis. En otra forma de realización, la dosificación es de 100 µg/péptido/dosis. En otra forma de realización, la dosificación es de 150 µg/péptido/dosis. En otra forma de realización, la dosificación es de 200 µg/péptido/dosis. En otra forma de realización, la dosificación es de 300 µg/péptido/dosis. En otra forma de realización, la dosificación es de 400 µg/péptido/dosis. En otra forma de realización, la dosificación es de 600 µg/péptido/dosis. En otra forma de realización, la dosificación es de 800 µg/péptido/dosis. En otra forma de realización, la dosificación es de 1000 µg/péptido/dosis.

[0124] En otra forma de realización, la dosificación es de 10-20 µg/péptido/dosis. En otra forma de realización, la dosificación es de 20-30 µg/péptido/dosis. En otra forma de realización, la dosificación es de 20-40 µg/péptido/dosis. En otra forma de realización, la dosificación es de 30 a 60 µg/péptido/dosis. En otra forma de realización, la dosis es de 40 a 80 µg/péptido/dosis. En otra forma de realización, la dosis es de 50 a 100 µg/péptido/dosis. En otra forma de realización, la dosis es de 50 a 150 µg/péptido/dosis. En otra forma de realización, la dosificación es de 100 a 200 µg/péptido/dosis. En otra forma de realización, la dosificación es de 200-300 µg/péptido/dosis. En otra forma de realización, la dosificación es de 300-400 µg/péptido/dosis. En otra forma de realización, la dosis es de 400-600 µg/péptido/dosis. En otra forma de realización, la dosificación es de 500 a 800 µg/péptido/dosis. En otra forma de realización, la dosis es de 800 a 1000 µg/péptido/dosis.

[0125] En otra forma de realización, la cantidad total de péptido por dosis o por día es una de las cantidades anteriores. En otra forma de realización, la dosis total de péptido por dosis es una de las cantidades anteriores.

EJEMPLO

Evaluación de la eficacia de la vacuna de péptido **WT1** administrada junto con nivolumab en pacientes con cáncer de ovario.

[0126] Los pacientes elegibles diagnosticados con cáncer de ovario comenzarán el programa de vacunación dentro de

los 4 meses posteriores a la finalización de la quimioterapia. Los pacientes recibirán inicialmente 6 vacunas de péptidos WT1 durante 12 semanas y 7 infusiones del inhibidor del punto de control inmunitario nivolumab durante 14 semanas. Las evaluaciones de toxicidad se realizarán con cada dosis de vacuna y 3 semanas después de completar la terapia en la semana 15. El personal del estudio observará a los pacientes hasta 30 minutos después del tratamiento. No está previsto un aumento de la dosis. Las evaluaciones de toxicidad de rutina continuarán durante todo el ensayo.

[0127] Se permite que los pacientes que no tengan progresión de la enfermedad en la evaluación de la semana 15 reciban 4 vacunas adicionales administradas aproximadamente cada 8 semanas. Este curso de vacunación de mantenimiento comenzaría en la semana 19.

[0128] Las respuestas inmunitarias se evaluarán a partir de muestras de sangre heparinizada de 40 ml en 6 puntos de tiempo separados: línea de base (en el consentimiento y antes de la primera dosis para determinar las variaciones de la línea de base), antes de las vacunas 5 y 6 y 3 semanas después de la última infusión de nivolumab. Si es factible, se obtendrá una extracción de sangre adicional en el seguimiento de 3 meses.

[0129] Usando ELISA, se medirán los niveles de anticuerpos generados contra los 4 péptidos WT1 en la vacuna. Los anticuerpos generalmente están presentes al completar la cuarta vacunación. Se realizarán ensayos de respuesta proliferativa de células T en linfocitos de sangre periférica, incluidos: citometría de flujo para análisis fenotípico con FACS, incluido análisis de subconjuntos de leucocitos, ensayo de células reguladoras T (incluidos CD3, CD4, CD8, FOXP3, ICOS y PD1) y células supresoras derivadas de mieloides (MDSC, células CD14+HLA-DRlow) en sangre periférica y también en tumor (si se obtiene una biopsia opcional). La respuesta proliferativa de CD4 y CD8 específica de las células T WT1 se medirá mediante tinción de citoquinas intracelulares polifuncionales (ICS) y ensayos de citotoxicidad basados en citometría de flujo utilizando Meso Scale Discovery System con funcionalidad medida por la producción de IFN γ . En [29] se describen procedimientos detallados para el procesamiento de muestras de sangre, control de células T, ELISA de anticuerpos y ensayo de células T polifuncionales.

[0130] Los valores de referencia y los resultados de la respuesta de las células T se correlacionarán con la duración de la remisión clínica.

[0131] Si se retira a un paciente del estudio antes de la semana 15, se obtendrá sangre para estudios inmunológicos posteriores al estudio. Se realizará una tomografía computarizada al inicio y en la semana 15 (o antes si se considera médicamente necesario) y cada 3 meses a partir de entonces hasta 1 año hasta la progresión de la enfermedad. La resonancia magnética del abdomen y la pelvis se puede utilizar en lugar de la TC del abdomen y la pelvis. El radiólogo de referencia utilizará criterios de respuesta relacionados con el sistema inmunitario para determinar la progresión de la enfermedad [57]. CA125 se obtendrá al inicio del estudio, las semanas 6 y 15 y luego cada 3 meses a partir de entonces hasta 1 año hasta la progresión de la enfermedad. CA125 no se utilizará para determinar la progresión de la enfermedad debido a la posibilidad de confusión de inflamación en pacientes vacunados. Los pacientes permanecerán en el estudio hasta el momento de la progresión, desarrollo de toxicidad inaceptable, finalización de la secuencia de vacunación o retiro del paciente.

[0132] Vacuna WT1: La vacuna que se usará en este estudio contiene cuatro péptidos WT1 separados:

- YMFPNAPYL (SEQ ID NO: 124; WT1-A1): péptido HLA de clase I con un aminoácido mutado R126Y para estimular las respuestas de CD8⁺.
- SGQAYMFPNAPYLPSCLLES (SEQ ID NO: 125; WT1-122A1 largo): péptido HLA de clase II que contiene una secuencia heteroclítica WT1-A1 incrustada dentro del péptido más largo para estimular las respuestas de CD4⁺ y CD8⁺ según datos de estudios preclínicos y de fase 1.
- RSDLVRRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO: 1; WT1-427 largo) y PGCNKRYFKLSHLQMHSRKHTG (SEQ ID NO: 2; WT1-331 largo): péptidos HLA de clase II que inducen respuestas CD4⁺ que podrían proporcionar ayuda para respuestas de células T CD8⁺ de larga duración.

[0133] Producto farmacológico: los cuatro péptidos se proporcionan en una solución estéril con solución salina tamponada con fosfato para producir el producto de vacuna ("WT1 Vax"). Cada vial contiene 280 mcg de cada péptido en un volumen total de 0,7 ml (0,4 mg/ml de cada péptido, sobrellenado del 40 %). Se realizaron viales bajo condiciones GMP y pruebas de esterilidad. La emulsión de vacuna se preparará individualmente antes de su uso. Esto requerirá la mezcla de la solución peptídica con el adyuvante inmunológico Montanide ISA 51 VG.

[0134] Dosis prevista: la dosis de 200 mcg para cada péptido se elige porque está dentro del rango de dosis seguras y activas utilizadas por otros. Las vacunas peptídicas han generado respuestas inmunitarias y clínicas dentro de un amplio rango de dosis (100-2000 mcg inyectados) sin evidencia clara de relaciones dosis-respuesta. Las dosis más altas tienen la posibilidad teórica de estimular TCR de menor afinidad en células T y generar una respuesta reducida [30, 33, 34]. Tamaño del vial: Cada vial de dosis única contiene 0,7 ml Vía de administración: Subcutánea

[0135] Nivolumab: Dosis prevista: 3 mg/kg; Tamaño del vial: 10 ml; Vía de Administración: Intravenosa. Nivolumab se

dosificará a 3 mg/kg y se administrará por vía intravenosa como una infusión IV de 60 minutos una vez cada 2 semanas. Al final de la infusión, enjuague la línea con una cantidad suficiente de solución salina normal. Si el peso del sujeto difiere >10 % del peso anterior utilizado para calcular la dosis requerida, se debe calcular una dosis requerida, una dosis corregida. No se permitirán aumentos o reducciones de dosis de nivolumab. No se recomiendan premedicaciones para el primer tratamiento con nivolumab.

[0136] Los sujetos pueden recibir la dosis no menos de 12 días entre las dosis de nivolumab y no más de 3 días después de la fecha de dosificación programada. La dosis administrada después de la ventana de 3 días se considera un retraso en la dosis. El tratamiento puede retrasarse hasta un máximo de 6 semanas desde la dosis anterior.

[0137] Las evaluaciones de tumores por TC o IRM deben continuar según el protocolo incluso si se retrasa la dosificación.

[0138] PLAN DE TRATAMIENTO/INTERVENCIÓN

- Los pacientes serán tratados como pacientes ambulatorios.
- Las vacunas WT1 se administrarán en las semanas 0, 2, 4, 6, 8 y 10.
- Todas las inyecciones se administrarán por vía subcutánea con sitios que rotan entre las extremidades.
- Todos los pacientes recibirán Sargramostim (GM-CSF) 70 mcg inyectados por vía subcutánea los días 0 y -2. Los pacientes pueden autoadministrarse el GM-CSF si se les ha instruido adecuadamente sobre la administración de inyecciones subcutáneas. Se informará a los pacientes de las reacciones esperadas, como irritación en el lugar de la inyección. Los pacientes llevarán un registro anotando la hora y la ubicación de la inyección.
- Los pacientes también recibirán 1,0 ml de emulsión de péptidos WT1 con Montanide. Será administrado por una enfermera (no puede ser autoadministrado) por vía subcutánea en el mismo sitio anatómico que el GM-CSF.
- Los pacientes serán observados durante aproximadamente 30 minutos después de la vacunación.
- Nivolumab se administrará por vía intravenosa como una infusión de 60 minutos en las semanas 0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12. Los sujetos pueden recibir dosis no menos de 12 días entre las dosis de nivolumab y no más de 3 días después de la fecha de dosificación programada. La dosis administrada después de la ventana de 3 días se considera un retraso en la dosis. El tratamiento puede retrasarse hasta un máximo de 6 semanas desde la dosis anterior.

[0139] Se espera que el tratamiento combinado de la vacuna WT1 y nivolumab aumente la población de LTC específicos de WT1 en el paciente y proporcione una mayor actividad contra el tumor que expresa WT1, en comparación con la vacunación con WT1 sola o el tratamiento con nivolumab solo.

REFERENCIAS

[0140]

1. Siegel, R., D. Naishadham, y A. Jemal, Cancer statistics, 2012. CA Cancer J Clin, 2012. 62(1): p. 10-29.
2. Hoskins, W.J., C.A. Perez, y R.C. Young, Principles and practice of gynecologic oncology. 3ª ed. 2000, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. xxi, 1268 p.
3. Barnhill, D.R., et al., The second-look surgical reassessment for epithelial ovarian carcinoma. Gynecol Oncol, 1984. 19(2): p. 148-54.
4. Rubin, S.C., et al., Recurrence after negative second-look laparotomy for ovarian cancer: analysis of risk factors. Am J Obstet Gynecol, 1988. 159(5): p. 1094-8.
5. Markman, M., et al., Second-line platinum therapy in patients with ovarian cancer previously treated with cisplatin. J Clin Oncol, 1991. 9(3): p. 389-93.
6. Zhang, H., et al., Antibodies against GD2 ganglioside can eradicate syngeneic cancer micrometastases. Cancer Res, 1998. 58(13): p. 2844-9.
7. Zhang, L., et al., Intratumoral T cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer. N Engl J Med, 2003. 348(3): p. 203-13.
8. Curiel, T.J., et al., Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and

predicts reduced survival. *Nat Med*, 2004. 10(9): p. 942-9.

9. Iasonos, A., et al., Identifying clinical improvement in consolidation single-arm phase 2 trials in patients with ovarian cancer in second or greater clinical remission. *Int J Gynecol Cancer*, 2012. 22(1): p. 63-9.

10. Berek, J.S., et al., Randomized, placebo-controlled study of oregovomab for consolidation of clinical remission in patients with advanced ovarian cancer. *J Clin Oncol*, 2004. 22(17): p. 3507-16.

11. Reinartz, S., et al., Vaccination of patients with advanced ovarian carcinoma with the anti-idiotypic ACA125: immunological response and survival (phase Ib/II). *Clin Cancer Res*, 2004. 10(5): p. 1580-7.

12. Bookman, M.A., et al., Evaluation of monoclonal humanized anti-HER2 antibody, trastuzumab, in patients with recurrent or refractory ovarian or primary peritoneal carcinoma with overexpression of HER2: a phase II trial of the Gynecologic Oncology Group. *J Clin Oncol*, 2003. 21(2): p. 283-90.

13. Allavena, P., et al., Intraperitoneal recombinant gamma-interferon in patients with recurrent ascitic ovarian carcinoma: modulation of cytotoxicity and cytokine production in tumor-associated effectors and of major histocompatibility antigen expression on tumor cells. *Cancer Res*, 1990. 50(22): p. 7318-23.

14. Pujade-Lauraine, E., et al., Intraperitoneal recombinant interferon gamma in ovarian cancer patients with residual disease at second-look laparotomy. *J Clin Oncol*, 1996. 14(2): p. 343-50.

15. Recchia, F., et al., Interleukin-2 and 13-cis retinoic acid as maintenance therapy in advanced ovarian cancer. *Int J Oncol*, 2005. 27(4): p. 1039-46. 16. Sabbatini, P.J., et al., Immunization of ovarian cancer patients with a synthetic Lewis(y)-protein conjugate vaccine: a phase 1 trial. *Int J Cancer*, 2000. 87(1): p. 79-85.

17. Nicholson, S., et al., A phase I trial of idiotypic vaccination with HMFG1 in ovarian cancer. *Cancer Immunol Immunother*, 2004. 53(9): p. 809-16.

18. Diefenbach, C.S., et al., Safety and immunogenicity study of NY-ESO-1b peptide and montanide ISA-51 vaccination of patients with epithelial ovarian cancer in high-risk first remission. *Clin Cancer Res*, 2008. 14(9): p. 2740-8.

19. Keilholz, U., et al., Wilms' tumour gene 1 (WT1) in human neoplasia. *Leukemia*, 2005. 19(8): p. 1318-23.

20. Oji, Y., et al., Expression of the Wilms' tumor gene WT1 in solid tumors and its involvement in tumor cell growth. *Jpn J Cancer Res*, 1999. 90(2): p. 194-204.

21. Scharnhorst, V., et al., Internal translation initiation generates novel WT1 protein isoforms with distinct biological properties. *J Biol Chem*, 1999. 274(33): p. 23456-62.

22. Haber, D.A., et al., Alternative splicing and genomic structure of the Wilms tumor gene WT1. *Proc Natl Acad Sci EE. UU.*, 1991. 88(21): p. 9618-22.

23. Mundlos, S., et al., Nuclear localization of the protein encoded by the Wilms' tumor gene WT1 in embryonic and adult tissues. *Development*, 1993. 119(4): p. 1329-41.

24. Buckler, A.J., et al., Isolation, characterization, and expression of the murine Wilms' tumor gene (WT1) during kidney development. *Mol Cell Biol*, 1991. 11(3): p. 1707-12.

25. Fraizer, G.C., et al., Expression of the tumor suppressor gene WT1 in both human and mouse bone marrow. *Blood*, 1995. 86(12): p. 4704-6.

26. Al-Hussaini, M., et al., WT1 assists in distinguishing ovarian from uterine serous carcinoma and in distinguishing between serous and endometrioid ovarian carcinoma. *Histopathology*, 2004. 44(2): p. 109-15.

27. Pinilla-Ibarz, J., et al., Improved human T-cell responses against synthetic HLA-0201 analog peptides derived from the WT1 oncoprotein. *Leukemia*, 2006. 20(11): p. 2025-33.

28. May, R.J., et al., Peptide epitopes from the Wilms' tumor 1 oncoprotein stimulate CD4+ and CD8+ T cells that recognize and kill human malignant mesothelioma tumor cells. *Clin Cancer Res*, 2007. 13(15 Pt 1): p. 4547-55.

29. Krug, L.M., et al., WT1 peptide vaccinations induce CD4 and CD8 T cell immune responses in patients with mesothelioma and non-small cell lung cancer. *Cancer Immunol Immunother*, 2010. 59(10): p. 1467-79.

30. Oka, Y., et al., Induction of WT1 (Wilms' tumor gene)-specific cytotoxic T lymphocytes by WT1 peptide vaccine

and the resultant cancer regression. *Proc Natl Acad Sci EE. UU.*, 2004. 101(38): p. 13885-90.

31. Letsch, A., et al., Effect of vaccination of leukemia patients with a MHC class I peptide of Wilms tumor gene 1 (WT1) peptide with unspecific T helper stimulation on WT1-specific IgM responses and on IgG responses. *J Clin Oncol*, 2008. 26: p. Abstr 3054.

32. Ohno, S., et al., Wilms' tumor 1 (WT1) peptide immunotherapy for gynecological malignancy. *Anticancer Res*, 2009. 29(11): p. 4779-84.

33. Schaed, S.G., et al., T-cell responses against tyrosinase 368-376(370D) peptide in HLA*A0201+ melanoma patients: randomized trial comparing incomplete Freund's adjuvant, granulocyte macrophage colony-stimulating factor, and QS-21 as immunological adjuvants. *Clin Cancer Res*, 2002. 8(5): p. 967-72.

34. Slingluff, C.L., Jr., et al., Clinical and immunologic results of a randomized phase II trial of vaccination using four melanoma peptides either administered in granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in adjuvant or pulsed on dendritic cells. *J Clin Oncol*, 2003. 21(21): p. 4016-26.

35. Faries, M.B., et al., Effect of granulocyte/macrophage colony-stimulating factor on vaccination with an allogeneic whole-cell melanoma vaccine. *Clin Cancer Res*, 2009. 15(22): p. 7029-35.

36. Keilholz, U., et al., A clinical and immunologic phase 2 trial of Wilms tumor gene product 1 (WT1) peptide vaccination in patients with AML and MDS. *Blood*, 2009. 113(26): p. 6541-8.

37. Weber, J., et al., Granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor added to a multi-peptide vaccine for resected Stage II melanoma. *Cancer*, 2003. 97(1): p. 186-200.

38. Keir, M.E., et al., PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol*, 2008. 26: p. 677-704.

39. Freeman, G.J., et al., Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med*, 2000. 192(7): p. 1027-34.

40. Latchman, Y., et al., PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat Immunol*, 2001. 2(3): p. 261-8.

41. Hamanishi, J., et al., Programmed cell death 1 ligand 1 and tumor-infiltrating CD8+ T lymphocytes are prognostic factors of human ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci EE. UU.*, 2007. 104(9): p. 3360-5.

42. Mu, C.Y., et al., High expression of PD-L1 in lung cancer may contribute to poor prognosis and tumor cells immune escape through suppressing tumor infiltrating dendritic cells maturation. *Med Oncol*, 2011. 28(3): p. 682-8.

43. Pardoll, D.M., The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*, 2012. 12(4): p. 252-64.

44. Nivolumab (BMS-936558) Investigator Brochure, Version 12. 2013.

45. Hwang, W.T., et al., Prognostic significance of tumor-infiltrating T cells in ovarian cancer: a meta-analysis. *Gynecol Oncol*, 2012. 124(2): p. 192-8.

46. Matsuzaki, J., et al., Tumor-infiltrating NY-ESO-1-specific CD8+ T cells are negatively regulated by LAG-3 and PD-1 in human ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci EE. UU.*, 2010. 107(17): p. 7875-80.

47. Brahmer, J.R., et al., Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N Engl J Med*, 2012. 366(26): p. 2455-65.

48. Page, D.B., et al., Immune modulation in cancer with antibodies. *Annu Rev Med*, 2014. 65: p. 185-202.

49. Harrison, M.L., et al., Duration of second or greater complete clinical remission in ovarian cancer: exploring potential endpoints for clinical trials. *Gynecol Oncol*, 2007. 106(3): p. 469-75.

50. Juretzka, M., et al., A phase 2 trial of oral imatinib in patients with epithelial ovarian, fallopian tube, or peritoneal carcinoma in second or greater remission. *Eur J Gynaecol Oncol*, 2008. 29(6): p. 568-72.

51. Levine, D., et al., A phase II evaluation of goserelin and bicalutamide in patients with ovarian cancer in second or higher complete clinical disease remission. *Cancer*, 2007. 110(11): p. 2448-56.

52. Walter, S., et al., Multipetide immune response to cancer vaccine IMA901 after single-dose cyclophosphamide associates with longer patient survival. Nat Med, 2012.

53. Wolchok, J.D., et al., Development of ipilimumab: a novel immunotherapeutic approach for the treatment of advanced melanoma. Ann N Y Acad Sci, 2013. 1291(1): p. 1-13.

54. Hodi, F.S., et al., Immunologic and clinical effects of antibody blockade of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 in previously vaccinated cancer patients. Proc Natl Acad Sci EE. UU., 2008. 105(8): p. 3005-10.

55. Quezada, S.A., et al., CTLA4 blockade and GM-CSF combination immunotherapy alters the intratumor balance of effector and regulatory T cells. J Clin Invest, 2006. 116(7): p. 1935-45.

56. Duraiswamy, J., et al., Dual blockade of PD-1 and CTLA-4 combined with tumor vaccine effectively restores Tcell rejection function in tumors. Cancer Res, 2013. 73(12): p. 3591-603.

57. Wolchok, J.D., et al., Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: immune-related response criteria. Clin Cancer Res, 2009. 15(23): p. 7412-20.

58. Dupont, J., et al., Wilms Tumor Gene (WT1) and p53 expression in endometrial carcinomas: a study of 130 cases using a tissue microarray. Gynecol Oncol, 2004. 94(2): p. 449-55.

59. Eisenhauer, E.A., et al., New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). Eur J Cancer, 2009. 45(2): p. 228-47.

60. Maslak, P.G., et al., Vaccination with synthetic analog peptides derived from WT1 oncoprotein induces T-cell responses in patients with complete remission from acute myeloid leukemia. Blood, 2010. 116(2): p. 171-179.

LISTA DE SECUENCIAS

[0141]

<110> Memorial Sloan Kettering Cancer Center

<120> MÉTODOS Y COMPOSICIONES PARA TRATAR EL CÁNCER

<130> P-79550-EP

<140> EP 16867262.4

<141> 2016-11-18

<150> US 62/258134

<151> 2015-11-20

<160> 204

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Arg	Ser	Asp	Glu	Leu	Val	Arg	His	His	Asn	Met	His	Gln	Arg	Asn	Met
1				5					10					15	

Thr Lys Leu

<210> 2

<211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Pro Gly Cys Asn Lys Arg Tyr Phe Lys Leu Ser His Leu Gln Met His
1 5 10 15

Ser Arg Lys His Thr Gly
20

<210> 3

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Leu Val Arg His His Asn Met His Gln Arg Asn Met Thr Lys Leu
1 5 10 15

<210> 4

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Asn Lys Arg Tyr Phe Lys Leu Ser His Leu Gln Met His Ser Arg
1 5 10 15

<210> 5

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Ser Gly Gln Ala Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu Pro Ser Cys
1 5 10 15

Leu Glu Ser

<210> 6

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Gln Ala Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu Pro Ser Cys Leu
1 5 10 15

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu
1 5

<210> 8

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5 <400> 8
 Ser Leu Gly Glu Gln Gln Tyr Ser Val
 1 5
 10 <210> 9
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 15 <400> 9
 Ala Leu Leu Pro Ala Val Pro Ser Leu
 1 5
 20
 <210> 10
 <211> 9
 25 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 10
 30
 Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val
 1 5
 35
 <210> 11
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 11
 40
 Asp Leu Asn Ala Leu Leu Pro Ala Val
 1 5
 45
 <210> 12
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 50 <400> 12
 Gly Val Phe Arg Gly Ile Gln Asp Val
 1 5
 55
 <210> 13
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 60 <400> 13
 Lys Arg Tyr Phe Lys Leu Ser His Leu
 1 5
 65
 <210>

<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 14

Ala Leu Leu Leu Arg Thr Pro Tyr Ser
1 5

<210> 15
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 15

Cys Met Thr Trp Met Gln Met Asn Leu
1 5

<210> 16
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 16

Asn Met His Gln Arg Asn Met Thr Lys
1 5

<210> 17
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 17

Gln Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys
1 5

<210> 18
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 18

Phe Met Cys Ala Tyr Pro Gly Cys Asn Lys
1 5 10

<210> 19
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 19

Lys Leu Ser His Leu Gln Met His Ser Arg
1 5 10

$$\begin{aligned} \langle 210 \rangle & 20 \\ \langle 211 \rangle & 9 \end{aligned}$$

<212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 20

Asn Gln Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu
 1 5

<210> 21
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens mutado

<400> 21

Asn Leu Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu
 1 5

<210> 22
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens mutado

<400> 22

Asn Tyr Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu
 1 5

<210> 23
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 23

Cys Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly
 1 5 10 15

<210> 24
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens mutado

<400> 24

Cys Met Thr Trp Asn Leu Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly
 1 5 10 15

<210> 25
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 25

Trp Asn Gln Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val Ala Ala
 1 5 10 15

<210> 26
 <211> 15

ES 2 926 386 T3

<212> PRT
<213> Homo sapiens mutado

<400> 26

Trp Asn Leu Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val Ala Ala
1 5 10 15

<210> 27
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 27

Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val
1 5 10 15

<210> 28
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 28

Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val Ala
1 5 10 15

<210> 29
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 29

Cys Met Thr Trp Asn Leu Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly
1 5 10 15

<210> 30
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens mutado

<400> 30

Met Thr Trp Asn Leu Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val
1 5 10 15

<210> 31
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens mutado

<400> 31

Thr Trp Asn Leu Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val Ala
1 5 10 15

<210> 32
<211> 15

ES 2 926 386 T3

<212> PRT
<213> Homo sapiens mutado

<400> 32

Trp Asn Leu Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val Ala Ala
1 5 10 15

<210> 33
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 33

Met Thr Trp Asn Tyr Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val
1 5 10 15

<210> 34
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens mutado

<400> 34

Thr Trp Asn Tyr Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val Ala
1 5 10 15

<210> 35
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 35

Cys Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val
1 5 10 15

Ala

<210> 36
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 36

Trp Asn Gln Met Asn Leu Gly Ala Thr
1 5

<210> 37
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 37

Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu Gly Ala
1 5

<210> 38
<211> 9

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 38

5

Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu Gly
1 5

10

<210> 39
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens mutado

15

<400> 39

Cys Met Thr Trp Asn Leu Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val
1 5 10 15

20

Ala

<210> 40
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens mutado

25

<400> 40

30

Trp Asn Leu Met Asn Leu Gly Ala Thr
1 5

35

<210> 41
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens mutado

<400> 41

40

Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly
1 5

45

<210> 42
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

50

<400> 42

Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu Gly
1 5

55

<210> 43
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens mutado

60

<400> 43

65

Cys Met Thr Trp Asn Tyr Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val
 1 5 10 15

5 Ala

<210> 44
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 44

10

Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly
 1 5

15

<210> 45
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 45

20

Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu Gly
 1 5

25

<210> 46
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 46

30

Gly Ala Leu Arg Asn Pro Thr Ala Cys
 1 5

35

<210> 47
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 47

40

Gly Tyr Leu Arg Asn Pro Thr Ala Cys
 1 5

45

<210> 48
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 48

50

Gly Ala Leu Arg Asn Pro Thr Ala Leu
 1 5

55

<210> 49

60

65

<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 49

Tyr Ala Leu Arg Asn Pro Thr Ala Cys
1 5

<210> 50
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 50

Gly Leu Leu Arg Asn Pro Thr Ala Cys
1 5

<210> 51
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 51

Arg Gln Arg Pro His Pro Gly Ala Leu
1 5

<210> 52
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 52

Arg Tyr Arg Pro His Pro Gly Ala Leu
1 5

<210> 53
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 53

Tyr Gln Arg Pro His Pro Gly Ala Leu
1 5

<210> 54
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 54

Arg Leu Arg Pro His Pro Gly Ala Leu
1 5

$$\begin{aligned} \langle 210 \rangle & 55 \\ \langle 211 \rangle & 9 \end{aligned}$$

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 55

Arg Ile Arg Pro His Pro Gly Ala Leu
1 5

<210> 56

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 56

Gly Ala Leu Arg Asn Pro Thr Ala Cys
1 5

<210> 57

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 57

Gly Ala Leu Arg Asn Pro Thr Ala Leu
1 5

<210> 58

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 58

Arg Gln Arg Pro His Pro Gly Ala Leu
1 5

<210> 59

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 59

Arg Leu Arg Pro His Pro Gly Ala Leu
1 5

<210> 60

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

Arg Ile Arg Pro His Pro Gly Ala Leu
1 5

ES 2 926 386 T3

<210> 61
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 61
 Gln Phe Pro Asn His Ser Phe Lys His Glu Asp Pro Met Gly Gln
 1 5 10 15
 10
 <210> 62
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 15
 <400> 62
 Gln Phe Pro Asn His Ser Phe Lys His Glu Asp Pro Met Gly Gln
 1 5 10 15
 20
 <210> 63
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25
 <400> 63
 His Ser Phe Lys His Glu Asp Pro Met
 1 5
 30
 <210> 64
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35
 <400> 64
 His Ser Phe Lys His Glu Asp Pro Tyr
 1 5
 40
 <210> 65
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 45
 <400> 65
 His Ser Phe Lys His Glu Asp Pro Lys
 1 5
 50
 <210> 66
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 55
 <400> 66
 Lys Arg Pro Phe Met Cys Ala Tyr Pro Gly Cys Tyr Lys Arg Tyr
 1 5 10 15
 60
 65

ES 2 926 386 T3

<210> 67
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 67

 Ser Glu Lys Arg Pro Phe Met Cys Ala Tyr Pro Gly Cys Asn Lys
 1 5 10 15
 10

 <210> 68
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 15
 <400> 68

 Lys Arg Pro Phe Met Cys Ala Tyr Pro Gly Cys Asn Lys
 1 5 10
 20

 <210> 69
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25
 <400> 69

 Phe Met Cys Ala Tyr Pro Gly Cys Asn
 1 5
 30

 <210> 70
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35
 <400> 70

 Phe Met Cys Ala Tyr Pro Gly Cys Tyr
 1 5
 40

 <210> 71
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 45
 <400> 71

 Phe Met Cys Ala Tyr Pro Gly Cys Lys
 1 5
 50

 <210> 72
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 55
 <400> 72

 Arg Gln Arg Pro His Pro Gly Ala Leu
 1 5
 60

 65

<210> 73
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 73

 Gly Ala Leu Arg Asn Pro Thr Ala Cys
 1 5
 10

 <210> 74
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 15
 <400> 74

 Pro Leu Pro His Phe Pro Pro Ser Leu
 1 5
 20

 <210> 75
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25
 <400> 75

 His Phe Pro Pro Ser Leu Pro Pro Thr
 1 5
 30

 <210> 76
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35
 <400> 76

 Thr His Ser Pro Thr His Pro Pro Arg
 1 5
 40

 <210> 77
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 45
 <400> 77

 Ala Ile Leu Asp Phe Leu Leu Leu Gln
 1 5
 50

 <210> 78
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 55
 <400> 78

 Pro Gly Cys Leu Gln Gln Pro Glu Gln
 1 5
 60

 <210> 79
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 65
 <400> 79

 Thr Ser Pro Thr Thr Ser Thr Thr Thr Thr
 1 5

<210> 79
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 79

 Pro Gly Cys Leu Gln Gln Pro Glu Gln Gln Gly
 1 5 10
 10

 <210> 80
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 15
 <400> 80

 Lys Leu Gly Ala Ala Glu Ala Ser Ala
 1 5
 20

 <210> 81
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25
 <400> 81

 Ala Ser Gly Ser Glu Pro Gln Gln Met
 1 5
 30

 <210> 82
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35
 <400> 82

 Arg Asp Leu Asn Ala Leu Leu Pro Ala Val
 1 5 10
 40

 <210> 83
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 45
 <400> 83

 Gly Gly Cys Ala Leu Pro Val Ser Gly Ala
 1 5 10
 50

 <210> 84
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 55
 <400> 84

 Gly Ala Ala Gln Trp Ala Pro Val Leu
 1 5
 60

 65

<210> 85
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 85

 Leu Asp Phe Ala Pro Pro Gly Ala Ser
 1 5
 10

 <210> 86
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 15
 <400> 86

 Leu Asp Phe Ala Pro Pro Gly Ala Ser Ala Tyr
 1 5 10
 20

 <210> 87
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25
 <400> 87

 Ser Ala Tyr Gly Ser Leu Gly Gly Pro
 1 5
 30

 <210> 88
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35
 <400> 88

 Pro Ala Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro
 1 5
 40

 <210> 89
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 45
 <400> 89

 Ala Cys Arg Tyr Gly Pro Phe Gly Pro
 1 5
 50

 <210> 90
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 55
 <400> 90

 Ser Gly Gln Ala Arg Met Phe Pro Asn
 1 5
 60

 <210> 91
 65

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5 <400> 91

 Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu
 1 5
 10
 <210> 92
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 15 <400> 92

 Pro Ser Cys Leu Glu Ser Gln Pro Ala
 1 5
 20
 <210> 93
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25 <400> 93

 Asn Gln Gly Tyr Ser Thr Val Thr Phe
 1 5
 30
 <210> 94
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35 <400> 94

 His His Ala Ala Gln Phe Pro Asn His
 1 5
 40
 <210> 95
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 45 <400> 95

 His Ser Phe Lys His Glu Asp Pro Met
 1 5
 50
 <210> 96
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 55 <400> 96

 Cys His Thr Pro Thr Asp Ser Cys Thr
 1 5
 60
 <210> 97
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 65

<400> 97

Cys Thr Gly Ser Gln Ala Leu Leu Leu
1 5

<210> 98

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 98

Thr Asp Ser Cys Thr Gly Ser Gln Ala
1 5

<210> 99

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 99

Arg Thr Pro Tyr Ser Ser Asp Asn Leu
1 5

<210> 100

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 100

Asn Leu Tyr Gln Met Thr Ser Gln Leu Glu
1 5 10

<210> 101

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 101

Trp Asn Gln Met Asn Leu Gly Ala Thr
1 5

<210> 102

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens mutado

<400> 102

Asn Gln Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu
1 5

<210> 103

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 103

	Trp Asn Gln Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys
	1 5 10
5	<210> 104 <211> 15 <212> PRT <213> Homo sapiens
10	<400> 104
	Cys Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly
	1 5 10 15
15	<210> 105 <211> 9 <212> PRT <213> Homo sapiens
20	<400> 105
	Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val
	1 5
25	<210> 106 <211> 10 <212> PRT <213> Homo sapiens
30	<400> 106
	Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val Ala Ala
	1 5 10
35	<210> 107 <211> 8 <212> PRT <213> Homo sapiens
40	<400> 107
	Thr Leu Gly Val Ala Ala Gly Ser
	1 5
45	<210> 108 <211> 9 <212> PRT <213> Homo sapiens
50	<400> 108
	Gly Tyr Glu Ser Asp Asn His Thr Thr
	1 5
55	<210> 109 <211> 10 <212> PRT <213> Homo sapiens
60	<400> 109
	Phe Met Cys Ala Tyr Pro Gly Cys Asn Lys
	1 5 10
65	

<210> 110
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 110

 Lys Arg Pro Phe Met Cys Ala Tyr Pro Gly Cys
 1 5 10
 10

 <210> 111
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 15
 <400> 111

 Arg Lys Phe Ser Arg Ser Asp His Leu
 1 5
 20

 <210> 112
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25
 <400> 112

 Leu Lys Thr His Thr Thr Arg Thr His Thr
 1 5 10
 30
 35
 <210> 113
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 40
 <400> 113

 Asn Met His Gln Arg Asn His Thr Lys Leu
 1 5 10
 45

 <210> 114
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 50
 <400> 114

 Leu Leu Ala Ala Ile Leu Asp Phe Leu
 1 5
 55

 <210> 115
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 60
 <400> 115
 65

5 Cys Leu Gln Gln Pro Glu Gln Gln Gly Val
 1 5 10
 <210> 116
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 10
 <400> 116

 15 Asp Leu Asn Ala Leu Leu Pro Ala Val
 1 5
 <210> 117
 <211> 9
 <212> PRT
 20 <213> Homo sapiens
 <400> 117

 25 Ala Leu Leu Pro Ala Val Pro Ser Leu
 1 5
 <210> 118
 <211> 9
 30 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 118

 35 Val Leu Asp Phe Ala Pro Pro Gly Ala
 1 5
 <210> 119
 40 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 119
 45
 Cys Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu
 1 5
 50 <210> 120
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 55 <400> 120

 Gln Ala Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr
 1 5 10
 60
 <210> 121
 <211> 10
 <212> PRT
 65 <213> Homo sapiens

<400> 121

5 Ala Leu Arg Asn Pro Thr Ala Cys Pro Leu
 1 5 10

<210> 122

<211> 9

<212> PRT

10 <213> Homo sapiens

<400> 122

15 Tyr Pro Gly Cys Asn Lys Arg Tyr Phe
 1 5

<210> 123

<211> 15

20 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 123

25 Ala Pro Val Leu Asp Phe Ala Pro Pro Gly Ala Ser Ala Tyr Gly
 1 5 10 15

<210> 124

30 <211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens mutado

<400> 124

35 Tyr Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu
 1 5

<210> 125

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens mutado

45 <400> 125

 Ser Gly Gln Ala Tyr Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu Pro Ser Cys
 1 5 10 15

50

 Leu Glu Ser

<210> 126

55 <211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens mutado

<400> 126

60

 Gln Ala Tyr Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu Pro Ser Cys Leu
 1 5 10 15

65

<210> 127

<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

5 <400> 127

Tyr Leu Gly Glu Gln Gln Tyr Ser Val
1 5

10 <210> 128
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15 <400> 128

Tyr Leu Leu Pro Ala Val Pro Ser Leu
1 5

20

<210> 129
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 129

Tyr Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val
1 5

35

<210>	130
<211>	9
<212>	PRT
<213>	Homo sapiens

<400> 130

Tyr Leu Asn Ala Leu Leu Pro Ala Val
1 5

45

<210>	131
<211>	9
<212>	PRT
<213>	Homo sapiens

<400> 131

Gly Leu Arg Arg Gly Ile Gln Asp Val
1 5

55 <210> 132
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 132

Lys Leu Tyr Phe Lys Leu Ser His Leu
1 5

65 $\langle 210 \rangle$ 133

<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

5 <400> 133

Ala Leu Leu Leu Arg Thr Pro Tyr Val
1 5

10 <210> 134
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15 <400> 134

Tyr Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu
1 5

20

<210>	135
<211>	9
<212>	PRT
<213>	Homo sapiens

<400> 135

Asn Met Tyr Gln Arg Asn Met Thr Lys
1 5

35

<210>	136
<211>	9
<212>	PRT
<213>	Homo sapiens

<400> 136

Asn Met His Gln Arg Val Met Thr Lys
1 5

45

<210>	137
<211>	9
<212>	PRT
<213>	Homo sapiens

<400> 137

50 Asn Met Tyr Gln Arg Val Met Thr Lys
 1 5

55 <210> 138
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 138

Gln Met Tyr Leu Gly Ala Thr Leu Lys
1 5

65 <210> 139
 <211> 9

<212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 139

5

Gln Met Asn Leu Gly Val Thr Leu Lys
 1 5

10

<210> 140
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15

<400> 140

Gln Met Tyr Leu Gly Val Thr Leu Lys
 1 5

20

<210> 141
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

25

<400> 141

Phe Met Tyr Ala Tyr Pro Gly Cys Asn Lys
 1 5 10

30

<210> 142
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

35

<400> 142

Phe Met Cys Ala Tyr Pro Phe Cys Asn Lys
 1 5 10

40

<210> 143
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

45

<400> 143

50

Phe Met Tyr Ala Tyr Pro Phe Cys Asn Lys
 1 5 10

55

<210> 144
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 144

60

Lys Leu Tyr His Leu Gln Met His Ser Arg
 1 5 10

65

<210> 145
 <211> 10

<212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 145

5

Lys Leu Ser His Leu Gln Met His Ser Lys

10

1

5

10

<210> 146
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15

<400> 146

20

Lys Leu Tyr His Leu Gln Met His Ser Lys
1 5 10

<210> 147
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

25

<400> 147

30

Asn Gln Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu
1 5

<210> 148
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

35

<400> 148

40

Asn Leu Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu
1 5

<210> 149
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

45

<400> 149

50

Asn Tyr Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu
1 5

55

<210> 150
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

60

<400> 150

Cys Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly
1 5 10 15

65

ES 2 926 386 T3

<210> 151
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 151

 Cys Met Thr Trp Asn Leu Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly
 1 5 10 15
 10

 <210> 152
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 15
 <400> 152

 Trp Asn Leu Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val Ala Ala
 1 5 10 15
 20

 <210> 153
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25
 <400> 153

 Trp Asn Gln Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val Ala Ala
 1 5 10 15
 30

 <210> 154
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35
 <400> 154

 Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val
 1 5 10 15
 40

 <210> 155
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 45
 <400> 155

 Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val Ala
 1 5 10 15
 50

 <210> 156
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 55
 <400> 156

 Cys Met Thr Trp Asn Leu Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly
 1 5 10 15
 60

 Cys Met Thr Trp Asn Leu Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly
 1 5 10 15
 65

ES 2 926 386 T3

<210> 157
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 157

 Met Thr Trp Asn Leu Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val
 1 5 10 15
 10

 <210> 158
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 15
 <400> 158

 Thr Trp Asn Leu Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val Ala
 1 5 10 15
 20

 <210> 159
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25
 <400> 159

 Trp Asn Leu Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val Ala Ala
 1 5 10 15
 30

 <210> 160
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35
 <400> 160

 Met Thr Trp Asn Tyr Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val
 1 5 10 15
 40

 <210> 161
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 45
 <400> 161

 Thr Trp Asn Tyr Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val Ala
 1 5 10 15
 50

 <210> 162
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 55
 <400> 162

 60

 65

ES 2 926 386 T3

Cys Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val
1 5 10 15

5

Ala

<210> 163

<211> 9

<212> PRT

10

<213> Homo sapiens

<400> 163

15

Trp Asn Gln Met Asn Leu Gly Ala Thr
1 5

<210> 164

<211> 9

20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 164

25

Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu Gly Ala
1 5

<210> 165

30

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 165

35

Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu Gly
1 5

<210> 166

40

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 166

45

Cys Met Thr Trp Asn Leu Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val
1 5 10 15

50

Ala

<210> 167

<211> 9

55

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 167

60

Trp Asn Leu Met Asn Leu Gly Ala Thr
1 5

<210> 168

65

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 168

5 Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly
1 5

<210> 169

10 <211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 169

15 Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu Gly
1 5

<210> 170

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 170

25 Cys Met Thr Trp Asn Tyr Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val
1 5 10 15

30 Ala

<210> 171

<211> 9

35 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 171

40 Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly
1 5

<210> 172

45 <211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 172

50 Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu Gly
1 5

<210> 173

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 173

60 Gly Ala Leu Arg Asn Pro Thr Ala Cys
1 5

65

<210> 174
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 174

 Gly Tyr Leu Arg Asn Pro Thr Ala Cys
 1 5
 10
 <210> 175
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 15
 <400> 175

 Gly Ala Leu Arg Asn Pro Thr Ala Leu
 1 5
 20
 <210> 176
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25
 <400> 176

 Tyr Ala Leu Arg Asn Pro Thr Ala Cys
 1 5
 30
 <210> 177
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35
 <400> 177

 Gly Leu Leu Arg Asn Pro Thr Ala Cys
 1 5
 40
 <210> 178
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 45
 <400> 178

 Arg Gln Arg Pro His Pro Gly Ala Leu
 1 5
 50
 <210> 179
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 55
 <400> 179

 Arg Tyr Arg Pro His Pro Gly Ala Leu
 1 5
 60
 <210> 180

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5 <400> 180

Tyr Gln Arg Pro His Pro Gly Ala Leu
 1 5

10

<210> 181
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15

<400> 181

Arg Leu Arg Pro His Pro Gly Ala Leu
 1 5

20

<210> 182
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

25

<400> 182

Arg Ile Arg Pro His Pro Gly Ala Leu
 1 5

30

<210> 183
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

35

<400> 183

Gly Ala Leu Arg Asn Pro Thr Ala Cys
 1 5

40

<210> 184
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

45

<400> 184

Gly Ala Leu Arg Asn Pro Thr Ala Leu

50

1 5

55

<210> 185
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

60

<400> 185

Arg Gln Arg Pro His Pro Gly Ala Leu
 1 5

65

ES 2 926 386 T3

<210> 186
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 186

 Arg Leu Arg Pro His Pro Gly Ala Leu
 1 5
 10

 <210> 187
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 15
 <400> 187

 Arg Ile Arg Pro His Pro Gly Ala Leu
 1 5
 20

 <210> 188
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25
 <400> 188

 Gln Phe Pro Asn His Ser Phe Lys His Glu Asp Pro Met Gly Gln
 1 5 10 15
 30

 <210> 189
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 35
 <400> 189

 Gln Phe Pro Asn His Ser Phe Lys His Glu Asp Pro Met Gly Gln
 1 5 10 15
 40

 <210> 190
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 45
 <400> 190

 His Ser Phe Lys His Glu Asp Pro Met
 1 5
 50

 <210> 191
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 55
 <400> 191

 His Ser Phe Lys His Glu Asp Pro Tyr
 1 5
 60

 His Ser Phe Lys His Glu Asp Pro Tyr
 1 5
 65

5 <210> 192
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 192

 10 His Ser Phe Lys His Glu Asp Pro Lys
 1 5

 15 <210> 193
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 193

 20 Lys Arg Pro Phe Met Cys Ala Tyr Pro Gly Cys Tyr Lys Arg Tyr
 1 5 10 15

 25 <210> 194
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 194

 30 Ser Glu Lys Arg Pro Phe Met Cys Ala Tyr Pro Gly Cys Asn Lys
 1 5 10 15

 35 <210> 195
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 195

 40 Lys Arg Pro Phe Met Cys Ala Tyr Pro Gly Cys Asn Lys
 1 5 10

 45 <210> 196
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 196

 50 Phe Met Cys Ala Tyr Pro Gly Cys Asn
 1 5

 55 <210> 197
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 197

 60 Phe Met Cys Ala Tyr Pro Gly Cys Tyr
 1 5

 65 <210> 198

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 198

Phe Met Cys Ala Tyr Pro Gly Cys Lys
 1 5

<210> 199
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 199

Met Gly Ser Asp Val Arg Asp Leu Asn Ala Leu Leu Pro Ala Val Pro
 1 5 10 15

Ser Leu Gly Gly Gly Gly Cys Ala Leu Pro Val Ser Gly Ala Ala
 20 25 30

Gln Trp Ala Pro Val Leu Asp Phe Ala Pro Pro Gly Ala Ser Ala Tyr
 35 40 45

Gly Ser Leu Gly Gly Pro Ala Pro Pro Pro Ala Pro Pro Pro Pro
 50 55 60

Pro Pro Pro Pro His Ser Phe Ile Lys Gln Glu Pro Ser Trp Gly Gly
 65 70 75 80

Ala Glu Pro His Glu Glu Gln Cys Leu Ser Ala Phe Thr Val His Phe
 85 90 95

Ser Gly Gln Phe Thr Gly Thr Ala Gly Ala Cys Arg Tyr Gly Pro Phe

ES 2 926 386 T3

	100	105	110
5	Gly Pro Pro Pro Pro Ser Gln Ala Ser Ser Gly Gln Ala Arg Met Phe 115 120 125		
10	Pro Asn Ala Pro Tyr Leu Pro Ser Cys Leu Glu Ser Gln Pro Ala Ile 130 135 140		
15	Arg Asn Gln Gly Tyr Ser Thr Val Thr Phe Asp Gly Thr Pro Ser Tyr 145 150 155 160		
20	Gly His Thr Pro Ser His His Ala Ala Gln Phe Pro Asn His Ser Phe 165 170 175		
25	Lys His Glu Asp Pro Met Gly Gln Gln Gly Ser Leu Gly Glu Gln Gln 180 185 190		
30	Tyr Ser Val Pro Pro Pro Val Tyr Gly Cys His Thr Pro Thr Asp Ser 195 200 205		
35	Cys Thr Gly Ser Gln Ala Leu Leu Leu Arg Thr Pro Tyr Ser Ser Asp 210 215 220		
40	Asn Leu Tyr Gln Met Thr Ser Gln Leu Glu Cys Met Thr Trp Asn Gln 225 230 235 240		
45	Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val Ala Ala Gly Ser Ser Ser 245 250 255		
50	Ser Val Lys Trp Thr Glu Gly Gln Ser Asn His Ser Thr Gly Tyr Glu 260 265 270		
55	Ser Asp Asn His Thr Thr Pro Ile Leu Cys Gly Ala Gln Tyr Arg Ile 275 280 285		
60	His Thr His Gly Val Phe Arg Gly Ile Gln Asp Val Arg Arg Val Pro 290 295 300		
65	Gly Val Ala Pro Thr Leu Val Arg Ser Ala Ser Glu Thr Ser Glu Lys 305 310 315 320		
	Arg Pro Phe Met Cys Ala Tyr Pro Gly Cys Asn Lys Arg Tyr Phe Lys 325 330 335		
	Leu Ser His Leu Gln Met His Ser Arg Lys His Thr Gly Glu Lys Pro 340 345 350		

Tyr Gln Cys Asp Phe Lys Asp Cys Glu Arg Arg Phe Ser Arg Ser Asp
 355 360 365
 5
 Gln Leu Lys Arg His Gln Arg Arg His Thr Gly Val Lys Pro Phe Gln
 370 375 380
 10
 Cys Lys Thr Cys Gln Arg Lys Phe Ser Arg Ser Asp His Leu Lys Thr
 385 390 395 400
 15
 His Thr Arg Thr His Thr Gly Lys Thr Ser Glu Lys Pro Phe Ser Cys
 405 410 415
 20
 Arg Trp Pro Ser Cys Gln Lys Lys Phe Ala Arg Ser Asp Glu Leu Val
 420 425 430
 25
 Arg His His Asn Met His Gln Arg Asn Met Thr Lys Leu Gln Leu Ala
 435 440 445
 30
 Leu
 <210> 200
 <211> 453
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 200
 35
 Ala Ala Glu Ala Ser Ala Glu Arg Leu Gln Gly Arg Arg Ser Arg Gly
 1 5 10 15
 40
 Ala Ser Gly Ser Glu Pro Gln Gln Met Gly Ser Asp Val Arg Asp Leu
 20 25 30
 45
 Asn Ala Leu Leu Pro Ala Val Pro Ser Leu Gly Gly Gly Gly Gly Cys
 35 40 45
 50
 Ala Leu Pro Val Ser Gly Ala Ala Gln Trp Ala Pro Val Leu Asp Phe
 50 55 60
 55
 Ala Pro Pro Gly Ala Ser Ala Tyr Gly Ser Leu Gly Gly Pro Ala Pro
 65 70 75 80
 60
 Pro Pro Ala Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro His Ser Phe Ile
 85 90 95
 65
 Lys Gln Glu Pro Ser Trp Gly Gly Ala Glu Pro His Glu Glu Gln Cys
 100 105 110

ES 2 926 386 T3

	Leu	Ser	Ala	Phe	Thr	Val	His	Phe	Ser	Gly	Gln	Phe	Thr	Gly	Thr	Ala	
			115					120					125				
5	Gly	Ala	Cys	Arg	Tyr	Gly	Pro	Phe	Gly	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	Gln	Ala	
		130					135					140					
10	Ser	Ser	Gly	Gln	Ala	Arg	Met	Phe	Pro	Asn	Ala	Pro	Tyr	Leu	Pro	Ser	
	145					150					155					160	
	Cys	Leu	Glu	Ser	Gln	Pro	Ala	Ile	Arg	Asn	Gln	Gly	Tyr	Ser	Thr	Val	
					165					170					175		
15	Thr	Phe	Asp	Gly	Thr	Pro	Ser	Tyr	Gly	His	Thr	Pro	Ser	His	His	Ala	
				180					185					190			
20	Ala	Gln	Phe	Pro	Asn	His	Ser	Phe	Lys	His	Glu	Asp	Pro	Met	Gly	Gln	
			195					200					205				
25	Gln	Gly	Ser	Leu	Gly	Glu	Gln	Gln	Tyr	Ser	Val	Pro	Pro	Pro	Val	Tyr	
		210					215					220					
	Gly	Cys	His	Thr	Pro	Thr	Asp	Ser	Cys	Thr	Gly	Ser	Gln	Ala	Leu	Leu	
	225					230					235					240	
30	Leu	Arg	Thr	Pro	Tyr	Ser	Ser	Asp	Asn	Leu	Tyr	Gln	Met	Thr	Ser	Gln	
					245					250					255		
35	Leu	Glu	Cys	Met	Thr	Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	
			260						265					270			
40	Gly	His	Ser	Thr	Gly	Tyr	Glu	Ser	Asp	Asn	His	Thr	Thr	Pro	Ile	Leu	
			275					280					285				
	Cys	Gly	Ala	Gln	Tyr	Arg	Ile	His	Thr	His	Gly	Val	Phe	Arg	Gly	Ile	
		290					295					300					
45	Gln	Asp	Val	Arg	Arg	Val	Pro	Gly	Val	Ala	Pro	Thr	Leu	Val	Arg	Ser	
	305					310					315					320	
50	Ala	Ser	Glu	Thr	Ser	Glu	Lys	Arg	Pro	Phe	Met	Cys	Ala	Tyr	Pro	Gly	
					325					330					335		
	Cys	Asn	Lys	Arg	Tyr	Phe	Lys	Leu	Ser	His	Leu	Gln	Met	His	Ser	Arg	
			340						345					350			
55	Lys	His	Thr	Gly	Glu	Lys	Pro	Tyr	Gln	Cys	Asp	Phe	Lys	Asp	Cys	Glu	
			355					360					365				

Arg Arg Phe Ser Arg Ser Asp Gln Leu Lys Arg His Gln Arg Arg His
 370 375 380
 5 Thr Gly Val Lys Pro Phe Gln Cys Lys Thr Cys Gln Arg Lys Phe Ser
 385 390 395 400
 10 Arg Ser Asp His Leu Lys Thr His Thr Arg Thr His Thr Gly Glu Lys
 405 410 415
 15 Pro Phe Ser Cys Arg Trp Pro Ser Cys Gln Lys Lys Phe Ala Arg Ser
 420 425 430
 20 Asp Glu Leu Val Arg His His Asn Met His Gln Arg Asn Met Thr Lys
 435 440 445
 25 Leu Gln Leu Ala Leu
 450
 <210> 201
 <211> 514
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 201
 30 Met Gln Asp Pro Ala Ser Thr Cys Val Pro Glu Pro Ala Ser Gln His
 1 5 10 15
 35 Thr Leu Arg Ser Gly Pro Gly Cys Leu Gln Gln Pro Glu Gln Gln Gly
 20 25 30
 40 Val Arg Asp Pro Gly Gly Ile Trp Ala Lys Leu Gly Ala Ala Glu Ala
 35 40 45
 45 Ser Ala Glu Arg Leu Gln Gly Arg Arg Ser Arg Gly Ala Ser Gly Ser
 50 55 60
 50 Glu Pro Gln Gln Met Gly Ser Asp Val Arg Asp Leu Asn Ala Leu Leu
 65 70 75 80
 55 Pro Ala Val Pro Ser Leu Gly Gly Gly Gly Gly Cys Ala Leu Pro Val
 85 90 95
 60 Ser Gly Ala Ala Gln Trp Ala Pro Val Leu Asp Phe Ala Pro Pro Gly
 100 105 110
 65 Ala Ser Ala Tyr Gly Ser Leu Gly Gly Pro Ala Pro Pro Pro Ala Pro
 115 120 125

ES 2 926 386 T3

	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	His	Ser	Phe	Ile	Lys	Gln	Glu	Pro	
	130						135					140					
5	Ser	Trp	Gly	Gly	Ala	Glu	Pro	His	Glu	Glu	Gln	Cys	Leu	Ser	Ala	Phe	
	145					150					155					160	
10	Thr	Val	His	Phe	Ser	Gly	Gln	Phe	Thr	Gly	Thr	Ala	Gly	Ala	Cys	Arg	
					165					170					175		
15	Tyr	Gly	Pro	Phe	Gly	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	Gln	Ala	Ser	Ser	Gly	Gln	
				180					185					190			
20	Ala	Arg	Met	Phe	Pro	Asn	Ala	Pro	Tyr	Leu	Pro	Ser	Cys	Leu	Glu	Ser	
			195					200					205				
25	Gln	Pro	Ala	Ile	Arg	Asn	Gln	Gly	Tyr	Ser	Thr	Val	Thr	Phe	Asp	Gly	
	210						215					220					
30	Thr	Pro	Ser	Tyr	Gly	His	Thr	Pro	Ser	His	His	Ala	Ala	Gln	Phe	Pro	
	225					230				235						240	
35	Asn	His	Ser	Phe	Lys	His	Glu	Asp	Pro	Met	Gly	Gln	Gln	Gly	Ser	Leu	
					245					250					255		
40	Gly	Glu	Gln	Gln	Tyr	Ser	Val	Pro	Pro	Pro	Val	Tyr	Gly	Cys	His	Thr	
				260					265					270			
45	Pro	Thr	Asp	Ser	Cys	Thr	Gly	Ser	Gln	Ala	Leu	Leu	Leu	Arg	Thr	Pro	
			275					280						285			
50	Tyr	Ser	Ser	Asp	Asn	Leu	Tyr	Gln	Met	Thr	Ser	Gln	Leu	Glu	Cys	Met	
	290						295					300					
55	Thr	Trp	Asn	Gln	Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val	Ala	Ala	
	305					310					315					320	
60	Gly	Ser	Ser	Ser	Ser	Val	Lys	Trp	Thr	Glu	Gly	Gln	Ser	Asn	His	Ser	
					325					330					335		
65	Thr	Gly	Tyr	Glu	Ser	Asp	Asn	His	Thr	Thr	Pro	Ile	Leu	Cys	Gly	Ala	
				340				345						350			
70	Gln	Tyr	Arg	Ile	His	Thr	His	Gly	Val	Phe	Arg	Gly	Ile	Gln	Asp	Val	
			355					360					365				
75	Arg	Arg	Val	Pro	Gly	Val	Ala	Pro	Thr	Leu	Val	Arg	Ser	Ala	Ser	Glu	
	370						375					380					

Thr Ser Glu Lys Arg Pro Phe Met Cys Ala Tyr Pro Gly Cys Asn Lys
 385 390 395 400
 5 Arg Tyr Phe Lys Leu Ser His Leu Gln Met His Ser Arg Lys His Thr
 405 410 415
 10 Gly Glu Lys Pro Tyr Gln Cys Asp Phe Lys Asp Cys Glu Arg Arg Phe
 420 425 430
 15 Ser Arg Ser Asp Gln Leu Lys Arg His Gln Arg Arg His Thr Gly Val
 435 440 445
 20 Lys Pro Phe Gln Cys Lys Thr Cys Gln Arg Lys Phe Ser Arg Ser Asp
 450 455 460
 25 His Leu Lys Thr His Thr Arg Thr His Thr Gly Glu Lys Pro Phe Ser
 465 470 475 480
 30 Cys Arg Trp Pro Ser Cys Gln Lys Lys Phe Ala Arg Ser Asp Glu Leu
 485 490 495
 35 Val Arg His His Asn Met His Gln Arg Asn Met Thr Lys Leu Gln Leu
 500 505 510
 40 Ala Leu
 <210> 202
 <211> 168
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 202
 45 Met Gly His His His His His His His His His His Ser Ser Gly His
 1 5 10 15
 50 Ile Glu Gly Arg His Met Arg Arg Val Pro Gly Val Ala Pro Thr Leu
 20 25 30
 55 Val Arg Ser Ala Ser Glu Thr Ser Glu Lys Arg Pro Phe Met Cys Ala
 35 40 45
 60 Tyr Pro Gly Cys Asn Lys Arg Tyr Phe Lys Leu Ser His Leu Gln Met
 50 55 60
 65 His Ser Arg Lys His Thr Gly Glu Lys Pro Tyr Gln Cys Asp Phe Lys
 65 70 75 80

ES 2 926 386 T3

Asp Cys Glu Arg Arg Phe Phe Arg Ser Asp Gln Leu Lys Arg His Gln
 85 90 95
 5 Arg Arg His Thr Gly Val Lys Pro Phe Gln Cys Lys Thr Cys Gln Arg
 100 105 110
 10 Lys Phe Ser Arg Ser Asp His Leu Lys Thr His Thr Arg Thr His Thr
 115 120 125
 15 Gly Glu Lys Pro Phe Ser Cys Arg Trp Pro Ser Cys Gln Lys Lys Phe
 130 135 140
 Ala Arg Ser Asp Glu Leu Val Arg His His Asn Met His Gln Arg Asn
 145 150 155 160
 20 Met Thr Lys Leu Gln Leu Ala Leu
 165
 25 <210> 203
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 30 <400> 203
 Gly Ala Thr Leu Lys Gly Val Ala Ala Gly Ser Ser Ser Ser Val Lys
 1 5 10 15
 35 Trp Thr
 40 <210> 204
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 204
 45 Leu Lys Gly Val Ala Ala Gly Ser Ser Ser Ser Val Lys Trp Thr
 1 5 10 15

REIVINDICACIONES

1. La combinación de

- 5 (a) los cuatro péptidos WT1 YMFPNAPYL (SEQ ID NO: 124), RSEDLVRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO: 1), PGCNKRYFKLSHLQMHRSRKHTG (SEQ ID NO: 2) y SGQAYMFPNAPYLPSCLES (SEQ ID NO: 125), y
(b) al menos un inhibidor de PD1 de anticuerpos,

10 para usar en el tratamiento, reducción de la incidencia o inducción de una respuesta inmunitaria contra un cáncer que expresa WT1.

15 2. La combinación para uso de acuerdo con la reivindicación 1 en donde los péptidos WT1 se administran con un vehículo, excipiente o diluyente, o un adyuvante tal como QS21, Montanide, adyuvante completo o incompleto de Freund, fosfato de aluminio, hidróxido de aluminio, BCG, una citocina o alumbre.

3. La combinación para uso según la reivindicación 1, en la que el inhibidor de PD1 es nivolumab, pembrolizumab, pidilizumab o MEDI0680 (AMP-514).

20 4. La combinación para uso según la reivindicación 1, en la que uno o más de los péptidos WT1 se administran por separado.

5. La combinación para uso según la reivindicación 1, en la que dos o más de los péptidos WT1 se administran juntos dentro de la misma formulación.

25 6. La combinación para uso según la reivindicación 1, en la que los péptidos WT1 y el inhibidor de PD1 están presentes en la misma composición.

30 7. La combinación para uso según la reivindicación 1, en la que los péptidos WT1 y el inhibidor de PD1 se administran simultáneamente o en un programa superpuesto, o en la que la última administración de los péptidos WT1 precede a la primera administración del inhibidor de PD1.

35 8. La combinación para su uso según la reivindicación 1, en la que el cáncer es cáncer de ovario, mesotelioma, leucemia, tumor de Wilms, leucemia mielógena aguda (LMA), leucemia mieloide crónica (LMC), síndrome mielodisplásico (SMD), melanoma, cáncer de estómago, cáncer de próstata, cáncer biliar, cáncer del sistema urinario, glioblastoma, sarcoma de tejidos blandos, osteosarcoma o cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP).

40 9. La combinación para su uso según la reivindicación 1, en la que uno o más de los péptidos NLMNLGATL (SEQ ID NO: 21), WNLMLNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 26), LVRHHNMHQRNMTKL (SEQ ID NO: 3), NKRYFKLSHLQMHRSR (SEQ ID NO: 4), SGQARMFPNAPYLPSCLES (SEQ ID NO: 5), QARMFPNAPYLPSC (SEQ ID NO: 6), RMFPNAPYL (SEQ ID NO: 7), SLGEQQYSV (SEQ ID NO: 8), ALLPAVPSL (SEQ ID NO: 9), NLGATLKG (SEQ ID NO: 10), DLNALLPAV (SEQ ID NO: 11), GVFRGIQDV (SEQ ID NO: 12), KRYFKLSHL (SEQ ID NO: 13), ALLLRTPYS (SEQ ID NO: 14), CMTWMQMNL (SEQ ID NO: 15), NMHQRNMTK (SEQ ID NO: 16), QMNLGATL (SEQ ID NO: 17), FMCAYPGCNK (SEQ ID NO: 18), KLSHLQMHRSR (SEQ ID NO: 19), QAYMFPNAPYLPSC (SEQ ID NO: 126), YLGEQQYSV (SEQ ID NO: 127), YLLPAVPSL (SEQ ID NO: 128), YLGATLKG (SEQ ID NO: 129), YLNALLPAV (SEQ ID NO: 130), GLRRGIQDV (SEQ ID NO: 131), KLYFKLSHL (SEQ ID NO: 132), ALLLRTPYV (SEQ ID NO: 133), YMTWNQMNL (SEQ ID NO: 134), NMYQRNMTK (SEQ ID NO: 135), NMHQRVMTK (SEQ ID NO: 136), NMYQRVMTK (SEQ ID NO: 137), QMYLGATL (SEQ ID NO: 138), QMNLGVTLK (SEQ ID NO: 139), QMYLGVT K (SEQ ID NO: 140), FMYAYPGCNK (SEQ ID NO: 141), FMCAYPFCNK (SEQ ID NO: 142), FMYAYPFCNK (SEQ ID NO: 143), KLYHLQMHRSR (SEQ ID NO: 144), KLSHLQMHRSR (SEQ ID NO: 145), KLYHLQMHRSR (SEQ ID NO: 146), NQMNLGATL (SEQ ID NO: 20), NYMNLGATL (SEQ ID NO: 22), CMTWNQMNLGATLKG (SEQ ID NO: 23), CMTWNLMNLGATLKG (SEQ ID NO: 24), WNQMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 25), MTWNQMNLGATLKG (SEQ ID NO: 27), TWNQMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 28), MTWNLMNLGATLKG (SEQ ID NO: 30), TWNLMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 31), MTWNYMNLGATLKG (SEQ ID NO: 33), TWNYMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 34), CMTWNQMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 35), WNQMNLGAT (SEQ ID NO: 36), TWNQMNLGA (SEQ ID NO: 37), MTWNQMNLG (SEQ ID NO: 38), CMTWNLMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 39), WNLMLNLGAT (SEQ ID NO: 40), MNLGATLKG (SEQ ID NO: 41), CMTWNYMNLGATLKGVA (SEQ ID NO: 43), GALRNPTAC (SEQ ID NO: 46), GYLNRNPTAC (SEQ ID NO: 47), GALRNPTAL (SEQ ID NO: 48), YALRNPTAC (SEQ ID NO: 49), GLLRNPTAC (SEQ ID NO: 50), RQRPHPGAL (SEQ ID NO: 51), RYRPHPGAL (SEQ ID NO: 52), YQRPHPGAL (SEQ ID NO: 53), RLRPHPGAL (SEQ ID NO: 54), RIRPHPG AL (SEQ ID NO: 55), QFPNHSFKHEDPMGQ (SEQ ID NO: 61), HSFKHEDPM (SEQ ID NO: 63), HSFKHEDPY (SEQ ID NO: 64), HSFKHEDPK (SEQ ID NO: 65), KRPFMCAYPGCYKRY (SEQ ID NO: 66), SEKRPFMCAYPGCNK (SEQ ID NO: 67), KRPFMCAYPGCNK (SEQ ID NO: 68), FMCAYPGCN (SEQ ID NO: 69), FMCAYPGCY (SEQ ID NO: 70) y FMCAYPGCK (SEQ ID NO: 71) es también administrado.

65 10. La combinación para uso según la reivindicación 1 donde 200 mcg de cada péptido se emulsionan con Montanide ISA 51 VG y se administran por vía subcutánea en las semanas 0, 2, 4, 6, 8 y 10.

11. La combinación para uso según la reivindicación 10 en el que se administran 3 mg/kg de nivolumab por vía intravenosa en las semanas 0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12.
- 5 12. La combinación para usar según la reivindicación 1 en la que el tratamiento, la reducción de la incidencia o la inducción de una respuesta inmunitaria contra un cáncer que expresa WT1 es mayor que la que se logra administrando los péptidos WT1 solos o al menos un inhibidor de PD1 solo.
- 10 13. Una composición que comprende los cuatro péptidos WT1 YMFPNAPYL (SEQ ID NO: 124), RSEDLVRHHNMHQNRMTKL (SEQ ID NO: 1), PGCNKRYFKLSHLQMHSRKHTG (SEQ ID NO: 2) y SGQAYMFPNAPYLPSCLES (SEQ ID NO: 125), y al menos un anticuerpo inhibidor de PD1.
14. La composición según la reivindicación 13, en la que el inhibidor de PD1 es nivolumab, pembrolizumab, pidilizumab o MEDI0680 (AMP-514).