(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **3 023 172**

(51) Int. CI.:

C12Q 1/6883 (2008.01)
C12Q 1/6886 (2008.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.05.2023 PCT/EP2023/064461**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **07.12.2023 WO23232826**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.05.2023 E 23729398 (0)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.03.2025 EP 4499875**

(54) Título: **Biomarcadores de actividad moduladora del IL7R**

(30) Prioridad:

30.05.2022 EP 22305790

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.05.2025

(73) Titular/es:

OSE IMMUNOTHERAPEUTICS (100.00%)
22, boulevard Benoni Goullin
44200 Nantes, FR

(72) Inventor/es:

POIRIER, NICOLAS y
GIRAULT, ISABELLE

(74) Agente/Representante:

VEIGA SERRANO, Mikel

Observaciones:

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

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

Biomarcadores de actividad moduladora del IL7R

Sector de la técnica

La presente invención se refiere a un método de evaluación o predicción de una respuesta terapéutica al tratamiento con un modulador del IL7R, tal como un antagonista o agonista del IL7R, en un paciente, más particularmente a la identificación de biomarcadores para evaluar o predecir si un modulador del IL7R sería eficaz para tratar a un paciente. La presente invención también se refiere a un método para seleccionar un compuesto que sería eficaz para tratar a un paciente.

Estado de la técnica

La IL-7 es la citocina más importante para la homeostasis, la proliferación, la diferenciación y la supervivencia de los linfocitos T indiferenciados (*naive*) y de memoria. La IL-7 emite señales a través del receptor de IL-7 (IL-7R, *IL-7 receptor*), que se compone de una cadena alfa (IL-7Rα), también denominada CD127, y de una cadena gamma del receptor común de citocinas (IL-2Rγ, CD132). La activación de IL-7R induce señales proliferativas y antiapoptóticas principalmente mediante la activación de la vía JAK-STAT. Algunos estudios han informado de que el canal de IL-7 también activa las vías PI3K o MAPK/ERK, lo que sugiere que la IL-7 podría utilizar diferentes vías de señalización dependiendo tanto del tipo celular como del estado fisiológico de la célula.

La IL-7 y el IL-7R están implicados en la patogenia de diferentes cuadros clínicos mediados por disfunciones de la función linfoide, por ejemplo, enfermedades autoinmunitarias tales como diabetes y esclerosis múltiple (Lee, L.F. et al. Proc Natl Acad Sci U S A 109, 12674-12679 (2012)), enfermedades inflamatorias crónicas tales como artritis reumatoide, espondilitis anquilosante y enfermedad inflamatoria intestinal (Churchman, S.M. & Ponchel, F. Rheumatology (Oxford) 47, 753-759 (2008); Krzystek-Korpacka, M. et al. Cancer Immunol Immunother 66, 171-179 (2017); Anderson, C.A. et al. Nat Genet 43, 246-252 (2011); Gracey, E. et al. Ann Rheum Dis 75, 2124-2132 (2016)) y cánceres hemáticos (Oliveira, M.L., et al. Adv Biol Regul 71, 88-96 (2018)).

CD127 se expresa totalmente en los linfocitos T indiferenciados y de memoria, pero muy poco en los linfocitos T reguladores (Tregs) FoxP3+. Esto constituye una oportunidad única para dirigirse selectivamente a efectores patógenos preservando al mismo tiempo los reguladores naturales (Liu W, et al. J. Exp. Med. 2006; 203:1701-1711; Seddiki N, et al. J. Exp. Med. 2006; 203:1693-1700; Michel L, et al. J. Clin. Invest. 2008;118:3411-3419). Actualmente se están desarrollando diversos antagonistas del IL7R. Aunque se han realizado varios estudios para analizar el perfil de expresión génica e identificar biomarcadores ya sea *in vitro* o *in vivo* para predecir o monitorizar la respuesta terapéutica, tal como la de los anticuerpos anti-PD1 en pacientes con cáncer, se desconoce la firma génica relacionada con el tratamiento con antagonistas o agonistas del IL7R o no está a disposición del público según el conocimiento del Solicitante. La vía de señalización de la IL7 es compleja e implica a varios genes. De hecho, 481 genes se expresaron diferencialmente en PBMC (*peripheral blood mononuclear cells*, células mononucleares de sangre periférica) humanas incubadas con mAb (anticuerpos monoclonales) anti IL-7Rα humanos en comparación con las condiciones de control (Belarif L. et al. Nat Commun. 26 de oct. de 2018;9(1):4483).

Por tanto, es necesario identificar biomarcadores de la actividad del fármaco para controlar con precisión la respuesta del paciente a dicho fármaco en los ensayos clínicos. Dichos marcadores facilitarían la individualización de la terapia para cada paciente.

Rivière et al. 2020, Arthritis & Rheumatology 73(4):631-640, desvelan que el tratamiento con un anticuerpo anti-IL-7R conduce a la inhibición de la señalización de IL-7 evaluada por la disminución de la expresión de IFITM1 y MX1.

Objeto de la invención

Un método para analizar el perfil de expresión génica en un sujeto tratado con un anticuerpo antagonista anti-IL7R identificó 41 genes expresados diferencialmente. Por otra parte, un método para analizar el perfil de expresión génica en células humanas tratadas *in vitro* con la citocina IL7 identificó 56 genes expresados diferencialmente. Por tanto, sigue siendo necesario identificar un número limitado de biomarcadores relacionados con el fármaco para evaluar fácilmente la eficacia de los antagonistas o agonistas anti-IL7R.

Por otro lado, el solicitante había demostrado anteriormente que sólo un pequeño porcentaje de las modificaciones transcripcionales inducidas por la IL7 eran comunes a ratones y humanos, lo que pone de relieve la escasa traducibilidad de los estudios murinos al ser humano cuando se investiga la vía de señalización de IL7-IL7R. Por tanto, la firma génica *in vitro* en modelos de ratón no puede realizarse para identificar los biomarcadores relacionados con fármacos para su uso en seres humanos.

Con el fin de resolver estos problemas, los inventores de la presente solicitud desarrollaron un nuevo y potente método realizado en células mononucleares de sangre periférica humana para identificar biomarcadores altamente relevantes

relacionados con fármacos (también se refiere en el presente documento a firma génica) para monitorizar la actividad de agonistas o antagonistas del IL7R tales como anticuerpos antagonistas anti-IL7R. Utilizaron un cribado comparativo que permite identificar un número muy limitado de genes que pueden utilizarse como biomarcadores relacionados con fármacos altamente eficaces para monitorizar con precisión la eficacia del tratamiento con antagonistas o agonistas del IL7R. Midiendo el nivel de expresión de al menos uno de estos 4-6 genes diana, la eficacia de un compuesto antagonista o agonista del IL7R puede evaluarse mucho más fácilmente, y a un coste menor para evitar riesgos en los ensayos clínicos. El uso de estos biomarcadores puede ampliarse para evaluar la probabilidad de respuestas terapéuticas a dicho modulador de IL7R. Por tanto, la selección de los compuestos de tratamiento puede hacerse de forma mucho más selectiva.

La invención se define por el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

La presente invención se refiere a un método *in vitro* para evaluar la respuesta terapéutica de un modulador del IL7R tal como un antagonista del IL7R (por ejemplo, un anticuerpo antagonista anti-IL7R o un fragmento de unión a antígeno del mismo) o un agonista del IL7R (por ejemplo, IL7) en un paciente humano, que comprende las etapas de determinar el perfil de expresión génica de cada uno de los siguientes genes: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente además los genes FLT3LG o SOCS2, más preferentemente los genes *BCL2*, *CISH, PTGER2, DPP4, FLT3LG* y *SOCS2,* en una muestra de un paciente que ha recibido al menos una dosis de antagonista del IL7R (p. ej., anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) o de agonista del IL7R (por ej., IL7), en donde un perfil de expresión génica inferior o superior de dichos genes en dicha muestra del paciente en comparación con un valor de control, es indicativo de que el paciente probablemente responda al tratamiento con el antagonista o agonista respectivamente. Este conjunto de genes corresponde a una firma única para monitorizar la actividad moduladora del IL7R.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un antagonista del IL7R (p. ej. anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) para su uso en el tratamiento de enfermedades asociadas a un aumento de la vía de señalización del IL7R inducido por IL7 en un paciente humano que lo necesite, en donde dicho antagonista se administra a dicho paciente después de que se le haya administrado al menos una dosis de dicho antagonista (p. ej., anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) y cuando dicho paciente se evalúa como que probablemente responda a dicho tratamiento con antagonista (p. ej., anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) en un método como se ha descrito anteriormente, preferentemente en donde dicha enfermedad asociada a un aumento de la vía de señalización del IL7R inducido por IL7 se selecciona del grupo que consiste en una enfermedad autoinmunitaria, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad alérgica, una enfermedad oncogénica, una enfermedad infecciosa, una enfermedad respiratoria, y una enfermedad relacionada con un trasplante, que implica la activación o proliferación de células enfermas CD127 positivas, en particular, una enfermedad autoinmunitaria o una enfermedad inflamatoria, que implica la activación o proliferación de células CD127 positivas, más preferentemente una enfermedad inflamatoria crónica tal como el síndrome de Sjogren o una enfermedad inflamatoria intestinal tal como la colitis ulcerosa.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un agonista del IL7R para su uso en el tratamiento de enfermedades asociadas a una actividad deficiente de linfocitos T sanos, preferentemente uno o más trastornos en los que se requiere la estimulación de la respuesta inmunitaria, más preferentemente una enfermedad oncológica o infecciosa que no dependa por sí misma de la vía de señalización del IL7R para su desarrollo en un paciente humano que la necesite, en donde dicho agonista se administra a dicho paciente después de que se le haya administrado al menos una dosis de dicho agonista y cuando dicho paciente se evalúa como que probablemente responda a dicho tratamiento con agonista en un método como se ha descrito anteriormente.

La presente invención también se refiere a un método *in vitro* para evaluar una probabilidad de respuesta terapéutica en un paciente humano a un modulador del IL7R tal como un antagonista del receptor de IL7 (p. ej., un anticuerpo antagonista del IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) o tratamiento con agonista que comprende las etapas de:

a) cultivar, en presencia de dicho modulador del IL7R, tal como un antagonista del IL7R (p. ej., un anticuerpo antagonista del IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) o un agonista del IL7R, una muestra que comprende células recogidas previamente de un paciente antes de dicho tratamiento con un modulador del IL7R,
b) determinar el perfil de expresión génica de cada uno de los siguientes genes: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente además los genes FLT3LG o SOCS2, más preferentemente los genes *BCL2*, *CISH, PTGER2, DPP4, FLT3LG* y *SOCS2*, en dicha muestra cultivada, en donde un perfil de expresión génica inferior o superior de dicho(s) gen(es) en la muestra cultivada en comparación con un valor de control, es indicativo de que el paciente probablemente responda al tratamiento con el antagonista (p. ej., anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) o con el agonista, respectivamente.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un antagonista del IL7R (p. ej., anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) para su uso en el tratamiento de una enfermedad asociada a un aumento de la vía de señalización del IL7R inducido por IL7 en un paciente humano que lo necesite, en donde se haya evaluado previamente que dicho paciente probablemente responda a dicho tratamiento con antagonista (p. ej., anticuerpo

antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) en un método como el definido anteriormente, preferentemente en donde dicha enfermedad asociada a un aumento de la vía de señalización del IL7R inducido por IL7 se selecciona del grupo que consiste en: una enfermedad autoinmunitaria, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad alérgica, una enfermedad oncogénica, una enfermedad infecciosa, una enfermedad respiratoria, y una enfermedad relacionada con un trasplante, que implica la activación o proliferación de células enfermas CD127 positivas, en particular, una enfermedad autoinmunitaria o una enfermedad inflamatoria, que implica la activación o proliferación de células CD127 positivas, más preferentemente una enfermedad inflamatoria crónica tal como el síndrome de Sjogren o una enfermedad inflamatoria intestinal tal como la colitis ulcerosa.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un agonista del IL7R para su uso en el tratamiento de un paciente humano que padece una enfermedad asociada a una actividad deficiente de linfocitos T sanos, preferentemente una enfermedad oncológica o infecciosa que no dependa de la vía del IL7R para su desarrollo, en donde se haya evaluado previamente que dicho paciente probablemente responda a dicho tratamiento con agonista de IL7R en un método como el definido anteriormente, en donde se haya evaluado previamente que dicho paciente probablemente responda al tratamiento con dicho agonista (p. ej., anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) en un método como el definido anteriormente.

La presente invención también se refiere a un método *in vitro* para seleccionar un modulador del IL7R, tal como un compuesto antagonista del IL7R o agonista del IL7R eficaz en el tratamiento de una enfermedad asociada a un aumento de la vía de señalización del IL7R inducido por IL7 o una enfermedad asociada a una actividad deficiente de linfocitos T sanos, que comprende las etapas de:

a) cultivar una célula humana en presencia de dicho compuesto,

b) determinar el perfil de expresión génica de cada uno de los siguientes genes: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente además los genes FLT3LG o SOCS2, más preferentemente los genes *BCL2*, *CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG*, en dicha célula, y

c) seleccionar un compuesto antagonista o agonista que induzca un perfil de expresión génica menor o mayor de dicho(s) gen(es) respectivamente en dicha célula, en comparación con un valor de control.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un kit que consiste en un conjunto de reactivos que detectan específicamente el perfil de expresión génica de cada uno de los siguientes genes: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, los genes BCL2, CISH, PTGER2, DPP4 y FLT3LG, los genes BCL2, CISH, PTGER2, DPP4 y SOCS2 o los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG*, preferentemente en donde dichos reactivos son pares de cebadores y/o sondas específicos de cada gen.

Descripción detallada de la invención

El término "biomarcador" se refiere a un indicador característico biológico o biológicamente derivado (es decir, celular, bioquímico, molecular, genético, proteína, metabolito, modificación postraduccional específica o signo fisiológico o físico) de un proceso, acontecimiento o afección. De acuerdo con la presente divulgación, dicho biomarcador puede referirse a una firma génica. Una firma génica es un grupo único o combinado de genes en una célula con un perfil de expresión génica característico único que se produce como resultado de un proceso biológico o de un cuadro clínico patógeno alterado o inalterado.

Los términos "sujeto" y "paciente" se utilizan indistintamente en el presente documento y se refieren tanto a animales humanos como no humanos. Como se utiliza en el presente documento, el término "paciente" indica un mamífero, tal como un roedor, un felino, un canino y un primate. Preferentemente, un paciente de acuerdo con la invención es un ser humano.

La expresión "muestra de paciente" significa cualquier muestra biológica derivada de un paciente. Como ejemplos de dichas muestras se incluyen una muestra de tejido, muestras de células, órganos, biopsias, preferentemente de tejido tumoral que contenga células inmunitarias infiltradas procedentes de un paciente con cáncer o una muestra de sangre de un paciente. Las muestras biológicas preferidas son muestras celulares, preferentemente muestras de células sanguíneas, tales como células mononucleares de sangre periférica humana aisladas.

Las expresiones "que probablemente responda" o "que probablemente responda a un tratamiento", se refieren a un sujeto en el que se retrasa o impide la aparición de al menos uno de los síntomas de la afección a tratar, durante o después del tratamiento, o cuyos síntomas o al menos uno de los síntomas se estabiliza, disminuye o desaparece.

"Respuesta terapéutica" se refiere a la consecuencia de un tratamiento médico en un paciente, cuyos resultados se consideran útiles o favorables. Por ejemplo, una respuesta terapéutica puede ser el retraso o la prevención de al menos uno de los síntomas, durante o después del tratamiento, o puede ser que los síntomas o al menos uno de los síntomas del paciente se estabilice, disminuya o desaparezca.

De acuerdo con la presente divulgación, por "respuesta terapéutica en un paciente tratado con un modulador del IL7R" o "respuesta terapéutica con un modulador del IL7R", se entiende que las etapas realizadas de la administración de un modulador del IL7R, tal como un antagonista del IL7R (p. ej. anticuerpo antagonista anti-L7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) o un agonista del IL7R (p. ej., IL7), tienen como resultado la mejora del cuadro clínico de un animal o un paciente humano que lo necesite, que padece(n) trastorno(s) asociado(s) a un aumento de la vía de señalización del IL7R inducido por IL7 (también denominada en el presente documento vía de IL7-IL7R), es decir; vía de señalización inducida por la interacción de IL7 con el receptor de IL7, que implica la activación y/o proliferación de células CD127 positivas o de una enfermedad asociada a una actividad deficiente de linfocitos T sanos, respectivamente. Dicho tratamiento tiene por objeto mejorar el cuadro clínico del paciente animal o humano, eliminando o reduciendo los síntomas asociados al trastorno o trastornos relacionado(s) con la IL-7 o la TSLP (*Thymic Stromal Lymphopoietin*, linfopoyetina estromal tímica), en una realización preferida, eliminando o reduciendo los síntomas asociados al trastorno o trastornos relacionado(s) con la vía de señalización del IL7R inducido por IL7 o una enfermedad asociada a una actividad deficiente de linfocitos T sanos.

En una realización particular, la respuesta terapéutica en un paciente tratado con un antagonista del IL7R (p. ej., anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) se refiere a la administración de un antagonista del IL7R que produce una mejora del cuadro clínico de un paciente que padece trastornos asociados a un aumento de la vía de señalización del IL7R inducida por IL-7, tal como una enfermedad autoinmunitaria, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad alérgica, una enfermedad oncogénica, una enfermedad infecciosa, una enfermedad respiratoria, y una enfermedad relacionada con un trasplante, que implica la activación o proliferación de células enfermas CD127 positivas, en particular, una enfermedad autoinmunitaria o una enfermedad inflamatoria, que implica la activación o proliferación de células CD127 positivas, más preferentemente una enfermedad inflamatoria crónica tal como el síndrome de Sjogren o una enfermedad inflamatoria intestinal tal como la colitis ulcerosa.

En otra realización particular, la respuesta terapéutica en un paciente tratado con un agonista del IL7R (p. ej., IL7) se refiere a la administración de un agonista del IL7R que produce la mejora del cuadro clínico de un paciente que padece uno o más trastornos o una o más enfermedades asociados a una actividad deficiente de linfocitos T sanos, preferentemente uno o más trastornos en los que se requiere la estimulación de la respuesta inmunitaria, más preferentemente una enfermedad oncológica o infecciosa que no dependa por sí misma de la vía del IL7R para su desarrollo.

Normalmente, un modulador del IL7R puede ser un compuesto que tenga propiedades antagonistas o agonistas del IL7R para la interacción de IL7 con el receptor de IL7 y module (aumente o disminuya) la señalización mediada por IL7/IL7R (la vía de señalización del IL7R inducido por IL7).

En una realización preferida, dicho modulador del IL7R (p. ej., antagonista del IL7R o agonista del IL7R) puede seleccionarse del grupo que consiste en: modulador de proteína, polipéptido o péptido tal como componentes de la vía de señalización de IL7-IL7R (p. ej., IL7), variantes o derivados de los mismos (fragmentos, proteínas de fusión, proteínas solubles, mutantes negativos dominantes), anticuerpos dirigidos al componente de la vía de señalización de IL7-IL7R, incluidos fragmentos y derivados expresables de los mismos y miméticos de anticuerpos de unión a antígeno.

La unión de IL-7 a IL-7R desencadena la activación de varias vías de señalización, incluyendo la de las Janus cinasas (JAK) -1 y -3, la del transductor de señal y activador de la transcripción 5 (STAT5, *Signal Transducer and Activator of Transcription 5*) y la de la fosfatidilinosol 3-cinasa (PI3-k). Se informa que las vías STAT1 y STAT3 están activadas, aunque no parecen ser las vías principales. La activación de la vía de STAT5 es necesaria para la inducción de la proteína antiapoptótica Bcl-2 y la prevención de la entrada de la proteína proapoptótica Bax en la mitocondria y, por lo tanto, para la supervivencia de los precursores de linfocitos T en desarrollo tímico. La activación de la vía de PI3-k da como resultado la fosforilación y retención citoplásmica de la proteína proapoptótica Bad.

En una realización particular, la vía de señalización del IL7-R inducido por IL7 puede identificarse midiendo la fosforilación de STAT5 como se describe en los Ejemplos del documento WO2018/104483. La fosforilación de STAT5 inducida por IL7 es un marcador de activación del IL7-R. Se espera que un compuesto que antagonice la interacción IL7-IL7-R disminuya la fosforilación de STAT5 inducida por IL7 y que un compuesto que agonice la interacción IL7-IL7-R aumente la fosforilación de STATS inducida por IL7.

En realizaciones particulares, el antagonista del IL7-R de acuerdo con la presente divulgación inhibe la fosforilación de STATS inducida por IL7. En realizaciones preferidas, la inhibición de la fosforilación de STAT5 es superior al 50 % a concentraciones de antagonista del IL7R tan bajas como de 55 ng/ml y/o la inhibición de la fosforilación de STAT5 es superior al 80 % a concentraciones de anticuerpos tan bajas como de 100 ng/ml. La inhibición de la fosforilación de STAT5 puede evaluarse mediante métodos conocidos por el experto y, en particular, mediante el método expuesto en el Ejemplo 5 y/o en la página 21, párrafos [69] y [70] del documento WO2018/104483 y en el Ejemplo 3 del documento WO2015/189302. El agonista del IL7-R de acuerdo con la presente divulgación aumenta la fosforilación de STATS inducida por IL7.

El modulador del IL7R tal como el antagonista del IL7R (en particular anticuerpo, fragmento de unión a antígeno del

mismo) o agonista de la divulgación, puede identificarse midiendo la activación de las vías de señalización PI3-K y/o ERK (cinasa regulada por señal extracelular). En una realización particular, el antagonista del IL7R inhibe la activación y/o no activa ni aumenta la activación, de las vías de señalización de PI3-k y/o ERK (cinasa regulada por señal extracelular) y en particular inhibe la fosforilación y/o no induce ni aumenta la fosforilación de PI3-k y/o ERK 1 y/o ERK 2. En particular, el antagonista del IL7R del presente documento no induce la activación de las vías de PI3-k y/o ERK (preferentemente de las vías de PI3-k y ERK) y en particular no induce la fosforilación de PI3-k y/o de ERK 1 y/o ERK 2, más particularmente no induce la fosforilación de PI3-k y de ERK 1 y de ERK 2. En particular, el antagonista de IL7R, inhibe la activación de las vías de PI3-k y/o ERK y en particular inhibe la fosforilación de PI3-k y/o de ERK 1 y/o ERK 2, más particularmente inhibe la fosforilación de PI3-k y de ERK 1 y de ERK 2. La activación de las vías y/o las fosforilación de dichas proteínas, puede analizarse mediante métodos conocidos por el experto y, en particular, mediante transferencia Western como se ilustra en la Figura 7 y el Ejemplo 8 del documento WO2018/104483, preferentemente mediante la inhibición de la activación de PI3-k y/o ERK.

En otra realización particular, el agonista del IL7R induce o aumenta la activación de las vías de señalización PI3-k y/o ERK (cinasa regulada por señal extracelular) y en particular induce o aumenta la fosforilación de PI3-k y/o ERK 1 y/o ERK 2.

El antagonista del IL7R (en particular anticuerpo, fragmento de unión a antígeno del mismo) o agonista de la divulgación también puede identificarse midiendo la internalización de CD127. En una realización particular, los antagonistas del IL7R proporcionados en el presente documento inhiben la internalización de CD127 inducida por IL7 y los agonistas del IL7R aumentan la internalización de CD127 inducida por IL7. La internalización de CD127 puede medirse determinando el nivel de expresión de CD127 en la superficie celular en células que se incuban con un modulador del IL7R (es decir, un antagonista o agonista del IL7R) en comparación con un valor de control tal como células que no se incuban con dicho modulador.

En una realización particular, cuando se incuban con dicho antagonista del IL7R, la presencia de IL7 no induce disminución en la expresión de CD127 en la superficie celular, o induce una disminución menos fuerte en la expresión de CD127 en la superficie celular que las células incubadas sin antagonistas. En realizaciones particulares, cuando se incuban con dichos antagonistas, el nivel de expresión de CD127 en la superficie celular cuando las células se incuban a 37 °C durante 15 minutos con 5 ng/ml de IL7 es de al menos 80 %, preferentemente de al menos 90 % del nivel de expresión de la superficie celular en células incubadas sin IL7. *In vitro,* la expresión en la superficie celular se mide preferentemente después de un tiempo limitado como se indicó anteriormente. Además de esto, dado que la mayoría de los procesos de internalización celular se inhiben a baja temperatura, el efecto suele observarse mejor a temperatura fisiológica, en particular a 37 °C. Sin embargo, también se contempla incubar células a baja temperatura, en particular a 4 °C.

En otra realización preferida, el antagonista del IL7R proporcionado en el presente documento no induce la internalización de CD127. Por tanto, la expresión de CD127 en la superficie celular en células incubadas en presencia de dichos antagonistas del IL7R no se reduce, o no se reduce significativamente, en relación con la expresión en la superficie celular en células incubadas en condiciones idénticas, pero sin el antagonista. En realizaciones particulares, cuando se incuba a 37 °C durante 30 a 45 minutos en presencia de 50 ng/ml de antagonista, el nivel de expresión CD127 en la superficie celular es de al menos 80 %, preferentemente de al menos 90 % de su nivel en células incubadas sin antagonista. Este efecto antagonista puede observarse en ausencia de IL7 (en células tanto tratadas como no tratadas con anticuerpos), en presencia de IL7 y/o ambas cosas.

Las dos características relacionadas con la internalización de CD127 descritas anteriormente (es decir, la inhibición de la internalización inducida por IL7 o la no inducción de internalización) pueden definirse y/o analizarse adicionalmente como se expone en el documento WO2015/189302 en particular en los párrafos [59]-[63] en las páginas 19-20 y en la Figura 16 y el Ejemplo 5.

Por ejemplo, el modulador del IL7R de acuerdo con la presente divulgación puede identificarse mediante el siguiente método que comprende las etapas que consisten en:

a) proporcionar una pluralidad de células que expresan CD127 en su superficie,

b) incubar dichas células con un compuesto candidato,

c) determinar si dicho compuesto candidato se une y disminuye o aumenta la actividad biológica de CD127 como se ha descrito anteriormente (p. ej., fosforilación de STAT5, activación de la vía de señalización de la fosfatidilinositol 3-cinasa y/o ERK (*Extracellular-Signal-Regulated Kinase*, cinasa regulada por señales extracelulares), internalización de CD127), y

d) seleccionar el compuesto candidato que disminuya o aumente la actividad biológica de CD127 (p. ej, fosforilación de STAT5, activación de la vía de señalización de la fosfatidilinositol 3-cinasa y/o ERK, internalización de CD127).

En una realización preferida, el modulador del IL7R de acuerdo la presente divulgación es un antagonista del IL7R.

Como se utiliza en el presente documento, "antagonista del receptor de IL7 (p. ej., anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo)" se refiere a un compuesto (p. ej., anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) que tiene propiedades antagonistas para la interacción de Il7-receptor de IL7, que altera las células de señalización mediada por IL7/IL7R. De acuerdo con una realización particular, un antagonista del IL7R de acuerdo con la presente divulgación tiene además propiedades antagonistas frente la interleucina 7 (IL7) antagonizando de este modo el acceso, es decir, la unión de IL7 a CD127 en células CD127 positivas.

"Propiedades antagonistas frente la interacción IL7-IL7-R" significa que los antagonistas del IL7R (p. ej., anticuerpos antagonistas del IL7R o fragmentos de unión a antígeno de los mismos), que se dirigen al IL7-R alfa, tienen el efecto de impedir la accesibilidad del receptor de IL7 expresado en células CD127, especialmente en linfocitos T efectores humanos, en particular en linfocitos T de memoria humanos, a su compañero de unión IL7, especialmente IL7 humana. Como resultado de antagonizar la unión de IL7, el antagonista del IL7R provoca linfopenia al impedir la generación de linfocitos T tímicos dependientes de IL7. Las propiedades antagonistas pueden ser, en particular, el antagonismo hacia la señalización del IL7-R inducido por IL7.

En una realización preferida, el antagonista del IL7R proporcionado en el presente documento no se une a CD127 en el receptor de TSLP (linfopoyetina estromal tímica) (es decir, no se une a CD127 cuando está en un complejo con el CRLF2, formando el receptor de TSLP). Por lo tanto, los antagonistas proporcionados en el presente documento no interfieren con la señalización inducida por TSLP y/o mediada por el receptor de TSLP. En otra realización preferida, dicho antagonista del IL7R no puede unirse a linfocitos no T en sangre completa; ((d) no puede unirse a CD127IL-7Ra expresado en linfocitos no T (p. ej., monocitos) en sangre completa, p. ej., sangre humana completa".

En una realización particular, dicho antagonista del IL7R puede ser un anticuerpo antagonista del IL7R o un fragmento de unión a antígeno del mismo, preferentemente un anticuerpo monoclonal o un fragmento de unión a antígeno del misma que se une específicamente a la cadena alfa del receptor de IL-7, preferentemente la cadena alfa del receptor de la IL-7 humana. La cadena alfa del receptor de interleucina 7 (IL-7) se denomina CD127 o p90 IL-7R, IL-7R alfa o IL-7Rα (número de registro del NCBI (*National Center for Biotechnology Information*, Centro Nacional de Información Biotecnológica): XP_005248356.1, actualizado el 22 de noviembre de 2021). De acuerdo con la presente divulgación, dicho antagonista del IL7R es preferentemente un antagonista del IL7Rα, más preferentemente anticuerpo antagonista anti-IL7Rα o fragmento de unión a antígeno del mismo.

Como se utiliza en el presente documento, la expresión "se une específicamente a" o "se une específicamente" se refiere a la capacidad de un receptor de antígeno para unirse a un antígeno con una afinidad de al menos aproximadamente 1×10^{-6} M, 1×10^{-7} M,1×10^{-8} M, 1×10^{-9} M, 1×10^{-10} M, 1×10^{-11} M, 1×10^{-12} M, o más, y/o para unirse a una diana con una afinidad que es al menos dos veces mayor que su afinidad por un antígeno inespecífico. La afinidad puede determinarse mediante diversos métodos bien conocidos por el experto en la materia. Estos métodos incluyen, pero sin limitación, análisis Biacore, análisis de Blitz y diagrama de Scatchard.

En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo la invención tiene un valor de KD inferior o igual a 10^{-8} M, preferentemente inferior o igual a 10^{-9} M para CD127, en particular para CD127 humano, más preferentemente inferior o igual a $1{,}10^{-10}$ M, como puede determinarse mediante análisis de biosensor, particularmente por análisis Biacore.

El término "anticuerpo", como se utiliza en el presente documento, se refiere a moléculas de inmunoglobulina y a partes inmunológicamente activas de moléculas de inmunoglobulina, es decir, moléculas que contienen un sitio de unión a antígeno que se une inmunoespecíficamente a un antígeno. Como tal, el término anticuerpo abarca no solo moléculas de anticuerpo completas, sino también fragmentos de anticuerpos así como variantes (incluyendo derivados) de anticuerpos.

En anticuerpos naturales de roedores y primates, dos cadenas pesadas están ligadas entre sí por enlaces disulfuro y cada cadena pesada está ligada a una cadena ligera mediante un enlace disulfuro. Existen dos tipos de cadenas ligeras, lambda (λ) y kappa (κ). Existen cinco clases (o isotipos) principales de cadena pesada que determinan la actividad funcional de una molécula de anticuerpo: IgM, IgD, IgG, IgA e IgE. Cada cadena contiene dominios de secuencia distintos. En los anticuerpos de IgG normales, la cadena ligera incluye dos dominios, un dominio variable (VL) y un dominio constante (CL). La cadena pesada incluye cuatro dominios, un dominio variable (VH) y tres dominios constantes (CH1, CH2 y CH3, denominados en conjunto CH). Las regiones variables de las cadenas ligera (VL) y pesada (VH) determinan el reconocimiento y la especificidad de unión al antígeno. Los dominios de la región constante de las cadenas ligera (CL) y pesada (CH) confieren importantes propiedades biológicas tales como la asociación de cadenas de anticuerpos, la secreción, la movilidad transplacentaria, la unión al complemento y la unión a los receptores de Fc (FcR).

El fragmento Fv es la parte N-terminal del fragmento Fab de una inmunoglobulina y consta de las partes variables de una cadena ligera y una cadena pesada. La especificidad del anticuerpo reside en la complementariedad estructural entre el sitio de combinación del anticuerpo y el determinante antigénico. Los sitios de combinación de anticuerpos

están compuestos por restos que provienen principalmente de las regiones determinantes de complementariedad (CDR, *complementarity determining regions*) o hipervariables. Ocasionalmente, los restos de las regiones no hipervariables o regiones estructurales (FR, *framework regions*) pueden participar en el sitio de unión del anticuerpo o influir en la estructura general del dominio y, por tanto, en el sitio de combinación. Las regiones determinantes de complementariedad o CDR se refieren a secuencias de aminoácidos que definen juntas la afinidad de unión y la especificidad de la región Fv natural de un sitio de unión de inmunoglobulina nativa. Cada una de las cadenas ligeras y pesadas de una inmunoglobulina tiene tres CDR, denominadas L-CDR1, L-CDR2, L- CDR3 y H-CDR1, H-CDR2, H-CDR3, respectivamente. Un sitio de unión al antígeno, por lo tanto, normalmente incluye seis CDR, que comprenden el conjunto de las CDR de cada región V de cadena pesada y ligera. Las regiones estructurales (FR) se refieren a secuencias de aminoácidos intercaladas entre las CDR. Por consiguiente, las regiones variables de las cadenas ligera y pesada normalmente comprenden 4 regiones estructurales y 3 CDR de la siguiente secuencia: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4.

Los restos de los dominios variables de los anticuerpos se numeran convencionalmente según un sistema ideado por Kabat et al. Este sistema se expone en Kabat et al, 1987, en Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Department of Health and Human Services, NIH, EE.UU. (Kabat et al., 1992, en lo sucesivo en el presente documento "Kabat et al."). Este sistema de numeración se utiliza en la presente memoria descriptiva. Las denominaciones de los restos de Kabat no siempre se corresponden directamente con la numeración lineal de los restos de aminoácidos en las secuencias SEQ ID. La secuencia lineal real de aminoácidos puede contener menos aminoácidos o aminoácidos adicionales que en la numeración estricta de Kabat, lo que corresponde a un acortamiento de, o a una inserción en, un componente estructural, ya sea región estructural o región determinante de la complementariedad (CDR), de la estructura básica del dominio variable. La numeración correcta de los restos de Kabat, puede determinarse para un anticuerpo dado alineando los restos de homología en la secuencia del anticuerpo con una secuencia numerada de Kabat "estándar".

La expresión "anticuerpo monoclonal" como se utiliza en el presente documento se refiere a una preparación de moléculas de anticuerpo de especificidad única. Un anticuerpo monoclonal muestra una especificidad y afinidad de unión única por un epítopo particular. Por consiguiente, la expresión "anticuerpo monoclonal humano" se refiere a un anticuerpo que muestra una única especificidad de unión única que tiene regiones variables y constantes derivadas de o basadas en secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana o derivadas de secuencias completamente sintéticas. El método de preparación del anticuerpo monoclonal no es relevante para la especificidad de unión.

La expresión "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo (o simplemente "fragmento de anticuerpo"), como se utiliza en el presente documento, se refiere a uno o más fragmentos de un anticuerpo que conservan la capacidad de unirse específicamente a un antígeno (p. ej., IL7R) y en particular tiene propiedades antagonistas para la interacción IL7-receptor de IL7, altera la señalización mediada por IL7/IL7R, tal como las vías PI3K/Akt/mTOR y JAK/STAT, y puede presentar actividad citotóxica contra las células CD127 positivas. Se ha demostrado que la función de unión al antígeno de un anticuerpo puede realizarse con fragmentos de un anticuerpo de longitud completa.

Como ejemplos de fragmentos de unión que se engloban en la expresión "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo se incluyen (i) un fragmento Fab, un fragmento monovalente que consiste en los dominios VL, VH, CL y CH1; un fragmento F(ab)2, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro en la región bisagra; un fragmento Fd que consiste en los dominios VH y CH1; un fragmento Fv que consiste en los dominios VL y VH de un único brazo de un anticuerpo; un fragmento dAb (Ward et al., 1989 Nature 341:544-546), que consiste en un dominio VH, o cualquier proteína de fusión que comprenda dichos fragmentos de unión a antígeno. Es más, aunque los dos dominios del fragmento Fv, VL y VH, estén codificados por distintos genes, estos pueden unirse, usando métodos recombinantes, mediante un enlazador sintético que les permite formarse como una proteína de monocatenaria en donde las regiones VL y VH se emparejan para formar moléculas monovalentes (conocidas como Fv monocatenario (scFv); véanse, p. ej., Bird et al., 1988 Science 242:423-426; y Huston et al., 1988 Proc. Natl. Acad. Sci. 85:5879-5883). También se pretende que dichos anticuerpos monocatenarios estén englobados dentro de la expresión "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo. Estos fragmentos de anticuerpo se obtienen usando técnicas convencionales conocidas por los expertos en la materia y los fragmentos se exploran para determinar su utilidad del mismo modo que los anticuerpos intactos.

En una realización particular, dicho anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la presente divulgación es el anticuerpo N13B2h1, N13B2h2 o N13B2h3 o fragmento de unión a antígeno del mismo, como se describe en el documento WO2015/189302 o el anticuerpo N13B2-hVL3, N13B2-hVL4, N13B2-hVL5 o N13B2-hVL6 o fragmento de unión a antígeno del mismo, como se describe en el documento WO2018/104483 y comprende: (a) una cadena pesada variable que comprende tres CDR, en donde la VHCDR1 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, la VHCDR2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y la VHCDR3 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 u 11 y; (b) una cadena ligera variable que comprende tres CDR, en donde la VLCDR1 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o 12, la VLCDR2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 o 13 y la VLCDR3 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

En una realización más particular, dicho anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo

de acuerdo con la presente divulgación es el anticuerpo N13B2h3 o fragmento de unión a antígeno del mismo como se describe en el documento WO2015/189302 o el anticuerpo N13B2-hVL3, N13B2-hVL4, N13B2-hVL5 o N13B2-hVL6 o fragmento de unión a antígeno del mismo, como se describe en el documento WO2018/104483, preferentemente el anticuerpo N13B2-hVL6 o fragmento de unión a antígeno del mismo como se describe en el documento WO2018/104483 y comprende: (a) una cadena pesada variable que comprende tres CDR, en donde la VHCDR1 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, la VHCDR2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y la VHCDR3 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 y; (b) una cadena ligera variable que comprende tres CDR, en donde la VLCDR1 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, la VLCDR2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 y la VLCDR3 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

Además, se contempla que los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos también puedan explorarse u optimizarse con respecto a sus actividades de unión por afinidad y/o antagonistas. En particular, se contempla que los anticuerpos o el fragmento de unión a antígeno de los mismos puedan tener 1, 2, 3, 4, 5, 6, o más alteraciones en la secuencia de aminoácidos de 1, 2, 3, 4, 5 o 6 CDR de los anticuerpos monoclonales proporcionados en el presente documento. Se contempla que el aminoácido en posición 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10 de CDR1, CDR2, CDR3, CDR4, CDR5 o CDR6 de la región VJ o VDJ de la región variable ligera o pesada de los anticuerpos pueda tener una inserción, deleción o sustitución por un aminoácido conservado o no conservado. Dichos aminoácidos que pueden sustituirse o constituir la sustitución se han divulgado anteriormente.

En algunas realizaciones, las diferencias de aminoácidos son sustituciones conservativas, es decir, sustituciones de un aminoácido por otro que tiene propiedades químicas o físicas similares (tamaño, carga o polaridad), cuya sustitución no suele afectar negativamente a la bioquímica, propiedades biofísicas y/o biológicas del anticuerpo. En particular, la sustitución no altera la interacción del anticuerpo con el antígeno IL7R ni su propiedad antagonista. Dicha sustitución o sustituciones conservativas se eligen de entre uno de los siguientes cinco grupos: Grupo 1- restos pequeños, alifáticos, no polares o ligeramente polares (A, S, T, P, G); Grupo 2- restos polares, con carga negativa y sus amidas (D, N, E, Q); Grupo 3- restos polares, con carga positiva (H, R, K); Grupo 4- restos grandes, alifáticos, no polares (M, L, I, V, C); y Grupo 5- restos grandes, aromáticos (F, Y, W).

En una realización particular, dicho antagonista anti-IL7R es el anticuerpo N13B2h1, N13B2h2 o N13B2h3 o fragmento de unión a antígeno del mismo, como se describe en el documento WO2015/189302 y comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 14-17, y un dominio variable de cadena ligera que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 18-21. Preferentemente, dicho antagonista anti-IL7R es el anticuerpo N13B2h3 o fragmento de unión a antígeno del mismo como se describe en el documento WO2015/189302 y comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de: SEQ ID NO: 17, y un dominio variable de cadena ligera que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 más preferentemente dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una cadena pesada completa que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 22 y una cadena ligera completa que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 23.

En otra realización particular, dicho antagonista anti-IL7R es el anticuerpo N13B2-hVL3, N13B2-hVL4, N13B2-hVL5 o N13B2-hVL6 o fragmento de unión a antígeno del mismo, como se describe en el documento WO2018/104483 y comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y un dominio variable de cadena ligera que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 8, 24-26.

En una realización más preferida, dicho anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo, es el anticuerpo N13B2-hVL6 o fragmento de unión a antígeno del mismo como se describe en el documento WO2018/104483 y comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y un dominio variable de cadena ligera que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, preferentemente dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una cadena pesada completa que comprende o consiste en SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera completa que comprende o consiste en SEQ ID NO: 10.

Los anticuerpos antagonistas anti-IL7R, o los fragmentos de unión a antígeno de los mismos, con secuencias de aminoácidos que tienen una identidad de secuencia de al menos 90 %, por ejemplo, de al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % con una cualquiera de las secuencias de aminoácidos definidas anteriormente, también forman parte de la presente divulgación, normalmente los anticuerpos antagonistas anti-IL7R, o los fragmentos de unión a antígeno de los mismos, tienen actividades antagonistas al menos iguales o superiores para la interacción IL7-IL7R como se ha descrito anteriormente que dichos anticuerpos antagonistas anti-IL7R o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que consisten en VH y VL, en particular de la cadena pesada y la cadena ligera de los anticuerpos N13B2-hVL6.

Como se utiliza en el presente documento, el porcentaje de identidad entre las dos secuencias depende del número de posiciones idénticas compartidas por las secuencias (es decir, % de identidad = número de posiciones

idénticas/número total de posiciones x 100), teniendo en cuenta el número de huecos y la longitud de cada hueco, que es necesario introducir para una alineación óptima de las dos secuencias. La comparación de secuencias y la determinación del porcentaje de identidad entre dos secuencias pueden realizarse utilizando un algoritmo matemático, como se describe a continuación.

El porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos o de nucleótidos puede determinarse usando el algoritmo de E. Meyers y W. Miller (Comput. Appl. Biosci., 4:11-17, 1988) que se ha incorporado en el programa ALIGN (versión 2.0), utilizando una tabla de restos ponderados PAM120, una penalización por longitud de hueco de 12 y una penalización por hueco de 4. Como alternativa, el porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos o de nucleótidos puede determinarse usando el algoritmo de Needleman y Wunsch (J. Mol, Biol. 48:444-453, 1970) que se ha incorporado en el programa GAP en el paquete de programa informático GCG (disponible en http://www.gcg.com), usando una matriz Blosum 62 o una matriz PAM250 y una ponderación por hueco de 16, 14, 12, 10, 8, 6 o 4 y una ponderación por longitud de 1, 2, 3, 4, 5 o 6. El porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos o de nucleótidos también puede determinarse usando, por ejemplo, algoritmos tales como el programa BLASTN para secuencias de ácidos nucleicos o de aminoácidos usando como valores predeterminados una longitud de palabra (W) de 11, una expectativa (E) de 10, M=5, N=4 y una comparación de ambas cadenas.

En otra realización particular de la divulgación, el antagonista del IL7R (es decir, el anticuerpo antagonista del IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) tiene además la propiedad de ser citotóxico contra células humanas, especialmente linfocitos T humanos que expresen dicho receptor.

De acuerdo con una realización particular de la divulgación, los antagonistas citotóxicos del IL7R son anticuerpos que tienen además la capacidad de aumentar la actividad de Fagocitosis Celular Dependiente de Anticuerpos (ADCP, *Antibody Dependent Cellular Phagocytosis*) de células tumorales CD127 positivas por macrófagos, y no tienen actividad Citotóxica Celular Dependiente de Anticuerpos (ADCC, *Antibody Dependent Cellular Cytotoxic*), en particular, en las células inmunitarias. En una realización particular de la invención, el anticuerpo antagonista anti-IL-7R, o fragmento de unión a antígeno del mismo, en particular los anticuerpos anti-CD127 o fragmentos de los mismos para usar en el método de la invención, o para usar de acuerdo con la invención, tienen la capacidad de aumentar la actividad de Fagocitosis Celular Dependiente de Anticuerpos (ADCP) de células tumorales CD127 positivas por macrófagos, y preferentemente no tienen actividad Citotóxica Celular Dependiente de Anticuerpos (ADCC), en particular, en las células inmunitarias.

En otra realización, el modulador del IL7R (es decir, antagonista del IL7R o agonista del IL7R) es un mimético de anticuerpo de unión a antígeno. Como se usa en el presente documento, la expresión "mimético de anticuerpo de unión a antígeno" se refiere a proteínas, a péptidos y a cualquier compuesto químico artificial con la capacidad de unirse a antígenos que imitan a los anticuerpos. Dichos miméticos comprenden afitinas y anticalinas así como aptámeros (aptámeros peptídicos y aptámeros oligonucleotídicos).

En una realización, el modulador del IL7R (es decir, antagonista o agonista del IL7R) es un aptámero. Los aptámeros son una clase de molécula que representa una alternativa a los anticuerpos con respecto al reconocimiento molecular. Los aptámeros son secuencias oligonucleotídicas u oligopeptídicas con la capacidad de reconocer prácticamente cualquier clase de moléculas diana con alta afinidad y especificidad. Dichos ligandos pueden aislarse a través de Evolución Sistemática de Ligandos por Enriquecimiento Exponencial (SELEX, *Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment*) de una biblioteca de secuencias aleatorias. La biblioteca de secuencias aleatorias puede obtenerse mediante síntesis química combinatoria de ADN. En esta biblioteca, cada miembro es un oligómero lineal, modificado químicamente con el tiempo, de una secuencia única. Los aptámeros peptídicos consisten en regiones variables de anticuerpos conformacionalmente restringidas presentadas en una plataforma proteica, tal como tiorredoxina A de *E. coli*, que se seleccionan de bibliotecas combinatorias mediante dos métodos híbridos.

En algunas realizaciones, el modulador del IL7R (es decir, antagonista del IL7R o agonista del IL7R) es un polipéptido. El término "polipéptido" significa en el presente documento un polímero de aminoácidos que no tiene una longitud específica. Por tanto, los péptidos, los oligopéptidos y las proteínas se incluyen en la definición de "polipéptido" y estos términos se usan indistintamente a lo largo de la memoria descriptiva, así como en las reivindicaciones. El término "polipéptido" no excluye modificaciones postraduccionales que incluyen, pero sin limitación, fosforilación, acetilación, glucosilación y similares.

En una realización, el polipéptido tiene una longitud comprendida entre 2 y 200 aminoácidos. En una realización, el polipéptido tiene una longitud comprendida entre 2 y 190, en particular entre 10 y 180, entre 10 y 170, entre 10 y 160, entre 10 y 150, entre 10 y 140, entre 10 y 130, entre 10 y 120, entre 10 y 110 aminoácidos. En una realización, el polipéptido tiene una longitud comprendida entre 10 y 100 aminoácidos. En una realización, el polipéptido tiene una longitud comprendida entre 50 y 100 aminoácidos. En una realización, el polipéptido tiene una longitud de 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 o 100 aminoácidos.

En una realización particular, el polipéptido es un equivalente funcional del IL7R. Como se utiliza en el presente documento, un "equivalente funcional" del IL7R es un compuesto que es capaz de unirse al menos a un ligando de

IL7, impidiendo de este modo su interacción con el IL7R. La expresión "equivalente funcional" incluye fragmentos, mutantes y muteínas del IL7R. La expresión "funcionalmente equivalente" incluye, por tanto, cualquier equivalente del IL7R obtenido alterando la secuencia de aminoácidos, por ejemplo, mediante deleciones, sustituciones o adiciones de uno o más aminoácidos, de tal manera que el análogo de proteína conserve la capacidad de unirse a su ligando. Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos, por ejemplo, mediante mutación puntual del ADN que codifica la secuencia de aminoácidos.

Los equivalentes funcionales incluyen, pero sin limitación, moléculas que se unen a un ligando del IL7R y comprenden todos o una parte de los dominios extracelulares del IL7R para formar un receptor soluble que es capaz de inmovilizar el ligando del IL7R. Por tanto, los equivalentes funcionales incluyen formas solubles del IL7R. Una forma soluble adecuada de estas proteínas, o equivalentes funcionales de las mismas, podría comprender, por ejemplo, una forma truncada de la proteína de la que se ha eliminado el dominio transmembrana mediante métodos químicos, proteolíticos o recombinantes. En particular, el equivalente funcional consiste en una secuencia que tiene una identidad de al menos 80 %, más particularmente de al menos 85 %, al menos 86 %, al menos 87 %, al menos 88 %, al menos 89 %, al menos 90%, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % e incluso más particularmente una identidad de al menos 99 % con la proteína correspondiente sobre la longitud completa de la proteína correspondiente. Como se utiliza en el presente documento, la expresión "proteína correspondiente" se refiere a la proteína cuyo equivalente funcional tiene una función similar. Los porcentajes de identidad a los que se hace referencia en la presentación de la presente invención, se determinan basándose en una alineación global de secuencias a comparar, es decir, en una alineación de secuencias sobre su longitud completa, usando, por ejemplo, el algoritmo de Needleman y Wunsch 1970. Esta comparación de secuencias puede realizarse, por ejemplo, utilizando el programa informático Needle, usando el parámetro "apertura de hueco" igual a 10,0, el parámetro "extensión de hueco" igual a 0,5 y una matriz "BLOSUM 62". Se dispone de programas informáticos, tales como Needle en el sitio web ebi.ac.uk en todo el mundo, con el nombre de "Needle". La expresión "un fragmento funcionalmente equivalente", como se utiliza en el presente documento, también puede significar cualquier fragmento o ensamblaje de fragmentos del IL7R que se una a IL7. Por consiguiente, la presente divulgación proporciona un polipéptido, en particular un equivalente funcional, capaz de inhibir la unión del IL7R a IL7, cuyo polipéptido comprende aminoácidos consecutivos que tienen una secuencia que corresponde a la secuencia de al menos una parte de un dominio extracelular del IL7R, cuya parte se une a IL7. En algunas realizaciones, el polipéptido, en particular el equivalente funcional, corresponde a un dominio extracelular del IL7R.

En algunas realizaciones, el equivalente funcional del IL7R se fusiona con un polipéptido heterólogo para formar una proteína de fusión. Como se utiliza en el presente documento, una "proteína de fusión" comprende todo o parte (normalmente biológicamente activa) de un equivalente funcional de la presente divulgación unido operativamente a un polipéptido heterólogo (es decir, un polipéptido distinto del mismo polipéptido). Dentro de la proteína de fusión, se entiende que la expresión "unido operativamente" indica que el equivalente funcional de la presente divulgación y el polipéptido heterólogo están fusionados en fase entre sí. El polipéptido heterólogo se puede fusionar al extremo N o C del equivalente funcional de la presente divulgación.

En algunas realizaciones, el equivalente funcional del IL7R se fusiona con un dominio constante de inmunoglobulina (región Fc) para formar una inmunoadhesina. Las inmunoadhesinas pueden poseer muchas de las valiosas propiedades químicas y biológicas de los anticuerpos humanos. Ya que se pueden construir inmunoadhesinas a partir de una secuencia de proteína humana con una especificidad deseada ligada a una secuencia de dominio constante (Fc) y bisagra de inmunoglobulina humana apropiada, la especificidad de unión de interés se puede lograr usando componentes completamente humanos. Dichas inmunoadhesinas son mínimamente inmunogénicas para el paciente y son seguras para uso crónico o repetido. En algunas realizaciones, la región Fc es una región Fc de secuencia nativa. En algunas realizaciones, la región Fc es una región Fc variante. Incluso en otra realización más, la región Fc es una región Fc funcional. Como se utiliza en el presente documento, la expresión "región Fc" se usa para definir una región C-terminal de una cadena pesada de inmunoglobulina, incluyendo regiones Fc de secuencia nativa y regiones Fc variantes. Aunque los límites de la región Fc de una cadena pesada de inmunoglobulina pueden variar, habitualmente se define que la región Fc de cadena pesada de IgG humana se extiende desde un resto de aminoácido en la posición Cys226, o desde Pro230, al extremo carboxilo de la misma. La parte de adhesión y la parte de secuencia de inmunoglobulina de la inmunoadhesina pueden estar ligadas por un conector mínimo. La secuencia de inmunoglobulina normalmente, pero no necesariamente, es un dominio constante de inmunoglobulina. La fracción de inmunoglobulina de las quimeras puede obtenerse de los subtipos de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4, IgA, IgE, IgD o IgM, pero normalmente IgG1 o IgG4. En algunas realizaciones, el equivalente funcional del IL7R y la parte de secuencia de inmunoglobulina de la inmunoadhesina están ligados por un conector mínimo. Como se utiliza en el presente documento, el término "conector" se refiere a una secuencia de al menos un aminoácido que liga el polipéptido y la parte de secuencia de inmunoglobulina. Dicho conector puede ser útil para impedir que se produzcan impedimentos estéricos. En algunas realizaciones, el enlazador tiene 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12; 13; 14; 15; 16; 17; 18; 19; 20; 21; 22; 23; 24; 25; 26; 27; 28; 29; 30 restos de aminoácidos. Sin embargo, el límite superior no es crítico, sino que se elige por razones de conveniencia con respecto a, p. ej., la producción biofarmacéutica de dichos polipéptidos. La secuencia conectora puede ser una secuencia de origen natural o una secuencia de origen no natural. Si se usa con fines terapéuticos, el conector normalmente no es inmunogénico en el sujeto al que se administra la inmunoadhesina. Un grupo útil de secuencias conectoras son conectores derivados de la región bisagra de anticuerpos de cadena pesada como se describe en los documentos WO 96/34103 y WO 94/04678. Otros ejemplos son las secuencias conectoras

de polialanina.

De acuerdo con la presente divulgación, es probable que un paciente responda a un tratamiento con un antagonista del IL7R (p. ej., un anticuerpo antagonista del L7R o un fragmento de unión a antígeno del mismo) cuando dicho antagonista (p. ej., un anticuerpo antagonista anti-L7R o un fragmento de unión a antígeno del mismo) tiene un efecto antagonista del IL7R en dicho paciente, que puede correlacionarse con la respuesta terapéutica a dicho tratamiento con antagonista.

En otra realización particular, de acuerdo con la presente divulgación, es probable que un paciente responda a un tratamiento con un agonista del IL7R (p. ej., IL7) cuando éste tiene un efecto agonista del IL7R en dicho paciente, que puede correlacionarse con la respuesta terapéutica a dicho tratamiento con agonista.

De acuerdo con los diferentes métodos de la presente divulgación, el análisis del perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes, se selecciona del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG*, en muestras de pacientes previamente tratados *in vitro* o *in vivo* con un modulador del IL7R tal como un antagonista del IL7R (p. ej., un anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) o agonista del IL7R, pueden usarse como biomarcadores para determinar la eficacia del modulador del IL7R tal como un antagonista del IL7R (p. ej., un anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) o agonista del IL7R en un paciente y evaluar la respuesta terapéutica o valorar la probabilidad de la respuesta terapéutica de dicho paciente a dicho tratamiento con antagonista (p. ej., anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) o con agonista o seleccionar un compuesto antagonista o agonista del IL7R que probablemente sea eficaz en dicho tratamiento.

Los diferentes métodos de acuerdo la presente divulgación implican, por tanto, determinar el nivel de expresión de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 y 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG* en la muestra del paciente.

La expresión "determinar el perfil de expresión de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*" significa que se evalúa el nivel de expresión de al menos 1, 2, 3 y/o 4 de dichos genes. En una realización particular, se evalúa el nivel de expresión de cada uno de dichos genes.

El gen humano *BCL2,* también denominado *regulador de la apoptosis BCL2* (ID de Gen: 596, actualizado el 20 de junio de 2021) codifica una proteína integral de la membrana mitocondrial externa que bloquea la muerte apoptótica de algunas células tales como los linfocitos. El gen humano *BCL2* codifica dos transcritos producidos por corte y empalme alternativo de la variante alfa del transcrito BCL2 de 6881 pb (Secuencia de Referencia del NCBI: NM_000633.3, actualizado el 01 de julio de 2021) y de la variante beta del transcrito BCL2 de 1595 pb (Secuencia de Referencia del NCBI: NM_000657.3, actualizado el 01 de julio de 2021) que codifica la proteína BCL2 isoforma alfa (secuencia de referencia del NCBI: NP_000624.2, actualizado el 01 de julio de 2021) y la proteína BCL2 isoforma beta (secuencia de referencia del NCBI: NP_000648.2, actualizado el 01 de julio de 2021) respectivamente.

El gen humano *CISH (Cytokine Inducible SH2 containing protein,* que contiene la proteína inducible por citocina, ID de Gen: 1154, actualizado el 20 de junio de 2021) codifica una proteína que contiene un dominio SH2 y un dominio de caja SOCS que pertenece a la familia de proteínas inhibidoras de STAT inducidas por citocinas (CIS, *cytokine-induced STAT*), también conocido como supresor de la señalización de citocinas (SOCS, *suppressor of cytokine signaling*) o inhibidor de STAT inducido por STAT (SSI, *STAT-induced STAT inhibitor*). El gen humano *CISH* codifica dos transcritos, la variante de transcripción CISH 1 de 2176 pb (Secuencia de Referencia del NCBI: NM_013324.7, actualizado el 01 de julio de 2021) y la variante de transcripción CISH 2 de 2019 pb (Secuencia de Referencia del NCBI: NM_145071.4, actualizado el 01 de julio de 2021) que codifica la proteína CISH isoforma 1 (secuencia de referencia del NCBI: NP_037456.5, actualizado el 01 de julio de 2021) y la proteína CISH isoforma 2 (secuencia de referencia del NCBI: NP_659508.1, actualizado el 01 de julio de 2021) respectivamente.

El gen humano *PTGER2* (*Receptor 2 de la prostaglandina E,* ID de Gen: 5732 actualizado el 20 de junio de 2021) codifica un receptor de la prostaglandina E2, un metabolito del ácido araquidónico que tiene diferentes actividades biológicas en una amplia gama de tejidos. El gen humano *PTGER2* codifica un transcrito de 2548 pb (Secuencia de Referencia del NCBI: NM_000956.4, actualizado el 24 de junio de 2021) que codifica la proteína PTGER2 (Secuencia de Referencia del NCBI: NP_000947.2, actualizado el 24 de junio de 2021).

El gen humano *DPP4* (*dipeptidil peptidasa 4,* ID de Gen: 1803, actualizado el 28 de junio de 2021), también conocido como: *ADABP, ADCP2, CD26, DPPIV* y *TP103* codifica la dipeptidil peptidasa 4, que es idéntica a la proteína 2 complejante de adenosina desaminasa y al antígeno de activación de linfocitos T CD26. El gen *DPP4* humano codifica 4 transcritos: DPP4 transcrito de variante 1 de 3573 pb (Secuencia de Referencia del NCBI: NM_001935.4, actualizado el 29 de junio de 2021), DPP4 transcrito de variante 2 de 3570 pb (Secuencia de Referencia del NCBI: NM_001379604.1, actualizado el 1 de julio de 2021), DPP4 transcrito de variante 3 de 3567 pb (Secuencia de Referencia del NCBI: NM_001379605.1, actualizado el 30 de junio de 2021), DPP4 transcrito de variante 4 de 3519 pb

(Secuencia de Referencia del NCBI: NM_001379606.1, actualizado el 01 de julio de 2021), que codifica 4 isoformas de proteína: DPP4 isoforma 1 (Secuencia de Referencia del NCBI: NP_001926.2, actualizado el 29 de junio de 2021), DPP4 isoforma 2 (Secuencia de Referencia del NCBI: NP_001366533.1, actualizado el 1 de julio de 2021), DPP4 isoforma 3 (Secuencia de Referencia del NCBI: NP_001366534.1, actualizado el 30 de junio de 2021) y DPP4 isoforma 4 (Secuencia de Referencia del NCBI: NP_001366535.1, actualizado el 01 de julio de 2021) respectivamente.

El gen humano *SOCS2* (ID de Gen: 8835, actualizado el 11 de junio de 2021), también conocido como: CIS2, Cish2, SOCS-2, SSI-2, SSI2, STATI2 codifica un miembro de la familia de supresores de la señalización de citocinas (SOCS). El gen humano *SOCS2* codifica cinco transcritos: SOCS2 transcrito de variante 1 de 2606 pb (Secuencia de Referencia del NCBI: NM_003877.5, actualizado el 27 de junio de 2021), SOCS2 transcrito de variante 2 de 2653 pb (Secuencia de Referencia del NCBI: NM_001270467.2, actualizado el 27 de junio de 2021), SOCS2 transcrito de variante 3 de 2581 pb (Secuencia de Referencia del NCBI: NM_001270468.2, actualizado el 27 de junio de 2021), SOCS2 transcrito de variante 4 de 2431 pb (Secuencia de Referencia del NCBI: NM_001270469.2, actualizado el 27 de junio de 2021), SOCS2 transcrito de variante 5 de 2888 pb (Secuencia de Referencia del NCBI: NM_001270470.1, actualizado el 23 de junio de 2021), SOCS2 transcrito de variante 6 de 2386 pb (Secuencia de Referencia del NCBI: NM_001270471.2, actualizado el 26 de junio de 2021). Estos transcritos codifican la proteína SOCS2 de 198 aminoácidos (Secuencia de Referencia del NCBI: NP_003868.1, actualizado el 27 de junio de 2021).

El gen humano *FLT3LG* (*ligando del receptor tirosina cinasa 3 relacionado con fms*, ID de Gen: 2323 actualizado el 11 de junio de 2021), también conocido como: FL, FLG3L, FLT3L codifica una proteína que controla el desarrollo de las células dendríticas. El gen humano FLT3LG codifica cinco transcritos: FLT3LG transcrito de variante 1 de 1101 pb (Secuencia de Referencia del NCBI: NM_001204502.2, actualizado el 27 de junio de 2021), FLT3LG transcrito de variante 2 de 1051 pb (Secuencia de Referencia del NCBI: NM_001204503.2, actualizado el 27 de junio de 2021), FLT3LG transcrito de variante 3 de 1050 pb (Secuencia de Referencia del NCBI: NM_001459.4, actualizado el 26 de junio de 2021), FLT3LG transcrito de variante 4 de 1078 pb (Secuencia de Referencia del NCBI: NM_001278637.2, actualizado el 3 de mayo de 2021), FLT3LG transcrito de variante 5 de 1067 pb (Secuencia de Referencia del NCBI: NM_001278638.2, actualizado el 3 de mayo de 2021). Estos transcritos codifican dos isoformas de proteína, proteína precursora de la isoforma 1 de FLT3LG (Secuencia de Referencia del NCBI: NP_001450.2, actualizado el 26 de junio de 2021) y la isoforma 2 de FLT3LG (Secuencia de Referencia del NCBI: NP_001265566.1, actualizado el 3 de mayo de 2021).

El perfil de expresión génica de dichos genes puede determinarse por cualquiera de los métodos adecuados conocidos por el experto en la materia.

La expresión "perfil de expresión génica" o "firma génica" se refiere a un patrón de expresión de al menos un gen del conjunto de genes como se ha descrito anteriormente en una célula que se produce como resultado de un proceso biológico, en este caso el efecto antagonista o agonista del IL7R en una célula. De acuerdo con la presente divulgación, el perfil de expresión génica de dichos biomarcadores puede determinarse midiendo la cantidad relativa de genes producto expresados en células tratadas con un antagonista del ILR7 (por ejemplo, un anticuerpo antagonista del IL7R o un fragmento de unión a antígeno del mismo) o un agonista del IL7R, como se ha descrito anteriormente, y preferentemente realizando un GSEA (Análisis de Enriquecimiento de Conjuntos Genéticos de muestra única (ssGSEA, siglas del inglés) en el algoritmo del GSVA (análisis de variación de conjuntos de genes), calculando una puntuación de enriquecimiento del conjunto de genes por muestra como la diferencia normalizada de las funciones de distribución acumulativa empíricas de los rangos de expresión génica dentro y fuera del conjunto de genes.

Habitualmente, estos métodos comprenden la medición de la cantidad de ARNm o proteína como se ha descrito anteriormente. Los métodos para determinar la cantidad de ARNm son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, el ARNm contenido en la muestra se extrae primero según métodos estándar, por ejemplo, usando enzimas líticas o soluciones químicas o se extrae mediante resinas de unión a ácido nucleico siguiendo las instrucciones del fabricante. El ARNm extraído se detecta después mediante hibridación (p. ej., análisis de transferencia Northern) y/o amplificación (p. ej., RT-PCR) utilizando pares de cebadores y sondas específicos de dichos genes como se describe en los ejemplos de la presente divulgación. Se prefiere la RT-PCR (reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscriptasa) cuantitativa o semicuantitativa. En otra realización particular, el nivel de expresión del ARNm se mide mediante el método de secuenciación de ARN (*RNA seq*).

En algunas realizaciones, el nivel de expresión de dichos genes medido, por ejemplo, por RT-PCR cuantitativa se normaliza restando de cada gen, los niveles de expresión de los genes constitutivos determinados en el mismo experimento y el perfil de expresión génica puede corresponder al nivel de expresión génica normalizado de un gen o a la suma del nivel de expresión génica normalizado de al menos dos, tres genes, preferentemente cada uno de los cuatro genes se selecciona del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, más preferentemente cada uno de los 4, 5 o 6 genes se selecciona del grupo que consiste en: *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG.*

En otras realizaciones, la determinación del perfil de expresión génica comprende la determinación del nivel de expresión de dicho(s) gen(es), en particular mediante sec. de ARN o micromatriz de ADN.

***Método in vitro* para evaluar la respuesta terapéutica del tratamiento con un modulador del receptor de IL7 durante el ciclo del tratamiento.**

En una realización particular, el perfil de expresión de al menos uno, preferentemente de 2, 3, 4, 5, más preferentemente de todos estos genes combinados, es informativo para monitorizar el efecto antagonista o agonista de un compuesto (antagonista del IL7R (p. ej., anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) o agonista del IL7R) en un paciente y, por tanto, la eficacia de dicho tratamiento, durante el ciclo del tratamiento.

Los biomarcadores de acuerdo con la presente divulgación permiten clasificar al paciente como uno que responde a dicho tratamiento determinando el perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG,* en una muestra de paciente y determinando si el perfil de expresión génica de dichos genes es alto o bajo en comparación con un valor de control.

La presente divulgación se refiere a un método *in vitro* para evaluar la respuesta terapéutica de un paciente humano al tratamiento con un antagonista del IL7R (por ejemplo, anticuerpo antagonista anti-receptor de IL7 o fragmento de unión a antígeno del mismo) determinando el perfil de expresión génica de 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes humanos *BCL2*, *CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS* y *FLT3LG* en una muestra de un paciente que ha recibido al menos una dosis de antagonista del IL7R (p. ej., anticuerpo antagonista del receptor de IL7 o fragmento de unión a antígeno del mismo), en donde un perfil de expresión génica inferior de dicho(s) gen(es) en dicha muestra de paciente en comparación con un valor de control, es indicativo de que el paciente probablemente responda a dicho tratamiento con antagonista.

En otra realización particular, la presente divulgación se refiere a un método *in vitro* para evaluar la respuesta terapéutica de un paciente humano al tratamiento con un agonista del IL7R (p. ej., IL7) determinando el perfil de expresión génica de 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes humanos *BCL2*, *CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS* y *FLT3LG* en una muestra de un paciente que ha recibido al menos una dosis de agonista del IL7R, en donde un perfil de expresión génica más elevado de dicho(s) gen(es) en dicha muestra de paciente en comparación con un valor de control, es indicativo de que el paciente probablemente responda a dicho tratamiento con agonista.

La expresión "evaluación de la respuesta terapéutica al tratamiento", como se utiliza en el presente documento, se refiere a la capacidad de evaluar si es probable que el tratamiento de un paciente sea eficaz (es decir, que proporcione un beneficio o una respuesta médica positiva medible) tras cierto tiempo de administración del tratamiento. En otros términos, de acuerdo con la presente divulgación, la evaluación de la respuesta a un tratamiento se refiere a la capacidad de evaluar el efecto de un antagonista del IL7R (p. ej., un anticuerpo antagonista anti-L7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) o de un agonista del IL7R, en las células del paciente, que puede correlacionarse con la probable capacidad de respuesta de dicho paciente a dicho tratamiento.

En particular, el efecto antagonista o agonista del compuesto en un paciente y, por tanto, la respuesta probable a dicho tratamiento con antagonista o agonista en un paciente, se evalúa comparando el perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG*, en un paciente que ha recibido al menos una dosis de dicho antagonista, con un valor de control.

De acuerdo con el presente método para evaluar la respuesta terapéutica, la muestra se recoge previamente de un paciente que ha recibido al menos una dosis de antagonista del IL7R (por ej., anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) o agonista del IL7R.

La expresión "muestra de paciente" significa cualquier muestra biológica derivada de un paciente. Ejemplos de dichas muestras incluyen, muestras de tejidos y células, muestras de órganos, biopsias, tumor, etc. Las muestras biológicas preferidas son las células mononucleares de sangre periférica, tejido o tumor que contiene células inmunitarias infiltradas.

En una realización particular, dicha muestra comprende células inmunitarias. Entre las células inmunitarias se incluyen linfocitos, tales como linfocitos B y T y linfocitos citolíticos naturales. Dicha célula inmunitaria puede obtenerse a partir de diversas fuentes no limitativas, incluyendo células mononucleares de sangre periférica, médula ósea, tejido de ganglios linfáticos, sangre del cordón umbilical, tejido de timo, tejido de un lugar de infección, ascitis, derrame pleural, tejido del bazo y tumores, una unidad de sangre extraída de un sujeto utilizando cualquiera de las técnicas conocidas por el experto. Las células inmunitarias pueden extraerse de la sangre o proceder de células madre. En una realización preferida, dicha muestra es una muestra de tejido, preferentemente de tejido tumoral que contenga células inmunitarias

infiltradas procedentes de un paciente con cáncer o una muestra de sangre de un paciente, más preferentemente células mononucleares aisladas de sangre periférica humana.

De acuerdo con la presente divulgación, un paciente que ha recibido tratamiento con un antagonista o agonista del IL7R se refiere a un paciente que ha recibido al menos una dosis de antagonista del IL7R (p. ej., anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) o agonista del IL7R. La respuesta terapéutica puede evaluarse según el presente método, después de cada administración de una dosis de antagonista del IL7R o agonista del IL7R a lo largo del ciclo de tratamiento para monitorizar la respuesta terapéutica a lo largo del tiempo.

Como se utiliza en el presente documento, la expresión "valor de control " puede referirse a la firma génica (es decir, al perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG*) en muestra biológica obtenida de dicho paciente en un momento diferente, preferentemente antes de dicha administración de dosis de antagonista del IL7R (por ejemplo, anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) o antes de cualquier administración de dosis de antagonista o antes de cualquier tratamiento de la afección o enfermedad u obtenida de células del paciente cultivadas *in vitro* sin dicho antagonista o agonista o con un compuesto (p. ej., un anticuerpo) que se sabe que no tiene efecto sobre la vía de IL7/IL7R. El valor de control puede ser alternativamente un valor predeterminado tal como un valor umbral, un valor estándar o un intervalo obtenido de otra fuente distinta de los datos del paciente. El valor predeterminado de control puede establecerse basándose en mediciones comparativas entre pacientes antes de dicha administración de dosis de antagonista (p. ej., anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) y pacientes que han recibido dicha administración de dosis de antagonista o en mediciones comparativas entre células de pacientes cultivadas *in vitro* con o sin dicho antagonista o agonista o con un compuesto (p. ej., un anticuerpo) que se sabe que no tiene efecto sobre la vía de señalización de IL7/IL7R.

En una realización particular, de acuerdo con el método para evaluar la respuesta terapéutica del tratamiento con un modulador del receptor de IL7 durante el ciclo del tratamiento de la presente divulgación, el valor de control se refiere a la firma génica (es decir, al perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG*) en muestra biológica obtenida de dicho paciente en un momento diferente, preferentemente antes de dicha administración de dosis de antagonista del IL7R (p. ej., anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) o antes de cualquier administración de dosis de antagonista o antes de cualquier tratamiento de la afección o enfermedad o el valor de control se refiere a un valor predeterminado de control establecido basándose en mediciones comparativas entre pacientes antes de dicha administración de dosis de antagonista (p. ej., anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) y pacientes que han recibido dicha administración de dosis de antagonista.

En una realización preferida, el perfil de expresión génica de dichos biomarcadores se evalúa en una muestra recogida de un paciente al menos 1, 2, 3 o 7, preferentemente 10, 14, 21, 28 días después de la administración de la dosis de anticuerpo, más en particular al menos 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 70, 80, 90, 100, 120 días después de la administración de la dosis de anticuerpo.

Un perfil de expresión génica inferior de dichos biomarcadores en la muestra de un paciente que ha recibido al menos una dosis de antagonista del IL7R (p. ej., anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) en comparación con el valor de control, se correlaciona con el efecto antagonista de dicho antagonista (p. ej., anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) en el paciente y, por tanto, con la respuesta terapéutica de un paciente a dicho tratamiento con antagonista del IL7R (p. ej., anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo).

Normalmente, el perfil de expresión génica de dichos biomarcadores en una muestra de paciente se considera inferior al valor de control, si el factor de cambio log2 del perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG*, en dicho paciente, con respecto al de dicho valor de control, es inferior a al menos 0,1, preferentemente 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, más preferentemente 1, 2, 3, 4 de nuevo más preferentemente 5.

En particular, cuando el nivel de expresión génica se determina mediante RT-PCR cuantitativa, el perfil de expresión génica de dichos biomarcadores en una muestra de paciente se considera inferior al valor de control, si el factor de cambio log2 del perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG,* en dicho paciente, con respecto al de dicho valor de control, es inferior a al menos 0,4.

En otra realización particular, cuando el nivel de expresión génica se determina mediante sec. de ARN, el perfil de expresión génica de dichos biomarcadores en una muestra de paciente se considera inferior al valor de control, si el factor de cambio log2 del perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste

en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG,* en dicho paciente, con respecto al de dicho valor de control, es inferior a al menos 0,1.

Si después del tratamiento con el antagonista del IL7R (es decir, anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo), el perfil de expresión génica de dichos biomarcadores en la muestra de un paciente que ha recibido al menos una dosis de antagonista no es inferior a un valor de control, el tratamiento debe interrumpirse o modificarse, por ejemplo cambiando dicho compuesto antagonista del IL7R o cambiando la concentración de dicho antagonista del IL7R. El método para evaluar la respuesta terapéutica de acuerdo con la presente divulgación, puede indicar el éxito o el fracaso del tratamiento de un paciente con un antagonista del IL7R (es decir, anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno).

En otra realización particular, un perfil de expresión génica más elevado de dichos biomarcadores en la muestra del paciente que ha recibido al menos una dosis de agonista del IL7R en comparación con el valor de control, se correlaciona con el efecto agonista de dicho agonista en el paciente y, por tanto, con la respuesta terapéutica de un paciente a dicho tratamiento con agonista del IL7R.

Normalmente, el perfil de expresión génica de dichos biomarcadores en una muestra de paciente se considera superior al valor de control si el factor de cambio log2 del perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG,* en dicho paciente, con respecto al de dicho valor de control, es superior a al menos 0,1, preferentemente 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 más preferentemente 1, 2, 3, de nuevo más preferentemente 4, incluso más preferentemente 5.

En particular, cuando el nivel de expresión génica se determina mediante RT-PCR cuantitativa, el perfil de expresión génica de dichos biomarcadores en una muestra de paciente se considera superior al valor de control si el factor de cambio log2 del perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG*, en dicho paciente, con respecto al de dicho valor de control, es superior a al menos 0,4.

En otra realización particular, cuando el nivel de expresión génica se determina mediante sec. de ARN, el perfil de expresión génica de dichos biomarcadores en una muestra de paciente se considera superior al valor de control si el factor de cambio log2 del perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG*, en dicho paciente, con respecto al de dicho valor de control, es superior a al menos 0,1.

Si después del tratamiento con agonista IL7R, el perfil de expresión génica de dichos biomarcadores en la muestra de un paciente que ha recibido al menos una dosis de agonista no es superior a un valor de control, el tratamiento debe interrumpirse o modificarse, por ejemplo cambiando dicho compuesto antagonista del IL7R o cambiando la concentración de dicho antagonista del IL7R. El método para evaluar la respuesta terapéutica de acuerdo con la presente divulgación puede indicar el éxito o el fracaso del tratamiento de un paciente con un agonista del IL7R.

De acuerdo con la presente divulgación, dicho paciente tratado con un antagonista del IL7R (p. ej. anticuerpo antagonista del IL7R o fragmento de unión a antígeno) padece un trastorno o enfermedad asociado a un aumento de la vía de señalización del IL7R inducido por IL7 (vía IL7/IL7R).

Varios procesos patológicos están asociados a un nivel anormalmente alto de IL-7 y/o IL-7R. Dicho trastorno asociado a un aumento de la vía de señalización de IL7 inducido por IL7, puede seleccionarse del grupo que consiste en una enfermedad autoinmunitaria, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad alérgica, una enfermedad oncogénica, una enfermedad infecciosa, una enfermedad respiratoria, y una enfermedad relacionada con un trasplante, que implica la activación o proliferación de células enfermas CD127 positivas, en particular, una enfermedad autoinmunitaria o una enfermedad inflamatoria, que implica la activación o proliferación de células CD127 positivas, más preferentemente una enfermedad inflamatoria crónica tal como el síndrome de Sjogren o una enfermedad inflamatoria intestinal tal como la colitis ulcerosa.

La enfermedad de Sjogren es una enfermedad autoinmunitaria que afecta principalmente a las glándulas exocrinas y provoca su deterioro funcional. La enfermedad de Sjogren es una enfermedad autoinmunitaria que se caracteriza por manifestaciones inflamatorias y puede categorizarse como enfermedad inflamatoria. Los síntomas del síndrome de Sjogren incluyen, por ejemplo, xeroftalmia y xerostomía. El síndrome de Sjogren suele acompañar a otros trastornos del sistema inmunitario, tal como la artritis reumatoide, lupus, eritematoso, o esclerosis sistémica progresiva.

En una realización particular, dicho trastorno asociado al aumento de la vía de señalización del IL7R inducido por IL7, es una enfermedad infecciosa, preferentemente seleccionada del grupo que consiste en enfermedades infecciosas crónicas, enfermedades infecciosas primarias y secundarias.

En una realización particular, dicho trastorno asociado al aumento de la vía de señalización del IL7R inducido por IL7, es una enfermedad autoinmunitaria, preferentemente seleccionada del grupo que consiste en: diabetes, esclerosis múltiple, síndrome de Sjögren, lupus, psoriasis y dermatitis atópica.

En otra realización particular, dicha enfermedad asociada a un aumento de la vía de señalización del IL7R inducido por IL7, es una enfermedad inflamatoria crónica, preferentemente seleccionada del grupo que consiste en: artritis reumatoide, espondilitis anquilosante y enfermedad inflamatoria intestinal.

En otra realización particular, dicha enfermedad asociada a un aumento de la vía de señalización del IL7R inducido por IL7, es una enfermedad alérgica.

Dicha enfermedad asociada a un aumento de la vía de señalización del IL7R inducido por IL7, puede ser también cáncer tal como cáncer hemático, preferentemente seleccionado del grupo que consiste en: leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos B, leucemia linfocítica crónica, leucemia prolinfocítica de linfocitos T y linfoma de Hodgkin.

En una realización preferida, dicho trastorno asociado a un aumento de la vía de señalización del IL7R inducido por IL7, es el síndrome de Sjogren o la enfermedad inflamatoria intestinal tal como la colitis ulcerosa o la enfermedad de Crohn.

De acuerdo con la presente divulgación, dicho paciente tratado con un agonista del IL7R padece un trastorno o una enfermedad asociado a una actividad deficiente de linfocitos T sanos, preferentemente que pueda rescatarse a través de la vía de señalización del IL7R inducido por IL7, preferentemente una enfermedad oncológica o infecciosa que no dependa de la vía del IL7R para su desarrollo. En una realización particular, dicho paciente tratado con un agonista del IL7R padece un trastorno o una enfermedad en donde se requiere una mejora de la respuesta inmunitaria, tal como inmunoterapia en una enfermedad oncológica o infecciosa.

En otra realización particular, la presente divulgación se refiere al uso terapéutico de un antagonista del IL7R (p. ej., un anticuerpo antagonista anti-receptor de IL7 o un fragmento de unión a antígeno del mismo) o a un agonista, en un paciente humano que lo necesite en donde dicho antagonista, en particular, dicho anticuerpo o agonista se administra a dicho paciente después de que se le haya administrado al menos una dosis de antagonista del IL7R (p. ej., un anticuerpo antagonista anti-receptor de IL7 o un fragmento de unión a antígeno del mismo) o de agonista del IL7R y cuando dicho paciente se evalúa como que probablemente responda a dicho tratamiento con antagonista o agonista en un método como se ha descrito anteriormente.

La presente invención se refiere también a un método de tratamiento de una enfermedad asociada a un aumento de la vía de señalización del IL7R inducido por IL7 o una enfermedad asociada a una actividad deficiente de linfocitos T sanos como se ha descrito anteriormente, en un paciente humano que lo necesite que comprende:

(a) proporcionar una muestra recogida previamente de dicho paciente que haya recibido al menos una dosis de antagonista del IL7R (p. ej., un anticuerpo antagonista del receptor de IL7 o un fragmento de unión a antígeno del mismo) o de agonista del IL7R,

(b) determinar si el perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4,* FLT3LG y SOCS2, es inferior o superior en comparación con un valor de control, en donde un perfil de expresión génica más bajo o más alto de dichos genes es indicativo de que dicho paciente probablemente responda a dicho tratamiento con un antagonista del IL7R (p. ej., un anticuerpo antagonista anti-receptor de IL7 o un fragmento de unión a antígeno del mismo) o con un agonista del IL7R, respectivamente,

(c) volver a administrar a dicho paciente que se ha evaluado como que probablemente responda a dicho tratamiento con antagonista o agonista, una cantidad terapéuticamente eficaz de antagonista del IL7R (p. ej., anticuerpo antagonista anti-receptor de IL7 o fragmento de unión a antígeno del mismo) o de agonista del IL7R.

En otros términos, la presente divulgación se refiere a un método para evaluar la respuesta terapéutica de un tratamiento con antagonista del IL7R en un paciente humano que lo necesite y que padezca una enfermedad asociada a un aumento de la vía de señalización de IL7R inducido por IL7 como se ha descrito anteriormente que comprende:

(a) proporcionar una muestra recogida de dicho paciente en un primer momento o en uno anterior,

(b) proporcionar una muestra recogida de dicho paciente en un segundo momento o en uno posterior,

(b) determinar si el perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del

grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, FLT3LG* y *SOCS2,* en dicha muestra de paciente recogida en un segundo momento o en uno posterior, es menor en comparación con la muestra de paciente recogida en un primer momento o en uno anterior, en donde un perfil de expresión génica más bajo es indicativo de que dicho paciente probablemente responda a dicho tratamiento,

(c) volver a administrar a dicho paciente que se ha evaluado como que probablemente responda a dicho tratamiento con antagonista, una cantidad terapéuticamente eficaz de antagonista del IL7R (p. ej., anticuerpo antagonista anti-receptor de IL7 o fragmento de unión a antígeno del mismo).

La presente divulgación también se refiere a un método para evaluar la respuesta terapéutica de un tratamiento con un agonista del IL7R en un paciente humano que lo necesite y que padezca un trastorno o enfermedad asociado a una actividad deficiente de linfocitos T sanos, preferentemente que pueda rescatarse a través de la vía de señalización del IL7R inducido por IL7, que comprende:

(a) proporcionar una muestra recogida de dicho paciente en un primer momento o en uno anterior,

(b) proporcionar una muestra recogida de dicho paciente en un segundo momento o en uno posterior,

(b) determinar si el perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, FLT3LG* y *SOCS2,* en dicha muestra de paciente recogida en un segundo momento o en uno posterior, es mayor en comparación con dicha muestra de paciente recogida en un primer momento o en uno anterior, en donde un perfil de expresión génica más elevado es indicativo de que dicho paciente probablemente responda a dicho tratamiento,

(c) volver a administrar a dicho paciente que se ha evaluado como que probablemente responda a dicho tratamiento con agonista, una cantidad terapéuticamente eficaz de agonista del IL7R.

La presente divulgación se refiere al uso de un antagonista del IL7R (p. ej., un anticuerpo antagonista anti-receptor de IL7 o fragmento de unión a antígeno del mismo como se ha descrito anteriormente) o de un agonista del IL7R, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad asociada a la vía de señalización del IL7R inducido por IL7 o una enfermedad asociada a una actividad deficiente de linfocitos T sanos en un paciente humano que lo necesite, en donde dicho antagonista o agonista se administra a dicho paciente después de que se le haya administrado al menos una dosis de dicho antagonista del IL7R (p. ej., un anticuerpo antagonista anti-receptor de IL7 o un fragmento de unión a antígeno del mismo como se ha descrito anteriormente) o un agonista del IL7R y cuando dicho paciente se evalúa como que probablemente responda a dicho tratamiento con antagonista o agonista en un método como el descrito anteriormente.

En una realización particular, dicho trastorno o enfermedad asociado a un aumento de la vía de señalización de IL7 inducido por IL7, tratado con antagonista del IL7R se selecciona del grupo que consiste en una enfermedad autoinmunitaria, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad alérgica, una enfermedad oncogénica, una enfermedad infecciosa, una enfermedad respiratoria, y una enfermedad relacionada con un trasplante, que implica la activación o proliferación de células enfermas CD127 positivas, en particular, una enfermedad autoinmunitaria o una enfermedad inflamatoria, que implica la activación o proliferación de células CD127 positivas, más preferentemente una enfermedad inflamatoria crónica tal como el síndrome de Sjogren o una enfermedad inflamatoria intestinal tal como la colitis ulcerosa, preferentemente diabetes, sarcoidosis, cáncer, la enfermedad autoinmunitaria se selecciona preferentemente del grupo que consiste en: esclerosis múltiple, síndrome de Sjögren, lupus, psoriasis y dermatitis atópica, o enfermedad inflamatoria crónica, preferentemente seleccionada del grupo que consiste en: artritis reumatoide, espondilitis anquilosante y enfermedad inflamatoria intestinal, preferentemente colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn.

En una realización particular, dicho antagonista del IL7R es un anticuerpo antagonista anti-IL7R o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la presente divulgación que comprende: (a) una cadena pesada variable que comprende tres CDR, en donde la VHCDR1 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, la VHCDR2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y la VHCDR3 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 u 11 y; (b) una cadena ligera variable que comprende tres CDR, en donde la VLCDR1 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o 12, la VLCDR2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 o 13 y la VLCDR3 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

En una realización preferida, dicho anticuerpo antagonista anti-receptor de IL7 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: (a) una cadena pesada variable que comprende tres CDR, en donde la VHCDR1 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, la VHCDR2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y la VHCDR3 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 y; (b) una cadena ligera variable que comprende tres CDR, en donde la VLCDR1 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, la VLCDR2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de

SEQ ID NO: 5 y la VLCDR3 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

En una realización particular, dicho anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 14-17, y un dominio variable de cadena ligera que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 18-21, preferentemente, dicho antagonista anti-IL7R es el anticuerpo N13B2h3 o fragmento de unión a antígeno del mismo como se describe en el documento WO2015/189302 y comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de: SEQ ID NO: 17, y un dominio variable de cadena ligera que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21, más preferentemente dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una cadena pesada completa que comprende o consiste en SEQ ID NO: 22 y una cadena ligera completa que comprende o consiste en SEQ ID NO: 23.

En otra realización particular, dicho anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y un dominio variable de cadena ligera que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 8, 24-26.

En una realización más preferida, dicho anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y un dominio variable de cadena ligera que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, preferentemente dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una cadena pesada completa que comprende o consiste en SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera completa que comprende o consiste en SEQ ID NO: 10.

En el contexto de la presente divulgación, el término "tratar" o "tratamiento", como se utiliza en el presente documento, significa revertir, aliviar, inhibir el progreso de, o prevenir el trastorno o afección, al que se aplica dicho término, o invertir, aliviar, inhibir el progreso de, o prevenir uno o más síntomas del trastorno o afección, al que se aplica dicho término.

Como se utiliza en el presente documento, una "cantidad terapéuticamente eficaz" o "cantidad eficaz" significa la cantidad de una composición que, cuando se administra a un sujeto para tratar un estado, trastorno o afección, es suficiente para efectuar un tratamiento. La cantidad terapéuticamente eficaz variará dependiendo del compuesto, la formulación o la composición, la enfermedad y su gravedad y la edad, el peso, el estado físico y la capacidad de respuesta del sujeto a tratar.

El antagonista del IL7R (p. ej., anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) o agonista del IL7R descrito en el presente documento puede administrarse por cualquiera de los medios conocidos por los expertos en la materia, incluyendo, sin limitación, la administración por vía intravenosa, oral, intratumoral, intralesional, intradérmica, tópica, intraperitoneal, intramuscular, parenteral, subcutánea y tópica. Por tanto, las composiciones pueden formularse como una formulación inyectable, tópica o ingerible. La administración de los compuestos o agentes terapéuticos a un sujeto de acuerdo con la presente divulgación puede presentar efectos beneficiosos de una manera dependiente de la dosis. Por tanto, dentro de amplios límites, se espera que la administración de cantidades mayores de las composiciones logre mayores efectos biológicos beneficiosos que la administración de una cantidad menor. Por otro lado, también se contempla la eficacia a dosis por debajo del nivel al que se observa toxicidad.

Se apreciará que la dosis específica de antagonista o agonista del IL7R administrada en un caso dado se ajustará de acuerdo con la composición que se vaya a administrar, el volumen de la composición que pueda administrarse eficazmente en el lugar de administración, la enfermedad que se vaya a tratar o inhibir, la afección del sujeto y con otros factores médicos relevantes que puedan modificar la actividad de la composición o la respuesta del sujeto, como conocen bien los expertos en la materia.

Por ejemplo, la dosis específica de antagonista o agonista del IL7R para un sujeto en particular depende de la edad, del peso corporal, del estado de salud general, de la alimentación, del momento y modo de administración, de la velocidad de excreción, de los medicamentos utilizados en combinación y de la gravedad del trastorno particular al que se aplica la terapia. Las posologías de un paciente dado pueden determinarse utilizado consideraciones convencionales, p. ej., mediante la comparación habitual de las actividades diferenciales de las composiciones descritas en el presente documento y de un agente conocido, tal como mediante un protocolo farmacológico convencional apropiado. Las composiciones pueden tomarse siguiendo una pauta de una sola dosis o de dosis múltiples.

Los intervalos posológicos adecuados del antagonista del IL7R (p. ej., del anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) o del agonista del IL7R, pueden ser del orden de varios cientos de microgramos del agente con un intervalo de aproximadamente 0,001 a 100 mg/kg, preferentemente con un intervalo de aproximadamente 0,1 a 20 mg/kg, más preferentemente de aproximadamente 1 a 12 mg/kg, de nuevo más preferentemente de 8-12 mg/kg. Por ejemplo, puede utilizarse una dosis fija de 400, 450, 500, 600, 700, 850, 900 mg.

Un método para evaluar la probabilidad de una respuesta terapéutica en un paciente humano al tratamiento con un modulador del IL7R antes de dicho tratamiento.

El perfil de expresión combinado de dichos biomarcadores puede ser también informativo del estado del paciente que, antes de cualquier tratamiento, puede clasificarse como que probablemente responda, y para el que se recomienda un tratamiento con un antagonista (p. ej., un anticuerpo antagonista contra el receptor de IL7 o fragmento de unión a antígeno del mismo) o un agonista del IL7R descrito en el presente documento. Por ejemplo, el ensayo puede comprender cultivar una muestra de dicho paciente antes del tratamiento en presencia del antagonista o agonista del IL7R para evaluar su respuesta biológica.

Por tanto, en otra realización particular, la presente divulgación se refiere a un método para evaluar la probabilidad de respuesta terapéutica en un paciente humano al tratamiento con un antagonista del IL7R (p. ej., un anticuerpo antagonista anti-receptor de IL7 o un fragmento de unión a antígeno del mismo) o con un agonista antes de dicho tratamiento con un antagonista o agonista, que comprende las etapas de:

a) cultivar en presencia del antagonista del receptor de IL7 y/o del agonista del IL7R, una muestra recogida previamente de dicho paciente antes del tratamiento con dicho antagonista o agonista,

b) determinar el perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG*, en donde un perfil de expresión génica inferior o superior de dichos genes en la muestra cultivada en comparación con un valor de control, es indicativo de que dicho paciente probablemente responda al tratamiento con antagonista o agonista respectivamente.

La expresión "evaluación de la probabilidad de respuesta terapéutica", como se utiliza en el presente documento, se refiere a la capacidad de evaluar si el paciente responderá al tratamiento con un antagonista del IL7R (p. ej., un anticuerpo antagonista anti-receptor de IL7 o un fragmento de unión a antígeno del mismo) o un agonista del IL7R, en otro términos, si el tratamiento con el antagonista o agonista será eficaz en el paciente (p. ej., proporcionando un beneficio o una respuesta médica positiva medible) antes de la terapia. Dicha capacidad para evaluar si el paciente responderá al tratamiento con dicho antagonista o agonista se efectúa normalmente antes de que el tratamiento con el antagonista o agonista haya comenzado en el paciente.

De acuerdo con el presente método de evaluación de la probabilidad de respuesta terapéutica, la muestra se recoge previamente de un paciente antes de que se inicie el tratamiento con el antagonista o agonista. Dicha muestra es preferentemente de células inmunitarias, más preferentemente de células mononucleares de sangre periférica recogidas de dicho paciente antes del tratamiento con dicho antagonista o agonista como se ha descrito anteriormente.

En una realización particular, dichas células son células inmunitarias. Entre las células inmunitarias se incluyen linfocitos, tales como linfocitos B y linfocitos T, linfocitos citolíticos naturales. Dicha célula inmunitaria puede obtenerse a partir de diversas fuentes no limitativas, incluyendo células mononucleares de sangre periférica, médula ósea, tejido de ganglios linfáticos, sangre del cordón umbilical, tejido de timo, tejido de un lugar de infección, ascitis, derrame pleural, tejido del bazo y tumores, una unidad de sangre extraída de un sujeto utilizando cualquiera de las técnicas conocidas por el experto. Las células inmunitarias pueden extraerse de la sangre o proceder de células madre. En una realización preferida, dicha muestra es una muestra de tejido, preferentemente de tejido tumoral que contenga células inmunitarias infiltradas procedentes de un paciente con cáncer o una muestra de sangre de un paciente, más preferentemente células mononucleares aisladas de sangre periférica humana.

A continuación, dicha muestra se cultiva *in vitro* en presencia de un antagonista del IL7R (p. ej., un anticuerpo antagonista anti-receptor de IL7 o un fragmento de unión a antígeno del mismo) y/o de un agonista del IL7R.

Para el análisis del nivel de expresión génica, las muestras pueden cultivarse en medios de cultivo en condiciones de cultivo bien conocidas en la materia para su expansión antes de recogerse. En una realización preferida, dicha muestra se cultiva durante al menos 3, preferentemente 2, 4, 5 o 6 horas a 37°C antes de recogerse para su posterior análisis.

En el comercio se dispone de numerosos medios de cultivo y el experto en la materia conoce bien dichos medios. Este medio puede ser un medio mínimo que comprende en particular sales minerales, aminoácidos, vitaminas y una fuente de carbono esencial para las células y un sistema tampón para regular el pH. El medio basal que puede utilizarse en el método de acuerdo con la invención incluye, por ejemplo, pero sin limitación, medio DMEM/F12, medio DMEM, medio RPMI, medio F12 de Ham, medio IMDM y medio DMEM KnockOut™ (Life Technologies). Dicho medio puede comprender interleucina-7, preferentemente interleucina-7 recombinante humana.

En una realización particular, en dicho método para evaluar la probabilidad de respuesta terapéutica en un paciente humano al antagonista del IL7R, dicha muestra obtenida previamente de dicho paciente antes de dicho tratamiento con el antagonista, se cultiva en la etapa a) en presencia del antagonista del receptor de IL7 (p. ej., un anticuerpo

antagonista anti-receptor de IL7 o fragmento de unión a antígeno del mismo) y de la citocina IL7, preferentemente interleucina-7 recombinante humana para permitir la expansión celular.

Dicho medio de cultivo comprende un antagonista del IL7R, preferentemente un anticuerpo antagonista anti-receptor de IL7 o un fragmento de unión a antígeno del mismo, más preferentemente a una concentración comprendida entre 1 y 10 000 ng/ml, preferentemente 500 y 10 000 ng/ml, más preferentemente entre 1000 y 10 000 ng/ml.

Dicho medio de cultivo comprende un agonista del IL7R, preferentemente a una concentración comprendida entre 1 y 10 000 ng/ml, preferentemente 500 y 10 000 ng/ml, más preferentemente entre 1000 y 10 000 ng/ml.

Después de la etapa de cultivo celular con un antagonista del IL7R (p. ej., anticuerpo antagonista anti-receptor de IL7 o fragmento de unión a antígeno del mismo) y/o con un agonista del IL7R, se recogen dichas células y el perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG,* se determina como se ha descrito anteriormente en dichas células cultivadas.

El método comprende además determinar si el perfil de expresión génica de dichos genes es alto o bajo en comparación con un valor de control. Por ejemplo, un perfil de expresión génica inferior o superior de al menos uno de dichos genes en comparación con el valor de control, puede ser indicativo de que un paciente probablemente responda al tratamiento con un antagonista o agonista respectivamente

En una realización particular, de acuerdo con el método para evaluar la probabilidad de una respuesta terapéutica en un paciente humano de la presente divulgación, el valor de control puede ser el perfil de expresión génica de dicho(s) gen(es) en células del paciente cultivadas *in vitro* sin dicho antagonista o agonista o con un compuesto (p. ej., un anticuerpo) que se sabe que no tiene efecto sobre la vía de IL7/IL7R o un valor de control establecido a partir de mediciones comparativas entre células del paciente cultivadas *in vitro* con o sin dicho antagonista o agonista o con un compuesto (p. ej., un anticuerpo) que se sabe que no tiene efecto sobre la vía de IL7/IL7R.

Un perfil de expresión génica inferior de al menos uno de dichos biomarcadores en células del paciente cultivadas *in vitro* con un antagonista del IL7R (por ej., un anticuerpo antagonista anti-receptor de IL7 o fragmento de unión a antígeno del mismo) en comparación con un valor de control, es indicativo del efecto del antagonista del IL7R en dichas células del paciente y, por tanto, se correlaciona con la probabilidad de respuesta terapéutica al tratamiento con antagonista del IL7R en un paciente.

Normalmente, se considera que el perfil de expresión génica de dicho(s) gen(es) en una muestra de paciente cultivada *in vitro* con un antagonista del IL7R (por ej., un anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo) es inferior a un valor de control si el factor de cambio log2 del perfil de expresión génica de dicho(s) gen(es) en dicho paciente respecto al de dicho valor de control, es inferior a al menos 0,1, preferentemente 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, más preferentemente 1, 2, 3, 4, de nuevo más preferentemente 5.

En particular, cuando el nivel de expresión génica se determina mediante RT-PCR cuantitativa, el perfil de expresión génica de dichos biomarcadores en una muestra de paciente se considera inferior al valor de control, si el factor de cambio log2 del perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG,* en dicho paciente, con respecto al de dicho valor de control, es inferior a al menos 0,4.

En otra realización particular, cuando el nivel de expresión génica se determina mediante sec. de ARN, el perfil de expresión génica de dichos biomarcadores en una muestra de paciente se considera inferior al valor de control, si el factor de cambio log2 del perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG,* en dicho paciente, con respecto al de dicho valor de control, es inferior a al menos 0,1.

En otra realización particular, un perfil de expresión génica más elevado de al menos uno de dichos biomarcadores en células del paciente cultivadas *in vitro* con un agonista del IL7R en comparación con un valor de control, es indicativo del efecto del agonista del IL7R en dichas células del paciente y, por tanto, se correlaciona con la probabilidad de respuesta terapéutica al tratamiento con un agonista del IL7R en un paciente.

Normalmente, el perfil de expresión génica de dicho(s) gen(es) en una muestra de paciente cultivada *in vitro* con un agonista del IL7R se considera superior a un valor de control, si el factor de cambio log2 del perfil de expresión génica del gen(es) en dicho paciente con respecto al de dicho valor de control, es superior a al menos 0,1, preferentemente 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 más preferentemente 1, 2, 3, 4, de nuevo más preferentemente 5.

En particular, cuando el nivel de expresión génica se determina mediante RT-PCR cuantitativa, el perfil de expresión

génica de dichos biomarcadores en una muestra de paciente se considera superior al valor de control si el factor de cambio log2 del perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG*, en dicho paciente, con respecto al de dicho valor de control, es superior a al menos 0,4.

En otra realización particular, cuando el nivel de expresión génica se determina mediante sec. de ARN, el perfil de expresión génica de dichos biomarcadores en una muestra de paciente se considera superior al valor de control si el factor de cambio log2 del perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG*, en dicho paciente, con respecto al de dicho valor de control, es superior a al menos 0,1.

De acuerdo con la presente divulgación, dicho paciente tratado con un antagonista del IL7R (p. ej., un anticuerpo antagonista anti-receptor de IL7 o un fragmento de unión a antígeno del mismo) padece un trastorno o enfermedad asociado a un aumento de la vía de señalización del IL7R inducido por IL7, preferentemente seleccionada del grupo que consiste en: una enfermedad autoinmunitaria, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad alérgica, una enfermedad oncogénica, una enfermedad infecciosa, una enfermedad respiratoria, y una enfermedad relacionada con un trasplante, que implica la activación o proliferación de células enfermas CD127 positivas, en particular, una enfermedad autoinmunitaria o una enfermedad inflamatoria, que implica la activación o proliferación de células CD127 positivas, más preferentemente una enfermedad inflamatoria crónica tal como el síndrome de Sjogren o una enfermedad inflamatoria intestinal tal como la colitis ulcerosa, como se ha descrito anteriormente.

De acuerdo con la presente divulgación, el tratamiento de dicho paciente con un agonista del IL7R padece un trastorno o enfermedad asociado a una actividad deficiente de linfocitos T sanos, preferentemente una enfermedad oncológica o infecciosa que no dependa en sí misma de la vía del IL7R para su desarrollo, como se ha descrito anteriormente.

La presente divulgación también se refiere al uso terapéutico de un antagonista del IL7R (por ejemplo, un anticuerpo antagonista anti-receptor de IL7 o fragmento de unión a antígeno del mismo) o un agonista del IL7R en un paciente humano en donde se haya evaluado previamente que dicho paciente probablemente responda a dicho tratamiento con antagonista o agonista antes de dicho tratamiento en el método como el descrito anteriormente. La presente divulgación también se refiere a un método de tratamiento de una enfermedad asociada a un aumento de la vía del IL7R inducido por IL7 en un paciente humano que lo necesite con un antagonista del IL7R (p. ej., un anticuerpo antagonista anti-receptor de IL7 o fragmento de unión a antígeno del mismo) que comprende:

(a) cultivar, en presencia de un antagonista del IL7R (p. ej., un anticuerpo antagonista anti-receptor de IL7 o un fragmento de unión a antígeno del mismo), una muestra recogida previamente de un paciente antes de dicho tratamiento, y

(b) determinar si el perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, FLT3LG* y *SOCS2,* en dicha muestra, es inferior en comparación con un valor de control, en donde un perfil de expresión génica inferior en dicha muestra de paciente en comparación con un valor de control, es indicativo de que es probable que dicho paciente responda a dicho tratamiento,

(c) administrar a dicho paciente evaluado como que es probable que responda a dicho tratamiento, una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista del IL7R (p. ej., un anticuerpo antagonista anti-receptor de IL7 o un fragmento de unión a antígeno del mismo).

La presente divulgación también se refiere a un método de tratamiento de una enfermedad asociada a una actividad deficiente de linfocitos T sanos como se ha descrito anteriormente en un paciente humano que lo necesite con un agonista del IL7R que comprende:

(a) cultivar con un agonista del IL7R una muestra recogida previamente de un paciente antes de dicho tratamiento, y

(b) determinar si el perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, FLT3LG* y *SOCS2*, en dicha muestra, es mayor en comparación con un valor de control, en donde un perfil de expresión génica más elevado en dicha muestra de paciente en comparación con un valor de control es indicativo de que es probable que dicho paciente responda a dicho tratamiento,

(c) administrar a dicho paciente evaluado como que es probable que responda a dicho tratamiento, una cantidad terapéuticamente eficaz de un agonista del IL7R.

La presente divulgación también se refiere al uso del antagonista del IL7R (por ejemplo, un anticuerpo antagonista anti-receptor de IL7 o un fragmento de unión a antígeno del mismo) o un agonista del IL7R en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad asociada a la vía de IL7/IL7R o una enfermedad asociada a una actividad deficiente de linfocitos T sanos, como se ha descrito anteriormente, en un paciente humano que lo necesite, en donde se haya evaluado previamente que dicho paciente probablemente responda a dicho tratamiento con antagonista o agonista en un método como el descrito anteriormente.

En una realización particular, dicho antagonista anti-IL7R es el anticuerpo N13B2h1, N13B2h2 o N13B2h3 o fragmento de unión a antígeno del mismo, como se describe en el documento WO2015/189302 o el anticuerpo N13B2-hVL3, N13B2-hVL4, N13B2-hVL5 o N13B2-hVL6 o fragmento de unión a antígeno del mismo, como se describe en el documento WO2018/104483 y comprende: (a) una cadena pesada variable que comprende tres CDR, en donde la VHCDR1 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, la VHCDR2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y la VHCDR3 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 u 11 y; (b) una cadena ligera variable que comprende tres CDR, en donde la VLCDR1 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o 12, la VLCDR2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 o 13 y la VLCDR3 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

En una realización preferida, dicho anticuerpo antagonista anti-receptor de IL7 o fragmento de unión a antígeno del mismo, es el anticuerpo N13B2h3 o fragmento de unión a antígeno del mismo, como se describe en el documento WO2015/189302 o el anticuerpo N13B2-hVL3, N13B2-hVL4, N13B2-hVL5 o N13B2-hVL6 o fragmento de unión a antígeno del mismo, como se describe en el documento WO2018/104483, preferentemente el anticuerpo N13B2-hVL6 o fragmento de unión a antígeno del mismo y comprende: (a) una cadena pesada variable que comprende tres CDR, en donde la VHCDR1 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, la VHCDR2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y la VHCDR3 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 y; (b) una cadena ligera variable que comprende tres CDR, en donde la VLCDR1 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, la VLCDR2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 y la VLCDR3 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

En una realización particular, dicho anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 14-17, y un dominio variable de cadena ligera que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 18-21, preferentemente, dicho antagonista anti-IL7R es el anticuerpo N13B2h3 o fragmento de unión a antígeno del mismo como se describe en el documento WO2015/189302 y comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de: SEQ ID NO: 17, y un dominio variable de cadena ligera que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 más preferentemente dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una cadena pesada completa que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 22 y una cadena ligera completa que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 23.

En otra realización particular, dicho antagonista anti-IL7R es el anticuerpo N13B2-hVL3, N13B2-hVL4, N13B2-hVL5 o N13B2-hVL6 o fragmento de unión a antígeno del mismo, como se describe en el documento WO2018/104483 y comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y un dominio variable de cadena ligera que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 8, 24-26.

En una realización más preferida, dicho anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y un dominio variable de cadena ligera que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, preferentemente dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una cadena pesada completa que comprende o consiste en SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera completa que comprende o consiste en SEQ ID NO: 10.

El antagonista, preferentemente el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o el agonista, descrito en el presente documento, puede administrarse por cualquier medio conocido por los expertos en la materia, como se ha descrito anteriormente.

Los intervalos posológicos adecuados del antagonista del IL7R, preferentemente del anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo o del agonista del IL7R, pueden ser del orden de varios cientos de microgramos del agente con un intervalo de aproximadamente 0,001 a 100 mg/kg, preferentemente con un intervalo de aproximadamente 0,1 a 20 mg/kg, más preferentemente de aproximadamente 1 a 12 mg/kg, de nuevo más preferentemente de 8-12 mg/kg. Por ejemplo, puede utilizarse una dosis fija de 400, 450, 500, 600, 700, 850, 900 mg.

Método de selección de un compuesto modulador del IL7R

En otra realización particular, la presente divulgación se refiere a un método *in vitro* para seleccionar un compuesto antagonista del IL7R, preferentemente un compuesto antagonista del IL7Rα que probablemente sea eficaz en el tratamiento de una enfermedad asociada a un aumento de la vía de señalización del IL7R inducido por IL7 como se ha descrito anteriormente, que comprende las etapas de:

a) cultivar células humanas con dicho compuesto,
b) determinar el perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG,* en dichas células, y
c) seleccionar un compuesto que induzca un perfil de expresión génica inferior de dicho(s) gen(es) en dichas células en comparación con un valor de control.

En otra realización particular, la presente divulgación se refiere a un método *in vitro* para seleccionar un compuesto agonista del IL7R que probablemente sea eficaz en el tratamiento de una enfermedad asociada a una actividad deficiente de linfocitos T sanos como se ha descrito anteriormente, que comprende las etapas de:

a) cultivar células humanas con dicho compuesto agonista,
b) determinar el perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG,* en dichas células, y
c) seleccionar un compuesto que induzca un perfil de expresión génica más elevado de dicho(s) gen(es) respectivamente en dichas células en comparación con un valor de control.

De acuerdo con el presente método para seleccionar un compuesto antagonista o agonista del IL7R, dicho valor de control puede ser el perfil de expresión génica de dicho(s) gen(es) en células cultivadas sin un compuesto o que se sabe que no tiene ningún efecto sobre la vía de señalización de IL7/IL7R.

En una realización preferida, dicho compuesto es un anticuerpo antagonista anti-IL7R o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

Las células que pueden utilizarse para seleccionar dicho compuesto pueden ser líneas celulares inmortalizadas que expresen CD127, tal como una línea de linfocitos T, por ejemplo, células Jurkat, o células recogidas de un donante, preferentemente de un donante humano sano.

En una realización particular, dichas células son células inmunitarias que incluyen linfocitos, en particular linfocitos T, linfocitos citolíticos naturales. Dicha célula inmunitaria puede obtenerse a partir de diversas fuentes no limitativas, incluyendo células mononucleares de sangre periférica, médula ósea, tejido de ganglios linfáticos, sangre del cordón umbilical, tejido de timo, tejido de un lugar de infección, ascitis, derrame pleural, tejido del bazo y tumores, una unidad de sangre extraída de un sujeto utilizando cualquiera de las técnicas conocidas por el experto. Las células inmunitarias pueden extraerse de la sangre o proceder de células madre. En una realización preferida, dichas células son células mononucleares de sangre periférica.

Puede considerarse que un antagonista es un antagonista adecuado del IL7-R, preferentemente un anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo y es probable que sea eficaz en el tratamiento de una enfermedad asociada a un aumento de la vía de señalización de IL7R inducido por IL7 cuando induce un perfil de expresión génica inferior de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG,* en células cultivadas con dicho compuesto en comparación con un valor de control, preferentemente si el factor de cambio log2 del perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4,* preferentemente 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG*, en dichas células cultivadas con dicho compuesto, con respecto al de dicho valor de control, es inferior a al menos 0,1, preferentemente 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, más preferentemente 1, 2, 3, 4, incluso más preferentemente 5.

En particular, cuando el nivel de expresión génica se determina mediante RT-PCR cuantitativa, el perfil de expresión génica de dichos biomarcadores en una muestra de paciente se considera inferior al valor de control, si el factor de cambio log2 del perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG,* en dicho paciente, con respecto al de dicho valor de control, es inferior a al menos 0,4.

En otra realización particular, cuando el nivel de expresión génica se determina mediante sec. de ARN, el perfil de expresión génica de dichos biomarcadores en una muestra de paciente se considera inferior al valor de control, si el factor de cambio log2 del perfil de expresión génica al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste

en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG,* en dicho paciente, con respecto al de dicho valor de control, es inferior a al menos 0,1.

Por otra parte, puede considerarse que un agonista es un agonista adecuado del IL7R y es probable que sea eficaz en el tratamiento de una enfermedad asociada a una actividad deficiente de linfocitos T sanos, como se ha descrito anteriormente, cuando induce un perfil de expresión génica superior de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG,* en células cultivadas con dicho compuesto en comparación con un valor de control, preferentemente si el factor de cambio log2 del perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4,* preferentemente 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG,* en dichas células cultivadas con dicho compuesto, con respecto al de dicho valor de control, es superior a 0,1, preferentemente 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, más preferentemente 1, 2, 3, 4, incluso más preferentemente 5

En particular, cuando el nivel de expresión génica se determina mediante RT-PCR cuantitativa, el perfil de expresión génica de dichos biomarcadores en una muestra de paciente se considera superior al valor de control si el factor de cambio log2 del perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG*, en dicho paciente, con respecto al de dicho valor de control, es superior a al menos 0,4.

En otra realización particular, cuando el nivel de expresión génica se determina mediante sec. de ARN, el perfil de expresión génica de dichos biomarcadores en una muestra de paciente se considera superior al valor de control si el factor de cambio log2 del perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG*, en dicho paciente, con respecto al de dicho valor de control, es superior a al menos 0,1.

Kit

En otro aspecto, la presente divulgación se refiere a un kit, preferentemente para su uso en un método *in vitro* para evaluar la respuesta terapéutica de un antagonista del IL7R o de un agonista del IL7R o en un método *in vitro* para evaluar la probabilidad de una respuesta terapéutica en un paciente humano a un antagonista o agonista del IL7R que comprende o consiste en un conjunto de reactivos que detectan específicamente el perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4,* SOCS2 y FLT3LG.

Preferentemente, el kit comprende recipientes, que comprenden, cada uno de ellos, uno o más compuestos a una concentración o en una cantidad que facilita la reconstitución y/o el uso de un conjunto de reactivos que detecta específicamente el perfil de expresión génica de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG* y la implementación del método de acuerdo con la divulgación.

En particular, el kit contiene pares de cebadores y/o sondas específicos de al menos 1, 2, 3 o 4 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*, preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 genes seleccionados del grupo que consiste en: los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4,* SOCS2 y FLT3LG.

El kit puede comprender también instrucciones que indiquen los métodos para preparar y/o usar los reactivos para determinar el nivel de expresión de dichos genes de acuerdo con los métodos de la divulgación.

La presente invención también se refiere al uso del kit para un método de acuerdo con la presente divulgación.

La invención se ilustrará ahora con los siguientes ejemplos, que no son limitativos, con referencia a las figuras adjuntas.

Leyendas de las figuras

Figura 1: Representación en diagrama de caja de la firma del ssGSEA (Análisis de Enriquecimiento de Conjuntos Genéticos de muestra única) de 6 genes (BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, FLT3LG y SOCS2) en las muestras emparejadas A) N13B2-hVL6 o placebo D1 y D15 y B) en las muestras emparejadas D1, D15 y D57 de las muestras tratadas con N13B2-hVL6 con el método de sec. de ARN. Se observó una disminución significativa y elevada de la firma relacionada con la vía de IL7/IL7R para N13B2-hVL6 con estos 6 genes.

Figura 2: Representación en diagrama de caja de la nueva firma del ssGSEA de 4 genes (BCL2, CISH, PTGER2, DPP4) en A) las muestras emparejadas del D1 y D15 tratadas con N13B2-hVL6 o placebo y B) en las muestras emparejadas del D1, D15 y D57 tratadas con N13B2-hVL6 con el método de sec. de ARN. Se observó una disminución significativa y elevada de la firma relacionada con la vía de IL7/IL7R para N13B2-hVL6 con estos 4 genes.

Figura 3: Representación en diagrama de caja de la nueva firma de 4 genes (BCL2, CISH, PTGER2, DPP4) en las muestras emparejadas N13B2-hVL6 o placebo D1 y D15 con el método de RT-qPCR (reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscriptasa cualitativa). Se observó una disminución significativa y elevada de la firma relacionada con la vía de IL7/IL7R para N13B2-hVL6 con estos 4 genes.

Figura 4: Representación en diagrama de caja de la firma del ssGSEA de 4 genes, calculándose la expresión génica de *BCL2 CISH, PTGER2, DPP4* con el paquete R de GSVA (por las siglas del inglés *Gene Set Variation Analysis*, análisis de variación de conjuntos de genes) en la secuenciación de sec. ARN de PBMC humanas preincubadas con 3 mAb (anticuerpos monoclonales) anti-IL7Ra humano (mAb1: N13B2-hVL6 (desvelado en el documento WO2018/104483), mAb2: MD707-13 (anticuerpo anti-sitio 1 desvelado en el documento WO2013/056984), mAb3: GSKWO2011 (1A11 desvelado en la patente GSK WO2011/094259)) y estimuladas durante 3 horas con IL7 recombinante. Se observó una disminución significativa y elevada de la firma del ssGSEA relacionada con la vía de IL7/IL7R para los 3 anticuerpos con estos 4 genes.

Figura 5: Representación en diagrama de caja de la firma de ssGSEA de 6 genes, calculándose la expresión génica de *BCL2 CISH, PTGER2, DPP4*, *SOCS2* y *FLT3LG* con el paquete R de GSVA en la secuenciación de sec. ARN de PBMC humanas preincubadas con 3 mAb (anticuerpos monoclonales) anti-IL7Ra humano (mAb1: N13B2-hVL6 (desvelado en el documento WO2018/104483), mAb2: MD707-13 (anticuerpo anti-sitio 1 desvelado en el documento WO2013/056984), mAb3: GSKWO2011 (1A11 desvelado en la patente GSK WO2011/094259)) y estimuladas durante 3 horas con IL7 recombinante. Se observó una disminución significativa y elevada de la firma del ssGSEA relacionada con la vía de IL7/IL7R para los 3 anticuerpos con estos 6 genes.

Figura 6: Representación en diagrama de caja de la firma de ssGSEA de 4 genes, calculándose la expresión génica de *BCL2 CISH, PTGER2, DPP4* con el paquete R de GSVA en la secuenciación de sec. ARN de PBMC humanas estimuladas con IL7 recombinante. Se observó un aumento significativo y elevado de la firma del ssGSEA relacionada con la vía de IL7/IL7R.

Figura 7: Representación en diagrama de caja de la firma del ssGSEA de 6 genes, calculándose la expresión génica de *BCL2 CISH, PTGER2, DPP4*, *FLT3LG* y *SOCS2* con el paquete R de GSVA en la secuenciación de sec. ARN de PBMC humanas estimuladas con IL7 recombinante. Se observó un aumento significativo y elevado de la firma del ssGSEA relacionada con la vía de IL7/IL7R.

Ejemplos

En un Illumina HiSeq de la empresa Genewiz, se secuenció ARN con ARNr y empobrecimiento de globulina en un extremo de150 pares de bases de muestras de sangre de Paxgene de anticuerpo antagonista anti-IL7R en una población de voluntarios sanos.

La calidad de la secuenciación de los ficheros fastq en formato raw se evaluó con la herramienta bioinformática fastQC. Las lecturas se pseudoalinearon con CRGh38/hg38 utilizando la herramienta bioinformática Salmon con la opción de preparación de índices del código genético, y utilizando la herramienta bioinformática Salmon con la opción-geneMap, se generó la tabla de recuento en bruto así como la tabla TPM normalizada del número de lecturas de cada gen. La calidad de las lecturas de pseudomapeo se evaluó con la herramienta bioinformática fastQC, con un promedio de 20 a 30M de lecturas con más del 90 % de bases ≥ 30 para todas las muestras.

Esta cohorte de voluntarios sanos incluye 22 muestras de células mononucleares de sangre periférica (PBMC, *peripheral blood mononuclear cells*) antes de la inyección del anticuerpo antagonista contra-IL7R humano (N13B2-hVL6) (10 mg/kg) o placebo, emparejadas con muestras de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) recogidas el Día 15 después de la inyección, y el Día 57 después de la inyección para 4 de ellas, para una cohorte total de 48 muestras. Sólo una muestra no superó los distintos controles de calidad y se eliminó del estudio.

Los inventores identificaron 6 genes realmente implicados en una vía de señalización de IL7/IL7R: BCL2, CISH, SOCS2, FLT3LG, PTGER2 y DPP4.

Para evaluar la eficacia de una firma génica con estos genes, se calculó una firma del GSEA de muestra única (ssGSEA).

Se observó una disminución significativa y elevada de la firma del ssGSEA de 6 genes durante el tratamiento el D15 para las muestras de voluntarios sanos tratados con N13B2-hVL6, pero no para las muestras de voluntarios sanos tratados con placebo (**Figura 1A**). Esta disminución se observó incluso el D57 después de la inyección de N13B2-

hVL6, lo que concordaba con la detección de larga duración (más de 3 meses) del anticuerpo en el suero de los voluntarios sanos tratados con N13B2-hVL6 (**Figura 1B**).

También se observó una disminución significativa y elevada solo con 4 genes de la firma del ssGSEA durante el tratamiento el D15 para las muestras de voluntarios sanos tratados con N13B2-hVL6, pero no para las muestras de voluntarios sanos tratados con placebo (**Figura 2A**). Al igual que con la firma de 6 genes, esta disminución se observó incluso el D57 después de la inyección de N13B2-hVL6 (**Figura 2B**).

Después de un tratamiento de corta y larga duración, se observa una mayor sensibilidad con firmas del ssGSEA de 4 y 6 genes en comparación con el análisis del ssGSEA de un solo gen, como se muestra en la Tabla 1 a continuación:

Tabla 1: Análisis ssGSEA de los 4 y 6 genes, realizado en las muestras de sujetos tratados con 10 mg:kg de N13B2-hVL6

	prueba de análisis de la varianza (Anova)	prueba de la *t* D1 frente D15	**FClog2 = D15 - D1**	prueba de la *t* D1 frente D57	**FClog2 = D57 - D1**
	10 mg/kg				
PTGER2	3,6e-06	0,0025	-0,24	0,0026	-0,67
CISH	1,1e-07	5,4e-09	-0,24	0,033	-0,52
BCL2	9,9e-07	2,7e-05	-0,35	0,012	-0,57
DPP4	3,6e-06	0,0035	-0,19	0,0093	-0,55
PTGER2/CISH/ DPP4/BCL2	**1,3e-08**	**5,6e-07**	**-0,26**	**0,011**	**-0,60**
PTGER2/CISH/ DPP4/BCL2/ SOCS2/FLT3LG	**8,5e-10**	**3,9e-08**	**-0,37**	**0,0027**	**-0,63**

Esta nueva firma está fuertemente correlacionada con el efecto antagonista biológico del anticuerpo anti-IL7R y podría usarse como herramienta de seguimiento del efecto antagonista biológico del anticuerpo anti-IL7R en diferentes ensayos nuevos.

La técnica de sec. de ARN es muy sensible pero es una técnica costosa. La firma génica también se validó con otra técnica menos costosa, la RT-qPCR, pero que es menos sensible. Los genes FLT3G y SOCS2 no se analizaron en la RT-qPCR.

Los inventores realizaron una validación por RT-qPCR de estos 4 genes como prueba complementaria del anticuerpo antagonista anti-IL7R.

En 5 muestras emparejadas D1 y D15 de placebo y 5 muestras emparejadas D1 y D15 de voluntarios tratados con N13B2-hVL6 *in vivo* (10 mg/kg) ya analizadas por Genewiz en la secuenciación mediante sec. de ARN, se realizó un análisis de cuantificación en tiempo real (RT-qPCR) de estos 4 genes.

Para ello, se realizó una transcripción inversa (RT) con la mezcla maestra SuperScript IV VILO con EzDNASE n.º 11766050 Thermo para obtener ADN complementario (ADNc) con un tratamiento de Dnasa para eliminar el ADN genómico. Para cuantificar cada gen y los genes constitutivos (**Tabla 2**) se utilizó la mezcla maestra (5 ml) n.º 4444557 de TaqMan® Fast Advanced Thermo con sondas TaqMan en un analizador en tiempo real ViiA7.

Tabla 2: Lista de sondas TaqMan utilizadas para la RT-qPCR

ID de producto	ID de gen	ID de ensayo
4448892	BCL2	Hs01048932_g1
4448892	CISH	Hs00367082_g1
4453320	PTGER2	Hs00168754_m1
4448892	DPP4	Hs00897405_m1
4331182	TBP	Hs00427620_m1
4331182	HPRT	Hs02800695_m1
4331182	ACTB	Hs03023943_g1

Se calculó la suma del -DeltaCt normalizado con el gen constitutivo TBP de los 4 genes detectados (BCL2, CISH, PTGER2, DPP4) en la RT-qPCR y se utilizó como firma.

La representación en diagrama de caja de esta firma (**Figura 3**) muestra que la disminución observada en muestras D15 de voluntarios sanos tratados con N13B2-hVL6 en la secuenciación del ARN es también observable en el análisis de RT-qPCR.

Para validar esta firma de 4 genes por RT-qPCR, se realizó un análisis por RT-qPCR de estos 4 genes con TBP como gen constitutivo en las muestras de sujetos tratados con 1 mg/kg, 4 mg/kg y 6 mg/kg de N13B2-hVL6 (**Tabla 3**) y se calculó un Factor de Cambio log2 entre D15 y D1 en muestras emparejadas (FClog2).

Tabla 3: Análisis por RT-qPCR de los 4 genes con TBP como gen constitutivo realizado en las muestras de sujetos tratados con 1 mg/kg, 4 mg/kg, 6 mg/kg y 10 mg/kg de N13B2-hVL6, con un valor de *p* y un FClog2 calculado entre D15 y D1.

	prueba de la *t* entre D1 y D15							
	1 mg/kg		4 mg/kg		6 mg/kg		10 mg/kg	
	prueba de la *t*	**FClog2 = D15 - D1**	prueba de la *t*	**FClog2 = D15 - D1**	prueba de la *t*	**FClog2 = D15 - D1**	prueba de la *t*	**FClog2 = D15 - D1**
PTGER2	ns	-0,48	0,0037	-0,8	0,01	-0,41	ns	-0,59
CISH	0,0025	-1,26	0,00049	-1,39	0,0049	-0,94	0,00092	-1,21
BCL2	0,0052	-1,04	0,0029	-1,05	0,021	-0,71	0,0013	-0,94
DPP4	ns	-0,41	ns	-0,57	ns	-0,27	4,6e-05	-0,57
PTGER2/CISH/ DPP4/BCL2	**0,0029**	**-3,18**	**0,00065**	**-4,28**	**0,0034**	**-2,65**	**0,00012**	**-3,32**

Se observó una disminución significativa de la firma de los 4 genes por RT-qPCR en todas las dosis de tratamiento con N13B2-hVL6.

Esta firma se validó con otros anticuerpos. Para ello, se realizó secuenciación sec. ARN de PBMC humanas preincubadas con 3 mAb anti-IL7Rα humanos (mAb1: N13B2-hVL6, mAb2: MD707-13 y mAb13: GSKWO2011) y estimuladas durante 3 horas con IL7 recombinante.

Se observó una disminución significativa y elevada de la firma del ssGSEA (Análisis de Enriquecimiento de Conjuntos Genéticos de muestra única) relacionada con la vía de IL7/IL7R para los 3 anticuerpos con los 4 y 6 genes (**Figura 4 y 5**).

Para validar que esta nueva firma también puede correlacionarse con el efecto agonista de IL7R y que podría usarse como herramienta de seguimiento del efecto biológico agonista de IL7R, se realizó una secuenciación del ARN de PBMC tratadas con la citocina IL7. Durante 3 horas, se incubaron PBMC humanas recientes aisladas de donantes sanos (obtenidas en el *Etablissement Français du Sang*) con 5 ng/ml de IL-7 humana recombinante (AbDSerotec) a una temperatura de 37 °C. Las reacciones se detuvieron en hielo y los sedimentos celulares se resuspendieron en tampón RLT (Qiagen) que contenía βmercaptoetanol al 1 % en agua sin ARNasa/ADNasa y se conservaron a -80 °C.

El ARN se extrajo utilizando un mini kit de extracción de ARN siguiendo las instrucciones del fabricante (Qiagen). La calidad y la cantidad de ARN se evaluaron mediante espectrometría de infrarrojos (Nanodrop) y bioanalizador Agilent (Agilent RNA 6000 Pico Kit). Se prepararon bibliotecas Smart-Seq2 en los Broad Technology Labs y se secuenciaron con la plataforma Broad Genomics siguiendo el protocolo SmartSeq2 con algunas modificaciones (Trombetta, J. J. et al. Curr. Protoc. Mol. Biol. 107, 4.22.1-4.22.17 (2014)). Resumiendo, utilizando perlas de SPRI (imágenes de resonancia de plasmones superficiales) para ARN, se purificó ARN total, el ARNm poliA+ se retrotranscribió a ADNc, y el ADNc amplificado se sometió a fragmentación basada en transposones que utilizó doble indexación para codificar cada fragmento de cada transcripción convertida con una combinación de códigos de barras específicos para cada muestra.

Se realizó secuenciación de ambos extremos de 2 × 25 pb con 8 ciclos adicionales para cada índice. Los datos se separaron por código de barras y se alinearon utilizando la versión 2.0.10 de Tophat con la configuración predeterminada. Las transcripciones se cuantificaron mediante el procedimiento computacional de los Broad Technology Labs utilizando la versión 2.2.167 de Cuffquant. Resumiendo, los datos se procesaron con CuffNorm si se alineaba el 50 % de las lecturas y si se alineaban al menos 100 000 pares por muestra. La normalización utilizó la configuración predeterminada, incluida la normalización "geométrica", y para los análisis posteriores, se utilizó la información sobre el nivel de expresión como valores de FPKM (fragmentos por kilobase de transcrito por millón de fragmentos mapeados) transformados a log2. Los resultados de la sec. de ARN están accesibles en la base de datos GEO con el código de registro GSE103643 (Belarif et al. Nature communications, (2018) 9:4483).

Se calculó una firma del GSEA de muestra única (ssGSEA) basándose en los genes de interés BCL2, CISH, SOCS2, FLT3LG, PTGER2 y DPP4.

Como se muestra en las **Figuras 6** y **7**, se observó un aumento significativo y elevado de la firma del ssGSEA de los 4 y 6 genes relacionados con la vía de IL7/IL7R en las muestras estimuladas con IL7.

Se observa una mayor sensibilidad con la firma del ssGSEA de 4 y 6 genes en comparación con el análisis ssGSEA de un solo gen cual se muestra en la **Tabla 4.**

Tabla 4: Análisis ssGSEA de los 4 y 6 genes, realizado en las muestras de PBMC estimuladas con la citocina IL7.

	prueba de la *t* no calculado frente a IL7	**FClog2 = IL7 - No calculado**
PTGER2	0,0076	0,14
CISH	4,e-04	0,29
BCL2	8,0e-08	0,52
DPP4	0,0018	0,25
PTGER2/CISH/DPP4/BCL2	**1,9e-07**	**0,45**
PTGER2/CISH/DPP4/BCL2/SOCS2/FLT3LG	**5,6e-09**	**0,48**

Conclusión

Este estudio permitió descubrir que el perfil de expresión génica de 6 genes, en particular de 4 genes, refleja la actividad de la vía de IL7/IL7R. El perfil de expresión génica de al menos uno de estos 4 genes, que puede cuantificarse fácilmente mediante RT-qPCR, podría utilizarse para evaluar la actividad antagonista o agonista del IL7R y puede servir como prueba complementaria para monitorizar el efecto biológico de un antagonista o agonista del IL7R.

REIVINDICACIONES

1. Un método *in vitro* para evaluar la respuesta terapéutica de un tratamiento con un antagonista del IL7R o un agonista del IL7R en un paciente humano, que comprende la etapa de determinar el perfil de expresión génica de cada uno de los siguientes genes: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4,* y preferentemente además los genes *FLT3LG* o *SOCS2,* más preferentemente los genes *BCL2*, *CISH, PTGER2, DPP4, FLT3LG* y *SOCS2,* en una muestra de paciente que ha recibido al menos una dosis de antagonista del IL7R o agonista del IL7R, en donde un perfil de expresión génica inferior o superior de dichos genes en dicha muestra de paciente en comparación con un valor de control, es indicativo de que es probable que el paciente responda al tratamiento con el antagonista del IL7R o con el agonista del IL7R respectivamente.

2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicha muestra se recoge previamente de un paciente al menos 15 días después de la administración de al menos una dosis de dicho antagonista del IL7R o agonista del IL7R en dicho paciente.

3. Un método *in vitro* para evaluar la probabilidad de una respuesta terapéutica en un paciente humano a un antagonista o agonista del IL7R antes de dicho tratamiento, que comprende las etapas de:

a) cultivar una muestra recogida previamente de un paciente antes de dicho tratamiento, en presencia de dicho antagonista del IL7R o agonista del IL7R,
b) determinar el perfil de expresión génica de cada uno de los siguientes genes: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4,* y preferentemente además los genes *FLT3LG* o *SOCS2,* más preferentemente los genes *BCL2*, *CISH, PTGER2, DPP4, FLT3LG* y *SOCS2*, en dicha muestra cultivada, en donde un perfil de expresión génica inferior o superior de dichos genes en la muestra cultivada en comparación con un valor de control, es indicativo de que es probable que el paciente responda al tratamiento con dicho antagonista del IL7R o con el agonista del IL7R respectivamente.

4. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde dicho antagonista del IL7R es un anticuerpo anti-IL7R o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que preferentemente comprende:

a) una cadena pesada variable que comprende tres CDR, en donde:

- la VHCDR1 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1,
- la VHCDR2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, y
- la VHCDR3 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 u 11, preferentemente de SEQ ID NO: 3 y;

b) una cadena ligera variable que comprende tres CDR, en donde:

- la VLCDR1 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o 12, preferentemente de SEQ ID NO: 4,
- la VLCDR2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 o 13, preferentemente de SEQ ID NO: 5 y
- la VLCDR3 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6, más preferentemente en donde dicho anticuerpo antagonista anti-IL7R o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y un dominio variable de cadena ligera que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, de nuevo más preferentemente dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una cadena pesada completa que comprende o consiste en SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera completa que comprende o consiste en SEQ ID NO: 10.

5. El método para evaluar la respuesta terapéutica de un antagonista del IL7R de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 o 4 o el método para evaluar la probabilidad de una respuesta terapéutica en un paciente humano a un antagonista del IL7R de acuerdo con una cualquiera de la reivindicaciones 3 o 4, en donde cuando dicho paciente padece una enfermedad asociada a un aumento de la vía de señalización del IL7R inducido por IL7, se selecciona preferentemente del grupo que consiste en: una enfermedad autoinmunitaria, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad alérgica, una enfermedad oncogénica, una enfermedad infecciosa, una enfermedad respiratoria, y una enfermedad relacionada con un trasplante, que implica la activación o proliferación de células enfermas CD127 positivas, en particular, una enfermedad autoinmunitaria o una enfermedad inflamatoria, que implica la activación o proliferación de células CD127 positivas, más preferentemente una enfermedad inflamatoria crónica tal como el síndrome de Sjogren o una enfermedad inflamatoria intestinal tal como la colitis ulcerosa.

6. El método para evaluar la respuesta terapéutica de un agonista del IL7R de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 o 4 o el método para evaluar la probabilidad de una respuesta terapéutica en un paciente humano a un agonista del IL7R de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 3 o 4, en donde dicho paciente padece una enfermedad asociada a una actividad deficiente de linfocitos T sanos, preferentemente una enfermedad

oncológica o infecciosa que no dependa de la vía del IL7R para su desarrollo.

7. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde dicha muestra de paciente es una muestra de tejido, preferentemente de tejido tumoral que contenga células inmunitarias infiltradas procedentes de un paciente con cáncer o una muestra de sangre de un paciente, preferentemente células mononucleares aisladas de sangre periférica humana.

8. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el perfil de expresión génica se determina detectando la expresión de ARNm de dichos genes, preferentemente por RT-qPCR.

9. Un antagonista del IL7R para su uso en el tratamiento de enfermedades asociadas a la vía de señalización del IL7R inducido por IL7 en un paciente humano que lo necesite, preferentemente seleccionadas del grupo que consiste en: una enfermedad autoinmunitaria, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad alérgica, una enfermedad oncogénica, una enfermedad infecciosa, una enfermedad respiratoria, y una enfermedad relacionada con un trasplante, que implica la activación o proliferación de células enfermas CD127 positivas, en particular, una enfermedad autoinmunitaria o una enfermedad inflamatoria, que implica la activación o proliferación de células CD127 positivas, más preferentemente una enfermedad inflamatoria crónica tal como el síndrome de Sjogren o una enfermedad inflamatoria intestinal tal como la colitis ulcerosa, en donde dicho antagonista del IL7R se administra a dicho paciente después de que se le haya administrado al menos una dosis de dicho antagonista del IL7R y cuando dicho paciente se evalúa como que probablemente responda a dicho tratamiento en un método como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 y 4 a 8.

10. Un antagonista del IL7R para su uso en el tratamiento de enfermedades asociadas a la vía de señalización del IL7R inducido por IL7 en un paciente humano que lo necesite, preferentemente seleccionadas del grupo que consiste en: una enfermedad autoinmunitaria, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad alérgica, una enfermedad oncogénica, una enfermedad infecciosa, una enfermedad respiratoria, y una enfermedad relacionada con un trasplante, que implica la activación o proliferación de células enfermas CD127 positivas, en particular, una enfermedad autoinmunitaria o una enfermedad inflamatoria, que implica la activación o proliferación de células CD127 positivas, más preferentemente una enfermedad inflamatoria crónica tal como el síndrome de Sjogren o una enfermedad inflamatoria intestinal tal como la colitis ulcerosa, en donde dicho paciente se evalúa previamente como que probablemente responda a dicho tratamiento con antagonista del IL7R en un método como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 8.

11. El antagonista del IL7R de acuerdo con la reivindicación 9 o 10, para el uso de la reivindicación 9 o 10, en donde dicho antagonista del IL7R es un anticuerpo antagonista anti-IL7R o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende:

a) una cadena pesada variable que comprende tres CDR, en donde:

- la VHCDR1 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1,
- la VHCDR2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, y
- la VHCDR3 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 u 11, preferentemente de SEQ ID NO: 3 y;

b) una cadena ligera variable que comprende tres CDR, en donde:

- la VLCDR1 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o 12, preferentemente de SEQ ID NO: 4,
- la VLCDR2 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 o 13, preferentemente de SEQ ID NO: 5 y

la VLCDR3 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6, preferentemente en donde dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y un dominio variable de cadena ligera que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, de nuevo más preferentemente en donde dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una cadena pesada completa que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera completa que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 10.

12. El agonista del IL7R para su uso en el tratamiento de un paciente humano que lo necesite de una enfermedad asociada a una actividad deficiente de linfocitos T sanos, preferentemente una enfermedad oncológica o infecciosa que no dependa de la vía del IL7R para su desarrollo, en donde dicho agonista del IL7R se administra a dicho paciente después de que se le haya administrado al menos una dosis de dicho agonista del IL7R y cuando dicho paciente se avalúa como que probablemente responda a dicho tratamiento en un método como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 y 4 a 8.

13. El agonista del IL7R para su uso en el tratamiento de un paciente humano que lo necesite de una enfermedad

asociada a una actividad deficiente de linfocitos T sanos, preferentemente una enfermedad oncológica o infecciosa que no dependa de la vía del IL7R para su desarrollo, en donde dicho paciente se evalúa previamente como que probablemente responda a dicho tratamiento con antagonista del IL7R en un método como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 8.

14. Un método *in vitro* para seleccionar un compuesto probablemente eficaz en el tratamiento de una enfermedad asociada a la vía de señalización del IL7R inducido por IL7 o de una enfermedad asociada a una actividad deficiente de linfocitos T sanos que comprende las etapas de:

a) cultivar una célula humana, preferentemente una célula inmunitaria, más preferentemente células mononucleares de sangre periférica, en presencia de dicho compuesto,
b) determinar el perfil de expresión génica de cada uno de los siguientes genes: los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4,* y preferentemente además los genes *FLT3LG* o *SOCS2,* más preferentemente los genes *BCL2*, *CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG*, en dicha célula, y
c) seleccionar un compuesto que induzca un perfil de expresión génica menor o mayor de dichos genes en dicha célula, en comparación con un valor de control,

preferentemente en donde el perfil de expresión génica se determina detectando la expresión de ARNm de dichos genes, preferentemente por RT-qPCR.

15. Un kit para su uso en un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, que consiste en un conjunto de reactivos que detecta específicamente el perfil de expresión génica de cada uno de los siguientes genes:

- los genes *BCL2, CISH, PTGER2* y *DPP4*,
- los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4* y *FLT3LG*,
- los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4* y *SOCS2,* o
- los genes *BCL2, CISH, PTGER2, DPP4, SOCS2* y *FLT3LG*,

preferentemente en donde dichos reactivos son pares de cebadores y/o sondas específicos de cada gen.

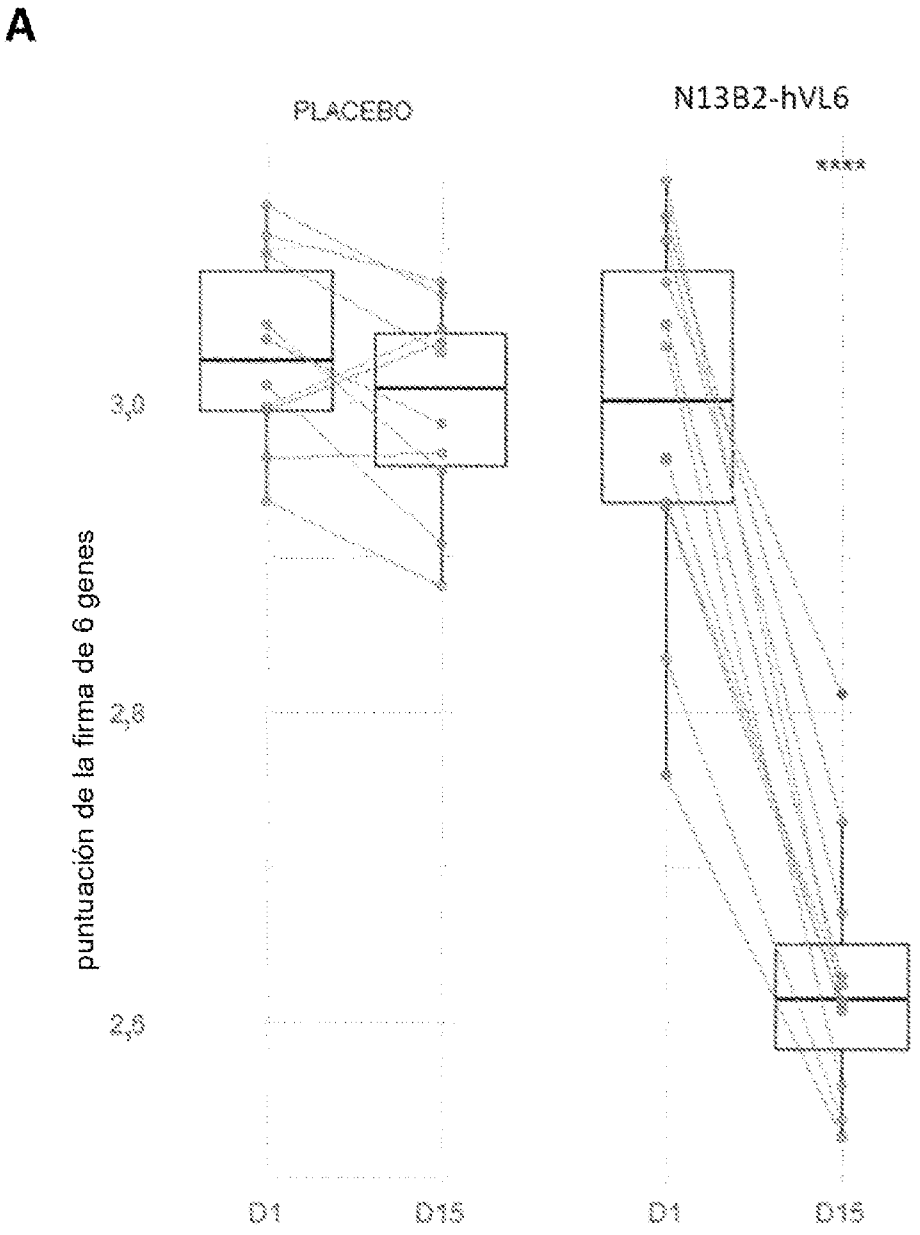
A
PLACEBO
N13B2-hVL6
****
puntuación de la firma de 6 genes
3,0
2,8
2,6
D1
D15
D1
D15

FIG. 1A

B

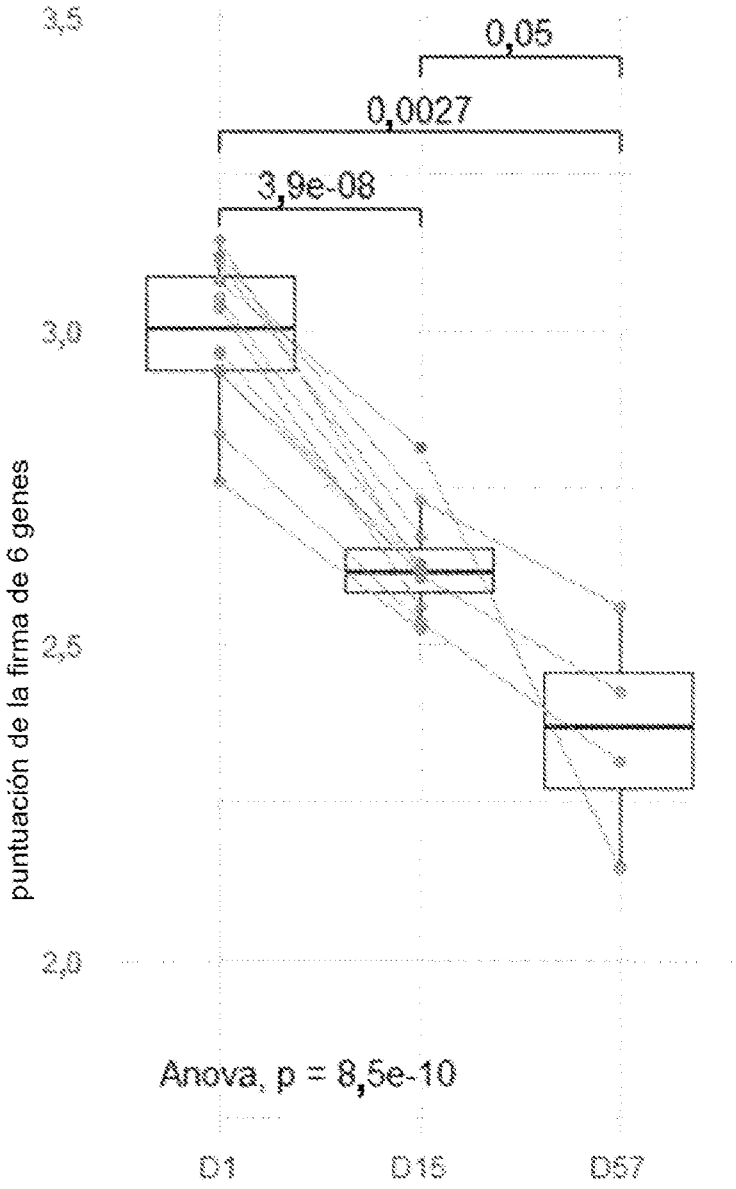
3,5
3,0
2,5
2,0
puntuación de la firma de 6 genes
0,05
0,0027
3,9e-08
Anova, p = 8,5e-10
D1
D15
D57

FIG. 1B

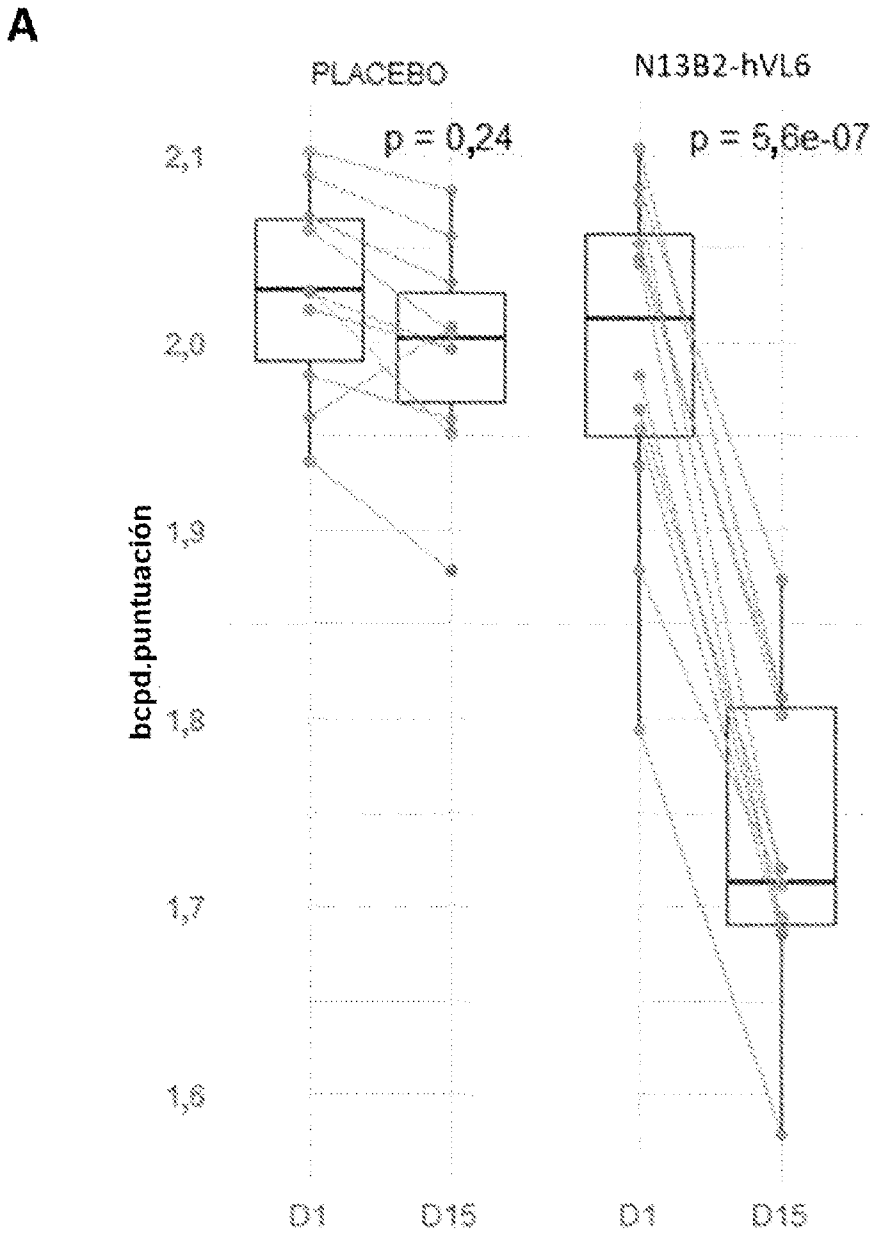
A
PLACEBO
N13B2-hVL6
p = 0,24
p = 5,6e-07
bcpd.puntuación
2,1
2,0
1,9
1,8
1,7
1,6
D1
D15
D1
D15

FIG. 2A

B

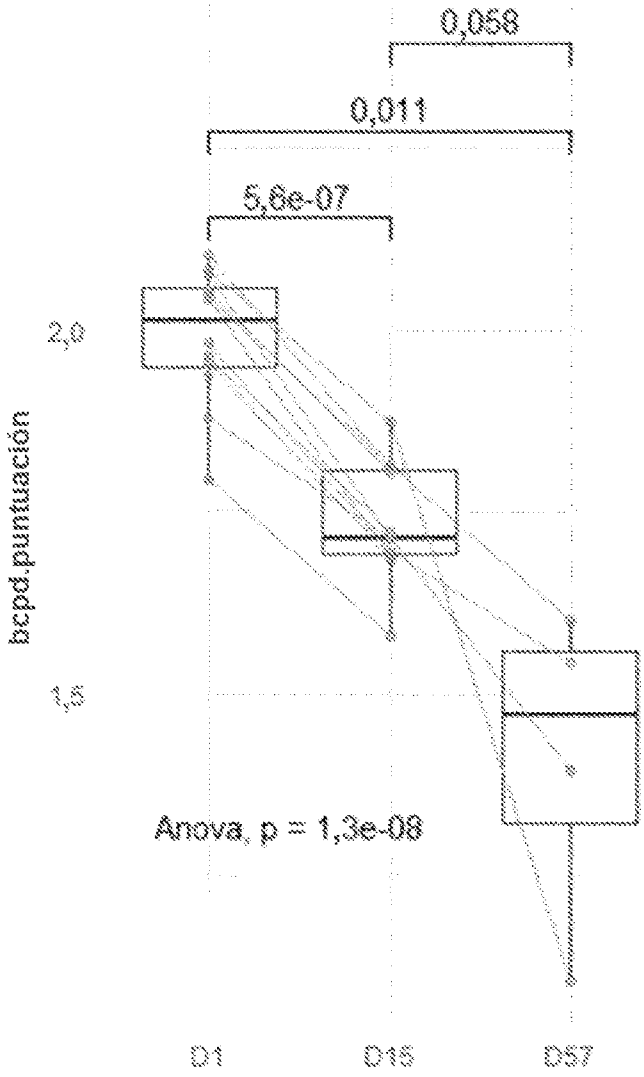
0,058
0,011
5,6e-07
2,0
1,5
bcpd.puntuación
Anova, p = 1,3e-08
D1
D15
D57

FIG. 2B

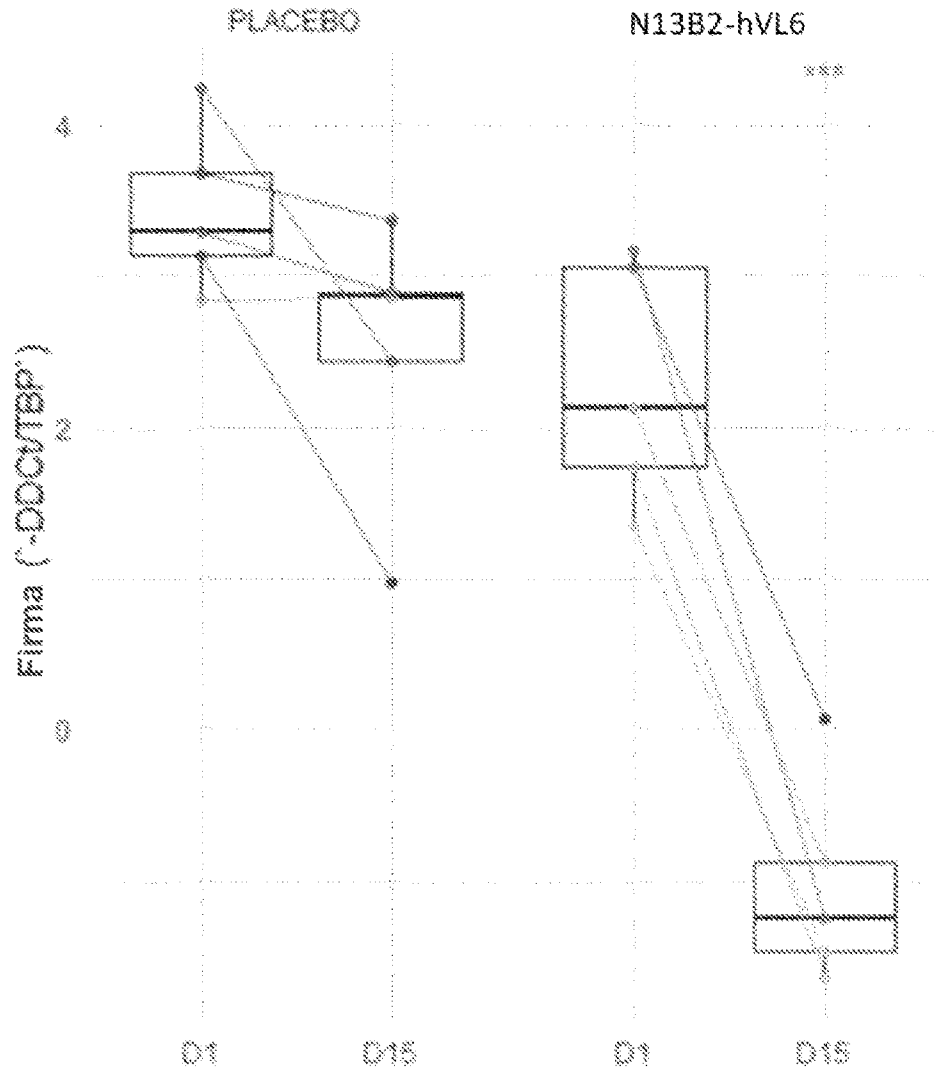

FIG. 3

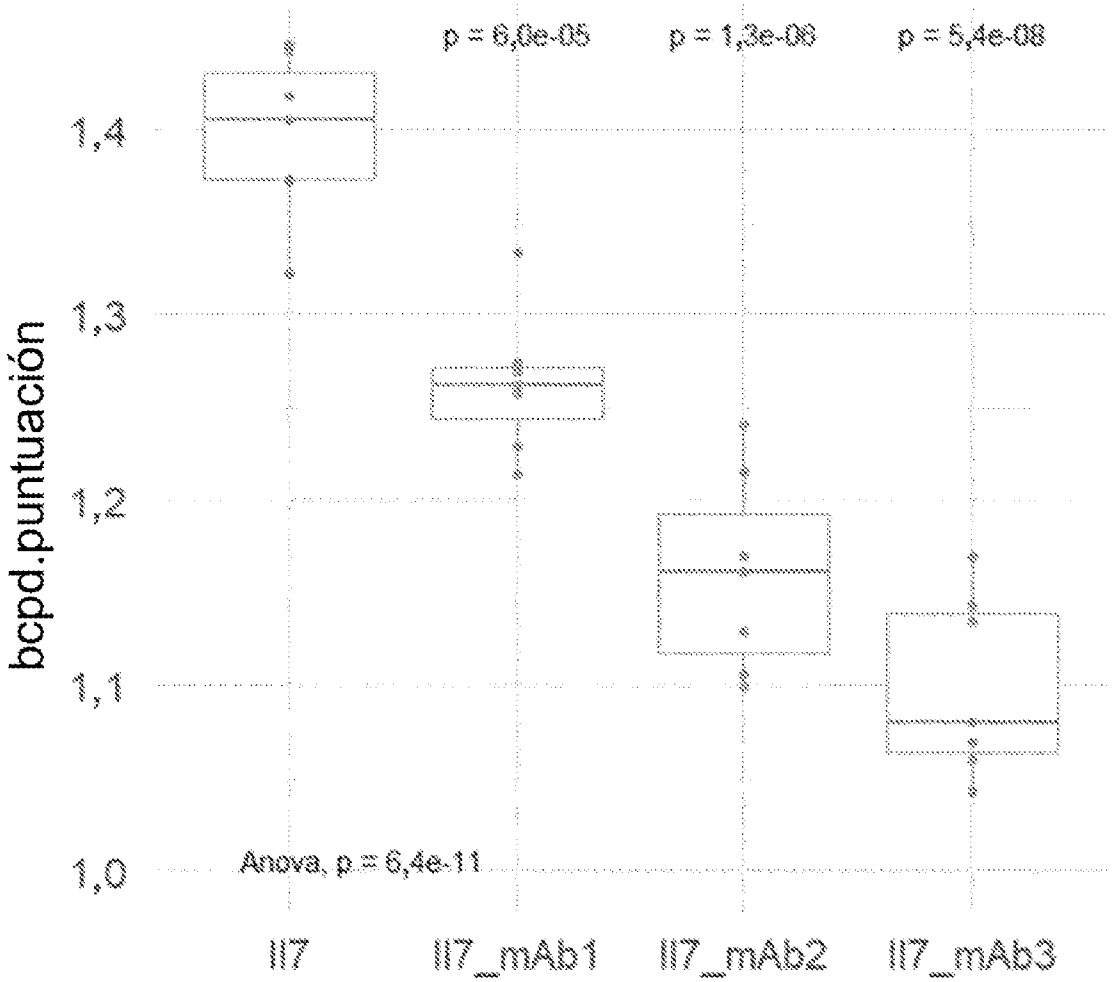
p = 6,0e-05
p = 1,3e-08
p = 5,4e-08
bcpd.puntuación
1,4
1,3
1,2
1,1
1,0
Anova, p = 6,4e-11
Il7
Il7_mAb1
Il7_mAb2
Il7_mAb3

FIG. 4

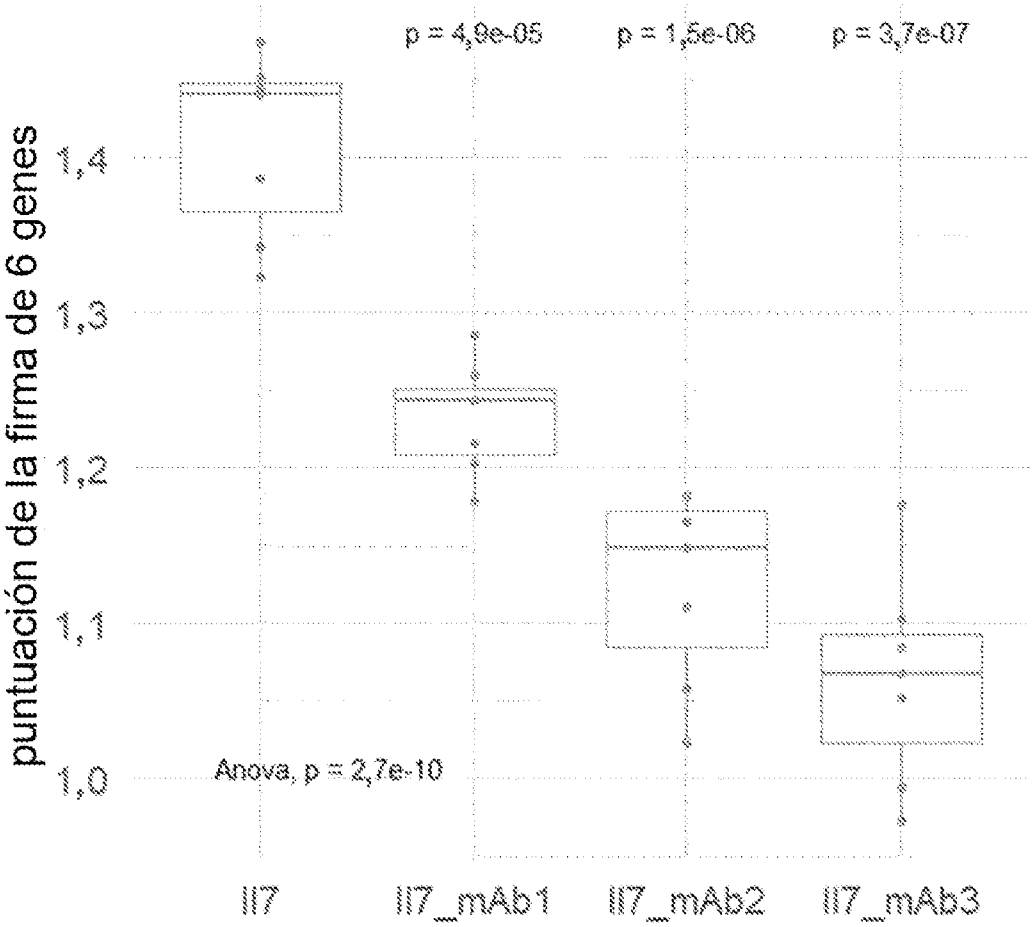
p = 4,9e-05
p = 1,5e-06
p = 3,7e-07
puntuación de la firma de 6 genes
1,4
1,3
1,2
1,1
1,0
Anova, p = 2,7e-10
Il7
Il7_mAb1
Il7_mAb2
Il7_mAb3

FIG. 5

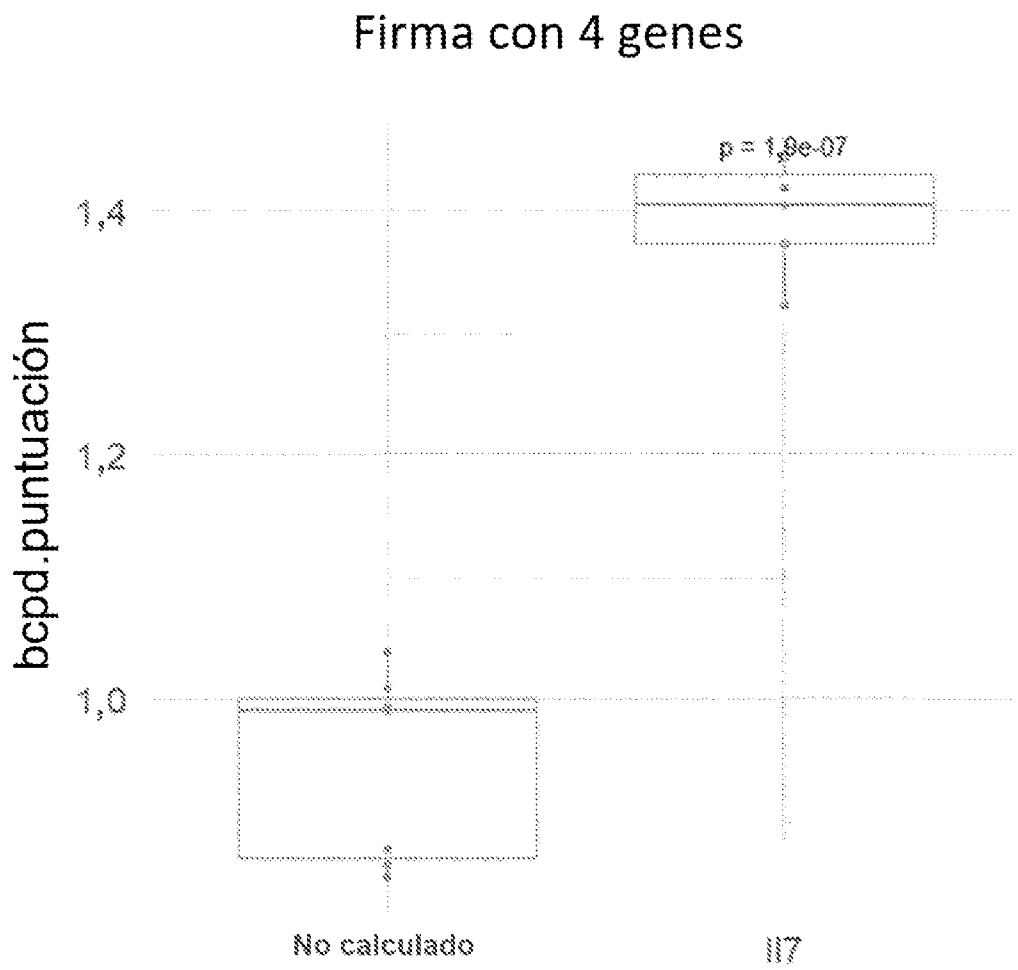
Firma con 4 genes
p = 1,9e-07
1,4
1,2
1,0
bcpd.puntuación
No calculado
II7

FIG. 6

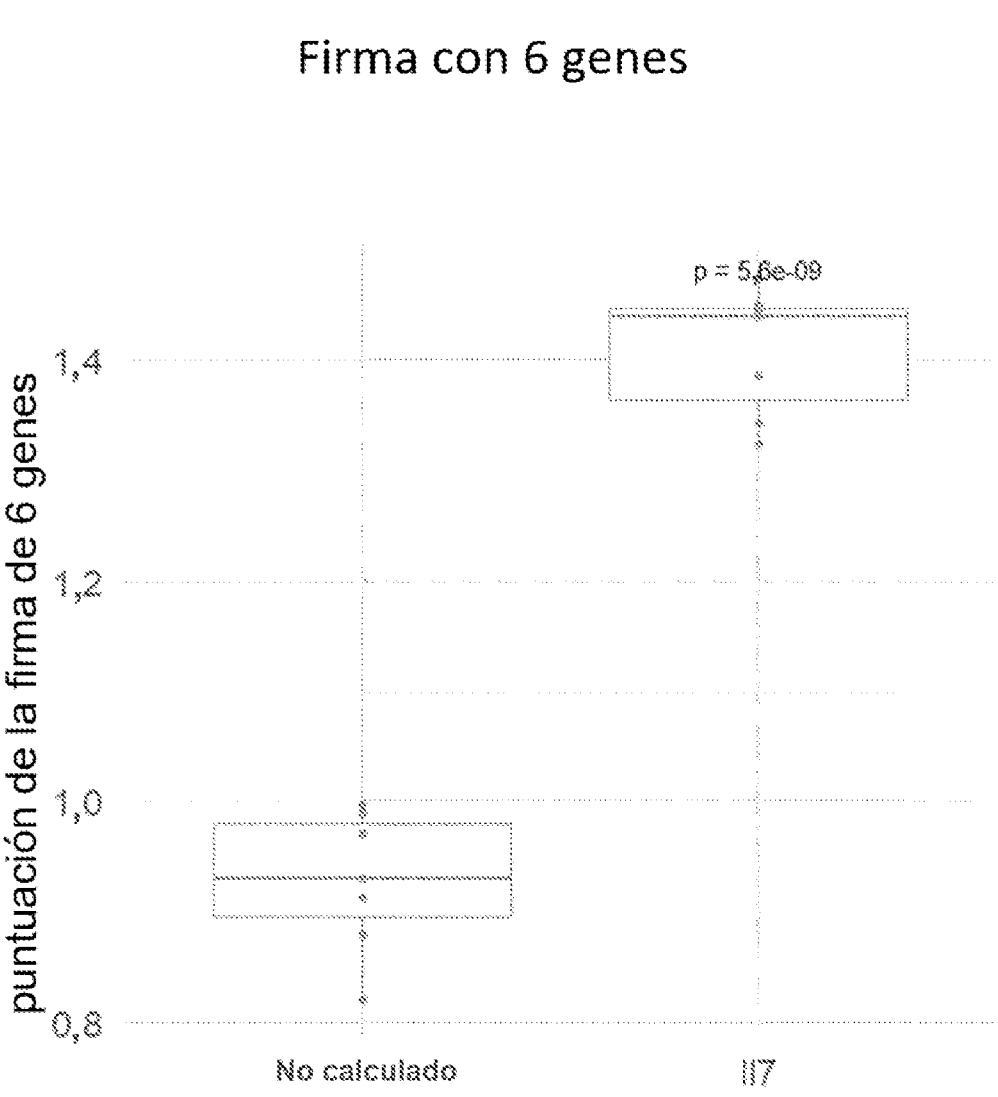
Firma con 6 genes
p = 5,6e-09
puntuación de la firma de 6 genes
1,4
1,2
1,0
0,8
No calculado
II7

FIG. 7