

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 973 957**

51 Int. Cl.:

G01N 33/574 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.03.2013** **E 20211725 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.12.2023** **EP 3855184**

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

30 Prioridad:

19.03.2012 US 201261612826 P

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

25.06.2024

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

Observaciones:

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

ES 2 973 957 T3

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

DESCRIPCIÓN

Métodos para tratar y monitorizar el estado de un cáncer

5 **1. Introducción**

La invención se define por las reivindicaciones adjuntas. En la presente memoria se describen métodos para tratar el cáncer en un sujeto que comprenden administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido procedente de la proteína EphA2 o la proteína IL-13R α 2 y monitorizar la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto. También se describen métodos para monitorizar la eficacia de un tratamiento contra el cáncer basado en el péptido EphA2 o un tratamiento contra el cáncer basado en el péptido IL-13R α 2 en un paciente con cáncer, que comprenden monitorizar la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto antes, durante y/o después del tratamiento del cáncer de un paciente.

15 **2. Antecedentes**

Las terapias convencionales contra el cáncer incluyen cirugía, quimioterapia y radioterapia. A pesar de la existencia de estas terapias, así como de la importante cantidad de investigación científica y médica dedicada anualmente a descubrir terapias contra el cáncer, el cáncer sigue siendo una de las principales causas de mortalidad y morbilidad en todo el mundo en la actualidad. Como tal, sigue existiendo la necesidad de terapias contra el cáncer nuevas y eficaces, así como métodos para monitorizar la eficacia de las terapias contra el cáncer nuevas y existentes. En la técnica anterior, Brian J Morrison y col., Breast Cancer Research, vol. 10 n.º 4, 22 de julio de 2008, páginas 1-14, describen una revisión sobre las implicaciones de las células madre del cáncer de mama para la terapia del cáncer de mama. M. De La Luz Garcia-Hernandez y col., Cancer Research, vol. 68, n.º 3, 1 de febrero de 2008, páginas 861-869, describen la vacunación con antígeno de células madre de próstata que induce una respuesta inmunitaria protectora a largo plazo contra el cáncer de próstata en ausencia de autoinmunidad. Madhav V. Dhodapkar y col., The Cancer Journal, vol. 17, n.º 5, 1 de septiembre de 2011, páginas 397-402, describen vacunas dirigidas a las células madre cancerosas. Hatano M y col., Neoplasia, vol. 7, n.º 8, 1 de agosto de 2005, páginas 717-722, describen EphA2 como un antígeno asociado a glioma. El documento US 2008/0175870 A1 describe métodos para caracterizar, aislar y cultivar células madre cancerosas humanas. El documento US 2011/0229504 A1 describe péptidos, ácidos nucleicos y células para su uso en métodos inmunoterapéuticos. Toshio Fujisawa y col., International Journal of Cancer, vol. 128, n.º 5, 1 de marzo de 2011, páginas 1221-1231, describen el direccionamiento a IL-13R α 2 en adenocarcinoma ductal pancreático humano en la terapia de combinación de IL-13-PE y gemcitabina. Van Nguyen y col., Translational Oncology, vol. 4, n.º 6, 1 de diciembre de 2011, páginas 390-400, describen personas que eludieron la terapia dirigida a IL-13R α 2; implicaciones biológicas y terapéuticas. C.E. Brown y col., Clinical Cancer Research, vol. 18, n.º 8, 8 de marzo de 2012, páginas 2199-2209, describen células madre iniciadoras de tumor aisladas de gliomas que expresan IL-13R α 2 que son atacadas y destruidas por linfocitos T redirigidos por IL-13-zetaquina. El documento US 2012/052080 A1 describe vacunas contra el cáncer de cerebro basadas en el péptido IL-13R α 2.

40 **3. Resumen**

En la presente memoria se describen métodos para tratar el cáncer en un sujeto que comprenden administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido procedente de la proteína EphA2 y monitorizar la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto. Puede medirse la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto que expresan EphA2. Puede medirse la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto que expresan CD133. Puede medirse la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto que expresan EphA2 y CD133.

Se describen métodos para monitorizar la eficacia de un tratamiento contra el cáncer basado en el péptido EphA2 (es decir, un tratamiento o terapia que comprende la administración de un péptido procedente de EphA2) para un paciente con cáncer, que comprenden monitorizar la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto antes, durante y/o después del tratamiento del cáncer de un paciente. Puede medirse la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto que expresan EphA2. Puede medirse la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto que expresan CD133. Puede medirse la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto que expresan EphA2 y CD133.

También se describen en la presente memoria métodos para tratar el cáncer que comprenden administrar un epítipo de linfocitos T de EphA2 que se dirige a células madre cancerosas, en donde dicho epítipo es suficiente para inducir una respuesta inmunitaria en un paciente con cáncer.

También se describen en la presente memoria métodos para tratar el cáncer en un sujeto, que comprenden administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que se dirige a la proteína EphA2, en donde dicho compuesto es capaz de destruir y/o prevenir la diferenciación de células madre cancerosas que expresan la proteína EphA2. El compuesto puede ser un anticuerpo que se une específicamente a EphA2.

En la presente memoria se describen métodos para mejorar el direccionamiento de células madre cancerosas con una vacuna contra el cáncer que comprenden determinar el motivo de unión de un epítipo de Clase I o Clase II de EphA2, y realizar sustituciones en la secuencia de aminoácidos de manera que los péptidos modificados puedan para inducir

una respuesta inmunitaria que sea al menos tan eficaz para destruir las células madre cancerosas como el péptido de tipo natural.

En la presente memoria se describen métodos para tratar el cáncer en un sujeto que comprenden administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido procedente de la proteína IL-13R α 2 y monitorizar la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto. Puede medirse la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto que expresan IL-13R α 2. Puede medirse la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto que expresan CD133. Puede medirse la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto que expresan IL-13R α 2 y CD133.

También se describen en la presente memoria métodos para monitorizar la eficacia de un tratamiento contra el cáncer basado en el péptido IL-13R α 2 (es decir, un tratamiento o terapia que comprende la administración de un péptido procedente de IL-13R α 2) para un paciente con cáncer, que comprenden monitorizar la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto antes, durante y/o después del tratamiento del cáncer de un paciente. Puede medirse la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto que expresan IL-13R α 2. Puede medirse la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto que expresan CD133. Puede medirse la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto que expresan IL-13R α 2 y CD133.

En la presente memoria se describen métodos para tratar el cáncer que comprenden administrar un epítipo de linfocitos T de IL-13R α 2 que se dirige a células madre cancerosas, en donde dicho epítipo es suficiente para inducir una respuesta inmunitaria en un paciente con cáncer.

También se describen en la presente memoria métodos para tratar el cáncer en un sujeto, que comprenden administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que se dirige a la proteína IL-13R α 2, en donde dicho compuesto es capaz de destruir y/o prevenir la diferenciación de células madre cancerosas que expresan la proteína IL-13R α 2. El compuesto puede ser un anticuerpo que se une específicamente a IL-13R α 2.

En la presente memoria se describen métodos para mejorar el direccionamiento de células madre cancerosas con una vacuna contra el cáncer que comprenden determinar el motivo de unión de un epítipo de Clase I o Clase II de IL-13R α 2, y realizar sustituciones en la secuencia de aminoácidos de manera que los péptidos modificados puedan para inducir una respuesta inmunitaria que sea al menos tan eficaz para destruir las células madre cancerosas como el péptido de tipo natural.

3.1 Definiciones

Como se usan en el presente documento, los términos "aproximadamente" o "alrededor de" cuando se usan junto con un número se refieren a cualquier número dentro del 1, 5 o el 10 % del número de referencia.

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

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

Como se usan en el presente documento, los términos "purificado" y "aislado" cuando se usan en el contexto de un péptido que se obtiene de una fuente natural, por ejemplo, las células se refieren a un péptido que está sustancialmente libre de materiales contaminantes de la fuente natural, por ejemplo, partículas de suciedad, minerales, productos químicos del medio ambiente y/o materiales celulares de la fuente natural, tales como, pero sin limitación, restos celulares, materiales de pared celular, membranas, orgánulos, la mayor parte de los ácidos nucleicos, carbohidratos, proteínas y/o lípidos presentes en las células. Por lo tanto, un péptido que se aísla incluye preparaciones de un polipéptido que tiene menos de aproximadamente 30 %, 20 %, 10 %, 5 %, 2 % o 1 % (en peso seco) de materiales

celulares y/o materiales contaminantes. Como se usa en el presente documento, los términos “purificado” y “aislado” cuando se usan en el contexto de un péptido que se sintetiza químicamente se refiere a un péptido que está sustancialmente libre de precursores químicos u otros productos químicos que están implicados en las síntesis del polipéptido.

5 Como se usa en el presente documento, la expresión “ácido nucleico” pretende incluir moléculas de ADN (por ejemplo, ADNc o ADN genómico) y moléculas de ARN (por ejemplo, ARNm) y análogos del ADN o ARN generado usando análogos de nucleótidos. El ácido nucleico puede ser monocatenario o bicatenario.

10 Como se usa en el presente documento, la expresión “régimen terapéuticamente eficaz” se refiere a un régimen de dosificación, tiempo, frecuencia y duración de la administración de una o más terapias para el tratamiento y/o manejo del cáncer o un síntoma del mismo.

15 Como se usan en el presente documento, los términos “sujeto” o “paciente” se usan indistintamente para referirse a un animal (por ejemplo, aves, reptiles y mamíferos). Un sujeto puede ser un ave. Un sujeto puede ser un mamífero que incluye un no primate (por ejemplo, un camello, un burro, una cebra, una vaca, un cerdo, un caballo, una cabra, una oveja, un gato, un perro, una rata y un ratón) y un primate (por ejemplo, un mono, un chimpancé y un humano). Un sujeto puede ser un animal no humano. Un sujeto puede ser un animal de granja o una mascota. Un sujeto puede ser un ser humano. Un sujeto puede ser un bebé humano. Un sujeto puede ser un niño pequeño humano. Un sujeto puede ser un niño humano, un adulto humano o un anciano.

20 Como se usa en el presente documento, el término “cáncer de cerebro” se refiere a un tumor ubicado dentro del cráneo o en el canal espinal central. El cáncer de cerebro se refiere tanto a tumores primarios (es decir, tumores que se originan en la esfera intracraneal o al canal espinal central) como a tumores secundarios (es decir, tumores que invadan la esfera intracraneal o el canal espinal central después de originarse de tumores ubicados principalmente en otros órganos).

25 Como se usa en el presente documento, los términos “terapias” y “terapia” pueden referirse a cualquier protocolo(s), método(s), composición(s), formulación (s) y/o agentes que pueden usarse en la prevención o el tratamiento del cáncer de cerebro o una enfermedad o síntoma asociado con el mismo. Los términos “terapias” y “terapia” se refieren a terapia biológica, terapia de apoyo y/u otras terapias útiles en el tratamiento o prevención del cáncer o una enfermedad o síntoma asociado con el mismo conocido por un experto en la técnica.

30 Como se usa en el presente documento, la expresión “cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a la cantidad de una terapia que es suficiente para dar como resultado la prevención del desarrollo, la recidiva o la aparición de cáncer y uno o más síntomas del mismo, para potenciar o mejorar el uno o más efectos profilácticos de otra terapia, reducir la gravedad, la duración del cáncer, mejorar uno o más síntomas del cáncer, prevenir el avance del cáncer, causar la regresión del cáncer y/o potenciar o mejorar el uno o más efectos terapéuticos de otra terapia. La cantidad de una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser eficaz para lograr uno, dos, tres o más resultados después de la administración de una, dos, tres o más terapias: (1) una estabilización, reducción o eliminación de la población de células madre cancerosas; (2) una estabilización, reducción o eliminación de la población de células cancerosas; (3) una estabilización o reducción en el crecimiento de un tumor o neoplasia; (4) un deterioro en la formación de un tumor; (5) erradicación, eliminación o control del cáncer primario, regional y/o metastásico; (6) una reducción de la mortalidad; (7) un aumento en la supervivencia, duración o tasa libre de enfermedad, libre de recidiva, libre de progresión y/o global; (8) un aumento en la tasa de respuesta, la durabilidad de la respuesta o el número de pacientes que responden o están en remisión; (9) una disminución en la tasa de hospitalización, (10) una disminución en la duración de la hospitalización, (11) el tamaño del tumor se mantiene y no aumenta o aumenta en menos del 10 %, preferiblemente menos del 5 %, preferiblemente menos del 4 %, preferiblemente menos del 2 %, (12) un aumento en el número de pacientes en remisión, (13) un aumento en la duración de la remisión, (14) una disminución en la tasa de recidiva del cáncer, (15) un aumento en el tiempo hasta la recidiva del cáncer, y (16) una mejora de los síntomas relacionados con el cáncer y/o de la calidad de vida.

35 Como se usa en el presente documento, la expresión “junto con” en el contexto de la administración de una terapia a un sujeto se refiere al uso de más de una terapia (por ejemplo, profiláctica y/o terapéutica). El uso de la expresión “junto con” no restringe el orden en el que se administran las terapias (por ejemplo, una primera y una segunda terapia) a un sujeto. Se puede administrar una terapia antes (por ejemplo, 1 minuto, 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas o 12 semanas antes), concomitantemente o después de (por ejemplo, 1 minuto, 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas o 12 semanas después) de la administración de una segunda terapia a un sujeto que tuvo, tiene o es susceptible a cáncer de cerebro. Las terapias se administran a un sujeto en una secuencia y dentro de un intervalo de tiempo de manera que las terapias pueden actuar juntas. Las terapias pueden administrarse a un sujeto en una secuencia y dentro de un intervalo de tiempo de manera que proporcionen un mayor beneficio que si se administraran de otra manera. Cualquier terapia adicional puede administrarse en cualquier orden con la otra terapia adicional.

Como se usan en el presente documento, los términos “manejar” y “manejo” en el contexto de la administración de una terapia a un sujeto se refieren a los efectos beneficiosos que un sujeto obtiene de una terapia (por ejemplo, una vacuna profiláctica o terapéutica) o una combinación de terapias, sin que dé como resultado una cura del cáncer. A un sujeto se le pueden administrar una o más terapias (por ejemplo, una o más vacunas profilácticas o terapéuticas) para “manejar” el cáncer con el fin de prevenir la progresión o el empeoramiento de la afección.

Como se usan en el presente documento, los términos “prevenir”, “que previene” y “prevención” en el contexto de la administración de una terapia a un sujeto se refieren a la prevención o inhibición de la recidiva, aparición y/o desarrollo de cáncer cerebral o un síntoma del mismo en un sujeto resultante de la administración de una terapia (por ejemplo, un agente profiláctico o terapéutico), o una combinación de terapias (por ejemplo, una combinación de agentes profilácticos o terapéuticos).

Como se usa en el presente documento, el término “concurrentemente” significa lo suficientemente cerca en el tiempo para producir un efecto combinado (es decir, simultáneamente puede ser simultáneamente, o puede ser dos o más eventos que ocurren dentro de un período de tiempo antes o después del otro). Cuando se administran con otros agentes, los péptidos EphA2 y/o IL-13R α 2 proporcionados en la presente memoria pueden administrarse concurrentemente con el otro agente activo. En algunas realizaciones, los péptidos EphA2 y/o IL-13R α 2 proporcionados en la presente memoria y uno o más agentes diferentes (por ejemplo, un epítipo de linfocitos T auxiliares, un adyuvante y/o un modificador de la respuesta inmunitaria) se administran a un sujeto concurrentemente, en donde la administración del péptido EphA2 y/o IL-13R α 2 y uno o más agentes diferentes es en la misma composición. En otras realizaciones, un péptido EphA2 y/o IL-13R α 2 y uno o más agentes diferentes (por ejemplo, un epítipo de linfocitos T auxiliares, un adyuvante y/o un modificador de la respuesta inmunitaria) se administran a un sujeto concurrentemente, en donde la administración del péptido EphA2 y/o IL-13R α 2 y uno o más agentes diferentes no es en la misma composición. En determinadas realizaciones, un péptido EphA2 y/o IL-13R α 2 proporcionados en la presente memoria y uno o más agentes diferentes (por ejemplo, un epítipo de linfocitos T auxiliares, un adyuvante y/o un modificador de la respuesta inmunitaria) se administran a un sujeto concurrentemente, en donde la administración concurrente está separada por al menos 1 hora, 2 horas, 3 horas, 4 horas, 5 horas, 10 horas, 12 horas, 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 1 semana o 2 semanas.

Como se usa en el presente documento, la expresión “péptido EphA2” se refiere a un péptido procedente de la proteína EphA2. En una realización específica, la proteína EphA2 de la que se deriva un péptido EphA2 es la proteína EphA2 humana. En otra realización específica, un péptido EphA2 comprende o consiste en la siguiente secuencia de aminoácidos: TLADFDPKV (Id. de sec. n.º:1). En algunas realizaciones, un péptido EphA2 comprende una, dos, tres o más mutaciones de aminoácidos (por ejemplo, adiciones, sustituciones o deleciones) en relación con el péptido EphA2 como existe en la forma nativa (por ejemplo, de tipo natural) de la proteína EphA2.

Como se usa en el presente documento, la expresión “péptido IL-13R α 2” se refiere a un péptido procedente de la proteína IL-13R α 2. En una realización específica, la proteína IL-13R α 2 de la que se deriva un péptido IL-13R α 2 es la proteína IL-13R α 2 humana. En otra realización específica, un péptido IL-13R α 2 comprende o consiste en la siguiente secuencia de aminoácidos: WLPFGFILI (Id. de sec. n.º:2). En otra realización específica, un péptido IL-13R α 2 comprende o consiste en la siguiente secuencia de aminoácidos: WLPFGFILV (Id. de sec. n.º:3). En otra realización específica, un péptido IL-13R α 2 comprende o consiste en la siguiente secuencia de aminoácidos: ALPFGFII,V (Id. de sec. n.º:4). En otra realización específica, un péptido IL-13R α 2 comprende o consiste en la siguiente secuencia de aminoácidos: ELPFGFILV (Id. de sec. n.º:5). En algunas realizaciones, un péptido IL-13R α 2 comprende una, dos, tres o más mutaciones de aminoácidos (por ejemplo, adiciones, sustituciones o deleciones) en relación con el péptido IL-13R α 2 como existe en la forma nativa (por ejemplo, de tipo natural) de la proteína IL-13R α 2.

Como se usa en el presente documento, y a menos que se especifique lo contrario, la expresión “anticuerpo se refiere a una molécula con un sitio de unión a antígeno que se une inmunoespecíficamente a un antígeno. Los anticuerpos incluyen, pero sin limitación, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos producidos de forma recombinante, anticuerpos multiespecíficos (incluidos anticuerpos biespecíficos), anticuerpos humanos, anticuerpos humanizados, anticuerpos quiméricos, anticuerpos sintéticos, anticuerpos tetraméricos que comprenden dos moléculas de cadena pesada y dos de cadena ligera, un monómero de cadena ligera de anticuerpo, un monómero de cadena pesada de anticuerpo, un dímero de cadena ligera de anticuerpo, un dímero de cadena pesada de anticuerpo, un par de cadena ligera de anticuerpo-cadena pesada de anticuerpo, intracuerpos, anticuerpos heteroconjugados, anticuerpos de dominio único, anticuerpos monovalentes, Fv monocatenarios (scFv) (por ejemplo, incluyendo monoespecíficos, biespecíficos, etc.), anticuerpos camelizados, fragmentos Fab, fragmentos F(ab'), Fv unidos por disulfuro (sdFv), anticuerpos antiidiotípicos (anti Id) (incluidos, por ejemplo, anticuerpos anti canalizados Id) y fragmentos de unión a epítopos de cualquiera de los anteriores. Los anticuerpos pueden ser de cualquier tipo (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA o IgY), cualquier clase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 o IgA2), o cualquier subclase (por ejemplo, IgG2a o IgG2b) de molécula de inmunoglobulina. En determinadas realizaciones, los anticuerpos descritos en la presente memoria son anticuerpos IgG, o una clase (por ejemplo, IgG1 o IgG4 humana) o subclase de los mismos.

4. Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 demuestra que la mayor parte de las células de la línea celular de cáncer A-172 expresan EphA2 e IL-13Rα2 en niveles elevados, pero sólo una fracción de estas células expresa CD133.

5 La Figura 2 representa la tinción conjunta de células CD133 y EphA2 de la línea celular de cáncer A-172, y demuestra que las células CD133+ de la línea celular también expresan EphA2.

La Figura 3 representa la tinción conjunta de células CD133 e IL-13Rα2 de la línea celular de cáncer A-172, y demuestra que las células CD133+ de la línea celular también expresan IL-13Rα2.

10 La Figura 4 muestra que las células CD133+ de la línea celular de cáncer A-172 también expresan EphA2.

La Figura 5 muestra que las células CD133+ de la línea celular de cáncer A-172 también expresan IL-13Rα2.

15 La Figura 6 demuestra que la mayor parte de las células de la línea celular de cáncer A-172 expresan EphA2 e IL-13Rα2 en niveles elevados, pero sólo una fracción de estas células expresa CD133.

La Figura 7 demuestra que sólo una fracción de las células de la línea celular de cáncer A-172 expresa CD133.

20 La Figura 8 demuestra que las células CD133+ de la línea celular de cáncer A-172 también expresan EphA2 e IL-13Rα2.

5. Descripción detallada

25 En la presente memoria se describen métodos para tratar el cáncer en un sujeto que comprenden administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido procedente de la proteína EphA2 y monitorizar la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto. Puede medirse la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto que expresan EphA2. Puede medirse la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto que expresan CD133. En otra realización específica, puede medirse la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto que expresan EphA2 y CD133.

30 También se describen en la presente memoria métodos para monitorizar la eficacia de un tratamiento contra el cáncer basado en el péptido EphA2 (es decir, un tratamiento o terapia que comprende la administración de un péptido procedente de EphA2) para un paciente con cáncer, que comprenden monitorizar la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto antes, durante y/o después del tratamiento del cáncer de un paciente. Puede medirse la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto que expresan EphA2. Puede medirse la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto que expresan CD133. Puede medirse la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto que expresan EphA2 y CD133.

40 En la presente memoria se describen métodos para tratar el cáncer que comprenden administrar un epítipo de linfocitos T de EphA2 que se dirige a células madre cancerosas, en donde dicho epítipo es suficiente para inducir una respuesta inmunitaria en un paciente con cáncer.

45 También se describen en la presente memoria métodos para tratar el cáncer en un sujeto, que comprenden administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que se dirige a la proteína EphA2, en donde dicho compuesto es capaz de destruir y/o prevenir la diferenciación de células madre cancerosas que expresan la proteína EphA2. El compuesto puede ser un anticuerpo que se une específicamente a EphA2.

50 También se describen en la presente memoria métodos para mejorar el direccionamiento de células madre cancerosas con una vacuna contra el cáncer que comprenden determinar el motivo de unión de un epítipo de Clase I o Clase II de EphA2, y realizar sustituciones en la secuencia de aminoácidos de manera que los péptidos modificados puedan para inducir una respuesta inmunitaria que sea al menos tan eficaz para destruir las células madre cancerosas como el péptido de tipo natural.

55 En la presente memoria se proporcionan métodos para tratar el cáncer en un sujeto que comprenden administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido procedente de la proteína IL-13Rα2 y monitorizar la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto. Puede medirse la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto que expresan IL-13Rα2. Puede medirse la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto que expresan CD133. Puede medirse la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto que expresan IL-13Rα2 y CD133.

60 En la presente memoria se proporcionan métodos para monitorizar la eficacia de un tratamiento contra el cáncer basado en el péptido IL-13Rα2 (es decir, un tratamiento o terapia que comprende la administración de un péptido procedente de IL-13Rα2) para un paciente con cáncer, que comprenden monitorizar la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto antes, durante y/o después del tratamiento del cáncer de un paciente. Puede medirse la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto que expresan IL-13Rα2. Puede medirse la cantidad de células

madre cancerosas en dicho sujeto que expresan CD133. Puede medirse la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto que expresan IL-13R α 2 y CD133.

5 En la presente memoria se proporcionan métodos para tratar el cáncer que comprenden administrar un epítipo de linfocitos T de IL-13R α 2 que se dirige a células madre cancerosas, en donde dicho epítipo es suficiente para inducir una respuesta inmunitaria en un paciente con cáncer.

10 En la presente memoria se proporcionan métodos para tratar el cáncer en un sujeto, que comprenden administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que se dirige a la proteína IL-13R α 2, en donde dicho compuesto es capaz de destruir y/o prevenir la diferenciación de células madre cancerosas que expresan la proteína IL-13R α 2. El compuesto puede ser un anticuerpo que se une específicamente a IL-13R α 2.

15 En la presente memoria se proporcionan métodos para mejorar el direccionamiento de células madre cancerosas con una vacuna contra el cáncer que comprenden determinar el motivo de unión de un epítipo de Clase I o Clase II de IL-13R α 2, y realizar sustituciones en la secuencia de aminoácidos de manera que los péptidos modificados puedan para inducir una respuesta inmunitaria que sea al menos tan eficaz para destruir las células madre cancerosas como el péptido de tipo natural.

20 5.1 Métodos para monitorizar células madre cancerosas

25 Como parte de los regímenes profilácticamente eficaces y/o terapéuticamente eficaces descritos en el presente documento, las células madre cancerosas se pueden monitorizar para evaluar la eficacia de una terapia contra el cáncer basada en el péptido EphA2 o una terapia contra el cáncer basada en el péptido IL-13R α 2, así como para determinar el pronóstico de un sujeto con cáncer o la eficacia de un régimen terapéutico o profilácticamente eficaz. En las terapias o regímenes profilácticamente eficaces y/o terapéuticamente eficaces descritos en el presente documento, las terapias o regímenes dan como resultado una estabilización o reducción de las células madre cancerosas en el paciente. Se monitoriza al sujeto que se somete al régimen para evaluar si el régimen ha dado como resultado una estabilización o reducción de las células madre cancerosas en el sujeto. En realizaciones específicas, los métodos de monitorización miden las células madre cancerosas que expresan EphA2, IL-13R α 2 y/o CD133 en los sujetos a los que se administra una terapia contra el cáncer basada en el péptido EphA2 o una terapia contra el cáncer basada en el péptido IL-13R α 2.

35 Sin quedar limitados por ninguna teoría o mecanismo de acción particular, las células madre cancerosas, por ejemplo, células madre cancerosas que expresan EphA2 y/o células madre cancerosas que expresan IL-13R α 2, comprenden una subpoblación única (por ejemplo, el 0,1-10 % aproximadamente) de un tumor que, en contraste con el 90 % restante aproximadamente del tumor (es decir, la masa tumoral), es relativamente más tumorigénica y tiene de crecimiento relativamente más lento o inactivo. Dado que las terapias y regímenes convencionales han sido diseñados, en gran parte, para atacar células que proliferan rápidamente (es decir, aquellas células cancerosas que componen la masa tumoral), las células madre cancerosas de crecimiento más lento pueden ser relativamente más resistentes a las terapias y regímenes convencionales que la masa tumoral de crecimiento más rápido. Esto explicaría otra razón por la que los regímenes de tratamiento oncológico estándar no logran garantizar un beneficio a largo plazo en la mayoría de los pacientes con cánceres en estadio avanzado. Una célula madre cancerosa que expresa EphA2 o una célula madre cancerosa que expresa IL-13R α 2 es la célula fundadora de un tumor (es decir, es la progenitora de las células cancerosas). Una célula madre cancerosa que expresa EphA2 o una célula madre cancerosa que expresa IL-13R α 2 tiene una, dos, tres o más o todas las siguientes características o propiedades: (i) puede albergar la capacidad de iniciar un tumor y/o perpetuar el crecimiento tumoral, (ii) generalmente, puede estar relativamente menos mutado que la mayor parte de un tumor (por ejemplo, debido a un crecimiento más lento y, por lo tanto, a menos errores dependientes de la replicación del ADN, reparación mejorada del ADN y/o cambios epigenéticos/no mutagénicos que contribuyen a su malignidad), (iii) puede tener muchas características de una o más células madre normales (por ejemplo, antígeno de superficie celular similar y/o perfil de expresión intracelular, programas de autorrenovación, resistencia a múltiples fármacos, un fenotipo inmaduro, etc., característicos de células madre normales) y puede proceder de una o más células madre normales, (iv) puede responder potencialmente a su microambiente (por ejemplo, las células madre cancerosas pueden ser capaces de inducirse para diferenciarse y/o dividirse asimétricamente), (v) puede ser la fuente de metástasis, (vi) puede ser de crecimiento lento o inactivo, (vii) puede dividirse simétricamente, (viii) puede ser tumorigénica (por ejemplo, según lo determinado por experimentos de implantación NOD/SCID), (ix) puede ser relativamente resistente a las terapias tradicionales (es decir, quimiorresistente), y (x) puede comprender una subpoblación de un tumor (por ejemplo, en relación con la masa tumoral).

60 La cantidad de células madre cancerosas en una muestra de un sujeto puede determinarse/evaluarse usando una técnica descrita en la presente memoria o bien conocida por un experto en la técnica. Dichas muestras incluyen, pero sin limitación, muestras biológicas y muestras procedentes de una muestra biológica. Además de la propia muestra biológica, o además del material procedente de la muestra biológica tal como células, la muestra usada en los métodos de esta invención comprende agua, sales, glicerina, glucosa, un agente antimicrobiano, parafina, un agente estabilizante químico añadido, heparina, un anticoagulante o un agente tamponante. La muestra biológica puede ser sangre, suero, orina, médula ósea o líquido intersticial. La muestra puede ser una muestra tisular. La muestra tisular

puede ser tejido de mama, cerebro, piel, colon, pulmón, hígado, ovario, páncreas, próstata, riñón, hueso o piel. La muestra tisular puede ser una biopsia de tejido normal o tumoral. La cantidad de muestra biológica tomada del sujeto variará según el tipo de muestra biológica y el método de detección a emplear. La muestra biológica puede ser sangre, suero, orina o médula ósea y la cantidad de sangre, suero, orina o médula ósea extraída del sujeto es 0,1 ml, 0,5 ml, 1 ml, 5 ml, 8 ml, 10 ml o más. La muestra biológica puede ser un tejido y la cantidad de tejido extraída del sujeto es inferior a 10 miligramos, inferior a 25 miligramos, inferior a 50 miligramos, inferior a 1 gramo, inferior a 5 gramos, inferior a 10 gramos, inferior a 50 gramos, o inferior a 100 gramos.

Según los métodos descritos en el presente documento, una muestra procedente de una muestra biológica es aquella en la que la muestra biológica se ha sometido a una o más etapas de pretratamiento antes de la detección y/o la medición de la población de células madre cancerosas en la muestra. Un fluido biológico puede tratarse previamente mediante centrifugación, filtración, precipitación, diálisis o cromatografía, o mediante una combinación de dichas etapas de pretratamiento. Una muestra tisular puede tratarse previamente mediante congelación, fijación química, inclusión en parafina, deshidratación, permeabilización u homogeneización seguida de centrifugación, filtración, precipitación, diálisis o cromatografía, o mediante una combinación de dichas etapas de pretratamiento. La muestra puede tratarse previamente eliminando células distintas de las células madre o células madre cancerosas de la muestra, o eliminando restos de la muestra antes de la determinación de la cantidad de células madre cancerosas en la muestra según los métodos de la invención.

Las muestras para su uso en los métodos descritos en la presente memoria pueden tomarse de cualquier sujeto animal, preferiblemente un mamífero, más preferiblemente un ser humano. El sujeto del que se obtiene y se utiliza una muestra según los métodos descritos incluye, sin limitación, un sujeto asintomático, un sujeto que manifiesta o exhibe 1, 2, 3, 4 o más síntomas de cáncer, un sujeto clínicamente diagnosticado con cáncer, un sujeto predispuesto al cáncer, un sujeto que se sospecha que tiene cáncer, un sujeto que está recibiendo terapia para el cáncer, un sujeto que se ha determinado médicamente que está libre de cáncer (por ejemplo, después de una terapia para el cáncer), un sujeto que está en tratamiento para un cáncer, o un sujeto que no ha sido diagnosticado con cáncer. Como se usa en el presente documento, la expresión "no tiene cáncer detectable" se refiere a un sujeto o sujetos en los que no hay cáncer detectable mediante métodos convencionales, por ejemplo, RMN. En otras realizaciones, el término se refiere a un sujeto o sujetos libres de cualquier trastorno.

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

Una muestra de control positiva o negativa es una muestra que se obtiene o procede de un tejido o fluido biológico o tumor correspondiente como muestra a analizar según los métodos descritos. Esta muestra puede proceder del mismo paciente o de diferentes personas y en el mismo momento o en diferentes momentos.

Para mayor claridad de la descripción, y no a modo de limitación, lo siguiente se refiere al análisis de una muestra de sangre de un paciente. Sin embargo, como apreciará un experto en la técnica, los ensayos y técnicas descritos en la presente memoria se pueden aplicar a otros tipos de muestras de pacientes, incluyendo un fluido corporal (por ejemplo, sangre, médula ósea, plasma, orina, bilis, líquido ascítico), una muestra tisular que se sospecha que contiene un material procedente de un cáncer (por ejemplo, una biopsia) o un homogeneizado de los mismos. La cantidad de muestra a extraer variará con el tipo particular de muestra y el método para determinar la cantidad de células madre cancerosas usadas y será una cantidad suficiente para detectar las células madre cancerosas en la muestra.

Se puede obtener una muestra de sangre de un paciente que tenga diferentes etapas de desarrollo o enfermedad. Puede extraerse sangre de un sujeto de cualquier parte del cuerpo (por ejemplo, un dedo, una mano, una muñeca, un brazo, una pierna, un pie, un tobillo, un estómago y un cuello) usando técnicas conocidas por un experto en la técnica, en particular métodos de flebotomía conocidos en la técnica. La sangre venosa se obtiene de un sujeto y se utiliza según los métodos descritos. La sangre arterial puede obtenerse y utilizarse según los métodos descritos. La composición de la sangre venosa varía según las necesidades metabólicas del área del cuerpo a la que sirve. Por el contrario, la composición de la sangre arterial es constante en todo el cuerpo. Para los análisis de sangre de rutina, generalmente se usa sangre venosa.

La cantidad de sangre extraída variará dependiendo del sitio de extracción, la cantidad requerida para el método descrito y la comodidad del sujeto. Puede extraerse cualquier cantidad de sangre que sea suficiente para detectar la cantidad de células madre cancerosas. Por ejemplo, se extrae 1 cc o más de sangre de un sujeto.

La cantidad de células madre cancerosas en una muestra se puede expresar como el porcentaje de, por ejemplo, células totales, células cancerosas totales o células madre totales en la muestra, o cuantificarse en relación con el

área (por ejemplo, células por campo de alta potencia), o volumen (por ejemplo, células por ml), o arquitectura (por ejemplo, células por espícula de hueso en un espécimen de médula ósea).

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

La muestra del paciente puede ser una muestra tisular (por ejemplo, una biopsia de un sujeto con o que se sospecha que tiene tejido canceroso), donde la cantidad de células madre cancerosas se puede medir, por ejemplo, mediante inmunohistoquímica o citometría de flujo, o sobre la base de la cantidad de células madre cancerosas por unidad de área, volumen o peso del tejido. La población de células madre cancerosas (la cantidad de células madre cancerosas) puede determinarse como una porción (por ejemplo, un porcentaje) de las células cancerosas presentes en la muestra tisular o como un subconjunto de las células cancerosas presentes en la muestra tisular. La población de células madre cancerosas puede determinarse como una porción (por ejemplo, un porcentaje) de células totales o células madre en la muestra tisular.

La cantidad de células madre cancerosas en una muestra de prueba se puede comparar con la cantidad de células madre cancerosas en una o más muestras de referencia para evaluar la eficacia del régimen. La muestra de referencia puede ser una muestra obtenida del sujeto que se somete a terapia en un momento anterior (por ejemplo, antes de recibir el régimen como muestra de referencia inicial, o en un momento anterior mientras recibe la terapia). En este caso, la terapia da como resultado de manera deseable una disminución en la cantidad de células madre cancerosas en la muestra de prueba en comparación con la muestra de referencia. La muestra de referencia puede obtenerse de un sujeto sano que no tenga cáncer detectable o de un paciente que esté en remisión del mismo tipo de cáncer. En este caso, la terapia da como resultado de manera deseable que la muestra de prueba tenga una cantidad igual de células madre cancerosas, o inferior a la cantidad de células madre cancerosas que se detectan en la muestra de referencia.

En otras realizaciones, la población de células madre cancerosas en una muestra de prueba se puede comparar con un intervalo de referencia predeterminado y/o una cantidad previamente detectada de células madre cancerosas determinada para el sujeto para medir la respuesta del sujeto a los regímenes descritos en el presente documento. En una realización específica, una estabilización o reducción en la cantidad de células madre cancerosas con respecto a un intervalo de referencia predeterminado y/o una cantidad de células madre cancerosas anterior (previamente detectadas) determinada para el sujeto indica una mejora en el pronóstico del sujeto o una respuesta positiva al régimen, mientras que un aumento en relación con el intervalo de referencia predeterminado y/o una cantidad de células madre cancerosas anterior indica el mismo o peor pronóstico, y/o una falta de respuesta al régimen. La cantidad de células madre cancerosas se puede usar junto con otras medidas para evaluar el pronóstico del sujeto y/o la eficacia del régimen. En una realización específica, el intervalo de referencia predeterminado se basa en la cantidad de células madre cancerosas obtenidas de un paciente o una o más poblaciones de pacientes que padecen el mismo tipo de cáncer que el paciente que se somete a la terapia.

Generalmente, dado que los antígenos de células madre, por ejemplo, EphA2, CD133 e IL-13R α 2, pueden estar presentes tanto en células madre cancerosas como en células madre normales, una muestra del paciente afectado por cáncer tendrá un recuento de células madre más alto que una muestra de un sujeto sano que no tiene cáncer detectable, debido a la presencia de células madre cancerosas. De manera deseable, la terapia dará como resultado un recuento de células madre cancerosas para la muestra de prueba (por ejemplo, la muestra del paciente que se somete a terapia) que disminuye y se acerca cada vez más al recuento de células madre en una muestra de referencia que es una muestra de un sujeto sano que no tiene ningún cáncer detectable.

Si se determina que la reducción en la cantidad de células madre cancerosas es inadecuada al comparar la cantidad de células madre cancerosas en la muestra del sujeto que se somete al régimen con la muestra de referencia, entonces el médico tiene varias opciones posibles para ajustar el régimen. Por ejemplo, el médico puede entonces aumentar la dosificación o la intensidad de la terapia administrada, la frecuencia de la administración, la duración de la administración, combinar la terapia con otra u otras terapias, cambiar el manejo por completo, incluida la interrupción de la terapia, o cualquier combinación de los mismos.

La dosificación, frecuencia y/o duración de la administración de una terapia pueden modificarse como resultado del cambio en la cantidad de células madre cancerosas detectadas en o precedente del paciente tratado. Por ejemplo, si un sujeto que recibe terapia para la leucemia tiene una medición de células madre cancerosas del 2,5 % de su tumor antes de la terapia y del 5 % después de 6 semanas de terapia, entonces la terapia o régimen puede alterarse o suspenderse debido a que el aumento en el porcentaje de células madre cancerosas indica que la terapia o el régimen

no son óptimos. Como alternativa, si otro sujeto tiene una medición de células madre cancerosas del 2,5 % de su tumor antes de la terapia y del 1 % después de 6 semanas de terapia, entonces la terapia o régimen puede continuar debido a que la disminución en el porcentaje de células madre cancerosas indica que la terapia o el régimen son eficaces.

5 La cantidad de células madre cancerosas se puede monitorizar/evaluar usando técnicas estándar conocidas por los expertos en la técnica. Las células madre cancerosas se pueden monitorizar, por ejemplo, obteniendo una muestra, tal como una muestra de tejido/tumor, una muestra de sangre o una muestra de médula ósea, de un sujeto, y detectando células madre cancerosas en la muestra. La cantidad de células madre cancerosas en una muestra (que puede expresarse como porcentajes de, por ejemplo, células totales o células cancerosas totales) se puede evaluar detectando la expresión de antígenos de células madre cancerosas (por ejemplo, EphA2) en células madre cancerosas. Se pueden usar técnicas conocidas por los expertos en la técnica para medir estas actividades. La expresión del antígeno se puede ensayar, por ejemplo, mediante inmunoensayos incluyendo, pero sin limitación, transferencias de western, inmunohistoquímica, radioinmunoensayos, ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas), inmunoensayos de tipo "sandwich", ensayos de inmunoprecipitación, reacciones de precipitina, reacciones de precipitina por difusión de gel, ensayos de inmunodifusión, ensayos de aglutinación, ensayos de fijación del complemento, ensayos inmunoradiométricos, inmunoensayos fluorescentes, inmunofluorescencia, inmunoensayos de proteína A, citometría de flujo y análisis FACS. En dichas circunstancias, la cantidad de células madre cancerosas en una muestra de ensayo de un sujeto puede determinarse comparando los resultados con la cantidad de células madre cancerosas en una muestra de referencia (por ejemplo, una muestra de un sujeto que no tiene cáncer detectable) o con un intervalo de referencia predeterminado, o para con el propio paciente en un momento anterior (por ejemplo, antes o durante la terapia).

25 En una realización específica, la población de células madre cancerosas en una muestra de un paciente se determina mediante citometría de flujo. Este método explota la expresión diferencial de determinados marcadores de superficie en las células. Se pueden usar anticuerpos marcados (por ejemplo, anticuerpos fluorescentes) específicos de los antígenos de células madre cancerosas (por ejemplo, EphA2) para reaccionar con las células en la muestra y, posteriormente, las células se clasifican mediante métodos FACS. En algunas realizaciones, se utiliza una combinación de marcadores de superficie celular para determinar la cantidad de células madre cancerosas en la muestra. Por ejemplo, puede usarse la clasificación de células tanto positiva como negativa para evaluar la cantidad de células madre cancerosas en la muestra. En una realización específica, la población de células madre cancerosas en una muestra, por ejemplo, una muestra tisular, tal como una biopsia de tumor sólido, se determina usando técnicas de inmunohistoquímica. Este método explota la expresión diferencial de determinados marcadores de superficie en las células. Se pueden usar anticuerpos marcados (por ejemplo, anticuerpos fluorescentes) específicos de los antígenos de células madre cancerosas (por ejemplo, EphA2) para reaccionar con las células en la muestra y, posteriormente, se tiñe el tejido. En algunas realizaciones, se utiliza una combinación de determinados marcadores de superficie celular para determinar la cantidad de células madre cancerosas en la muestra.

40 En otras realizaciones, la formación de esferas se puede usar para determinar la cantidad de células madre cancerosas en una muestra (véase Singh y col., "Identification of a Cancer Stem Cell from Human Brain Tumors", *Cancer Res* 63: 5821-5828 (2003)).

45 En otras realizaciones, una muestra (por ejemplo, una muestra de tumor o tejido normal, una muestra de sangre o una muestra de médula ósea) obtenida del paciente se analiza en sistemas *in vivo* para determinar la población de células madre cancerosas o la cantidad de células madre cancerosas. En determinadas realizaciones, por ejemplo, se usa el injerto *in vivo* para cuantificar la cantidad de células madre cancerosas en una muestra. El injerto *in vivo* implica la implantación de un espécimen humano siendo la lectura la formación de tumores en un animal tal como en ratones inmunodeprimidos o inmunodeficientes (tales como ratones NOD/SCID). Típicamente, la muestra del paciente se cultiva o se manipula *in vitro* y a continuación se inyecta en los ratones. En estos ensayos, a los ratones se les puede inyectar una cantidad decreciente de células de muestras de pacientes, y la frecuencia de formación de tumores se puede representar gráficamente frente a la cantidad de células inyectadas para determinar la cantidad de células madre cancerosas en la muestra. Como alternativa, se puede medir la tasa de crecimiento del tumor resultante, indicando los tumores más grandes o que avanzan más rápidamente una mayor cantidad de células madre cancerosas en la muestra del paciente. De esta manera, se podría usar un modelo/ensayo de injerto *in vivo* para medir la cantidad de células madre cancerosas antes y después de la terapia para evaluar el cambio en la cantidad de células madre cancerosas que surge de una terapia o régimen determinado.

60 En determinadas técnicas *in vivo*, se usa un agente de imaginología o un agente de diagnóstico que se une a moléculas biológicas en células cancerosas o células madre cancerosas, por ejemplo, se une a EphA2 en células madre cancerosas. Por ejemplo, una etiqueta fluorescente, un radionúclido, un metal pesado o un emisor de fotones se une a un anticuerpo (incluido un fragmento de anticuerpo) que se une a EphA2. El médico puede infundir el anticuerpo marcado en el paciente antes, durante o después del tratamiento y, a continuación, el médico puede colocar al paciente en un escáner/revelador de cuerpo total que puede detectar la etiqueta fijada (por ejemplo, etiqueta fluorescente, radionúclido, metal pesado, emisor de fotones). El escáner/revelador (por ejemplo, TC, RMN u otro escáner, por ejemplo, detector de etiqueta fluorescente, que pueda detectar la etiqueta) registra la presencia, cantidad y ubicación corporal del anticuerpo unido. De esta manera, el mapeo y la cuantificación de etiquetas (por ejemplo, fluorescencia,

radioactividad, etc.) en patrones (es decir, diferentes de los patrones de células madre normales dentro de un tejido) en un tejido o tejidos indican la eficacia del tratamiento dentro del cuerpo del paciente en comparación con un control de referencia, tal como el mismo paciente en un momento anterior o un paciente o individuo sano que no tiene cáncer detectable. Por ejemplo, una señal grande (en relación con un intervalo de referencia o una fecha de tratamiento anterior, o antes del tratamiento) en una ubicación particular indica la presencia de células madre cancerosas. Si esta señal aumenta en relación con una fecha anterior, sugiere un empeoramiento de la enfermedad y el fracaso de la terapia o régimen. Como alternativa, una disminución de la señal indica que la terapia o régimen ha sido eficaz.

La cantidad de células madre cancerosas puede detectarse *in vivo* en un sujeto según un método que comprende las etapas de: (a) administrar al sujeto una cantidad eficaz de un agente de unión marcado que se une específicamente a un antígeno de células madre cancerosas (por ejemplo, EphA2 o CD133), y (b) detectar el agente marcado en el sujeto después de un intervalo de tiempo suficiente para permitir que el agente marcado se concentre en sitios en el sujeto donde se expresa el marcador de superficie de células madre cancerosas. Según esto, el agente de unión se administra al sujeto según cualquier método adecuado en la técnica, por ejemplo, por vía parenteral (tal como por vía intravenosa), o por vía intraperitoneal. Según esta realización, la cantidad eficaz del agente es la cantidad que permite la detección del agente en el sujeto. Esta cantidad variará según el sujeto particular, la etiqueta usada y el método de detección empleado. Por ejemplo, se entiende en la técnica que el tamaño del sujeto y el sistema de imagenología usado determinarán la cantidad de agente marcado necesario para detectar el agente en un sujeto usando un medio de imagenología. En el caso de un agente radiomarcado para un sujeto humano, la cantidad de agente marcado administrado se mide en términos de radioactividad, por ejemplo, de aproximadamente 5 a 20 milicurios de ⁹⁹Tc. El intervalo de tiempo que sigue a la administración del agente marcado que es suficiente para permitir que el agente marcado se concentre en sitios en el sujeto donde se expresa el marcador de superficie de las células madre cancerosas variará dependiendo de varios factores, por ejemplo, el tipo de etiqueta usada, el modo de administración, y la parte del cuerpo del sujeto de la que se toma la imagen. El intervalo de tiempo que es suficiente puede ser de 6 a 48 horas, de 6 a 24 horas, o de 6 a 12 horas. Como alternativa, el intervalo de tiempo es de 5 a 20 días o de 5 a 10 días. La presencia del agente de unión a marcador de superficie de células madre cancerosas marcado puede detectarse en el sujeto usando medios de imagenología conocidos en la técnica. En general, los medios de imagenología empleados dependen del tipo de etiqueta usada. Los expertos podrán determinar los medios apropiados para detectar una etiqueta particular. Los métodos y dispositivos que pueden usarse incluyen, pero sin limitación, tomografía computarizada (TC), exploración de todo el cuerpo, tal como tomografía por emisión de positrones (PET), resonancia magnética nuclear (RMN), un generador de imágenes que puede detectar y localizar la etiqueta fluorescente, y ecografía. En una realización específica, el agente de unión al cáncer se marca con un radioisótopo y se detecta en el paciente usando un instrumento quirúrgico sensible a la radiación (Thurston y col., patente de EE. UU. n.º 5.441.050). El agente de unión se marca con un compuesto fluorescente y se detecta en el paciente usando un instrumento de exploración sensible a la fluorescencia. En otra realización, el agente de unión se marca con un metal emisor de positrones y se detecta en el paciente usando tomografía por emisión de positrones. En otra realización más, el agente de unión se marca con un marcador paramagnético y se detecta en un paciente usando resonancia magnética nuclear (RMN).

Se puede usar cualquier ensayo *in vitro* o *in vivo* (*ex vivo*) conocido por los expertos en la técnica que pueda detectar y/o cuantificar células madre cancerosas para monitorizar las células madre cancerosas en o de un sujeto con el fin de evaluar la utilidad profiláctica y/o terapéutica de una terapia o régimen contra el cáncer descrito en la presente memoria para el cáncer o uno o más síntomas del mismo; o estos ensayos se pueden usar para evaluar el pronóstico de un paciente. Los resultados de estos ensayos pueden usarse a continuación para posiblemente mantener o alterar la terapia o el régimen contra el cáncer.

La cantidad de células madre cancerosas en un espécimen se puede comparar con un intervalo de referencia predeterminado y/o una cantidad anterior de células madre cancerosas determinada previamente para el sujeto (ya sea antes o durante la terapia) para medir la respuesta del sujeto a los regímenes de tratamiento descritos en el presente documento. En una realización específica, una estabilización o reducción en la cantidad de células madre cancerosas con respecto a un intervalo de referencia predeterminado y/o una cantidad anterior de células madre cancerosas determinada previamente para el sujeto (ya sea antes o durante la terapia) indica que la terapia o régimen fue eficaz y, por lo tanto, posiblemente una mejora en el pronóstico del sujeto, mientras que un aumento en relación con el intervalo de referencia predeterminado y/o la cantidad de células madre cancerosas detectadas en un momento anterior indica que la terapia o régimen fue ineficaz y, por lo tanto, posiblemente el mismo o un empeoramiento en el pronóstico del sujeto. La cantidad de células madre cancerosas se puede usar con otras medidas estándar de cáncer para evaluar el pronóstico del sujeto y/o la eficacia de la terapia o régimen: Tales como tasa de respuesta, durabilidad de la respuesta, supervivencia sin recidiva, supervivencia sin enfermedad, supervivencia sin progresión y supervivencia general. En determinadas realizaciones, la dosis, frecuencia y/o duración de la administración de una terapia se modifica como resultado de la determinación de la cantidad o cambio en la cantidad de células madre cancerosas en diversos momentos que pueden incluir antes, durante y/o después de la terapia.

También se proporcionan en la presente memoria métodos para determinar que una terapia o régimen contra el cáncer es eficaz para dirigirse a y/o alterar las células madre cancerosas en virtud de la monitorización de las células madre cancerosas en el tiempo y detectar una estabilización o disminución en la cantidad de células madre cancerosas durante y/o después del transcurso de la terapia o régimen contra el cáncer.

Una terapia o régimen puede describirse o comercializarse como una terapia o régimen anti células madre cancerosas basándose en la determinación de que una terapia o régimen es eficaz para dirigirse a y/o alterar las células madre cancerosas en virtud de haber monitorizado o detectado una estabilización o disminución de la cantidad de células madre cancerosas durante la terapia.

También se proporcionan en la presente memoria métodos para tratar el cáncer que implican i) determinar que una terapia contra el cáncer basada en EphA2 es eficaz en virtud de su capacidad para disminuir las células madre cancerosas según lo determinado mediante la monitorización de las células madre cancerosas, y ii) administrar la terapia a uno o más seres humanos con cáncer. También se proporcionan en la presente memoria métodos para tratar el cáncer que implican i) administrar a un ser humano con cáncer una terapia contra el cáncer basada en EphA2, ii) determinar la cantidad de células madre cancerosas antes, durante y/o después de la terapia mediante la monitorización de las células madre cancerosas, y iii) continuar, alterar o interrumpir la terapia basándose en dicha monitorización. También se proporcionan en la presente memoria métodos para ensayar/cribar una o más terapias basadas en EphA2 para determinar la actividad anti células madre cancerosas que implican i) la administración de la terapia a un ser humano con cáncer, ii) monitorizar células madre cancerosas en o del ser humano antes, durante y/o después de la terapia, y iii) determinar si la terapia dio como resultado una disminución de la cantidad de células madre cancerosas.

También se proporcionan en la presente memoria métodos para tratar el cáncer que implican i) determinar que una terapia contra el cáncer basada en IL-13R α 2 es eficaz en virtud de su capacidad para disminuir las células madre cancerosas según lo determinado mediante la monitorización de las células madre cancerosas, y ii) administrar la terapia a uno o más seres humanos con cáncer. También se proporcionan en la presente memoria métodos para tratar el cáncer que implican i) administrar a un ser humano con cáncer una terapia contra el cáncer basada en IL-13R α 2, ii) determinar la cantidad de células madre cancerosas antes, durante y/o después de la terapia mediante la monitorización de las células madre cancerosas, y iii) continuar, alterar o interrumpir la terapia basándose en dicha monitorización. También se proporcionan en la presente memoria métodos para ensayar/cribar una o más terapias basadas en IL-13R α 2 para determinar la actividad anti células madre cancerosas que implican i) la administración de la terapia a un ser humano con cáncer, ii) monitorizar células madre cancerosas en o del ser humano antes, durante y/o después de la terapia, y iii) determinar si la terapia dio como resultado una disminución de la cantidad de células madre cancerosas.

5.2 Tipos de cáncer

Con cualquier tipo de cáncer para el cual un paciente pueda ser tratado, las células madre cancerosas del mismo pueden monitorizarse según los métodos descritos en el presente documento. El médico puede diagnosticar al paciente usando cualquiera de los métodos de detección de cáncer convencionales que incluyen, pero sin limitación, examen físico (por ejemplo, examen de próstata, examen rectal, examen de mama, examen de ganglios linfáticos, examen abdominal, control dermatológico, examen testicular, palpación general), métodos visuales (por ejemplo, colonoscopia, broncoscopia, endoscopia), análisis de Papanicolaou (cáncer de cuello del útero), análisis de guayacol en heces, análisis de sangre (por ejemplo, prueba de hemograma completo (CBC), prueba del antígeno prostático específico (PSA), prueba del antígeno carcinoembrionario (CEA), prueba de antígeno del cáncer (CA)-125, alfafetoproteína (AFP), pruebas de función hepática), análisis de cariotipo, análisis de médula ósea (por ejemplo, en casos de neoplasias hematológicas), histología, citología, citometría de flujo, análisis de esputo y métodos de imagenología (por ejemplo, tomografía computarizada (TC), resonancia magnética nuclear (RMN), ultrasonido, imágenes por rayos X, mamografía, tomografías PET, gammagrafías óseas).

Los ejemplos no limitativos de cánceres incluyen: leucemias, tales como, pero sin limitación, leucemia aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemias mielocíticas agudas, tales como leucemias mieloblásticas, promielocíticas, mielomonocíticas, monocíticas y eritroleucemia y síndrome mielodisplásico (MDS); leucemias crónicas, tales como, pero sin limitación, leucemia mielocítica crónica (granulocítica), leucemia linfocítica crónica, leucemia de tricoleucocitos; policitemia vera; linfomas tales como, pero sin limitación, enfermedad de Hodgkin, enfermedad no Hodgkin; mielomas múltiples tales como, pero sin limitación, mieloma múltiple indolente, mieloma no secretor, mieloma osteosclerótico, leucemia de células plasmáticas, plasmocitoma solitario y plasmocitoma extramedular; macroglobulinemia de Waldenström; gamopatía monoclonal de significado indeterminado; gamopatía monoclonal benigna; enfermedad de la cadena pesada; sarcomas óseos y de tejido conectivo tales como, pero sin limitación, sarcoma óseo, osteosarcoma, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, tumor maligno de células gigantes, fibrosarcoma de hueso, cordoma, sarcoma perióstico, sarcomas de tejidos blandos, angiosarcoma (hemangiosarcoma), fibrosarcoma, sarcoma de Kaposi, leiomiomas, liposarcoma, linfangiosarcoma, neurilemoma, rabdomyosarcoma, sarcoma sinovial; tumores cerebrales tales como, pero sin limitación, glioma, astrocitoma, glioma del tronco encefálico, ependimoma, oligodendroglioma, tumor no glial, neurinoma acústico, craneofaringioma, meduloblastoma, meningioma, pineocitoma, pineoblastoma, linfoma cerebral primario; cáncer de mama, incluyendo, pero sin limitación, carcinoma ductal, adenocarcinoma, carcinoma lobular (microcítico), carcinoma intraductal, cáncer de mama medular, cáncer de mama mucinoso, cáncer de mama tubular, cáncer de mama papilar, enfermedad de Paget y cáncer de mama inflamatorio; cáncer suprarrenal tal como, pero sin limitación, feocromocitoma y carcinoma suprarrenal; cáncer de tiroides tal como, pero sin limitación, cáncer de tiroides papilar o folicular, cáncer medular de tiroides y

cáncer anaplásico de tiroides; cáncer de páncreas tal como, pero sin limitación, insulinoma, gastrinoma, glucagonoma, vipoma, tumor secretor de somatostatina y tumor carcinoide o de células de los islotes; cánceres de pituitaria tales como, pero sin limitación, enfermedad de Cushing, tumor secretor de prolactina, acromegalia y diabetes insípida; cánceres oculares tales como, pero sin limitación, melanoma ocular, tal como melanoma de iris, melanoma corioideo, y melanoma del cuerpo ciliar y retinoblastoma; cánceres vaginales tales como carcinoma escamocelular, adenocarcinoma y melanoma; cáncer de la vulva, tales como carcinoma escamocelular, melanoma, adenocarcinoma, carcinoma de células basales, sarcoma y enfermedad de Paget; cánceres de cuello del útero tales como, pero sin limitación, carcinoma escamocelular y adenocarcinoma; cánceres uterinos tales como, pero sin limitación, carcinoma de endometrio y sarcoma uterino; cánceres de ovario tales como, pero sin limitación, carcinoma epitelial de ovario, tumor de bajo potencial, tumor de células germinales y tumor estromal; cánceres de esófago tales como, pero sin limitación, cáncer escamoso, adenocarcinoma, carcinoma adenoide quístico, carcinoma mucocelular, carcinoma adenoescamoso, sarcoma, melanoma, plasmacitoma, carcinoma verrugoso y carcinoma de células en avena (microcítico); cánceres de estómago tales como, pero sin limitación, adenocarcinoma, fungiformes (polipoides), ulcerantes, propagación superficial, propagación difusa, linfoma maligno, liposarcoma, fibrosarcoma y carcinosarcoma; cánceres de colon; cánceres de recto; cánceres de hígado tales como, pero sin limitación, carcinoma hepatocelular y hepatoblastoma; cánceres de vesícula biliar tales como adenocarcinoma; colangiocarcinomas tales como, pero sin limitación, papilares, nodulares y difusos; cánceres de pulmón tales como cáncer de pulmón no microcítico, carcinoma escamocelular (carcinoma epidermoide), adenocarcinoma, carcinoma macrocítico y cáncer de pulmón microcítico; cánceres de testículo tales como, pero sin limitación, tumor germinal, seminoma, anaplásico, clásico (típico), espermatozóide, no seminoma, carcinoma embrionario, carcinoma de teratoma, coriocarcinoma (tumor del saco vitelino), cánceres de próstata tales como, pero sin limitación, neoplasia intraepitelial prostática, adenocarcinoma, leiomioma y rhabdomyosarcoma; cánceres del pene; cánceres orales tales como, pero sin limitación, carcinoma escamocelular; cánceres basales; cánceres de glándulas salivales tales como, pero sin limitación, adenocarcinoma, carcinoma mucocelular y carcinoma adenoide quístico; cánceres de faringe tales como, pero sin limitación, cáncer escamocelular y verrugoso; cánceres de piel tales como, pero sin limitación, carcinoma de células basales, carcinoma escamocelular y melanoma, melanoma de propagación superficial, melanoma nodular, melanoma lentigo maligno, melanoma acral-lentiginoso; cánceres de riñón tales como, pero sin limitación, carcinoma de células renales, adenocarcinoma, hipernefoma, fibrosarcoma, cáncer de células de transición (pelvis renal y/o útero); tumor de Wilms; cánceres de vejiga tales como, pero sin limitación, carcinoma de células de transición, cáncer escamocelular, adenocarcinoma, carcinosarcoma. Además, los cánceres incluyen mixosarcoma, sarcoma osteogénico, endoteliosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, mesotelioma, sinovioma, hemangioblastoma, carcinoma epitelial, cistadenocarcinoma, carcinoma broncogénico, carcinoma de las glándulas sudoríparas, carcinoma de las glándulas sebáceas, carcinoma papilar y adenocarcinomas papilares (para una revisión de dichos trastornos, véase Fishman y col., 1985, Medicine, 2ª Ed., J.B. Lippincott Co., Filadelfia y Murphy y col., 1997, Informed Decisions: The Complete Book of Cancer Diagnosis, Treatment, and Recovery, Viking Penguin, Penguin Books U.S.A., Inc., Estados Unidos).

Otros cánceres u otras enfermedades proliferativas anómalas incluyen, pero sin limitación, los siguientes: carcinoma, incluyendo el de vejiga, mama, colon, riñón, hígado, pulmón, ovario, páncreas, estómago, cuello del útero, tiroides y piel; incluyendo carcinoma escamocelular; tumores hematopoyéticos de linaje linfoide, incluyendo leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfoblástica aguda, linfoma de linfocitos B, linfoma de linfocitos T, linfoma de Burkitt; tumores hematopoyéticos de linaje mieloide, incluyendo leucemias mielógenas agudas y crónicas y leucemia promielocítica; tumores de origen mesenquimatoso, incluyendo fibrosarcoma y rhabdomyosarcoma; otros tumores, incluyendo melanoma, seminoma, tetracarcinoma, neuroblastoma y glioma; tumores del sistema nervioso central y periférico, incluyendo astrocitoma, neuroblastoma, glioma y schwannomas; tumores de origen mesenquimatoso, incluyendo fibrosarcoma, rhabdomyosarcoma y osteosarcoma; y otros tumores, incluyendo melanoma, xenoderma pigmentoso, queratoactinoma, seminoma, cáncer folicular tiroideo y teratocarcinoma. También se incluyen los cánceres asociados con aberraciones en la apoptosis y no se limitan a, linfomas foliculares, carcinomas con mutaciones p53, tumores hormonales dependientes de la mama, próstata y ovario, y lesiones precancerosas tales como poliposis adenomatosa familiar y síndromes mielodisplásicos. En la invención se abarcan cambios malignos o disproliferativos (tales como metaplasias y displasias), o trastornos hiperproliferativos de la piel, pulmón, hígado, hueso, cerebro, estómago, colon, mama, próstata, vejiga, riñón, páncreas, ovario y/o útero.

Los ejemplos no limitativos de leucemias y otros cánceres transmitidos por la sangre incluyen leucemia linfoblástica aguda "ALL", leucemia linfoblástica aguda de linfocitos B, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T, leucemia mieloblástica aguda "AML", leucemia promielocítica aguda "APL", leucemia monoblástica aguda, eritroleucemia aguda, leucemia megacarioblástica aguda, leucemia mielomonocítica aguda, leucemia no linfocítica aguda, leucemia indiferenciada aguda, leucemia mielocítica crónica "CML", leucemia linfocítica crónica "CLL" y leucemia de células pilosas.

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

Los ejemplos no limitativos de tumores sólidos abarcados en la invención incluyen, pero sin limitación, fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leiomioma, leiomioma,

rabdomiosarcoma, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de riñón, cáncer de páncreas, cáncer de hueso, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer de esófago, cáncer de estómago, cáncer oral, cáncer nasal, cáncer de garganta, carcinoma escamocelular, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de las glándulas sudoríparas, carcinoma de las glándulas sebáceas, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, 5
 cistadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, carcinoma de células renales, hepatoma, carcinoma del conducto biliar, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilms, cáncer de cuello del útero, cáncer de útero, cáncer de testículos, carcinoma de pulmón microcítico, carcinoma de vejiga, cáncer de pulmón, carcinoma epitelial, glioma, glioblastoma multiforme, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, meningioma, cáncer de piel, 10
 melanoma, neuroblastoma y retinoblastoma.

5.2.1 Cánceres de cerebro

En una realización específica, los métodos descritos en la presente memoria se pueden usar en la prevención, el tratamiento y/o el manejo del cáncer de cerebro. En determinadas realizaciones, dichos métodos comprenden una etapa de monitorizar los niveles de células madre cancerosas en un sujeto con cáncer de cerebro que ha sido tratado según los métodos descritos en el presente documento, por ejemplo, al sujeto se le ha administrado una terapia contra el cáncer basada en EphA2, es decir, un péptido EphA2 o un compuesto (por ejemplo, un anticuerpo) que se dirige específicamente a EphA2 (por ejemplo, se dirige a EphA2 presente en células madre cancerosas que expresan EphA2). 15
 20

Los métodos descritos en la presente memoria se pueden usar en la prevención, el tratamiento y/o el manejo del cáncer de cerebro. En determinadas realizaciones, dichos métodos comprenden una etapa de monitorizar los niveles de células madre cancerosas en un sujeto con cáncer de cerebro que ha sido tratado según los métodos descritos en el presente documento, por ejemplo, al sujeto se le ha administrado una terapia contra el cáncer basada en IL-13R α 2, es decir, un péptido IL-13R α 2 o un compuesto (por ejemplo, un anticuerpo) que se dirige específicamente a IL-13R α 2 (por ejemplo, se dirige a IL-13R α 2 presente en células madre cancerosas que expresan IL-13R α 2). 25

Cualquier tipo de cáncer de cerebro se puede tratar según los métodos descritos en el presente documento. Los cánceres cerebrales ilustrativos incluyen, pero sin limitación, gliomas (que incluyen astrocitoma (por ejemplo, schwannoma acústico pilocítico, astrocitoma difuso y astrocitoma anaplásico), glioblastoma, oligodendroglioma, glioma del tronco encefálico, glioma no troncoencefálico, ependimoma y tumores mixtos que comprenden más de un tipo de células gliales), schwannoma acústico, cranialfingoma, meningioma, meduloblastoma, linfoma primario del sistema nervioso central y tumores de la pineal (por ejemplo, tumores astrocíticos pineales y tumores parenquimales pineales) y glándulas pituitarias. Los gliomas también incluyen gliomas malignos recurrentes, astrocitomas de grado II de la OMS de alto riesgo, oligoastrocitomas, gliomas recurrentes de grado II de la OMS, gliomas del tronco encefálico malignos o intrínsecos recién diagnosticados, gliomas no troncoencefálicos resecados de manera incompleta y gliomas recurrentes irresecables de bajo grado. Los tipos adicionales de cáncer cerebral que se pueden tratar según los métodos descritos en la presente memoria incluyen astrocitoma/oligodendroglioma supratentorial infiltrante de bajo grado en adultos, astrocitoma supratentorial infiltrante de bajo grado en adultos, oligodendroglioma supratentorial infiltrante de bajo grado en adultos, astrocitoma/oligodendroglioma supratentorial infiltrante de bajo grado en adultos (excluyendo astrocitoma pilocítico), astrocitoma supratentorial infiltrante de bajo grado en adultos (excluyendo astrocitoma pilocítico), oligodendroglioma supratentorial infiltrante de bajo grado en adultos (excluyendo astrocitoma pilocítico), ependimoma intracraneal en adultos, ependimoma intracraneal en adultos (excluyendo subependimoma y mixopapilar), ependimoma anaplásico intracraneal en adultos, glioma anaplásico, glioblastoma anaplásico, astrocitoma pilocítico, subependimoma, mixopapilar, de 1 a 3 lesiones metastásicas limitadas (intraparenquimatosas), más de 3 lesiones metastásicas (intraparenquimatosas), metástasis leptomeníngeas (meningitis neoplásica), linfoma primario del SNC, tumores metastásicos de la columna vertebral, o meningiomas. 30
 35
 40
 45

En una realización, el cáncer de cerebro tratado según los métodos descritos en la presente memoria es un glioma. En una realización específica, el cáncer de cerebro tratado según los métodos descritos en la presente memoria es glioma maligno recurrente. En otra realización específica, el cáncer de cerebro tratado según los métodos descritos en la presente memoria es glioma de grado II de la OMS recurrente. En otra realización específica, el cáncer de cerebro tratado según los métodos descritos en la presente memoria es glioma del tronco encefálico intrínseco o maligno recién diagnosticado. En otra realización específica, el cáncer de cerebro tratado según los métodos descritos en la presente memoria es glioma no troncoencefálico resecado de forma incompleta. En otra realización específica, el cáncer de cerebro tratado según los métodos descritos en la presente memoria es glioma recurrente irresecable de bajo grado. 50
 55

En una realización, un paciente tratado según los métodos descritos en la presente memoria es un adulto con glioma maligno recurrente, glioblastoma recurrente, astrocitoma anaplásico, oligodendroglioma anaplásico u oligoastrocitoma anaplásico mixto. El paciente puede ser un adulto con glioma de bajo grado, alto riesgo y recién diagnosticado. El paciente puede ser un adulto con astrocitoma de bajo grado, alto riesgo y recién diagnosticado. El paciente puede ser un adulto con oligoastrocitoma de bajo grado, alto riesgo y recién diagnosticado. El paciente puede ser un adulto con astrocitoma recurrente de bajo grado y alto riesgo. El paciente puede ser un adulto con oligoastrocitoma recurrente de bajo grado y alto riesgo. El paciente puede ser un adulto con oligodendroglioma recurrente de bajo grado y alto riesgo. 60
 65

El paciente puede ser un niño con glioma maligno recién diagnosticado. En otra realización, el paciente es un niño con glioma del tronco encefálico intrínseco. El paciente puede ser un niño con glioma no troncoencefálico reseado de forma incompleta. El paciente puede ser un niño con glioma recurrente irreseable de bajo grado. El paciente puede ser un niño con glioma pontino intrínseco difuso recién diagnosticado. El paciente puede ser un niño con cualquier glioma de alto grado que afecte al tronco encefálico y se trate con RT o sin quimioterapia durante la RT. En otra realización, el paciente es un niño con glioma de alto grado no troncoencefálico recién diagnosticado tratado con RT con quimioterapia. El paciente puede ser un niño con glioma de alto grado no troncoencefálico recién diagnosticado tratado con RT sin quimioterapia. El paciente puede ser un niño con glioma recurrente de alto grado no troncoencefálico que ha recidivado después del tratamiento.

En otra realización, el cáncer de cerebro tratado según los métodos descritos en la presente memoria es un astrocitoma. En una realización específica, el cáncer de cerebro tratado según los métodos descritos en la presente memoria es astrocitoma de grado II de la OMS de alto riesgo. En otra realización específica, el cáncer de cerebro tratado según los métodos descritos en la presente memoria es oligoastrocitoma.

5.3 Péptidos

5.3.1 Péptidos procedentes de EphA2

EphA2 es un receptor de tirosina cinasa que participa en la formación de la notocorda mediante la interacción con efrina A1. (véase, por ejemplo, Naruse-Nakajima y col., *Mech. Dev.*, 102: 95-105, 2001).

Puede usarse cualquier péptido EphA2 capaz de servir como epítipo de linfocitos T citotóxicos (CTL) restringido a HLA-A2 según lo descrito en el presente documento. En algunas realizaciones, el péptido EphA2 usado en una vacuna descrita en la presente memoria comprende la Id. de sec. n.º: 1. En algunas realizaciones, el péptido EphA2 usado en una vacuna descrita en la presente memoria consiste en la Id. de sec. n.º:1.

El péptido EphA2 usado según los métodos descritos en la presente memoria puede comprender una versión mutada de un péptido EphA2, por ejemplo, una versión mutada de la Id. de sec. n.º: 1, en donde la versión mutada comprende al menos 1, al menos 2, o al menos 3 sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), adiciones o deleciones de aminoácidos.

El péptido EphA2 usado según los métodos descritos en la presente memoria puede comprender una secuencia de aminoácidos con al menos un 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o un 90 % de identidad con la Id. de sec. n.º: 1. El péptido EphA2 usado según los métodos descritos en la presente memoria puede comprender una secuencia de aminoácidos con al menos del 50 % al 60 %, del 50 % al 70 %, del 60 % al 70 %, del 70 % al 80 %, del 70 % al 90 %, o del 80 % al 90 % de identidad con la Id. de sec. n.º: 1. El péptido EphA2 usado según los métodos descritos en la presente memoria puede comprender una secuencia de aminoácidos con al menos un 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o un 90 % de similitud con la Id. de sec. n.º:1. El péptido EphA2 usado según los métodos descritos en la presente memoria puede comprender una secuencia de aminoácidos con al menos del 50 % al 60 %, del 50 % al 70 %, del 60 % al 70 %, del 70 % al 80 %, del 70 % al 90 %, o del 80 % al 90 % de similitud con la Id. de sec. n.º:1. Como alternativa, el péptido EphA2 usado según los métodos descritos en la presente memoria no comprende ni consiste en la Id. de sec. n.º:1, es decir, el péptido EphA2 procede de una porción diferente de EphA2 que es la Id. de sec. n.º: 1.

5.3.2 Péptidos procedentes de IL-13R α 2

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

Cualquier péptido IL-13R α 2 capaz de servir como epítipo de linfocitos T citotóxicos (CTL) restringido por HLA-A2 puede usarse en una vacuna descrita en el presente documento. En algunas realizaciones, el péptido IL-13R α 2 usado según los métodos descritos en la presente memoria comprende una cualquiera de las Id. de sec. n.º:2-5.

El péptido IL-13R α 2 usado en una vacuna descrita en la presente memoria puede comprender una versión mutada de la Id. de sec. n.º:2, en donde la versión mutada de la Id. de sec. n.º:2 comprende al menos 1, al menos 2, o al menos 3 sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), adiciones o deleciones de aminoácidos.

El péptido IL-13R α 2 usado en una vacuna descrita en la presente memoria puede comprender una secuencia de aminoácidos con al menos un 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o un 90 % de identidad con la Id. de sec. n.º:2. El péptido IL-13R α 2 usado en una vacuna descrita en la presente memoria puede comprender una secuencia de aminoácidos con al menos del 50 % al 60 %, del 50 % al 70 %, del 60 % al 70 %, del 70 % al 80 %, del 70 % al 90 %, o del 80 % al 90 % de identidad con la Id. de sec. n.º:2. El péptido IL-13R α 2 usado en una vacuna descrita en la presente memoria comprende una secuencia de aminoácidos con al menos un 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o un 90 % de similitud con la Id. de sec. n.º:2. El péptido IL-13R α 2 usado en una vacuna descrita en la presente memoria puede comprender una

secuencia de aminoácidos con al menos del 50 % al 60 %, del 50 % al 70 %, del 60 % al 70 %, del 70 % al 80 %, del 70 % al 90 %, o del 80 % al 90 % de similitud con la Id. de sec. n.º:2.

5.4 Modificadores de la respuesta inmunitaria

Los péptidos EphA2 y/o IL-13R α 2 proporcionados en la presente memoria y composiciones de los mismos pueden administrarse concurrentemente con un modificador de la respuesta inmunitaria. Los modificadores de la respuesta inmunitaria incluyen agentes capaces de modificar la respuesta inmunitaria de un sujeto. Un modificador de la respuesta inmunitaria puede polarizar la respuesta inmunitaria de un sujeto hacia una respuesta Th1. Un modificador de la respuesta inmunitaria puede polarizar la respuesta inmunitaria de un sujeto hacia una respuesta Th2. El modificador de la respuesta inmunitaria puede unirse a un receptor tipo toll (TLR), tal como TLR3. Los modificadores de la respuesta inmunitaria ilustrativos que pueden administrarse concurrentemente con los péptidos EphA2 y/o IL-13R α 2 proporcionados en la presente memoria incluyen, sin limitación, ácido poliinosínico-policitidílico estabilizado con polilisina y carboximetilcelulosa (poli-ICLC; también conocido como Hiltonol), imiquimod (Aldara®, Beselna®) y MIS-416 (Innate Therapeutics).

5.5 Adyuvantes

Los péptidos EphA2 y/o IL-13R α 2 proporcionados en la presente memoria pueden administrarse concurrentemente con un adyuvante. El término "adyuvante" se refiere a un agente que, cuando se administra concurrentemente con o en la misma composición que un péptido EphA2 y/o IL-13R α 2 aumenta, acelera, prolonga, mejora y/o potencia la respuesta inmunitaria al péptido IL-13R α 2 y/o IL-13R α 2. El adyuvante puede generar una respuesta inmunitaria al péptido EphA2 y/o IL-13R α 2 y no produce alergia ni otra reacción adversa. Los adyuvantes pueden mejorar una respuesta inmunitaria por varios mecanismos que incluyen, por ejemplo, reclutamiento de linfocitos, estimulación de linfocitos B y/o T, estimulación de células dendríticas y estimulación de macrófagos.

Los ejemplos específicos de adyuvantes incluyen, pero sin limitación, Montanide ISA-51, Montanide ISA 50V, Montanide, ISA 206, Montanide IMS 1312, VaxImmune® (CpG7909; Coley Pharmaceuticals), sales de aluminio (alumbre) (tales como hidróxido de aluminio, fosfato de aluminio y sulfato de aluminio), monofosforil lípido A 3 des-O-acilado (MPL) (véase el documento GB 2220211), MF59 (Novartis), AS03 (GlaxoSmithKline), AS04 (GlaxoSmithKline), polisorbato 80 (Tween 80; ICL Americas, Inc.), compuestos de imidazopiridina (véase la solicitud internacional n.º PCT/US2007/064857, publicada como publicación internacional n.º WO2007/109812), compuestos de imidazoquinoxalina (véase la solicitud internacional n.º PCT/US2007/064858, publicada como publicación internacional n.º WO2007/109813) y saponinas, como QS21 (véase Kensil y col., en Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach (eds. Powell & Newman, Plenum Press, NY, 1995); patente de EE. UU. n.º 5.057.540). El adyuvante puede ser adyuvante de Freund (completo o incompleto). Otros adyuvantes son emulsiones de aceite en agua (tales como escualeno o aceite de cacahuate), opcionalmente junto con estimulantes inmunitarios, tales como monofosforil lípido A (véase Stoute y col., N. Engl. J. Med. 336, 86-91 (1997)). Otro adyuvante es CpG (Bioworld Today, 15 de noviembre de 1998). Tales adyuvantes pueden usarse con o sin otros agentes inmunoestimulantes específicos tales como MPL o 3-DMP, QS21, aminoácidos poliméricos o monoméricos tales como ácido poliglútamico o polilisina, u otros agentes inmunopotenciadores. Debe entenderse que diferentes formulaciones de péptidos EphA2 pueden comprender diferentes adyuvantes o pueden comprender el mismo adyuvante.

5.6 Epítomos de linfocitos T auxiliares

Los péptidos EphA2 y/o IL-13R α 2 proporcionados en la presente memoria pueden administrarse concurrentemente con un epítomo de linfocitos T auxiliares. Los epítomos de linfocitos T auxiliares incluyen agentes que son capaces de inducir una respuesta de linfocitos T auxiliares por el sistema inmunitario. Los linfocitos T auxiliares son linfocitos T CD4+. Los epítomos de linfocitos T auxiliares se presentan mediante moléculas MHC de Clase II y pueden reconocerse por el receptor de linfocitos T (TCR) de los linfocitos T auxiliares (linfocitos T CD4+), activando así los linfocitos T CD4+, provocando que proliferen y secreten citocinas tales como IL2, y activan las células presentadoras de antígenos profesionales. A través de una variedad de mecanismos, los linfocitos T auxiliares activadas también estimulan los linfocitos T citotóxico (también conocidos como linfocitos T CD8+), prolongando así y aumentando la respuesta de los linfocitos T CD8+. Los epítomos de linfocitos T auxiliares ilustrativos que pueden administrarse concurrentemente con los péptidos EphA2 proporcionados en la presente memoria incluyen, sin limitación, PADRE (véase, por ejemplo, Alexander y col., Immunity, 1:751-761, 1994), HBVcore₁₂₈₋₁₄₀ y toxoide tetánico.

5.7 Producción y purificación de péptidos EphA2

Los péptidos EphA2 y/o IL-13R α 2 descritos en la presente memoria se pueden preparar mediante técnicas de ADN recombinante estándar o mediante técnicas de síntesis de proteínas, por ejemplo, mediante el uso de un sintetizador de péptidos. Por ejemplo, una molécula de ácido nucleico que codifica un péptido EphA2 y/o IL-13R α 2 puede sintetizarse mediante técnicas convencionales que incluyen sintetizadores de ADN automatizados. Como otro ejemplo, los péptidos EphA2 y/o IL-13R α 2 descritos en la presente memoria pueden generarse usando una solución convencional por etapas o una síntesis en fase sólida (véase, por ejemplo, Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins, Williams y col., Eds., 1997, CRC Press, Boca Raton Fla., y referencias citadas en el

mismo; Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach, Atherton & Sheppard, Eds., 1989, IRL Press, Oxford, Reino Unido, y referencias citadas en el mismo) o a través del uso de condensación segmentada (véanse, por ejemplo, Liu y col., 1996, Tetrahedron Lett. 37(7):933-936; Baca, y col., 1995, J. Am. Chem. Soc. 117:1881-1887; Tam y col., 1995, Int. J. Peptide Protein Res. 45:209-216; Schnolzer y Kent, 1992, Science 256:221-225; Liu y Tam, 1994, J. Am. Chem. Soc. 116(10):4149-4153; Liu y Tam, 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:6584-6588; Yamashiro y Li, 1988, Int. J. Peptide Protein Res. 31:322-334).

Los péptidos EphA2 o IL-13R α 2 descritos en la presente memoria pueden obtenerse a partir de cualquier información disponible para los expertos en la técnica (es decir, de Genbank, la bibliografía o mediante clonación de rutina). Se puede insertar una secuencia de nucleótidos que codifica un péptido EphA2 o IL-13R α 2 en un vector de expresión apropiado, es decir, un vector que contiene los elementos necesarios para la transcripción y la traducción de la secuencia codificante de proteínas insertada. Pueden utilizarse diversos sistemas hospedador-vector para expresar la secuencia codificante de proteínas. Estos incluyen, pero sin limitación, sistemas de células de mamíferos infectados con virus (por ejemplo, virus vaccinia, adenovirus, etc.); sistemas de células de insectos infectados con virus (por ejemplo, baculovirus); microorganismos tales como levadura (por ejemplo, *Pichia*) que contienen vectores de levadura; o bacterias (tales como *E. coli*) transformadas con bacteriófagos, ADN, ADN plasmídico o ADN de cósmido. Los elementos de expresión de los vectores varían en su fuerza y especificidad. Dependiendo del sistema hospedador-vector utilizado, puede usarse cualquiera de varios elementos de transcripción y traducción adecuados. El péptido puede expresarse en *E. coli*. El péptido puede expresarse en *Pichia*.

Una vez que se ha producido un péptido EphA2 o IL-13R α 2 mediante expresión recombinante o mediante síntesis química, se puede purificar mediante cualquier método conocido en la técnica para la purificación de una proteína, por ejemplo, mediante cromatografía (por ejemplo, intercambio iónico, afinidad, particularmente por afinidad por el antígeno específico después de la Proteína A, y cromatografía en columna por tamaño), centrifugación, solubilidad diferencial, o mediante cualquier otra técnica estándar para la purificación de proteínas.

5.8 Composiciones farmacéuticas y vías de administración

En la presente memoria se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden los péptidos EphA2 y/o IL-13R α 2 para su uso en los métodos descritos en el presente documento. Una composición proporcionada en la presente memoria comprende el péptido EphA2 y/o IL-13R α 2 y uno o más péptidos o agentes adicionales. Las composiciones proporcionadas en la presente memoria pueden comprender un péptido EphA2 y/o IL-13R α 2 y un epítipo de linfocitos T auxiliares, un adyuvante y/o un modificador de la respuesta inmunitaria. Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria son adecuadas para administración veterinaria y/o humana.

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria pueden estar en cualquier forma que permita que la composición se administre a un sujeto, siendo dicho sujeto preferiblemente un animal, incluyendo, pero sin limitación, un ser humano, un mamífero o un animal no humano, tal como una vaca, caballo, oveja, cerdo, ave, gato, perro, ratón, rata, conejo, cobaya, etc., y es más preferiblemente un mamífero, y mucho más preferiblemente un ser humano.

Las composiciones proporcionadas en la presente memoria pueden estar en forma de líquido (por ejemplo, un elixir, jarabe, solución, emulsión o suspensión). Las vías de administración típicas de las composiciones líquidas proporcionadas en la presente memoria pueden incluir, sin limitación, parenteral, intradérmica, intratumoral, intracerebral e intratecal. La administración parenteral incluye, sin limitación, técnicas de administración subcutánea, intranodal, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal e intrapleural. Las composiciones pueden administrarse por vía parenteral. En una composición para la administración mediante inyección, se pueden incluir uno o más de un tensioactivo, conservante, agente humectante, agente dispersante, agente de suspensión, tampón, estabilizador y agente isotónico. Puede usarse una bomba para suministrar las vacunas (véanse, por ejemplo, Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 1987, 14, 201; Buchwald y col., Surgery 1980, 88: 507; Saudek y col., N. Engl. J. Med. 1989, 321: 574). La bomba puede ser, pero sin limitación, una bomba similar a la insulina.

Los materiales usados en la preparación de las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria pueden ser no tóxicos en las cantidades usadas. Puede ser evidente para los expertos en la técnica que la dosificación óptima del ingrediente o ingredientes activos en la composición farmacéutica dependerá de una variedad de factores. Los factores relevantes incluyen, sin limitación, el tipo de sujeto (por ejemplo, humano), la salud general del sujeto, el tipo de cáncer para el que el sujeto necesita tratamiento, el uso de la composición como parte de un régimen de múltiples fármacos, la forma particular del péptido que se administra, la forma de administración y la composición empleada.

Las composiciones líquidas proporcionadas en el presente documento, ya sean soluciones, suspensiones u otras formas similares, también pueden incluir uno o más de los siguientes: diluyentes estériles tales como agua para inyección, solución salina, preferiblemente solución salina fisiológica, solución de Ringer, cloruro de sodio isotónico, aceites fijos tales como mono o triglicéridos sintéticos que pueden servir como disolvente o medio de suspensión, polietilenglicoles, glicerina, ciclodextrina, propilenglicol u otros disolventes; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metilparabeno; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes, tales como

ácido etilendiaminético; tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos; y agentes para el ajuste de la tonicidad, tales como cloruro de sodio o dextrosa. Una composición parenteral puede encerrarse en una ampolla, una jeringa desechable o un vial de dosis múltiples hecho de vidrio, plástico u otro material. Una composición inyectable es preferiblemente estéril.

5 Las composiciones proporcionadas en la presente memoria pueden comprender un portador o vehículo farmacéuticamente aceptable. Como se usa en el presente documento, el término “farmacéuticamente aceptable” significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno Federal o estatal o enumerado en la Farmacopea de los Estados Unidos U otra farmacopea generalmente reconocida para su uso en animales, y más particularmente en seres humanos. El término “portador” se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el que se administra la composición farmacéutica. Las soluciones salinas y las soluciones acuosas de dextrosa y glicerol también pueden emplearse como portadores líquidos, particularmente para soluciones inyectables. Los excipientes adecuados incluyen almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, tiza, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro de sodio, leche desnatada en polvo, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol y similares. Ejemplos de vehículos farmacéuticos adecuados se describen en “Remington's Pharmaceutical Sciences” de E.W. Martin. La formulación debe adaptarse al modo de administración.

20 Las composiciones proporcionadas en la presente memoria pueden formularse según procedimientos rutinarios como una composición farmacéutica adaptada para la administración parenteral a animales, particularmente seres humanos. Generalmente, los ingredientes en las composiciones se suministran por separado o mezclados en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, como un polvo liofilizado seco o concentrado libre de agua en un recipiente herméticamente cerrado tal como una ampolla o bolsita que indica la cantidad de agente activo. Cuando una composición descrita en la presente memoria se administra mediante inyección, puede proporcionarse una ampolla de agua estéril para inyección o solución salina para que los ingredientes puedan mezclarse antes de la administración, si es necesario.

30 Las composiciones descritas en la presente memoria pueden comprender un agente activo adicional seleccionado de entre aquellos que incluyen, pero sin limitación, un agente profiláctico adicional, un agente terapéutico adicional, un agente antiemético, un factor estimulante de colonias hematopoyéticas, una terapia adyuvante, un anticuerpo/agente basado en fragmentos de anticuerpo, un antidepresivo y un agente analgésico. El agente activo adicional puede ser un segundo péptido EphA2 y/o IL-13R α 2 (es decir, un péptido EphA2 y/o IL-13R α 2 diferente del que forma la base de la composición). El agente activo adicional puede ser un segundo péptido que no sea un péptido EphA2 y/o IL-13R α 2.

35 Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente memoria se pueden preparar usando una metodología bien conocida en la técnica farmacéutica. Por ejemplo, una composición destinada a ser administrada mediante inyección se puede preparar combinando los péptidos EphA2 y/o IL-13R α 2 descritos en la presente memoria con agua y/u otros componentes líquidos para formar una solución. Se puede añadir un tensioactivo para facilitar la formación de una solución o suspensión homogénea.

40 Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria pueden incluirse en un recipiente, paquete o dispensador junto con instrucciones para la administración.

5.8.1 Dosificación y frecuencia de administración

45 La cantidad de una composición descrita en la presente memoria (por ejemplo, una composición que comprende un péptido EphA2 y/o IL-13R α 2; una composición que comprende un péptido EphA2 y un péptido IL-13R α 2, una composición que comprende un péptido EphA2 y/o IL-13R α 2 y un epítopo de linfocitos T auxiliares, un adyuvante) que será eficaz en el tratamiento, prevención y/o manejo del cáncer puede depender del estado del cáncer, el paciente al que se administrarán las composiciones, la vía de administración y/o el tipo de cáncer. Dichas dosis pueden determinarse mediante técnicas clínicas estándar y pueden decidirse según el criterio del médico.

50 Por ejemplo, las dosis eficaces pueden variar dependiendo de los medios de administración, el sitio diana, el estado fisiológico del paciente (que incluye la edad, el peso corporal, la salud), si el paciente es humano o un animal, otros medicamentos administrados y si el tratamiento es profiláctico o terapéutico. Por lo general, el paciente es un ser humano pero también pueden tratarse mamíferos no humanos, incluyendo mamíferos transgénicos. Las dosificaciones de tratamiento se ajustan de manera óptima para optimizar la seguridad y la eficacia.

60 Puede emplearse un ensayo *in vitro* para ayudar a identificar los intervalos de dosificación óptimos. Las dosis eficaces pueden extrapolarse a partir de curvas de respuesta a la dosis derivadas de sistemas de prueba *in vitro* o de modelos animales.

65 Una composición puede comprender aproximadamente 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 550, 600, 650, 700, 750 u 800 μ g de un péptido EphA2 por dosis. En otros casos, las composiciones comprenden de aproximadamente 25 a 50, de 25 a 75, de 25 a 100, de 50 a 100, de 50 a 150, de 50 a 200, de 100 a 150, de 100 a 200, de 100 a 250, de 100 a 300, de 150 a 200, de 150 a 250, de 150 a 300, de 200 a 250, de 250 a 300, de 250 a 350, de 250 a 400, de 300 a 350, de 300 a 400, de 300 a 450, de 300 a 500, de 350 a

400, de 350 a 450, de 400 a 500, de 400 a 600, de 500 a 600, de 500 a 700, de 600 a 700, de 600 a 800, o de 700 a 800 µg de un péptido EphA2 y/o IL-13Rα2 por dosis. En otros casos, las composiciones comprenden de aproximadamente 5 µg a 100 mg, de 15 µg a 50 mg, de 15 µg a 25 mg, de 15 µg a 10 mg, de 15 µg a 5 mg, de 15 µg a 1 mg, de 15 µg a 100 µg, de 15 µg a 75 µg, de 5 µg a 50 µg, de 10 µg a 50 µg, de 15 µg a 45 µg, de 20 µg a 40 µg, o de 25 a 35 µg de un péptido EphA2 y/o IL-13Rα2 por kilogramo del paciente.

Las composiciones que comprenden un péptido EphA2 y/o IL-13Rα2 pueden administrarse concurrentemente con un epítipo de linfocitos T auxiliares. Dichas composiciones pueden administrarse concurrentemente con aproximadamente 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 550 o 600 µg de un epítipo de linfocitos T auxiliares. Dichas composiciones pueden administrarse concurrentemente con aproximadamente de 25 a 50, de 25 a 75, de 25 a 100, de 50 a 100, de 50 a 150, de 50 a 200, de 100 a 150, de 100 a 200, de 100 a 250, de 100 a 300, de 150 a 200, de 150 a 250, de 150 a 300, de 200 a 250, de 250 a 300, de 250 a 350, de 250 a 400, de 300 a 350, de 300 a 400, de 300 a 450, de 300 a 500, de 350 a 400, de 350 a 450, de 400 a 500, de 400 a 600, o de 500 a 600 µg de un epítipo de linfocitos T auxiliares.

Las composiciones que comprenden un péptido EphA2 y/o IL-13Rα2 pueden administrarse concurrentemente con un modificador de la respuesta inmunitaria, por ejemplo, aproximadamente 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700 o 1800 µg de un modificador de la respuesta inmunitaria; o de aproximadamente 100 a 300, de 200 a 400, de 400 a 800, de 600 a 800, de 800 a 1000, de 800 a 1200, de 1000 a 1200, de 1000 a 1400, de 1200 a 1400, de 1200 a 1600, de 1400 a 1600, de 1400 a 1800, o de 1600 a 1800 µg de un modificador de la respuesta inmunitaria.

Las composiciones que comprenden un péptido EphA2 y/o IL-13Rα2 pueden administrarse concurrentemente con un adyuvante. Las composiciones que comprenden un péptido EphA2 pueden mezclarse de 0,5 a 1, de 1 a 0,5, de 1 a 1, de 1 a 2, de 1 a 3, de 2 a 1, o de 3 a 1 con un adyuvante.

Una composición descrita en la presente memoria puede administrarse a un sujeto una vez como una dosis única. Una composición descrita en la presente memoria puede administrarse en múltiples dosis (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, o más de 10 dosis), en donde las dosis pueden separarse en al menos 1 día, 2 días, 3 días, 4, días 5 días, 6 días, 7 días, 8 días, 9 días, 10 días, 15 días o 30 días.

Una composición descrita en la presente memoria puede administrarse en el transcurso de 21 semanas, realizándose las administraciones en las semanas 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 y 21. La composición puede administrarse concurrentemente con un epítipo de linfocitos T auxiliares, un adyuvante y/o un modificador de la respuesta inmunitaria. Una composición descrita en la presente memoria puede administrarse en el transcurso de 21 semanas, realizándose las administraciones en las semanas 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 y 21, y la composición se administra concurrentemente con un modificador de la respuesta inmunitaria, en donde el modificador de la respuesta inmunitaria se administra el día de cada administración de la composición que comprende un péptido EphA2 y/o IL-13Rα2 y el día 4 después de cada administración de la composición que comprende un péptido EphA2 y/o IL-13Rα2. Una composición descrita en la presente memoria puede administrarse en el transcurso de 21 semanas, realizándose las administraciones en las semanas 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 y 21, y la composición se administra concurrentemente con un modificador de la respuesta inmunitaria, en donde el modificador de la respuesta inmunitaria se administra el día de cada administración de la composición que comprende un péptido EphA2 y/o IL-13Rα2.

5.8.2 Poblaciones de pacientes

Puede administrarse un péptido EphA2 y/o IL-13Rα2 o una composición del mismo a un sujeto sin tratar, es decir, un sujeto que no tiene cáncer. En una realización, se administra un péptido EphA2 e IL-13Rα2 o una composición del mismo a un sujeto sin tratar que tiene riesgo de desarrollar cáncer.

En determinadas realizaciones, un péptido EphA2 e IL-13Rα2 o una composición del mismo se administra a un paciente al que se le ha diagnosticado cáncer. En algunas realizaciones, un péptido EphA2 y/o IL-13Rα2 o una composición del mismo se administra a un paciente con cáncer antes de que los síntomas se manifiesten o los síntomas se vuelvan graves. En una realización específica, el cáncer es cáncer de cerebro.

En determinadas realizaciones, un péptido EphA2 e IL-13Rα2 o una composición del mismo se administra a un paciente que necesita tratamiento, prevención y/o manejo del cáncer. Dichos sujetos pueden o no haber sido tratados previamente para cáncer o pueden estar en remisión, recaída o pueden tener un tratamiento fallido. Dichos pacientes también pueden tener citogenética anómala.

Al sujeto se le puede haber diagnosticado cáncer usando técnicas conocidas por un experto en la técnica incluyendo, pero sin limitación, examen neurológico; métodos de imaginología (por ejemplo, tomografía computarizada (TC), resonancia magnética nuclear (RMN), ultrasonido, imágenes por rayos X, secuencias de recuperación de inversión atenuada por fluido (FLAIR), imágenes ponderadas en T2 y exploraciones por tomografía por emisión de positrones (PET)); y biopsia (por ejemplo, biopsia estereotáctica). La respuesta tumoral a la terapia puede evaluarse mediante los criterios de McDonald o los criterios de respuesta a la neurooncología (RAO). El tamaño del tumor o la respuesta al

tratamiento se pueden evaluar mediante diversas técnicas de resonancia magnética nuclear, incluyendo imágenes ponderadas por difusión, imágenes ponderadas por perfusión, imágenes de permeabilidad en T1 potenciadas con contraste dinámico, contraste de susceptibilidad dinámica, imágenes con tensor de difusión y espectroscopia de resonancia magnética, imágenes ponderadas en T2 de RMN anatómica, imágenes potenciadas en T2 con recuperación de inversión atenuada por líquido (FLAIR) e imágenes ponderadas en T1 potenciadas con gadolinio. Estas técnicas de formación de imágenes pueden usarse para evaluar la celularidad tumoral, la invasión de la materia blanca, el deterioro metabólico que incluye hipoxia y necrosis, volumen sanguíneo capilar neovascular o permeabilidad. También se puede usar tecnología de tomografía por emisión de positrones (PET) también para obtener imágenes de la respuesta tumoral, tal como PET con 18F-fluoromisonidazol y la PET con 3'-desoxi-3'-18F-fluororotimidina.

En algunas realizaciones, un péptido EphA2 e IL-13R α 2 o una composición del mismo se administra a un sujeto que está en remisión de un cáncer de cerebro. En una realización específica, el sujeto no tiene cáncer de cerebro detectable, es decir, no se puede detectar ningún cáncer de cerebro usando un método convencional descrito en la presente memoria (por ejemplo, RMN) o conocido por un experto en la técnica.

En una realización, se administra un péptido EphA2 e IL-13R α 2 o una composición del mismo a un sujeto diagnosticado con glioma. En una realización específica, se administra un péptido EphA2 e IL-13R α 2 o una composición del mismo a un sujeto diagnosticado con astrocitoma (por ejemplo, astrocitoma pilocítico, astrocitoma difuso y astrocitoma anaplásico). En otra realización específica, se administra un péptido EphA2 e IL-13R α 2 o una composición del mismo a un sujeto diagnosticado con glioblastoma. En otra realización específica, se administra un péptido EphA2 e IL-13R α 2 o una composición del mismo a un sujeto diagnosticado con oligodendroglioma. En otra realización específica, se administra un péptido EphA2 e IL-13R α 2 o una composición del mismo a un sujeto diagnosticado con glioma del tronco encefálico. En otra realización específica, se administra a un sujeto diagnosticado con ependimoma. En otra realización específica, se administra un péptido EphA2 e IL-13R α 2 o una composición del mismo a un sujeto diagnosticado con un tumor mixto que comprende más de un tipo de células gliales.

En una realización específica, se administra un péptido EphA2 e IL-13R α 2 o una composición del mismo a un sujeto diagnosticado con glioma maligno recurrente. En otra realización específica, se administra un péptido EphA2 e IL-13R α 2 o una composición del mismo a un sujeto diagnosticado con astrocitomas de grado II de la OMS de alto riesgo. En otra realización específica, se administra un péptido EphA2 e IL-13R α 2 o una composición del mismo a un sujeto diagnosticado con oligoastrocitoma. En otra realización específica, se administra un péptido EphA2 e IL-13R α 2 o una composición del mismo a un sujeto diagnosticado con glioma recurrente de grado II de la OMS. En otra realización específica, se administra un péptido EphA2 e IL-13R α 2 o una composición del mismo a un sujeto diagnosticado con glioma del tronco encefálico intrínseco o maligno recién diagnosticado. En otra realización específica, se administra un péptido EphA2 e IL-13R α 2 o una composición del mismo a un sujeto diagnosticado con glioma no troncoencefálico resecado de forma incompleta. En otra realización específica, se administra un péptido EphA2 e IL-13R α 2 o una composición del mismo a un sujeto diagnosticado con glioma recurrente irresecable de bajo grado.

En una realización específica, se administra un péptido EphA2 e IL-13R α 2 o una composición del mismo a un sujeto diagnosticado con schwannoma acústico. En otra realización específica, se administra un péptido EphA2 e IL-13R α 2 o una composición del mismo a un sujeto diagnosticado con craneofaringioma. En otra realización específica, se administra un péptido EphA2 e IL-13R α 2 o una composición del mismo a un sujeto diagnosticado con meningioma. En otra realización específica, se administra un péptido EphA2 e IL-13R α 2 o una composición del mismo a un sujeto diagnosticado con meduloblastoma. En otra realización específica, se administra un péptido EphA2 e IL-13R α 2 o una composición del mismo descrita en la presente memoria a un sujeto diagnosticado con linfoma primario del sistema nervioso central. En otra realización específica, se administra un péptido EphA2 e IL-13R α 2 o una composición del mismo a un sujeto diagnosticado con un tumor de la glándula pineal (por ejemplo, un tumor astrocítico pineal o un tumor parenquimatoso pineal). En otra realización específica, se administra un péptido EphA2 e IL-13R α 2 o una composición del mismo a un sujeto diagnosticado con un tumor de la glándula pituitaria.

5.8.3 Terapias de combinación

Los métodos proporcionados en la presente memoria para prevenir, tratar y/o manejar el cáncer comprenden administrar a un paciente (por ejemplo, un paciente humano) que lo necesite un régimen profiláctico y/o terapéuticamente eficaz, comprendiendo el régimen administrar al paciente un péptido EphA2 y/o IL-13R α 2 o una composición del mismo descrita en la presente memoria y una o más terapias adicionales. Un péptido EphA2 o una composición del mismo descrita en la presente memoria y una terapia adicional se pueden administrar por separado, concurrentemente o secuencialmente. Las terapias de combinación pueden actuar de forma aditiva o sinérgica. Una terapia de combinación proporcionada en la presente memoria comprende un péptido EphA2 e IL-13R α 2.

Las terapias de combinación se pueden administrar a un sujeto en la misma composición farmacéutica. Alternativamente, las terapias de combinación se pueden administrar simultáneamente a un sujeto en composiciones farmacéuticas separadas. Las terapias de combinación pueden administrarse a un sujeto por las mismas o diferentes vías de administración.

Cualquier terapia (por ejemplo, agente terapéutico o profiláctico) que sea útil, se haya usado o se esté usando actualmente para la prevención, el tratamiento y/o el manejo del cáncer (por ejemplo, cáncer de cerebro) se puede usar en combinación con un péptido EphA2 y/o IL-13R α 2 o una composición descrita en la presente memoria en los métodos descritos en el presente documento. Las terapias incluyen, pero sin limitación, péptidos, polipéptidos, anticuerpos, conjugados, moléculas de ácido nucleico, moléculas pequeñas, agentes miméticos, fármacos sintéticos, moléculas inorgánicas y moléculas orgánicas. Los ejemplos no limitativos de terapias contra el cáncer incluyen quimioterapia, radioterapia, terapia hormonal, cirugía, terapia de moléculas pequeñas, terapia antiangiogénica, terapia de diferenciación, terapia epigenética, radioinmunoterapia, terapia dirigida y/o terapia biológica que incluye inmunoterapia. En determinadas realizaciones, un régimen profiláctico y/o terapéuticamente eficaz de la invención comprende la administración de una combinación de terapias.

Los ejemplos de terapias contra el cáncer que se pueden usar en combinación con un péptido EphA2 y/o IL-13R α 2 o una composición del mismo descrita en la presente memoria según los métodos descritos en la presente memoria incluyen, pero sin limitación: acivicina; aclarubicina; clorhidrato de acodazol; acronina; adozelesina; aldesleukina; altretamina; ambomicina; acetato de ametantrona; aminoglutetimida; amsacrina; anastrozol; antraciclina; antramincina; asparaginasa; asperlina; azacitidina (Vidaza); azetepa; azotomicina; batimastat; benzodepa; bicalutamida; clorhidrato de bisantreno; dimesilato de bisnafida; bifosfonatos (*por ejemplo*, pamidronato (Aredria), clondronato de sodio (Bonafos), ácido zoledrónico (Zometa), alendronato (Fosamax), etidronato, ibandronato, cimadronato, risedromato y tiludromato); bizelesina; sulfato de bleomicina; brequinar de sodio; bropirimina; busulfano; cactinomicina; calusterona; caracemida; carbetimer; carboplatina; carmustina; clorhidrato de carubicina; carzelesina; cedefingol; clorambucilo; cirolemicina; cisplatina; cladribina; mesilato de crisnatol; ciclofosfamida; citarabina (Ara-C); dacarbazina; dactinomicina; clorhidrato de daunorrubicina; decitabina (Dacogen); agentes de desmetilación, dexamplatin; dezaguanina; mesilato de dezaguanina; diaziquona; docetaxel; doxorubicina; clorhidrato de doxorubicina; droloxifeno; citrato de droloxifeno; propionato de dromostanolona; duazomicina; edatrexato; clorhidrato de eflornitina; inhibidores de EphA2; elsamitricina; enloplatin; enpromato; epipropidina; clorhidrato de epirubicina; erbulozol; clorhidrato de esorubicina; estramustina; fosfato de estramustina de sodio; etanidazol; etopósido; fosfato de etopósido; etoprina; clorhidrato de fadrozol; fazarabina; fenretinida; floxuridina; fosfato fludarabina; fluorouracilo; flurocitabina; fosquidona; fostriecina de sodio; gemcitabina; inhibidores de la histona deacetilasa (HDAC) clorhidrato de gemcitabina; hidroxiurea; clorhidrato de idarrubicina; ifosfamida; ilmofosina; mesilato de imatinib (Gleevec, Glivec); interleucina II (incluyendo interleucina II recombinante, o rIL2), interferón alfa-2a; interferón alfa-2b; interferón alfa-n1; interferón alfa-n3; interferón beta-1 a; interferón gamma-1 b; iproplatin; clorhidrato de irinotecán; acetato de lanreotida; lenalidomida (Revlimid); letrozol; acetato de leuprolida; clorhidrato de liarozol; lometroxol de sodio; lomustina; clorhidrato de losoxantrona; masoprocol; maitansina; clorhidrato de mecloretamina; anticuerpos anti CD2 (por ejemplo, sipilizumab (MedImmune Inc.; publicación internacional n.º WO 02/098370); acetato de megestrol; acetato de melengestrol; melfalano; menogaril; mercaptopurina; metotrexato; metotrexato de sodio; metoprina; metureda; mitoindomida; mitocarcina; mitocromina; mitogilina; mitomalcina; mitomicina; mitosper; mitotano; clorhidrato de mitoxantrona; ácido micofenólico; nocodazol; nogalamincina; ormaplatino; oxaliplatino; oxisurano; paclitaxel; pegaspargasa; peliomincina; pentamustina; sulfato de peplomicina; perfosfamida; pipobromano; piposulfano; clorhidrato de piroxantrona; plicamicina; plomestano; porfímero de sodio; porfiromicina; prednimustina; clorhidrato de procarbazona; puromicina; clorhidrato de puromicina; pirazofurina; riboprina; roglitimida; safingol; clorhidrato de safingol; semustina; simtrazeno; esparfosato de sodio; esparsomicina; clorhidrato de espirogermanio; espiromustina; espiroplatin; estreptonigrina; estreptozocina; sulofenur; talisomicina; tecogalán de sodio; tegafur; clorhidrato de teloxantrona; temporofina; tenipósido; teroxirona; testolactona; tiamiprina; tioguanina; tiotepa; tiazofurina; tirapazamina; citrato de toremifeno; acetato de trestolono; fosfato de triciribina; trimetrexato; glucuronato de trimetrexato; triptorelina; clorhidrato de tubulozol; mostaza de uracilo; uredepa; vaporeotida; verteporfina; sulfato de vinblastina; sulfato de vincristina; vindesina; sulfato de vindesina; sulfato de vinepidina; sulfato de vinglicinato; sulfato de vinleurosina; tartrato de vinorelbina; sulfato de vinrosidina; sulfato de vinzolidina; vorozol; zeniplatin; zinostatina; clorhidrato de zorubicina.

Otros ejemplos de terapias contra el cáncer que se pueden usar en combinación con un péptido EphA2 y/o IL-13R α 2 o una composición del mismo descrita en la presente memoria según los métodos descritos en la presente memoria incluyen, pero sin limitación: 20-epi-1,25 dihidroxivitamina D3; 5-etniluracilo; abiraterona; aclarubicina; acilfulveno; adecipenol; adozelesina; aldesleukina; antagonistas de ALL-TK; altretamina; ambamustina; amidox; amifostina; ácido aminolevulínico; amrubicina; amsacrina; anagrelida; anastrozol; andrografolida; inhibidores de la angiogénesis; antagonista D; antagonista G; antarelix; proteína morfogenética antidorsalizante-1; antiandrógeno, carcinoma prostático; antiestógeno; antineoplastón; oligonucleótidos antisentido; glicinato de afidicolina; moduladores génicos de la apoptosis; reguladores de la apoptosis; ácido apurínico; ara-CDP-DL-PTBA; arginina desaminasa; asulacrina; atamestano; atrimustina; axinastatina 1; axinastatina 2; axinastatina 3; azasetrón; azatoxina; azatiroxina; derivados de la bacatina III; balanol; batimastat; antagonistas de BCR/ABL; benzoclorinas; benzoilstaurosporina; derivados beta lactámicos; beta-aletina; betaclamincina B; ácido betulínico; inhibidor de bFGF; bicalutamida; bisantreno; bisaziridinilspermina; bisnafida; bistrateno A; bizelesina; breflato; bropirimina; budotitano; butionina sulfoximina; calcipotriol; calfofina C; derivados de camptotecina; IL-2 de la viruela canaria; capecitabina; carboxamida-amino-triazol; carboxiamidotriazol; CaRest M3; CARN 700; inhibidor derivado de cartilago; carzelesina; inhibidores de la caseína cinasa (ICOS); castanoespermina; cecropina B; cetorelix; clorlns; cloroquinoxalina sulfonamida; cicaprost; cis-porfirina; cladribina; análogos de clomifeno; clotrimazol; colismicina A; colismicina B; combretastatina A4; análogo de la combretastatina; conagenina; crambescidina 816; crisnatol; criptoficina 8; derivados de la criptoficina A; curacina A; ciclopentantraquinonas; cicloplatin; cipemicina; ocfosfato de citarabina; factor citolítico; citostatina; dacliximab;

5 decitabina; dehidrodemina B; deslorelina; dexametasona; dexifosfamida; dexrazoxano; dexverapamilo; diaziouona; didemina B; didox; dietilnorspermina; dihidro-5-azacitidina; dihidrotaxol, dioxamicina; difenil espiromostina; docetaxel; docosanol; dolasetron; doxifluridina; droloxifeno; dronabinol; SA de duocarmicina; ebselen; ecomustina; edelfosina; edrecolomab; eflornitina; elemeno; emitefur; epirubicina; epristerida; análogo de estramustina; agonistas de
 10 estrógeno; antagonistas de estrógeno; etanidazol; fosfato de etopósido; exemestano; fadrozol; fazarabina; fenretinida; filgrastim; finasteride; flavopiridol; flezelastina; fluasterona; fludarabina; clorhidrato de fluorodaunorunicina; forfenimex; formestano; fostriecina; fotemustina; texafirina de gadolinio; nitrato de galio; galocitabina; ganirelix; inhibidores de
 15 gelatinasa; gemcitabina; inhibidores de glutatión; inhibidores de la HMG CoA reductasa (por ejemplo, atorvastatina, cerivastatina, fluvastatina, lescol, lupitor, lovastatina, rosuvastatina y simvastatina); hepsulfam; heregulina; bisacetamida de hexametileno; hipericina; ácido ibandrónico; idarrubicina; idoxifeno; idramantona; ilmofosina;
 20 ilomastat; imidazoacridonas; imiquimod; péptidos inmunoestimuladores; inhibidor del receptor del factor 1 de crecimiento similar a la insulina; agonistas de interferón; interferones; interleucinas; iobenguano; yododoxorrubicina; ipomeanol, 4- iroplact; irsogladina; isobengazol; isohomohalicondrina B; itasetrón; jasplakinolida; cahalalida F; triacetato de lamellarina-N; lanreótido; leinamicina; lenograstim; sulfato de lentinan; leptostatina; letrozol; factor
 25 inhibidor de la leucemia; interferón alfa de leucocitos; leuprolide+estrógeno+progesterona; leuprorelina; levamisol; LFA-3TIP (Biogen, Cambridge, MA; publicación internacional n.º WO 93/0686 y patente de EE. UU. n.º 6.162.432); liarozol; análogo de poliamina lineal; péptido de disacárido lipófilo; compuestos de platino lipófilos; lisoclinamida 7; lobaplatino; lombricina; lometroxol; lonidamina; losoxantrona; lovastatina; loxoribina; lurtotecán; lutecio texafirina; lisofilina; péptidos líticos; maitansina; manostatina A; marimastat; masoprocol; maspina; inhibidores de la matrilisina;
 30 inhibidores de la metaloproteinasas de matriz; menogaril; merbarona; meterelin; metioninasa; metoclopramida; inhibidor de MIF; mifepristona; miltefosina; mirimostim; ARN bicatenario mal emparejado; mitoguzona; mitolactol; análogos de la mitomicina; mitonafida; factor de crecimiento de fibroblastos de mitoxina-saporina; mitoxantrona; mofaroteno; molgramostim; anticuerpo monoclonal, gonadotropina coriónica humana; lípido monofosforilo A+pared celular de
 35 micobacterias sk; mopidamol; inhibidor del gen de resistencia a múltiples fármacos; terapia basada en múltiples supresores tumorales 1; agente anticancerígeno de mostaza; micaperóxido B; extracto de pared celular micobacteriana; miriaporona; N-acetildinalina; benzamidas N-sustituidas; nafarelina; nagrestip; naloxona+pentazocina; napavina; nafterpina; nartograstim; nedaplatino; nemorrubicina; ácido neridrónico; endopeptidasa neutra; nilutamida; nisamicina; moduladores de óxido nítrico; antioxidante de nitrógeno; nitrulina; O6-
 40 bencilguanina; octreotida; okicenona; oligonucleótidos; onapristona; ondansetrón; ondansetrón; oracina; inductor oral de citocinas; ormaplatino; osaterona; oxaliplatino; oxaunomicina; paclitaxel; análogos de paclitaxel; derivados de paclitaxel; palauamina; palmitoilrizoxina; ácido pamidrónico; panaxitriol; panomifeno; parabactina; pazelliptina; pegaspargasa; peldesina; polisulfato de pentosano de sodio; pentostatina; pentrozal; perflubron; perfosfamida; alcohol de perillio; fenazinicina; fenilacetato; inhibidores de la fosfatasa; picibanilo; clorhidrato de pilocarpina; pirarubicina;
 45 piritrexim; placetina A; Placetina B; inhibidor activador del plasminógeno; complejo de platino; compuestos de platino; complejo de platino-triamina; porfímero de sodio; porfiromicina; prednisona; propil bis-acridona; prostaglandina J2; inhibidores del proteasoma; modulador inmunitario basado en proteína A; inhibidor de la proteína cinasa C; inhibidores de la proteína cinasa C, microalgal; inhibidores de la proteína tirosina fosfatasa; inhibidores de nucleósidos fosforasa de purina; purpurinas; pirazoloacridina; conjugado de polioxi-etileno de hemoglobina piridoxilada; antagonistas raf;
 50 raltitrexed; ramosetron; inhibidores de la farnesil proteína transferasa; inhibidores de ras; inhibidor de ras-GAP; reteliptina desmetilada; Re 186 etidronato de renio; rizoxina; ribozimas; retinamida RI; roglitimida; rohitukina; romurtida; roquinimex; rubiginona B1; ruboxilo; safinjol; saintopina; SarCNU; sarcofitol A; sargramostim; miméticos Sdi 1; semustina; inhibidor derivado de senescencia 1; oligonucleótidos sentido; inhibidores de la transducción de señales; moduladores de la transducción de señales; proteína de unión a antígeno de cadena sencilla; sizofirano; sobuzoxano; borocapato de sodio; fenilacetato de sodio; solverol; proteína de unión a la somatomedina; sonermin;
 55 ácido esparfósico; espicamicina D; espiromustina; esplenopentina; espongiestatina 1; escualamina; inhibidor de células madre; inhibidores de la división de células madre; estipiámido; inhibidores de estromelina; sulfinosina; antagonista del péptido intestinal vasoactivo superactivo; suradista; suramin; swainsonina; glucosaminoglucanos sintéticos; talimustina; 5-fluorouracilo; leucovorina; metoduero de tamoxifeno; taumustina; tazaroteno; tecogalán de sodio; tegafur; telurapirilio; inhibidores de la telomerasa; temporofina; temozolomida; tenipósido; tetraclorodecaóxido;
 60 tetrazomina; taliblastina; tiocoralina; trombopoyetina; trombopoyetina mimética; timalfasina; agonista del receptor de timopoyetina; timotrinano; hormona estimulante de tiroides; estaño etilo etiopurpurina; tirapazamina; bicloruro de titanoceno; topsentina; toremifeno; factor de células madre totipotentes; inhibidores de la traducción; tretinoína; triacetiluridina; triciribina; trimetrexato; triptorelina; tropisetron; turosterida; inhibidores de tirosina cinasa; tirfostinas; inhibidores de UBC; ubenimex; factor inhibidor del crecimiento derivado del seno urogenal; antagonistas del receptor de urocina; vaporetina; variolin B; sistema vector, terapia génica de eritrocitos; talidomida; velaresol; veramina; verdinas; verteporfina; vinorelbina; vinxaltina; VITAXIN™ (véase la pub. de patente de EE. UU. n.º US 2002/0168360 A1, de 14 de noviembre de 2002, titulada "Methods of Preventing or Treating Inflammatory or Autoimmune Disorders by Administering Integrin $\alpha\beta 3$ Antagonists in Combination With Other Prophylactic or Therapeutic Agents"); vorozol; zanoterona; zeniplatino; zilascorb; y zinostatina stimalamer.

60 La una o más terapias usadas en combinación con un péptido EphA2 y/o IL-13R $\alpha 2$, o una composición de los mismos, descritas en la presente memoria según los métodos descritos en la presente memoria pueden ser un agente inmunomodulador. Los ejemplos no limitativos de agentes inmunomoduladores incluyen agentes proteicos tales como citocinas, miméticos de péptidos y anticuerpos (por ejemplo, humanos, humanizados, quiméricos, monoclonales, policlonales, Fv, ScFv, fragmentos Fab o F(ab)2 o fragmentos de unión a epítopos), moléculas de ácido nucleico (por ejemplo, moléculas de ácido nucleico no codificantes y triples hélices), moléculas pequeñas, compuestos orgánicos y
 65

compuestos inorgánicos. En particular, los agentes inmunomoduladores incluyen, pero sin limitación, metotrexato, leflunomida, ciclofosfamida, citoxano, Immuran, ciclosporina A, minociclina, azatioprina, antibióticos (por ejemplo, FK506 (tacrolimus)), metilprednisolona (MP), corticoesteroides, esteroides, micofenolato mofetilo, rapamicina (sirolimus), mizoribina, deoxispergualina, brequinar, malononitriloamidas (por ejemplo, leflunamida), moduladores de receptores de linfocitos T, moduladores de receptores de citocinas y moduladores de mastocitos. Se pueden encontrar otros ejemplos de agentes inmunomoduladores, por ejemplo, en la publicación de EE. UU. n.º 2005/0002934 A1 en los párrafos 259-275. El agente inmunomodulador puede ser un agente quimioterapéutico. Como alternativa, el agente inmunomodulador es un agente inmunomodulador distinto de un agente quimioterapéutico. Como alternativa, la una o más terapias usadas según la invención no son un agente inmunomodulador.

La una o más terapias usadas en combinación con un péptido EphA2 y/o IL-13R α 2 o una composición del mismo descrita en la presente memoria según los métodos descritos en la presente memoria pueden ser un agente antiangiogénico. Los ejemplos no limitantes de agentes antiangiogénicos incluyen proteínas, polipéptidos, péptidos, conjugados, anticuerpos (por ejemplo, humanos, humanizados, quiméricos, monoclonales, policlonales, Fv, ScFv, fragmentos Fab, fragmentos F(ab)₂ y fragmentos de unión a antígeno de los mismos) tales como anticuerpos que se unen específicamente a TNF- α , moléculas de ácido nucleico (por ejemplo, moléculas no codificantes o triples hélices), moléculas orgánicas, moléculas inorgánicas y moléculas pequeñas que reducen o inhiben la angiogénesis. Se pueden encontrar otros ejemplos de agentes antiangiogénicos, por ejemplo, en la publicación de EE. UU. n.º 2005/0002934 A1 en los párrafos 277-282. La terapia antiangiogénica puede ser bevacizumab (Avastin®). Como alternativa, la una o más terapias usadas según la invención no son un agente antiangiogénico.

La una o más terapias usadas en combinación con un péptido EphA2 y/o IL-13R α 2 o una composición de los mismos descritas en la presente memoria según los métodos descritos en la presente memoria pueden ser un agente antiinflamatorio. Los ejemplos no limitativos de agentes antiinflamatorios incluyen cualquier agente antiinflamatorio, incluidos agentes útiles en terapias para trastornos inflamatorios, bien conocidos por los expertos en la técnica. Los ejemplos no limitativos de agentes antiinflamatorios incluyen fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), fármacos antiinflamatorios esteroideos, anticolinérgicos (por ejemplo, sulfato de atropina, metilnitrato de atropina y bromuro de ipratropio (ATROVENT™)), agonistas beta2 (por ejemplo, abuterol (VENTOLIN™ y PROVENTIL™), bitolterol (TORNALATE™), levalbuterol (XOPONEX™), metaproterenol (ALUPENT™), pirbuterol (MAXAIR™), terbutalina (BRETHAIRE™ y BRETHINE™), albuterol (PROVENTIL™, REPETABS™ y VOLMAX™), formoterol (FORADIL, AEROLIZER™), y salmeterol (SEREVENT™ y SEREVENT DISKUS™)), y metilxantinas (por ejemplo, teofilina (UNIPHYL™, THEO-DUR™, SLO-BID™ Y TEHO-42™)). Ejemplos de AINE incluyen, pero sin limitación, aspirina, ibuprofeno, celecoxib (CELEBREX™), diclofenaco (VOLTAREN™), etodolaco (LODINE™), fenoprofeno (NALFON™), indometacina (INDOCIN™), ketoralaco (TORADOL™), oxaprozina (DAYPRO™), nabumentona (RELAFEN™), sulindac (CLINORIL™), tolmentina (TOLECTIN™), rofecoxib (VIOXX™), naproxeno (ALEVE™, NAPROSYN™), ketoprofeno (ACTRON™) y nabumetona (RELAFEN™). Dichos AINE funcionan inhibiendo una enzima ciclooxigenasa (por ejemplo, COX-1 y/o COX-2). Los ejemplos de fármacos antiinflamatorios esteroideos incluyen, pero sin limitación, glucocorticoides, dexametasona (DECADRON™), corticosteroides (por ejemplo, metilprednisolona (MEDROL™)), cortisona, hidrocortisona, prednisona (PREDNISONA™ y DELTASONE™), prednisolona (PRELONE™ y PEDIAPRED™), triamcinolona, azulfidina e inhibidores de eicosanoides (por ejemplo, prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos). Se pueden encontrar otros ejemplos de agentes antiinflamatorios, por ejemplo, en la publicación de EE. UU. n.º 005/0002934 A1 en los párrafos 290-294. Como alternativa, la una o más terapias usadas según la invención no es un agente antiinflamatorio.

La una o más terapias usadas en combinación con un péptido EphA2 y/o IL-13R α 2, o una composición de los mismos, descritas en la presente memoria según los métodos descritos en la presente memoria pueden ser un agente alquilante, una nitrosourea, un antimetabolito y una antraciclina, un inhibidor de la topoisomerasa II, o un inhibidor mitótico. Los agentes alquilantes incluyen, pero sin limitación, busulfán, cisplatino, carboplatino, colato, ciclofosfamida, ifosfamida, descabazina, mecloretamina, melfalán y temozolomida. Las nitrosoureas incluyen, pero sin limitación, carmustina (BCNU) y lomustina (CCNU). Los antimetabolitos incluyen, pero sin limitación, 5-fluorouracilo, capecitabina, metotrexato, gemcitabina, citarabina y fludarabina. Las antraciclinas incluyen, pero sin limitación, daunorrubicina, doxorubicina, epirubicina, idarrubicina y mitoxantrona. Los inhibidores de la topoisomerasa II incluyen, pero sin limitación, topotecán, irinotecán, etopósido (VP-16) y tenipósido. Los inhibidores mitóticos incluyen, pero sin limitación, taxanos (paclitaxel, docetaxel) y los alcaloides de la vinca (vinblastina, vincristina y vinorelbina).

Las terapias contra el cáncer actualmente disponibles y sus dosificaciones, vías de administración y uso recomendado son conocidas en la técnica y se han descrito en la bibliografía como Physician's Desk Reference (60ª ed., 2006).

6. Ejemplos

Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente la invención pero, por supuesto, no deben interpretarse como limitativos de su alcance.

6.1 Ejemplo 1

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

6.1.1 Materiales y métodos

La citometría de flujo se realizó en la línea celular de cáncer de cerebro A-172 para evaluar la expresión de EphA2 e IL-13Rα2 en estas células cancerosas. El protocolo experimental incluyó las siguientes etapas.

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

El día de los experimentos, las células se lavaron una vez con PBS 1x y se incubaron durante 3 minutos con 2 ml de tripsina-EDTA al 0,25 % a 37 °C. Después, las células se separaron de las placas de cultivo de tejidos con agitación suave y se diluyeron con 10 ml de DMEM. A continuación, las células se colocaron en un tubo cónico de 50 ml y se centrifugaron a 350 x g durante 5 minutos. El sobrenadante se aspiró y las células se resuspendieron en 10 ml de DMEM. Cincuenta µl de las células se mezclaron con un volumen igual de azul tripán y la mezcla se colocó cuidadosamente en un hemocitómetro para contar. Los volúmenes celulares se ajustaron luego con DMEM a una concentración de 5 x 10⁶/ml.

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

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

Se diluyeron diez µl de cada anticuerpo, como se proporciona en la tabla 1, a continuación, a la concentración de trabajo descrita proporcionada en la tabla 2, a continuación, y se añadió a cada tubo apropiado. Los tubos se incubaron durante 30 minutos a 4 °C con agitación suave.

Tabla 1: células A-172

Tubo	N.º 1	N.º 2-3	N.º 4-5	N.º 6	N.º 7	N.º 8	N.º 9	N.º 10
Anticuerpo primario	Sin tefñir	Control de isotipo	Anticuerpos secundarios solos	α-CD133	α-IL13Rα2	α-EphA2	α-CD133 + α-IL13Rα2	α-CD133 + α-EphA2
Anticuerpo secundario		Anti-ratón o anti-cabra	Anti-ratón o anti-cabra	Anti-ratón	Anti-cabra	Anti-cabra	Anti-ratón + anti-cabra	Anti-ratón + anti-cabra

Tabla 2:

Anticuerpo	Concentración de trabajo
CD133	16,5 µg/ml
IL13Rα2	10 µg/ml
EphA2	50 µg/ml
APC anti ratón	1:200
FITC anti cabra	1:200

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

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

6.1.2 Resultados

En el cáncer de cerebro, las células madre de cáncer de cerebro pueden identificarse mediante el uso del marcador CD133, es decir, se sabe que las células madre de cáncer de cerebro expresan el antígeno CD133 (véase, por ejemplo, Singh y col., 2004, Nature 432:396-401). Las células madre cancerosas de la línea celular de cáncer de cerebro A-172 expresan CD133 (véase, por ejemplo, Qiang y col., 2009, Cancer Letters 2 71:13 -21).

5 Como se demuestra en la Figura 1, todas las células de la línea a-172 fueron positivas para EphA2 e IL-13R α 2, mientras que una pequeña población de tales células también fue positiva para CD133. Esta subpoblación de células CD133+ representa así la subpoblación de células madre cancerosas de la línea celular a-172, y se observó el mismo patrón de expresión de CD133 en células a-172 en un experimento duplicado posterior (véanse las Figuras 6 y 7).

10 Como se demuestra en la Figura 2, la población CD133+ también fue positiva para la expresión de EphA2, lo que demuestra que EphA2 está presente en la población de células madre cancerosas obtenida de la línea celular a-172 y, por lo tanto, esa EphA2 es un antígeno de células madre cancerosas. Este hecho se verificó en un experimento duplicado posterior (véase la Figura 8). Además, como se muestra en la Figura 4, EphA2 se expresó a niveles más altos en células CD133+ en comparación con las células CD133-

15 De manera similar, como se demuestra en la Figura 2, la población CD133+ de la línea celular A-172 también fue positiva para la expresión de IL-13R α 2, demostrando así que IL-13R α 2 está presente en la población de células madre cancerosas obtenida de la línea celular A-172 y, por lo tanto, IL-13R α 2 es un antígeno de células madre cancerosas. Este hecho se verificó en un experimento duplicado posterior (véase la Figura 8). Además, como se muestra en la Figura 5, IL-13R α 2 se expresó a niveles más altos en células CD133+ en comparación con las células CD133-

20 6.1.3 Conclusión

Estos datos demuestran que EphA2 es un antígeno madre del cáncer y, por lo tanto, puede usarse en métodos para el tratamiento del cáncer, como el cáncer de cerebro.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende un péptido IL-13R α 2 y un péptido EphA2 para su uso en un método para tratar, prevenir o manejar el cáncer en un sujeto que lo necesite, que comprende
 - (i) administrar dicha composición a dicho sujeto y
 - (ii) medir la cantidad de células madre cancerosas en dicho sujeto.
2. La composición para su uso según la reivindicación 1, en donde el método comprende además
 - (iii) comparar la cantidad de células madre cancerosas en una muestra obtenida del paciente con la cantidad de células madre cancerosas en una muestra de referencia, o con un intervalo de referencia predeterminado, en donde una estabilización o una disminución en la cantidad de células madre cancerosas en la muestra en relación con la muestra de referencia, o con un intervalo de referencia predeterminado, indica que el método es eficaz.
3. La composición para su uso según la reivindicación 1 o 2, en donde dicho péptido IL-13R α 2 y dicho péptido EphA2 están cargados en células dendríticas.
4. La composición para su uso según la reivindicación 1 o 2, en donde:
 - (a) dicho IL-13R α 2:
 - (i) es un epítipo de células T de IL-13R α 2, preferiblemente en donde dicho epítipo de células T de IL-13R α 2 induce una respuesta inmunitaria en un sujeto; o
 - (ii) comprende una cualquiera de las Id. de sec. n.º: 2, 3, 4 o 5, o consiste en una cualquiera de las Id. de sec. n.º: 2, 3, 4 o 5; y/o
 - (b) dicho EphA2:
 - (i) es un epítipo de células T de EphA2, preferiblemente en donde dicho epítipo de células T de EphA2 induce una respuesta inmunitaria en un sujeto; o
 - (ii) comprende la Id. de sec. n.º: 1, o consiste en la Id. de sec. n.º: 1.
5. Un método *in vitro* para monitorizar la eficacia de una terapia contra el cáncer basada en los péptidos IL-13R α 2 y EphA2 en un paciente con cáncer, comprendiendo el método:
 - (a) medir la cantidad de células madre cancerosas extraídas del paciente antes y después de la administración de la terapia contra el cáncer basada en los péptidos IL-13R α 2 y EphA2; y
 - (b) comparar la cantidad de células madre cancerosas extraídas del paciente antes de la administración de la terapia contra el cáncer, con la cantidad de células madre cancerosas extraídas del paciente después de la administración de la terapia contra el cáncer basada en los péptidos IL-13R α 2 y EphA2, en donde se determina que la terapia contra el cáncer es eficaz si la cantidad de células madre cancerosas extraídas del paciente después de la administración de la terapia contra el cáncer es equivalente o inferior a la cantidad de células madre cancerosas extraídas del paciente antes de la administración de la terapia contra el cáncer.
6. La composición para su uso según las reivindicaciones 1 a 4 o el método según la reivindicación 5, en donde dicha cantidad de células madre cancerosas se mide usando una biopsia, un fluido biológico, una biopsia de médula ósea, una biopsia de tumor o una biopsia de tejido normal del sujeto o paciente, respectivamente.
7. La composición para su uso según las reivindicaciones 1 a 4 o el método según la reivindicación 5, en donde dicha cantidad de células madre cancerosas se mide determinando la cantidad de células madre cancerosas que expresan IL-13R α 2 y/o células madre cancerosas que expresan EphA2, o células madre cancerosas que expresan CD 133.
8. La composición para su uso según las reivindicaciones 1 a 4 o el método según la reivindicación 5, en donde dicha cantidad de células madre cancerosas se mide mediante:
 - (i) el uso de un inmunoensayo, en donde el inmunoensayo se elige de transferencias western, inmunohistoquímica, radioinmunoensayos, ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas), inmunoensayos de tipo "sándwich", ensayos de inmunoprecipitación, reacciones de precipitina, reacciones de precipitina por difusión de gel, ensayos de inmunodifusión, ensayos de aglutinación, ensayos de fijación del complemento, ensayos inmunorradiométricos, inmunoensayos fluorescentes, inmunofluorescencia, inmunoensayos de proteína A, citometría de flujo y análisis FACS;

- (ii) el uso de un citómetro de flujo, en donde la cantidad de células madre cancerosas se determina preferiblemente con uno o más anticuerpos que se unen a marcadores de la superficie celular, o en donde las células madre cancerosas se ponen en contacto preferiblemente con uno o más colorantes antes de la detección en el citómetro de flujo;
- 5 (iii) inmunohistoquímica;
- (iv) el uso de un ensayo de formación de esferas;
- (v) el cultivo de una muestra obtenida del sujeto, o una porción de la misma, y la cuantificación de las células en un ensayo *in vitro*;
- 10 (vi) el uso de un ensayo de injerto *in vivo* en ratón inmunodeprimido; o
- (vii) el uso de imaginología, en donde dicha imaginología es preferiblemente RMN, PET, FDG-PET, TC o rayos X.
9. La composición para su uso según las reivindicaciones 1 a 4 o el método según la reivindicación 5, en donde dichas células madre cancerosas están asociadas con un cáncer cerebral.
- 15 10. La composición para su uso o el método según la reivindicación 9, en donde dicho cáncer cerebral es glioma, glioblastoma, oligodendroglioma, glioma de tronco encefálico, glioma no troncocencefálico, ependimoma, schwannoma acústico, craneofaringioma, meningioma, meduloblastoma, linfoma del sistema nervioso central primario, tumores de las glándulas pineal y pituitaria, astrocitoma/oligodendroglioma supratentorial infiltrante de bajo grado en adultos, astrocitoma supratentorial infiltrante de bajo grado en adultos, oligodendroglioma supratentorial infiltrante de bajo grado en adultos, astrocitoma/oligodendroglioma supratentorial infiltrante de bajo grado en adultos (excluyendo astrocitoma pilocítico), astrocitoma supratentorial infiltrante de bajo grado en adultos (excluyendo astrocitoma pilocítico), oligodendroglioma supratentorial infiltrante de bajo grado en adultos (excluyendo astrocitoma pilocítico), ependimoma intracraneal en adultos, ependimoma intracraneal en adultos (excluyendo subependimoma y mixopapilar), ependimoma anaplásico intracraneal en adultos, glioma anaplásico, glioblastoma anaplásico, astrocitoma pilocítico, subependimoma, mixopapilar, metástasis leptomeníngeas, linfoma primario del SNC, tumor metastásico de la columna o meningioma.
- 20 25 30 11. La composición para su uso o el método según la reivindicación 10, en donde dicho glioma es astrocitoma, astrocitoma pilocítico, astrocitoma difuso, astrocitoma anaplásico, astrocitoma de grado II de la OMS de alto riesgo, oligoastrocitoma, glioma maligno recurrente, glioma de grado II recurrente de la OMS, glioma del tronco encefálico intrínseco o maligno recién diagnosticado, glioma no troncocencefálico resecado de forma incompleta o glioma recurrente irreseccable de bajo grado.
- 35

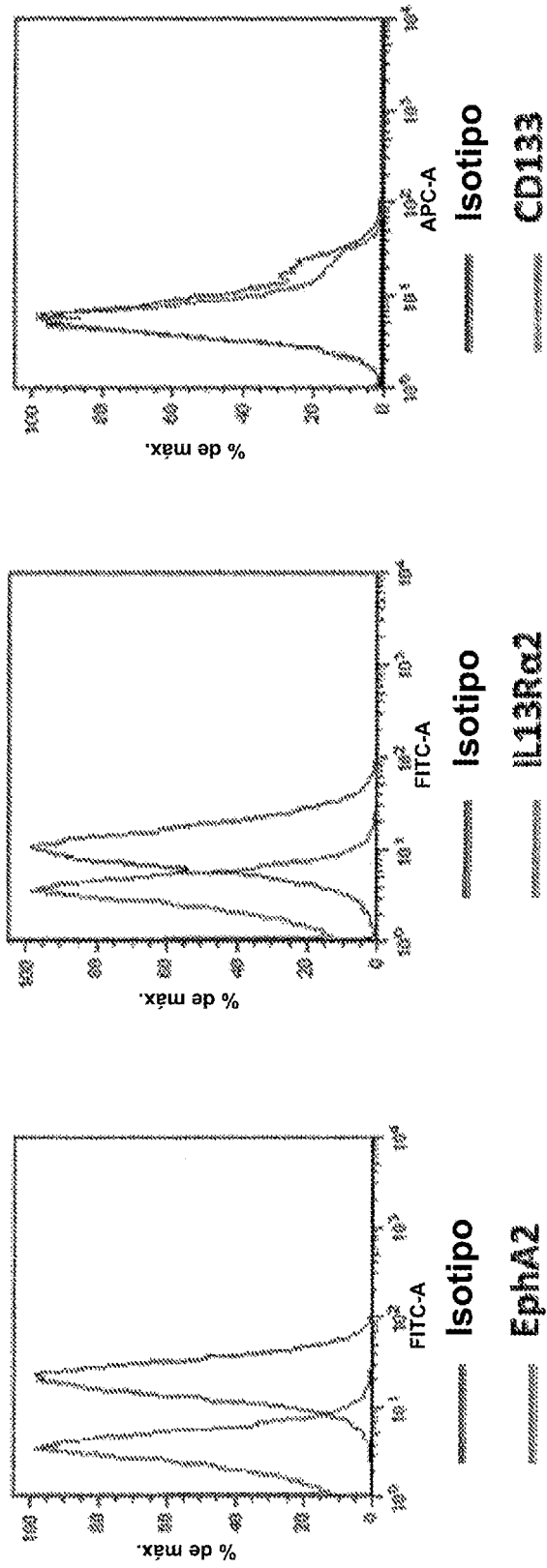


Figura 1

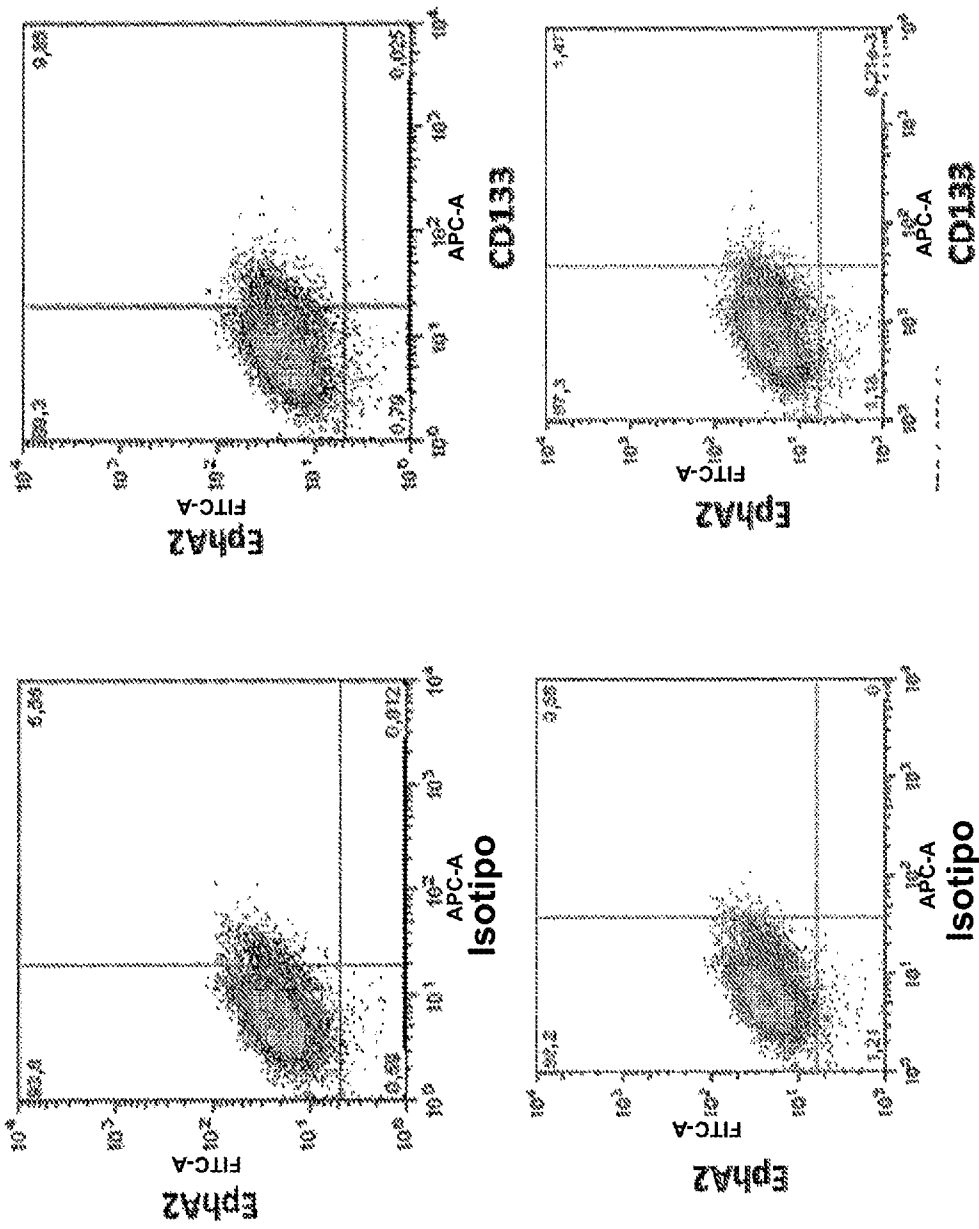


Figura 2

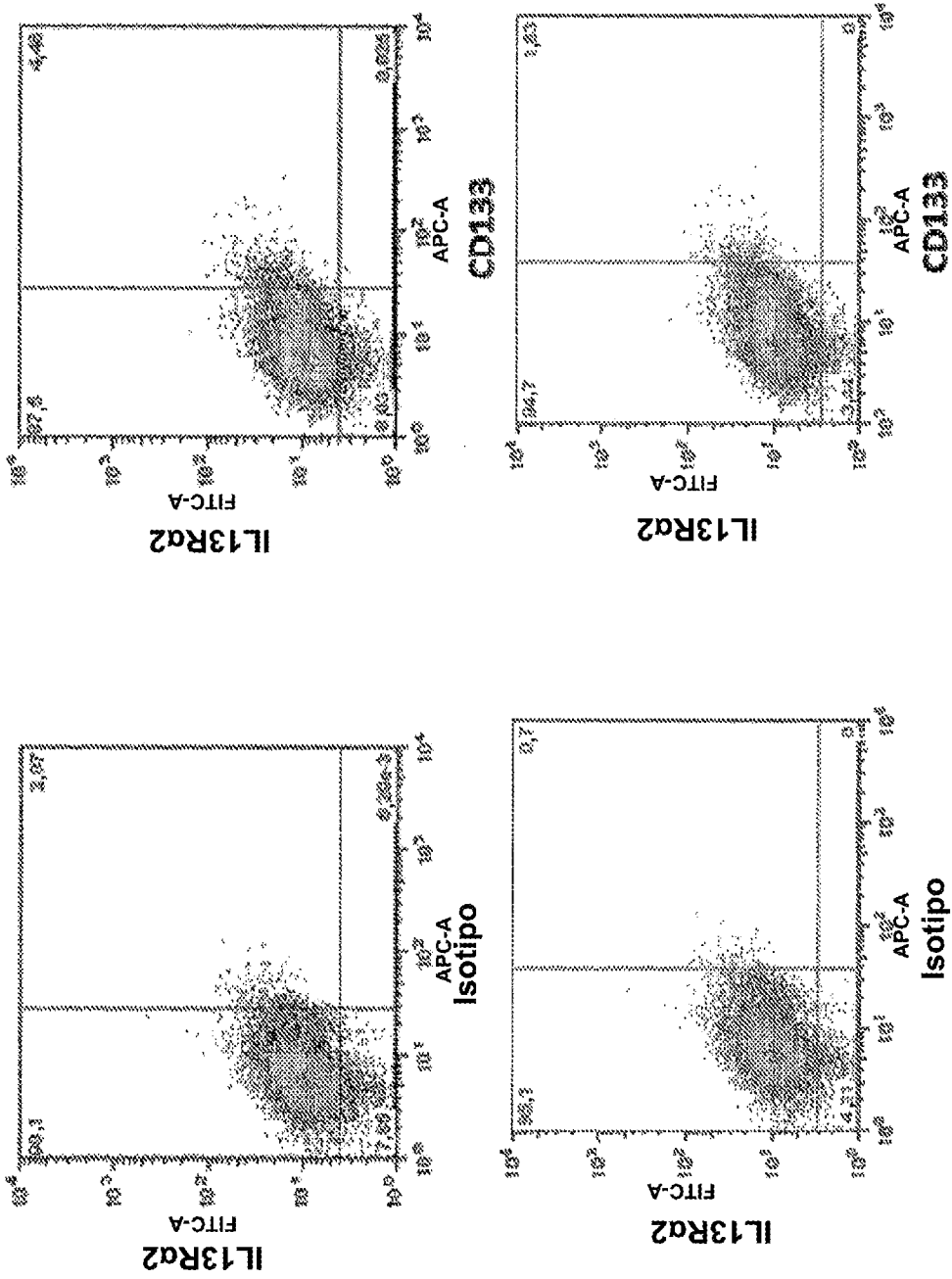


Figura 3

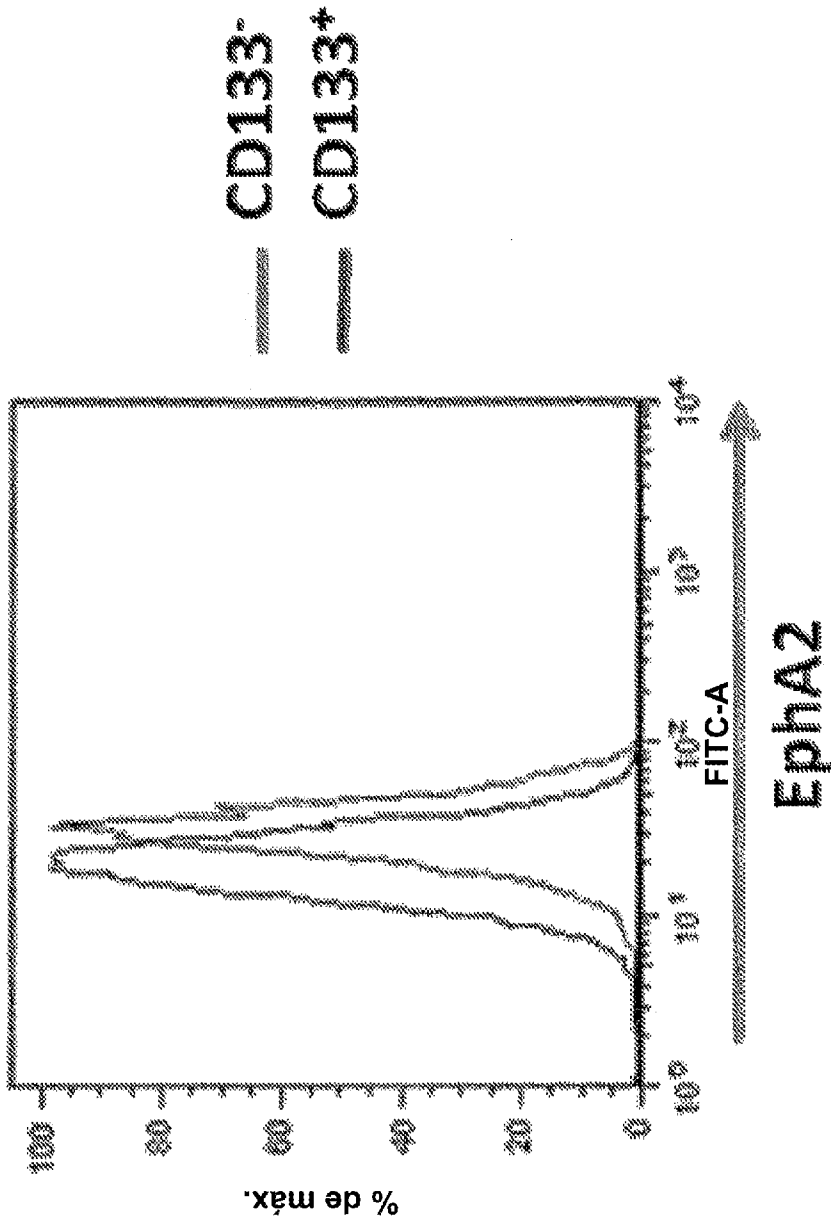


Figura 4

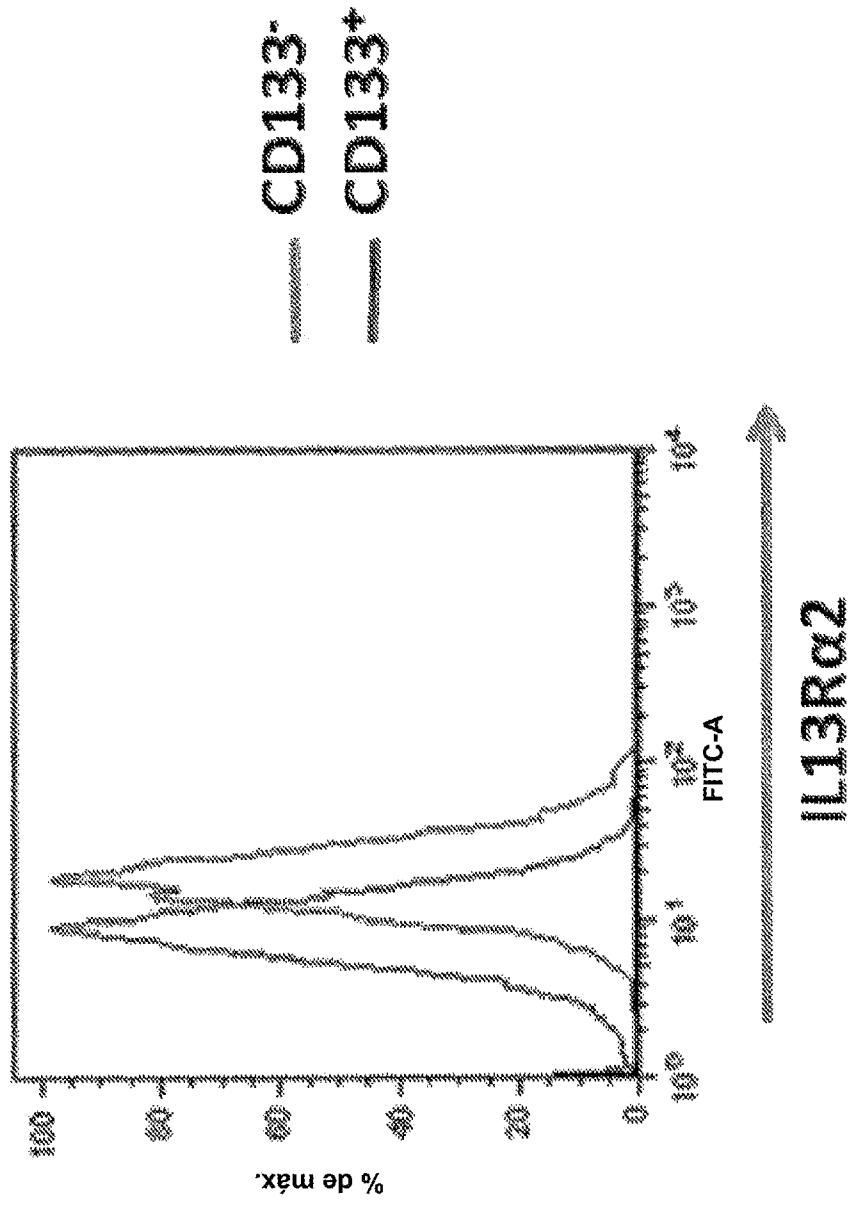


Figura 5

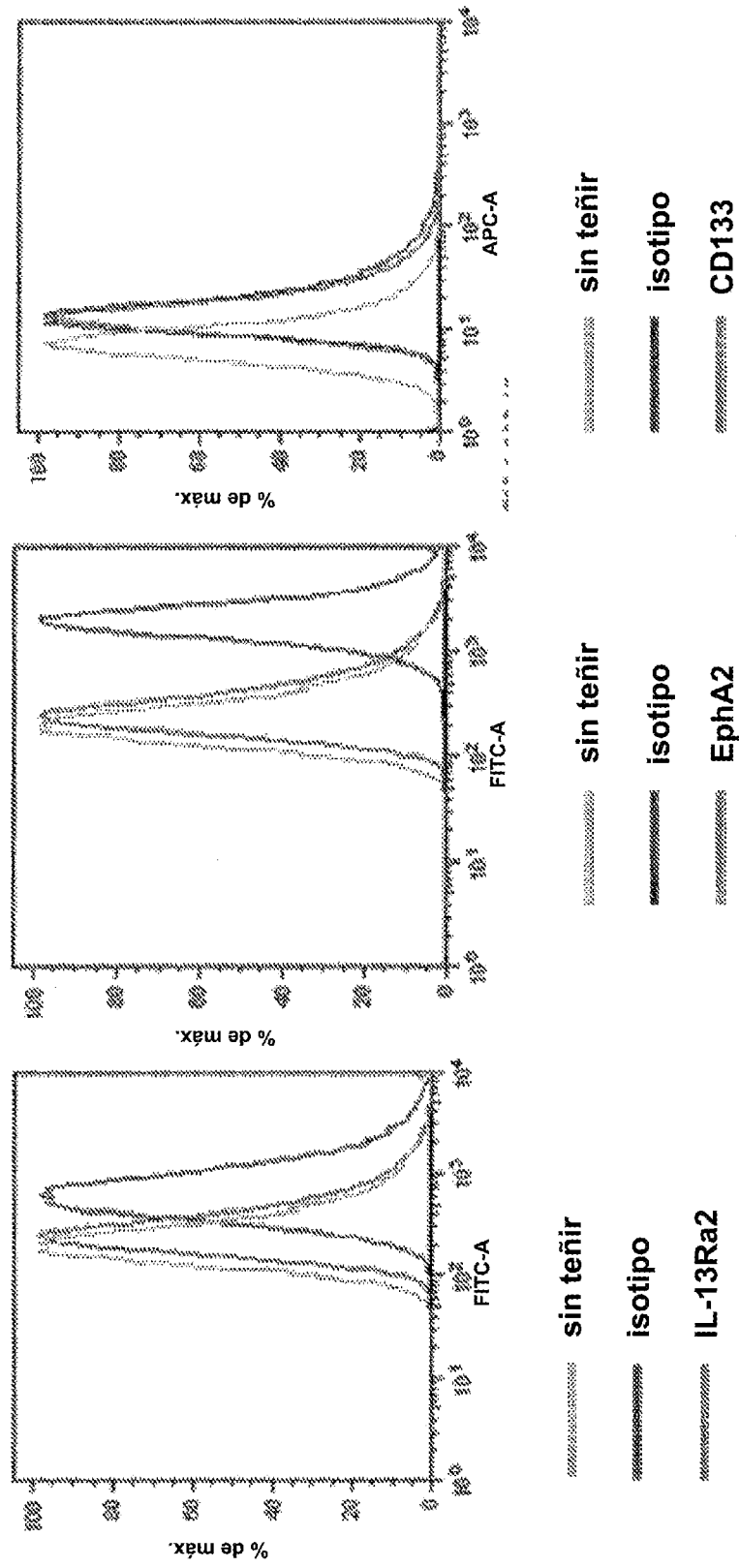
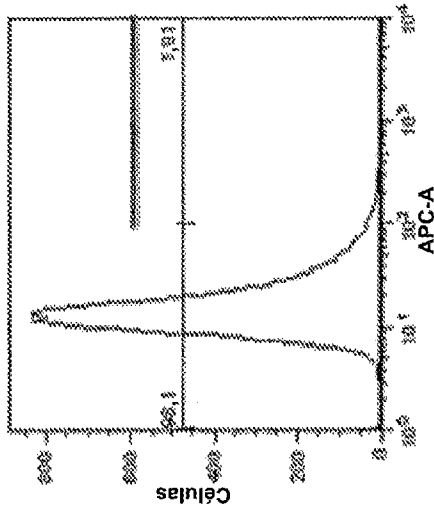
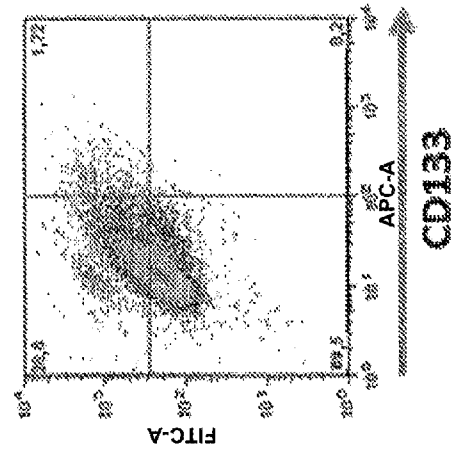


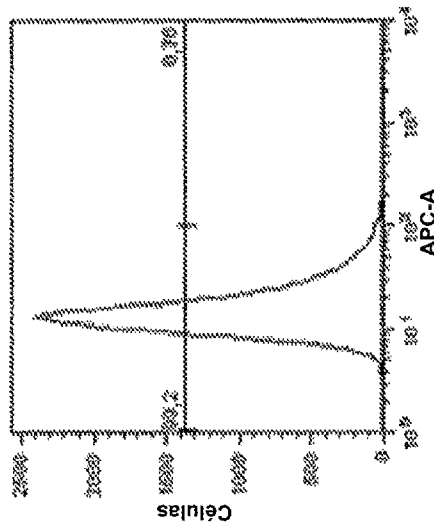
Figura 6



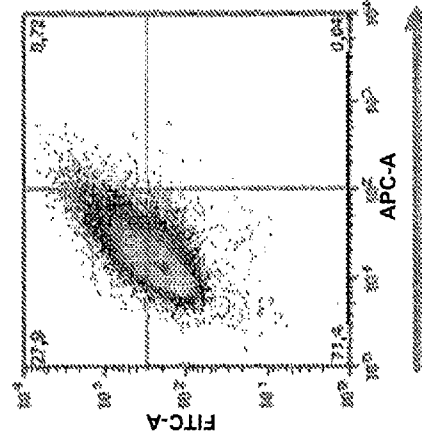
CD133



CD133

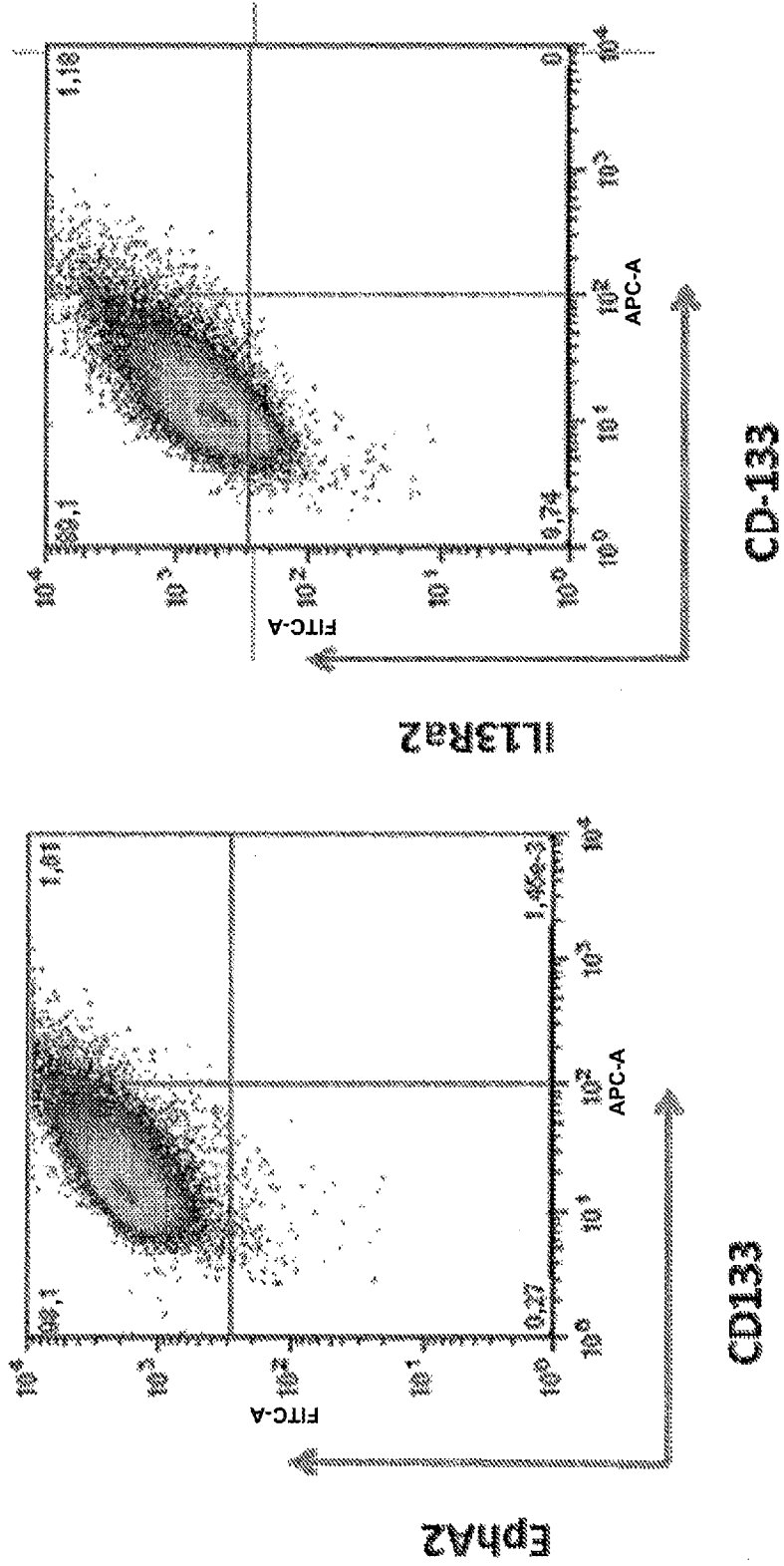


Control de isotipo



Control de isotipo

Figura 7



CD-133
CD133
Figure 8