

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 836 684**

51 Int. Cl.:

A61K 38/00 (2006.01)

C12N 9/20 (2006.01)

C07F 9/09 (2006.01)

C07C 59/125 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.07.2016 PCT/IB2016/054582**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.02.2017 WO17021855**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.07.2016 E 16832393 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.10.2020 EP 3328408**

54 Título: **Proteína 2 que contiene el dominio del esperma móvil e inflamación**

30 Prioridad:

31.07.2015 US 201562199609 P

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

28.06.2021

73 Titular/es:

VASCULAR BIOGENICS LTD. (100.0%)

8 Hasat St.

Modiin 7178106, IL

72 Inventor/es:

MENDEL, ITZHAK;

PROPHETA-MEIRAN, OSHRAT;

SALEM, YANIV;

SHOHAM, ANAT y

BREITBART, EYAL

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 836 684 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

Proteína 2 que contiene el dominio del esperma móvil e inflamación

Campo de la invención

5 Esta invención se refiere a un anticuerpo antiproteína 2 que contiene el dominio de esperma móvil (MOSPD2) o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad o trastorno inflamatorio, en donde el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno inhibe la migración de células inflamatorias, como se define más detalladamente. en las reivindicaciones.

Antecedentes de la invención

10 Los leucocitos son las células del sistema inmune que están implicadas en la defensa del cuerpo frente a enfermedades infecciosas y materiales extraños. Los monocitos son un tipo de leucocitos y tienen funciones críticas en la inmunidad innata y adaptativa, la vigilancia inmune y el secuestro de partículas. Si bien un subconjunto de monocitos es "residente" y se recluta en los tejidos independientemente de los estímulos inflamatorios para ayudar en la vigilancia del estado estacionario, la cicatrización de heridas y la resolución de la inflamación, la mayoría (80-90 %) de los monocitos circulantes humanos se clasifican como "inflamatorios". Los monocitos circulantes pueden detectar
15 estímulos inflamatorios y migrar rápidamente a través del endotelio vascular o linfático hacia la periferia, donde pueden diferenciarse en macrófagos y células dendríticas (DC) que cooperan con subconjuntos de células adicionales para promover la inflamación. Si bien desempeñan un papel necesario en la defensa del huésped, los monocitos se identifican, no obstante, como mediadores críticos de varios trastornos inflamatorios, incluyendo la aterosclerosis, la artritis reumatoide (AR) y la esclerosis múltiple (EM).

20 Los receptores de quimioquinas y las moléculas de adhesión juegan un papel clave en la regulación del tráfico de leucocitos. Un conjunto complejo de receptores de quimioquinas, receptores acoplados a proteína G (GPCR) que se expresan de manera diferencial en linajes y subconjuntos de leucocitos, regula qué tipos de células migrarían y a qué tejido, en diferentes condiciones. Las quimioquinas o citoquinas quimiotácticas son proteínas secretadas que regulan la migración y activación de leucocitos y células estromales. La unión de las quimioquinas a los receptores de
25 quimioquinas activa las vías de señalización tales como las vías MAPK/ERK y PI3K/AKT, lo que da como resultado la fosforilación de ERK y AKT, respectivamente. En el caso de los monocitos inflamatorios, la salida de la médula ósea a través de una monocapa de células endoteliales (diapédesis) para entrar en el sistema circulatorio (intravasación) y migrar al tejido inflamado depende de la señalización del receptor 2 del resto C-C (CCR2), en respuesta a la activación por el ligando del resto C-C de la quimioquina (CCL) 2 (también conocida como proteína quimiotáctica de monocitos 1; MCP-1) y CCL7 (MCP-3). Por otro lado, la migración constitutiva de monocitos residentes a tejidos no inflamados depende principalmente de CCL3 (también conocida como proteína inflamatoria de macrófagos-1 α ; MIP-1 α) y ligando de quimioquina (resto C-X3-C) 1 (CX3CL1).

35 La inhibición de la migración de células inflamatorias (p.ej., quimiotaxis de leucocitos) hacia sitios inflamatorios es un enfoque antiinflamatorio atractivo para tratar enfermedades crónicas. La supresión de la acumulación de monocitos y/o macrófagos no deseados en tejido inflamado crónicamente tiene un potencial terapéutico y, por consiguiente, los inhibidores de la migración han demostrado resultados terapéuticos beneficiosos en modelos animales y ensayos clínicos. Sin embargo, ha habido varios fracasos de ensayos clínicos de fase II con antagonistas de quimioquinas y de los receptores de quimioquinas, posiblemente debido a la redundancia del receptor diana y a la complejidad de enfermedades heterogéneas tales como la esclerosis múltiple y la artritis reumatoide.

40 Además, la inhibición de la inflamación también es relevante para el tratamiento de la osteoporosis, porque la inflamación ejerce influencia sobre el recambio óseo, induciendo osteoporosis.

El documento WO2013088245 describe un compuesto (VB201) efectivo para disminuir la quimiotaxis de leucocitos proinflamatorios y se presenta como un tratamiento para la inflamación.

El documento WO0187981 describe un anticuerpo anti-AILIM para su uso en el tratamiento de la inflamación.

45 La proteína 2 que contiene el dominio de esperma móvil (MOSPD2) es una proteína altamente conservada de 518 aminoácidos de longitud con un 90 % de homología entre humanos y ratones. Los análisis bioinformáticos indican que MOSPD2 contiene una región CRAL-TRIO, nombrada por la proteína de unión al retinaldehído celular (CRALBP) y la proteína TRIO. MOSPD2 también contiene una región estructuralmente relacionada con la proteína del esperma principal de nematodos y una región transmembrana. Aún no se ha descrito una función biológica para MOSPD2.

Resumen de la invención

La presente invención se refiere a los siguientes ítems:

1. Un anticuerpo anti- proteína 2 que contiene el dominio de esperma móvil (MOSPD2) o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad o trastorno inflamatorio, en donde el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno inhibe la migración de células inflamatorias.

2. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según el ítem 1, en donde el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.
3. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según el ítem 1 o 2, en donde el anticuerpo es humano o humanizado.
- 5 4. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según uno cualquiera de los ítems 1-3, en donde el fragmento de unión a antígeno es un fragmento Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, scFv, sdFv, dominio VH o dominio VL.
- 10 5. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según uno cualquiera de los ítems 1-4, en donde el anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo se une específicamente a un polipéptido que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 1.
6. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según uno cualquiera de los ítems 1-4, en donde el anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo se une específicamente a un polipéptido que tiene una secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NO: 2 -4.
- 15 7. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según uno cualquiera de los ítems 1-6, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une a MOSPD2 con una afinidad de unión (K_D) de aproximadamente 10⁻⁶ M a aproximadamente 10⁻¹² M.
- 20 8. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según uno cualquiera de los ítems 1-7, en donde la enfermedad o trastorno inflamatorio es una enfermedad o trastorno inflamatorio idiopático, una enfermedad o trastorno inflamatorio crónico, una enfermedad o trastorno inflamatorio agudo, una enfermedad o trastorno autoinmune, una enfermedad o trastorno infeccioso, una enfermedad o trastorno inflamatorio maligno, una enfermedad o trastorno inflamatorio relacionado con el trasplante, una enfermedad o trastorno inflamatorio degenerativo, una enfermedad o trastorno asociado con hipersensibilidad, una enfermedad o trastorno inflamatorio cardiovascular, una enfermedad o trastorno inflamatorio cerebrovascular, una enfermedad o trastorno vascular periférico, una enfermedad o trastorno inflamatorio glandular, una enfermedad o trastorno inflamatorio gastrointestinal, una enfermedad o trastorno inflamatorio cutáneo, una enfermedad o trastorno inflamatorio hepático, una enfermedad o trastorno inflamatorio neurológico, una enfermedad o trastorno inflamatorio músculo-esquelético, una enfermedad o trastorno inflamatorio renal, una enfermedad o trastorno inflamatorio de la reproducción, una enfermedad o trastorno inflamatorio sistémico, una enfermedad o trastorno inflamatorio del tejido conectivo, necrosis, una enfermedad o trastorno inflamatorio relacionado con implantes, un proceso inflamatorio de envejecimiento, una enfermedad o trastorno de inmunodeficiencia, o una enfermedad o trastorno inflamatorio pulmonar.
- 25 9. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según el ítem 8, en donde la enfermedad o trastorno inflamatorio cardiovascular es una enfermedad o trastorno oclusivo, aterosclerosis, una enfermedad valvular cardíaca, estenosis, restenosis, estenosis en *stent*, infarto de miocardio, enfermedad arterial coronaria, síndromes coronarios agudos, insuficiencia cardíaca congestiva, angina de pecho, isquemia miocárdica, trombosis, granulomatosis de Wegener, arteritis de Takayasu, síndrome de Kawasaki, enfermedad o trastorno autoinmune anti-factor VIII, vasculitis necrotizante de vasos pequeños, poliangeítis microscópica, síndrome de Churg y Strauss, glomerulonefritis necrotizante focal pauciinmune, glomerulonefritis, glomerulonefritis semilunar, síndrome antifosfolípido, insuficiencia cardíaca inducida por anticuerpos, púrpura trombocitopénica, anemia hemolítica autoinmune, autoinmunidad cardíaca, enfermedad o trastorno de Chagas o autoinmunidad antilinfocitos T auxiliares.
- 30 10. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según el ítem 8, en donde la enfermedad o trastorno inflamatorio cerebrovascular es accidente cerebrovascular, inflamación cerebrovascular, hemorragia cerebral o insuficiencia arterial vertebral.
- 35 11. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según el ítem 8, en donde la enfermedad o trastorno vascular periférico es gangrena, vasculopatía diabética, enfermedad intestinal isquémica, trombosis, retinopatía diabética o nefropatía diabética.
- 40 12. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según el ítem 8, en donde la enfermedad o trastorno autoinmune es artritis reumatoide crónica, artritis reumatoide juvenil, lupus eritematoso sistémico, esclerodermia, enfermedad mixta del tejido conectivo, poliarteritis nodosa, polimiositis/dermatomiositis, síndrome de Sjogren, enfermedad de Bechet, esclerosis múltiple, diabetes autoinmune, enfermedad de Hashimoto, psoriasis, mixedema primario, anemia perniciosa, miastenia grave, hepatitis crónica activa, anemia hemolítica autoinmune, púrpura trombocitopénica idiopática, uveítis, vasculitis o trombocitopenia inducida por heparina.
- 45 13. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según el ítem 8, en donde la enfermedad o trastorno inflamatorio glandular es una enfermedad o trastorno pancreático, diabetes de Tipo I, enfermedad o trastorno de la tiroides, enfermedad o trastorno de Graves, tiroiditis, enfermedad autoinmune espontánea. tiroiditis, tiroiditis de Hashimoto, mixedema idiopático, autoinmunidad ovárica, infertilidad autoinmune antiesperma, prostatitis autoinmune o síndrome poliglandular autoinmune de Tipo I.
- 50 55

14. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según el ítem 8, en donde la enfermedad o trastorno inflamatorio gastrointestinal es colitis, ileítis, enfermedad de Crohn, enfermedad intestinal inflamatoria crónica, síndrome inflamatorio intestinal, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad celíaca, colitis ulcerosa, una úlcera, una úlcera cutánea, una úlcera de decúbito, una úlcera gástrica, una úlcera péptica, una úlcera bucal, una úlcera nasofaríngea, una úlcera esofágica, una úlcera duodenal o una úlcera gastrointestinal.
15. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según el ítem 8, en donde la enfermedad o trastorno inflamatorio hepático es hepatitis autoinmune, cirrosis hepática o cirrosis biliar.
16. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según el ítem 8, en donde la enfermedad o trastorno inflamatorio neurológico es esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, miastenia grave, neuropatía motora, síndrome de Guillain-Barré, neuropatía autoinmune, síndrome miasténico de Lambert-Eaton, enfermedad o trastorno neurológico paraneoplásico, atrofia cerebelosa paraneoplásica, síndrome del hombre rígido no paraneoplásico, atrofia cerebelosa progresiva, encefalitis de Rasmussen, esclerosis lateral amiotrófica, corea de Sydeham, síndrome de Gilles de la Tourette, poliendocrinopatía autoinmune, neuropatía disimmune, neuromiotonía adquirida, artrogriposis múltiple, enfermedad de Huntington, demencia asociada al SIDA, accidente cerebrovascular, una enfermedad o trastorno inflamatorio de la retina, una enfermedad o trastorno inflamatorio ocular, neuritis óptica, encefalopatía espongiiforme, migraña, dolor de cabeza, dolor de cabeza en racimo o síndrome del hombre rígido.
17. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según el ítem 8, en donde la enfermedad o trastorno inflamatorio pulmonar es asma, asma alérgica, enfisema, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, sarcoidosis o bronquitis.
18. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según uno cualquiera de los ítems 1-7, en donde la enfermedad o trastorno inflamatorio es fibrosis.
19. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según uno cualquiera de los ítems 1-7, en donde la enfermedad o trastorno inflamatorio es esteatohepatitis, esteatohepatitis no alcohólica (NASH), glomerulonefritis o glomeruloesclerosis focal segmentaria (FSGS).
20. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según uno cualquiera de los ítems 1-7, en donde la enfermedad o trastorno inflamatorio es una enfermedad o trastorno inflamatoria renal.
21. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según uno cualquiera de los ítems 1-20, en donde el uso es en un ser humano.
- Como se ha explicado anteriormente, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une específicamente a MOSPD2. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se une a MOSPD2 con una constante de disociación en el equilibrio (K_D) de aproximadamente 10^{-6} M a aproximadamente 10^{-12} M. En otras realizaciones, el MOSPD2 es MOSPD2 humano. En otras realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une específicamente a una o más de las siguientes regiones de aminoácidos de MOSPD2 humano, numeradas según SEQ ID NO: 1: aproximadamente 508 a aproximadamente 517, aproximadamente 501 a aproximadamente 514, aproximadamente 233 a aproximadamente 241, aproximadamente 509 a aproximadamente 517, aproximadamente 212 a aproximadamente 221, aproximadamente 13 a aproximadamente 24, aproximadamente 505 a aproximadamente 517, aproximadamente 505 a aproximadamente 514, aproximadamente 89 a aproximadamente 100, aproximadamente 506 a aproximadamente 517, aproximadamente 233 a aproximadamente 245, aproximadamente 504 a aproximadamente 514, aproximadamente 128 a aproximadamente 136, aproximadamente 218 a aproximadamente 226, aproximadamente 15 a aproximadamente 24, aproximadamente 83 a aproximadamente 96, aproximadamente 42 a aproximadamente 50, aproximadamente 462 a 474, aproximadamente 340 a aproximadamente 351, aproximadamente 504 a aproximadamente 517, aproximadamente 462 a aproximadamente 470, aproximadamente 327 a aproximadamente 337, aproximadamente 21 a aproximadamente 32, aproximadamente 217 a aproximadamente 226, aproximadamente 510 a aproximadamente 517, aproximadamente 178 a aproximadamente 190, aproximadamente 497 a aproximadamente 509, aproximadamente 504 a aproximadamente 516, aproximadamente 64 a aproximadamente 77, aproximadamente 504 a aproximadamente 515, aproximadamente 147 a aproximadamente 159, aproximadamente 503 a aproximadamente 515, aproximadamente 88 a aproximadamente 97, aproximadamente 208 a aproximadamente 218, aproximadamente 178 a aproximadamente 191, aproximadamente 502 a aproximadamente 515, aproximadamente 503 a aproximadamente 516, aproximadamente 497 a aproximadamente 505, aproximadamente 500 a aproximadamente 509, aproximadamente 189 a aproximadamente 202, aproximadamente 189 a aproximadamente 197, aproximadamente 505 a aproximadamente 516, aproximadamente 1 a aproximadamente 63, aproximadamente 82 a aproximadamente 239, aproximadamente 93 a aproximadamente 234, aproximadamente 327 a aproximadamente 445, aproximadamente 327 a aproximadamente 431 y aproximadamente 497 a aproximadamente 517.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une específicamente a una o más de las siguientes regiones de aminoácidos de MOSPD2 humano, numeradas según SEQ ID NO: 1: aproximadamente 505 a aproximadamente 515, aproximadamente 500 a aproximadamente 515, aproximadamente

230 a aproximadamente 240, aproximadamente 510 a aproximadamente 520, aproximadamente 210 a aproximadamente 220, aproximadamente 15 a aproximadamente 25, aproximadamente 505 a aproximadamente 520, aproximadamente 505 a aproximadamente 515, aproximadamente 90 a aproximadamente 100, aproximadamente 505 a aproximadamente 525, aproximadamente 230 a aproximadamente 245, aproximadamente 505 a aproximadamente 510, aproximadamente 130 a aproximadamente 140, aproximadamente 220 a aproximadamente 230, aproximadamente 15 a aproximadamente 30, aproximadamente 80 a aproximadamente 95, aproximadamente 40 a aproximadamente 50, aproximadamente 460 a aproximadamente 475, aproximadamente 340 a aproximadamente 350, aproximadamente 500 a aproximadamente 515, aproximadamente 460 a aproximadamente 470, aproximadamente 325 a aproximadamente 335, aproximadamente 20 a aproximadamente 35, aproximadamente 215 a aproximadamente 225, aproximadamente 510 a aproximadamente 520, aproximadamente 175 a aproximadamente 190, aproximadamente 500 a aproximadamente 510, aproximadamente 505 a aproximadamente 530, aproximadamente 60 a aproximadamente 75, aproximadamente 500 a aproximadamente 520, aproximadamente 145 a aproximadamente 160, aproximadamente 502 a aproximadamente 515, aproximadamente 85 a aproximadamente 100, aproximadamente 205 a aproximadamente 220, aproximadamente 175 a aproximadamente 190, aproximadamente 500 a aproximadamente 505, aproximadamente 500 a aproximadamente 525, aproximadamente 495 a aproximadamente 505, aproximadamente 495 a aproximadamente 510, aproximadamente 190 a aproximadamente 200, aproximadamente 190 a aproximadamente 198, aproximadamente 502 a aproximadamente 515, aproximadamente 1 a aproximadamente 60, aproximadamente 80 a aproximadamente 240, aproximadamente 90 a aproximadamente 235, aproximadamente 330 a aproximadamente 445, aproximadamente 330 a aproximadamente 430 y aproximadamente 495 a aproximadamente 515.

Breve descripción de los dibujos

La FIG. 1 muestra la inhibición de la expresión del ARNm de la proteína 2 que contiene el dominio de esperma móvil (MOSPD2) obtenido con ARN de horquilla pequeña (ARN-sh) contra MOSPD2 (sh-MOSPD2). Las células U937 se transdujeron con partículas de Lenti-virus de control (ARN-Cont) o partículas de Lenti-virus dirigidas contra tres regiones de ARNm diferentes de MOSPD2 (marcadas como Sh-MOSPD2 no. 12, no. 25, no. 42, no. 62 y no. 96). La expresión del ARNm de MOSPD2 en las células se evaluó usando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) cuantitativa y se normalizó usando la expresión de β -actina. Se indica el porcentaje de disminución de la expresión de MOSPD2 con sh-MOSPD2 en comparación con el sh-control.

La FIG. 2 muestra el efecto de la inhibición de MOSPD2 sobre la migración de células U937 inducida por RANTES. Las células U937 transducidas con partículas de Lenti-virus control (Lenti sh-Cont) o sh-MOSPD2 (Lenti sh-MOSPD2) se ensayaron para determinar la migración hacia RANTES en un ensayo transwell. Los resultados mostrados son los porcentajes medios de células migratorias \pm desviación estándar de pocillos triplicados. * $p < 0,05$.

La FIG. 3 muestra efectos adicionales de la inhibición de MOSPD2 sobre la migración de células U937 inducida por RANTES. Las células U937 transducidas con partículas de Lenti-virus control (Lenti sh-Cont) o sh-MOSPD2 (Lenti sh-MOSPD2) dirigidas contra diferentes regiones en el transcrito del gen (Lenti sh no. 25 o Lenti sh no. 42 o Lenti no. 96) se trataron con disolvente (Sol) y luego se ensayaron para determinar la migración hacia RANTES en un ensayo transwell. Los resultados mostrados son los porcentajes medios de células migratorias \pm desviación estándar de pocillos triplicados.

La FIG. 4 presenta imágenes de transferencias Western que muestran el efecto de la inhibición de MOSPD2 sobre los niveles de ERK fosforilado (p-ERK) y AKT fosforilado (p-AKT) después de la activación con RANTES. Las células U937 transducidas con partículas de Lenti-virus control (Lenti sh-Cont) o sh-MOSPD2 (Lenti sh-MOSPD2 no. 25 o Lenti sh-MOSPD2 no. 42) se trataron con RANTES durante 2 o 5 minutos. La expresión de la proteína de choque térmico 90 (HSP90) también se muestra como control de carga.

La FIG. 5 muestra el efecto de la inhibición de MOSPD2 sobre la migración de células U937 inducida por quimioquinas. Las células U937 transducidas con partículas de Lenti-virus control (Lenti sh-Cont) o partículas de Lenti-virus de Lenti sh-MOSPD2 (Lenti sh-MOSPD2) se ensayaron para determinar la migración hacia MCP-3, MCP-1, RANTES y SDF-1 en un ensayo de transwell. Los resultados mostrados son los porcentajes medios de células migratorias \pm desviación estándar de pocillos triplicados. * $p < 0,05$.

La FIG. 6 presenta imágenes de transferencias Western que muestran el efecto de la inhibición de MOSPD2 sobre los niveles de ERK fosforilado (p-ERK) y AKT fosforilado (p-AKT) después de la activación con quimioquinas. Las células U937 transducidas con partículas de Lenti-virus control (sh-Con) o sh-MOSPD2 se trataron con RANTES, MCP-3, MCP-1 y SDF-1. La expresión de tubulina (Tub) también se muestra como control de carga.

La FIG. 7 muestra el efecto de la inhibición de MOSPD2 sobre la proliferación de células U937. Las células U937 transducidas con partículas de Lenti-virus control (Lenti sh-Cont, - \blacklozenge -) o partículas de Lenti-virus sh-MOSPD2 (Lenti sh-MOSPD2, - \blacksquare -) se sembraron y se contaron cada 24 horas durante tres días consecutivos (DÍA-1, DÍA-2 y DÍA-3). Los resultados mostrados son el número medio de células por día \pm desviación estándar de triplicados.

Las FIG. 8A-8B presentan imágenes de transferencias Western que muestran que los anticuerpos policlonales de α -MOSPD2 de conejo aislados detectan y precipitan MOSPD2 humano endógeno. En la FIG. 8A, se preparó lisado

celular a partir de células U937 transducidas con partículas de Lenti virus control o sh-MOSPD2 (Lenti sh-Control o Lenti sh-MOSPD2, respectivamente). Las muestras se cargaron en un gel y se ensayaron con los anticuerpos de α -MOSPD2 aislados. La expresión de HSP90 también se determinó como control de carga. En la FIG. 8B, se inmunoprecipitó el lisado de células U937 con los anticuerpos de α -MOSPD2 aislados o IgG de conejo como control. Los precipitados resultantes se analizaron mediante inmunotransferencia con los anticuerpos de α -MOSPD2 aislados, seguido de incubación con anticuerpo anti-conejo de cabra-HRP.

La FIG. 9 presenta un histograma que muestra que MOSPD2 se expresa en la superficie celular de células HEK293 transfectadas. En la FIG. 9, se transfectaron células HEK293 con vector vacío o plásmido HA-rhMOSPD2 (MOSPD2-HA). Las células transfectadas se recogieron y se tiñeron con anticuerpo anti HA-PE. La expresión de MOSPD2 se evaluó usando FACSCalibur (BD Bioscience).

La FIG. 10 presenta una imagen que muestra que MOSPD2 está localizado en la fracción de membrana en monocitos CD14 humanos aislados de sangre periférica. La FIG. 10 se basa en un análisis de fracciones de proteínas subcelulares de monocitos CD14 humanos y fracciones de membrana (M) y citoplasmática (C), usando un anticuerpo anti-MOSPD2. Se utilizaron anticuerpos anti-ERK o anti-MHC Clase I para evaluar la pureza del fraccionamiento de las proteínas citoplásmicas y de membrana, respectivamente.

La FIG. 11 presenta imágenes de transferencias Western que muestran que VB-201 se une a MOSPD2 del lisado celular de monocitos CD14 humanos. Se añadió VB-201 o VB-221 (OB201 u OB221) marcado al lisado celular y se precipitaron las proteínas. Las muestras se procesaron en un gel y se ensayaron contra TLR2 y MOSPD2 con los resultados mostrados en la FIG. 11.

La FIG. 12 presenta un histograma que muestra que las células HEK293 teñidas positivamente para hemaglutinina (HA) tienen una fuerte unión a OB201, pero no a OB221. La FIG. 12 muestra así que VB-201 se une a MOSPD2 en la superficie celular de las células HEK293 transfectadas con el vector de expresión MOSPD2 etiquetado con HA. En la FIG. 12, las células HEK293 se incubaron con VB-201 o VB-221 (OB201 u OB221) marcados seguido de tinción con estreptavidina-APC.

La FIG. 13 lista 17 clones de anticuerpo monoclonal (mAb) F(ab')₂ anti-MOSPD2 que se identificaron después de un cribado primario para la unión a células que sobreexpresan MOSPD2. El análisis adicional de los clones para determinar la unión de MOSPD2 con el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA) identificó 12 clones que tenían valores de D.O. mayores de 5 veces sobre el fondo (* en la FIG. 13).

Las FIG. 14A-14B muestran la unión de dos clones de mAb F(ab')₂ anti-MOSPD2 representativos a células que sobreexpresan MOSPD2.

Las FIG. 15A-15D muestran la especificidad de la expresión celular y la localización de MOSPD2.

Las FIG. 16A-16C muestran que MOSPD2 se expresa en monocitos que se han infiltrado en tejidos inflamados.

Las FIG. 17A-17B muestran que MOSPD2 no afecta la fosforilación de STAT1 (p-Stat1) inducida por IFN-gamma o la fosforilación de ERK1/2 (p-ERK1/2) mediada por PMA, respectivamente.

Descripción detallada

La descripción técnica detallada que se expone a continuación puede, en algunos aspectos, ir más allá de la descripción de la invención per se, y también puede proporcionar antecedentes técnicos para desarrollos técnicos relacionados. Se apreciará que esta descripción técnica no pretende definir la invención como tal (que se define exclusivamente por las reivindicaciones adjuntas), sino más bien ubicarla en un contexto técnico más amplio. Por consiguiente, se apreciará que el término "realizaciones" refleja un detalle específico de la descripción y no pretende definir como parte de la invención aspectos que no se encuentran dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

Definiciones generales

Los términos "comprende", "que comprende", "incluye", "que incluye", "que tiene", y sus conjugados significan "que incluye, pero no está limitado a".

El término "que consiste en" significa "que incluye y está limitado a".

El término "que consiste esencialmente en" significa el material especificado de una composición, o las etapas especificadas de un método, y aquellos materiales o etapas adicionales que no afectan materialmente las características básicas del material o método.

La palabra "ejemplar" se usa en la presente memoria para significar "que sirve como ejemplo, instancia o ilustración". Cualquier realización descrita como "ejemplar" no debe interpretarse necesariamente como preferida o ventajosa sobre otras realizaciones.

La palabra "opcionalmente" se usa en la presente memoria para significar que "se proporciona en algunas

realizaciones y no se proporciona en otras realizaciones".

Tal y como se usa en la presente memoria, la forma singular "un", "una" y "el" incluyen referencias en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por ejemplo, el término "un compuesto" o "al menos un compuesto" puede incluir una pluralidad de compuestos, incluyendo sus mezclas.

- 5 Tal y como se usa en la presente memoria, el término "aproximadamente" cuando modifica una cantidad se refiere a la variación en la cantidad numérica que puede ocurrir, por ejemplo, a través de ensayos y manipulación de rutina; a través de error inadvertido en dichos ensayos y manejo; a través de diferencias en la fabricación, fuente o pureza de los ingredientes empleados en la invención; y similares. Ya sea modificado o no por el término "aproximadamente", las reivindicaciones incluyen equivalentes de las cantidades citadas. En una realización, el término "aproximadamente" significa dentro del 10 % del valor numérico reportado. En otra realización, el término "aproximadamente" significa dentro del 5 % del valor numérico reportado.

- 15 A lo largo de esta solicitud, se pueden presentar varias realizaciones en un formato de rango. Debe entenderse que la descripción en formato de rango es meramente por conveniencia y brevedad y no debe interpretarse como una limitación inflexible del alcance de la invención. Por consiguiente, se debe considerar que la descripción de un rango ha descrito específicamente todos los subrangos posibles, así como los valores numéricos individuales dentro de ese rango. Por ejemplo, la descripción de un rango, tal como de 1 a 6, debe considerarse que ha descrito específicamente subrangos, tales como de 1 a 3, de 1 a 4, de 1 a 5, de 2 a 4, de 2 a 6, de 3 a 6 *etc.*, así como los números individuales dentro de ese rango, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 y 6. Esto se aplica independientemente de la amplitud del rango.

- 20 Tal y como se usa en la presente memoria, el término "método" se refiere a maneras, medios, técnicas y procedimientos para conseguir una tarea determinada, incluyendo, pero no limitado a, aquellas maneras, medios, técnicas y procedimientos que se conocen o se desarrollan fácilmente a partir de maneras, medios, técnicas y procedimientos de los profesionales de las artes química, farmacológica, biológica, bioquímica y médica.

- 25 Tal y como se usa en la presente memoria, el término "tratar" incluye anular, inhibir sustancialmente, ralentizar o revertir la progresión de una afección, mejorar sustancialmente los síntomas clínicos o estéticos de una afección o prevenir sustancialmente la aparición de síntomas clínicos o estéticos de una afección.

- 30 Tal y como se usa en la presente memoria, "MOSPD2" se refiere a cualquier polipéptido clasificado como proteína 2 que contiene el dominio de esperma móvil, y en particular los polipéptidos de las SEQ ID NO: 1-4, o cualquier variante de los mismos (p. ej., que tiene una secuencia al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % idéntica a una cualquiera de las SEQ ID NO: 1-4). Otros ejemplos de MOSPD2 incluyen, pero no están limitados a, un polipéptido codificado por un polinucleótido de una cualquiera de las SEQ ID NO: 5-8, o cualquier variante del mismo (p. ej., un polinucleótido que tiene al menos el 75 %, al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 5-8). Las secuencias de polinucleótidos que codifican MOSPD2 pueden optimizarse en codones para la expresión en un organismo particular mediante métodos conocidos en la técnica. Se pueden identificar otros ejemplos de MOSPD2 buscando en bases de datos públicas (p. ej., BLAST), como es bien conocido por un experto en la técnica.

- 40 Tal y como se usa en la presente memoria, "una actividad de MOSPD2" o "una actividad de MOSPD2" incluyen cualquier función conocida o descrita en la presente memoria de la proteína 2 que contiene el dominio de esperma móvil. Dichas actividades incluyen, por ejemplo, la regulación de la migración de células inflamatorias (p. ej., migración de leucocitos o monocitos), quimiotaxis, migración o quimiotaxis de leucocitos inducida por quimioquinas, vías de señalización del receptor de quimioquinas, vías de señalización del factor de crecimiento, fosforilación del receptor de EGF, fosforilación de ERK, fosforilación de AKT, fosforilación de FAK o inflamación.

Tal y como se usa en la presente memoria, "una célula inflamatoria" se refiere a un leucocito, granulocito, neutrófilo, basófilo, eosinófilo, monocito, macrófago o mastocito.

- 45 Tal y como se usa en la presente memoria, "quimiotaxis" se refiere al movimiento de una célula en respuesta a un estímulo químico. La quimiotaxis incluye, pero no está limitada a, el movimiento de una célula inflamatoria tal como un monocito a una quimioquina.

- 50 Tal y como se usa en la presente memoria, "un inhibidor de MOSPD2" y "un inhibidor de MOSPD2" se refieren a cualquier compuesto que regule a la baja una actividad de MOSPD2. El inhibidor puede ser, por ejemplo, un polipéptido, ADN o ARN. La inhibición de MOSPD2 también puede ocurrir, por ejemplo, por sobreexpresión ectópica de MOSPD2 por infección, y se pretende que un inhibidor de MOSPD2 o un inhibidor de MOSPD2 abarque este tipo de inhibición. El inhibidor también puede ser, por ejemplo, una molécula que se une específicamente a un polipéptido MOSPD2, una molécula que se une específicamente a un ligando de un polipéptido MOSPD2, un anticuerpo producido contra un polipéptido MOSPD2, un polipéptido MOSPD2 soluble o un polipéptido MOSPD2 soluble. que comprende, consiste esencialmente en, o consiste en un dominio extracelular de un polipéptido MOSPD2. El inhibidor también puede ser, por ejemplo, un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido MOSPD2 o un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido MOSPD2. El inhibidor también puede ser, por ejemplo, un ARNi, miARN, ARNsi, ARNsh, ARN antisentido, ADN antisentido, molécula señuelo, ADN señuelo,

ADN bicatenario, ADN monocatenario, ADN en complejo, ADN encapsulado, ADN viral, ADN plasmídico, ARN desnudo, ARN encapsulado, ARN viral, ARN bicatenario, molécula capaz de generar interferencia de ARN, o combinaciones de los mismos, que hibrida con una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido MOSPD2. El inhibidor también puede ser un compuesto químico que es una molécula pequeña que regula a la baja la actividad de MOSPD2.

El inhibidor también puede ser, por ejemplo, un sistema CRISPR-CAS9 de repeticiones palindrómicas cortas agrupadas interespaciadas regularmente. Los sistemas CRISPR-CAS9 se han descrito en la bibliografía y pueden incluir, por ejemplo, CAS9 y un ARN guía. También se han descrito en la bibliografía otras técnicas de edición de genes y también se pueden utilizar.

Un "anticuerpo" o un "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo incluye, pero no está limitado a, anticuerpos policlonales, monoclonales, murinos, humanos, humanizados o quiméricos, anticuerpos monocatenarios, fragmentos de unión a epítipo, p.ej., Fab, Fab' y F(ab')₂, Fd, Fvs, Fvs monocatenarios (scFv), anticuerpos monocatenarios, Fv unidos por disulfuro (sdFv), un dominio de región variable de cadena ligera (VL) o de región variable de cadena pesada (VH), fragmentos que comprenden un dominio VL o VH, y fragmentos producidos por una biblioteca de expresión de Fab. Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo puede ser de cualquier tipo (p.ej., IgG, IgE, IgM, IgD, IgA e IgY), clase (p.ej., IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2) o subclase de molécula de inmunoglobulina. Los métodos para preparar un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo son conocidos e incluyen, por ejemplo, digestión química o por proteasa de un anticuerpo.

Una "región constante" de un anticuerpo se refiere a la región constante de la cadena ligera del anticuerpo o la región constante de la cadena pesada del anticuerpo, ya sea sola o en combinación.

El término "región Fc" se usa para definir una región C-terminal de una cadena pesada de inmunoglobulina. La "región Fc" puede ser una región Fc de secuencia nativa o una región Fc variante. Aunque los límites de la región Fc de una cadena pesada de inmunoglobulina pueden variar, la región Fc de la cadena pesada de IgG humana se define normalmente para que se extienda desde un residuo de aminoácido en la posición Cys226, o desde Pro230, hasta el extremo carboxilo del mismo. La numeración de los residuos en la región Fc es la del índice EU como en Kabat. Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5^a Ed. Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991. La región Fc de una inmunoglobulina generalmente comprende dos dominios constantes, CH2 y CH3.

Por "se une específicamente", generalmente se quiere decir que un anticuerpo o fragmento, variante o derivado del mismo se une a un epítipo por su dominio de unión al antígeno, y que la unión implica cierta complementariedad entre el dominio de unión a antígeno y el epítipo. Según esta definición, se dice que un anticuerpo o fragmento, variante o derivado del mismo "se une específicamente" a un epítipo cuando se une a ese epítipo a través de su dominio de unión a antígeno más fácilmente de lo que se uniría a un epítipo aleatorio no relacionado.

Tal y como se usa en la presente memoria, un "epítipo" se refiere a una región localizada de un antígeno a la que un anticuerpo puede unirse específicamente. Un epítipo puede ser, por ejemplo, aminoácidos contiguos de un polipéptido (epítipo lineal o contiguo) o un epítipo puede estar constituido, por ejemplo, por dos o más regiones no contiguas de un polipéptido o polipéptidos (epítipo conformacional, no lineal, discontinuo o no contiguo). En determinadas realizaciones, el epítipo al que se une un anticuerpo puede determinarse mediante métodos descritos en la bibliografía y en la presente memoria, p.ej., espectroscopia de RMN, estudios de cristalografía de difracción de rayos X, ensayos de ELISA, intercambio de hidrógeno/deuterio acoplado con espectrometría de masa (p.ej., espectrometría de masa MALDI), ensayos de barrido de oligopéptidos basados en matrices y/o mapeo de mutagénesis (p.ej., mapeo de mutagénesis dirigida a sitio).

El término "porcentaje de identidad", como se conoce en la técnica, es una relación entre dos o más secuencias de polipéptidos o dos o más secuencias de polinucleótidos, según se determina comparando las secuencias. En la técnica, "identidad" e "identidad de secuencia" también significan el grado de relación de secuencia entre secuencias de polipéptidos o polinucleótidos, según sea el caso, según lo determinado por la coincidencia entre cadenas de dichas secuencias. La "identidad" y la "similitud" se pueden calcular fácilmente mediante métodos conocidos y recursos disponibles públicamente, incluyendo, pero no limitado a, los descritos en: (1) Computational Molecular Biology (Lesk, A. M., Ed.) Oxford University: NY (1988); (2) Biocomputing: Informatics and Genome Projects (Smith, D. W., Ed.) Academic: NY (1993); (3) Computer Analysis of Sequence Data, Parte I (Griffin, A. M., y Griffin, H. G., Eds.) Humana: NJ (1994); (4) Sequence Analysis in Molecular Biology (von Heinje, G., Ed.) Academic (1987); y (5) Sequence Analysis Primer (Gribskov, M. y Devereux, J., Eds.) Stockton: NY (1991).

Un polinucleótido puede "hibridar" con otro polinucleótido, cuando una forma monocatenaria del fragmento de ácido nucleico puede hibridar con el otro fragmento de ácido nucleico en las condiciones apropiadas de temperatura y fuerza iónica de la disolución. Las condiciones de hibridación y lavado son bien conocidas y están ejemplificadas, por ejemplo, en Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2^a ed., Cold Spring Harbor Laboratory: Cold Spring Harbor, N.Y. (1989), en particular en el Capítulo 11 y la Tabla 11.1 del mismo. Las condiciones de temperatura y fuerza iónica determinan la "astringencia" de la hibridación. Las condiciones de astringencia se pueden ajustar para cribar fragmentos moderadamente similares (tales como secuencias homólogas de organismos relacionados lejanamente), a fragmentos muy similares (tales como genes que duplican enzimas funcionales de organismos estrechamente

relacionados). Los lavados posteriores a la hibridación determinan las condiciones de astringencia. Un conjunto ejemplar de condiciones astringentes utiliza una serie de lavados que comienzan con 6xSSC, SDS al 0,5 % a temperatura ambiente durante 15 min, luego se repite con 2xSSC, SDS al 0,5 % a 45 °C durante 30 min, y luego se repite dos veces con 0,2xSSC, SDS al 0,5 % a 50 °C durante 30 min. Otro conjunto de condiciones astringentes ejemplares utiliza temperaturas más altas en las que los lavados son idénticos a los anteriores excepto porque la temperatura de los dos lavados finales de 30 min en 0,2xSSC, SDS al 0,5% se aumentó a 60 °C. Este conjunto de condiciones astringentes se puede modificar a una "condición altamente astringente" añadiendo dos lavados finales en 0,1 x SSC, SDS al 0,1 % a 65 °C. Un conjunto ejemplar adicional de condiciones astringentes incluye hibridación a 0,1xSSC, SDS al 0,1 %, 65 °C y lavados con 2xSSC, SDS al 0,1 % seguido de 0,1xSSC, SDS al 0,1 %, por ejemplo.

La hibridación requiere que los dos ácidos nucleicos contengan secuencias complementarias, aunque dependiendo de la astringencia de la hibridación, son posibles faltas de concordancia entre bases. La astringencia apropiada para hibridar ácidos nucleicos depende de la longitud de los ácidos nucleicos y del grado de complementación, variables bien conocidas en la técnica. Cuanto mayor sea el grado de similitud u homología entre dos secuencias de nucleótidos, mayor será el valor de la T_m para los híbridos de ácidos nucleicos que tengan esas secuencias. La estabilidad relativa (correspondiente a una T_m más alta) de las hibridaciones de ácidos nucleicos disminuye en el siguiente orden: ARN:ARN, ADN:ARN, ADN:ADN. Para híbridos de más de 100 nucleótidos de longitud, se han derivado ecuaciones para calcular la T_m (véase, Sambrook *et al.*, 9.50-9.51). Para hibridaciones con ácidos nucleicos más cortos, es decir, oligonucleótidos, la posición de las faltas de concordancia se vuelve más importante y la longitud del oligonucleótido determina su especificidad (véase, Sambrook *et al.*, supra, 11.7-11.8). En una realización, la longitud de un ácido nucleico hibridable es de al menos aproximadamente 10 nucleótidos. En otras realizaciones, una longitud mínima para un ácido nucleico hibridable es de al menos aproximadamente 15 nucleótidos, o al menos aproximadamente 20 nucleótidos.

El término "sal" incluye tanto la sal interna como la sal externa. En algunas realizaciones, la sal es una sal interna, es decir, una estructura de iones híbridos. En algunas realizaciones, la sal es una sal externa. En algunas realizaciones, la sal externa es una sal farmacéuticamente aceptable que tiene un contraión adecuado. Los contraiones adecuados para uso farmacéutico se conocen en la técnica.

El término "VB-201" se refiere a 1-hexadecil-2-(4'-carboxi) butil-glicero-3-fosfocolina. Según las realizaciones descritas en la presente memoria, VB-201 puede ser un enantiómero quiral de 1-hexadecil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-3-fosfocolina, es decir, bien el enantiómero (*R*) ((*R*)-1-hexadecil-2-(4'-carboxi)butil-*sn*-glicero-3-fosfocolina) o el enantiómero (*S*) ((*S*)-1-hexadecil-2-(4'-carboxi)butil-*sn*-glicero-3-fosfocolina), o una mezcla de los mismos (p.ej., un racemato). Según realizaciones ejemplares, VB-201 es (*R*)-1-hexadecil-2-(4'-carboxi)butil-*sn*-glicero-3-fosfocolina. Como lo entienden los expertos en la técnica, la designación de VB-201 como el enantiómero (*R*) o el enantiómero (*S*) no requiere una pureza enantiomérica del 100 %, sino que se refiere a un enantiómero único sustancialmente enriquecido como un isómero R o S (p.ej., que tiene un exceso enantiomérico de al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o mayor). En algunas realizaciones, VB-201 es (*R*)-1-hexadecil-2-(4'-carboxi)butil-*sn*-glicero-3-fosfocolina que tiene al menos un 90 % de exceso enantiomérico. El término OB201 se refiere a VB-201 unido a ovoalbúmina como se describe en la sección de Ejemplos.

El término "VB-221" se refiere a 1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-3-fosfocolina. Según las realizaciones descritas en la presente memoria, VB-221 puede ser un enantiómero quiral de 1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-3-fosfocolina, es decir, bien el enantiómero (*R*) o el enantiómero (*S*), o cualquier mezcla de los mismos (p.ej., un racemato). Según realizaciones ejemplares, VB-221 es (*R*)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-*sn*-glicero-3-fosfocolina. De manera similar, como lo entienden los expertos en la técnica, la designación de VB-221 como el enantiómero (*R*) o el enantiómero (*S*) no requiere un 100 % de pureza enantiomérica, sino que se refiere a un enantiómero único sustancialmente enriquecido como un isómero R o S (p.ej., que tiene un exceso enantiomérico de al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o mayor). En algunas realizaciones, VB-221 es (*R*)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-*sn*-glicero-3-fosfocolina que tiene al menos un 90 % de exceso enantiomérico. El término OB221 se refiere a VB-221 unido a ovoalbúmina como se describe en la sección de Ejemplos.

MOSPD2 e inhibidores de MOSPD2

La presente solicitud se basa, en parte, en la identificación de una función biológica para la proteína 2 que contiene el dominio de esperma móvil (MOSPD2). Se ha descubierto que la inhibición de MOSPD2 inhibe la migración de monocitos hacia diferentes quimioquinas y bloquea la activación de las vías de señalización del receptor de quimioquinas. Estos resultados indican que MOSPD2 es fundamental para la migración de leucocitos y monocitos y que el bloqueo de su actividad inhibe la inflamación y tiene un beneficio terapéutico en enfermedades y trastornos inflamatorios.

Algunas realizaciones se refieren a un inhibidor de MOSPD2 o a métodos y composiciones que comprenden un inhibidor de MOSPD2. En algunas realizaciones, el inhibidor es una molécula de unión aislada que inhibe MOSPD2. En otras realizaciones, el inhibidor es un polipéptido, ADN o ARN. En otras realizaciones, el inhibidor es un polipéptido que se une específicamente a MOSPD2. En otras realizaciones, el inhibidor es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a MOSPD2. En otras realizaciones, el inhibidor es un agente

silenciador de ARN.

5 En otras realizaciones, un inhibidor de MOSPD2 es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a un polipéptido MOSPD2. En otras realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo policlonal, monoclonal, murino, humano, humanizado, quimérico o monocatenario. En otras realizaciones, el fragmento de unión a antígeno es un fragmento Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, scFv, sdFv, dominio VH o dominio VL.

10 Algunas realizaciones se refieren a un anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a MOSPD2. En algunas realizaciones, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en la presente memoria, que se une específicamente a MOSPD2 (p. ej., MOSPD2 humano), comprende un VH, un VL o un VH y VL. En otras realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región constante.

En algunas realizaciones, el VH, VL o VH y VL comprenden una o más regiones determinantes de complementariedad (CDR). En algunas realizaciones, el VH comprende CDR1, CDR2, CDR3 o cualquier combinación de los mismos. En algunas realizaciones, el VL comprende CDR1, CDR2, CDR3 o cualquier combinación de los mismos.

15 En algunas realizaciones, el VH, VL o VH y VL comprenden una o más regiones marco (FR). En algunas realizaciones, el VH comprende FR1, FR2, FR3, FR4 o cualquier combinación de los mismos. En algunas realizaciones, el VL comprende FR1, FR2, FR3, FR4 o cualquier combinación de los mismos.

En una realización particular, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en la presente memoria, que se une específicamente a MOSPD2 (p.ej., MOSPD2 humano), comprende un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3, y un VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3.

20 En otras realizaciones, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos comprenden una región constante. En algunas realizaciones, la región constante de la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de una región constante de la cadena ligera kappa humana o una región constante de la cadena ligera lambda humana. En algunas realizaciones, la región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de una región constante de la cadena pesada gamma humana. Se han descrito ejemplos no limitantes de secuencias de regiones constantes humanas, p. ej., véase, la Patente de EE. UU. No. 5.693.780 y Kabat, EA *et al.*, (1991). En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de la región constante se ha modificado (p.ej., una, dos o más sustituciones de aminoácidos) de modo que tenga al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con una secuencia humana nativa.

30 En otro aspecto, en la presente memoria se proporcionan anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que reconocen o se unen a un epítipo de MOSPD2 (p.ej., un epítipo de MOSPD2 humano). En otro aspecto, en la presente memoria se proporcionan anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que reconocen o se unen al mismo epítipo o a un epítipo superpuesto de MOSPD2 (p.ej., MOSPD2 humano) como un anticuerpo descrito en la presente memoria (p. ej., un anticuerpo descrito en el Ejemplo 5 u 8). En otro aspecto, los anticuerpos o los fragmentos de unión a antígeno de los mismos reconocen más de un epítipo de MOSPD2 (p. ej., dos, tres, cuatro, cinco o seis epítipos).

35 En determinadas realizaciones, un epítipo de MOSPD2 se puede determinar mediante uno o más métodos descritos en la bibliografía, p. ej., espectroscopia de RMN, estudios de cristalografía de difracción de rayos X, ensayos de ELISA, intercambio de hidrógeno/deuterio acoplado con espectrometría de masa (p. ej., espectrometría de masa MALDI), ensayos de barrido de oligopéptidos basados en matrices y/o mapeo de mutagénesis (p. ej., mapeo de mutagénesis dirigida a sitio). Para la cristalografía de rayos X, la cristalización se puede lograr utilizando métodos descritos en la bibliografía (p. ej., Giegé R *et al.*, (1994) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 50(Pt 4): 339-350; McPherson A (1990) *Eur J Biochem* 189: 1-23.; Chayen NE (1997) *Structure* 5: 1269-1274; McPherson A (1976) *J Biol Chem* 251: 6300-6303). Los cristales de anticuerpo:antígeno pueden estudiarse usando técnicas de difracción de rayos X bien conocidas y pueden refinarse usando software informático tal como X-PLOR (Universidad de Yale, 1992, distribuido por Molecular Simulations, Inc.; véase, p. ej., *Meth Enzymol* (1985) volúmenes 114 y 115, eds Wyckoff HW *et al.*;; Solicitud de Patente de EE. UU. No. 2004/0014194) y BUSTER (Bricogne G (1993) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 49(Pt 1): 37-60; Bricogne G (1997) *Meth Enzymol* 276A: 361-423, ed Carter CW; Roversi P *et al.*, (2000) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 56(Pt 10): 1316-1323). Los estudios de mapeo de mutagénesis se pueden lograr usando métodos descritos en la bibliografía. Véase, p. ej., Champe M *et al.*, (1995) *supra* y Cunningham BC y Wells JA (1989) *supra* para obtener una descripción de las técnicas de mutagénesis, incluyendo las técnicas de mutagénesis de barrido de alanina. En una realización específica, se determina un epítipo de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo usando estudios de mutagénesis de barrido de alanina. La caracterización del epítipo de un anticuerpo también se puede determinar mediante los métodos proporcionados en Ravn *et al.*, *Journal of Biological Chemistry* 288: 19760-19772 (2013).

55 Además, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que reconocen o se unen a los mismos epítipos o epítipos superpuestos de MOSPD2 (p. ej., MOSPD2 humano) se pueden identificar usando técnicas de rutina tales como un inmunoensayo, por ejemplo, mostrando la capacidad de un anticuerpo para bloquear la unión de otro anticuerpo a un antígeno diana, es decir, un ensayo de unión competitiva. La unión competitiva se puede

determinar en un ensayo en el que la inmunoglobulina que se ensaya inhibe la unión específica de un anticuerpo de referencia a un antígeno común, tal como MOSPD2. Se han descrito numerosos tipos de ensayos de unión competitiva, por ejemplo: radioinmunoensayo directo o indirecto (RIA) en fase sólida, inmunoensayo enzimático directo o indirecto (EIA) en fase sólida, ensayo de competición en sándwich (véase, Stahl C *et al.*, (1983) *Methods Enzymol* 9: 242-253); EIA biotina-avidina directa en fase sólida (véase, Kirkland TN *et al.*, (1986) *J Immunol* 137: 3614-9); ensayo de fase sólida marcado directo, ensayo en sándwich de fase sólida marcado directo (véase, Harlow E y Lane D, (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press); RIA de fase sólida marcado directo usando marcaje con I-125 (véase, Morel GA *et al.*, (1988) *Mol Immunol* 25 (1): 7-15); EIA biotina-avidina directa en fase sólida (Cheung RC *et al.*, (1990) *Virology* 176: 546-52); y RIA marcado directo (Moldenhauer G *et al.*, (1990) *Scand J Immunol* 32: 77-82). Típicamente, dicho ensayo implica el uso de antígeno purificado (p. ej., MOSPD2 tal como MOSPD2 humano) unido a una superficie sólida o células que portan cualquiera de estos, una inmunoglobulina de ensayo sin marcar y una inmunoglobulina de referencia marcada. La inhibición competitiva se puede medir determinando la cantidad de marcaje unido a la superficie sólida o células en presencia de la inmunoglobulina de ensayo. Por lo general, la inmunoglobulina de ensayo está presente en exceso. Por lo general, cuando un anticuerpo competidor está presente en exceso, inhibirá la unión específica de un anticuerpo de referencia a un antígeno común en al menos un 50-55 %, 55-60 %, 60-65 %, 65-70 % 70-75 % o más. Un ensayo de unión competitiva se puede configurar en un gran número de formatos diferentes utilizando antígeno marcado o anticuerpo marcado. En una versión común de este ensayo, el antígeno se inmoviliza en una placa de 96 pocillos. A continuación, se mide la capacidad de los anticuerpos no marcados para bloquear la unión de los anticuerpos marcados al antígeno usando marcajes radiactivos o enzimáticos. Para más detalles véase, por ejemplo, Wagener C *et al.*, (1983) *J Immunol* 130: 2308-2315; Wagener C *et al.*, (1984) *J Immunol Methods* 68: 269-274; Kuroki M *et al.*, (1990) *Cancer Res* 50: 4872-4879; Kuroki M *et al.*, (1992) *Immunol Invest* 21: 523-538; Kuroki M *et al.*, (1992) *Hybridoma* 11: 391-407 y *Antibodies: A Laboratory Manual*, Ed Harlow E y Lane D editores *supra*, p. 386-389.

En una realización, se realiza un ensayo de competición usando resonancia de plasmón de superficie (BIAcore®), p. ej., mediante un "enfoque en tándem" tal como el descrito por Abdiche YN *et al.*, (2009) *Analytical Biochem* 386: 172-180, por lo que el antígeno MOSPD2 se inmoviliza en la superficie del chip, por ejemplo, un chip sensor CM5 y los anticuerpos anti-MOSPD2 se pasan luego sobre el chip. Para determinar si un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo compete con un anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en la presente memoria, el anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo se pasa primero sobre la superficie del chip para lograr la saturación y luego se añade el anticuerpo competidor potencial. A continuación, se puede determinar y cuantificar la unión del anticuerpo competidor en relación con un control no competidor.

En ciertos aspectos, pueden usarse ensayos de unión competitiva para determinar si un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo está bloqueado competitivamente, p. ej., de una manera dependiente de la dosis, por otro anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo se une esencialmente al mismo epítipo, o a epítopos superpuestos, como un anticuerpo de referencia, cuando los dos anticuerpos reconocen epítopos idénticos o superpuestos estéricamente en ensayos de unión competitiva tales como ensayos ELISA de competición, que se pueden configurar en una gran cantidad de formatos diferentes, utilizando antígeno marcado o anticuerpo marcado. En una realización particular, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se puede ensayar en ensayos de unión competitiva con un anticuerpo descrito en la presente memoria (p. ej., los del Ejemplo 5 u 8), o un anticuerpo químico o Fab del mismo, o un anticuerpo que comprende CDR de VH y CDR de VL de un anticuerpo descrito en la presente memoria (p. ej., los del ejemplo 5 u 8).

Por consiguiente, en un cierto aspecto, en la presente memoria se proporcionan anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que compiten (p. ej., de una manera dependiente de la dosis) para unirse a MOSPD2 (p. ej., MOSPD2 humano) con un anticuerpo descrito en la presente memoria (p. ej., Ejemplo 5 u 8), según se determina usando ensayos conocidos por un experto en la técnica o descritos en la presente memoria (p. ej., ensayos competitivos ELISA, resonancia de plasmón de superficie o análisis Scatchard).

En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-MOSPD2 o fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la invención se unen específicamente a una o más de las siguientes regiones de aminoácidos (epítopos) de MOSPD2, numeradas según la SEQ ID NO: 1 (residuos de aminoácidos 1-518): 508-517, 501-514, 233-241, 509-517, 212-221, 13-24, 505-517, 505-514, 89-100, 506-517, 233-245, 504-514, 128-136, 218-226, 15-24, 83-96, 42-50, 462-474, 340-351, 504-517, 462-470, 327-337, 21-32, 217-226, 510-517, 178-190, 497-509, 504-516, 64-77, 504-515, 147-159, 503-315, 88-97, 208-218, 178-191, 502-515, 503-516, 497-505, 500-509, 189-202, 189-197, 505-516, 1-63, 82-239, 93-234, 327-445, 327-431 y 497-517.

En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-MOSPD2 o fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la invención se unen específicamente a una o más de las siguientes regiones de aminoácidos (epítopos) de MOSPD2, numeradas según la SEQ ID NO: 1 (residuos de aminoácidos 1-518): aproximadamente 508 a aproximadamente 517, aproximadamente 501 a aproximadamente 514, aproximadamente 233 a aproximadamente 241, aproximadamente 509 a aproximadamente 517, aproximadamente 212 a aproximadamente 221, aproximadamente 13 a aproximadamente 24, aproximadamente 505 a aproximadamente 517, aproximadamente 505 a aproximadamente 514, aproximadamente 89 a aproximadamente 100, aproximadamente 506 a aproximadamente 517, aproximadamente 233 a aproximadamente 245, aproximadamente 504 a aproximadamente 514, aproximadamente 128 a aproximadamente 136, aproximadamente 218 a aproximadamente 226, aproximadamente 15 a

aproximadamente 24, aproximadamente 83 a aproximadamente 96, aproximadamente 42 a aproximadamente 50, aproximadamente 462 a aproximadamente 474, aproximadamente 340 a aproximadamente 351, aproximadamente 504 a aproximadamente 517, aproximadamente 462 a aproximadamente 470, aproximadamente 327 a aproximadamente 337, aproximadamente 21 a aproximadamente 32, aproximadamente 217 a aproximadamente 226, aproximadamente 510 a aproximadamente 517, aproximadamente 178 a aproximadamente 190, aproximadamente 497 a aproximadamente 509, aproximadamente 504 a aproximadamente 516, aproximadamente 64 a aproximadamente 77, aproximadamente 504 a aproximadamente 515, aproximadamente 147 a aproximadamente 159, aproximadamente 503 a aproximadamente 515, aproximadamente 88 a aproximadamente 97, aproximadamente 208 a aproximadamente 218, aproximadamente 178 a aproximadamente 191, aproximadamente 502 a aproximadamente 515, aproximadamente 503 a aproximadamente 516, aproximadamente 497 a aproximadamente 505, aproximadamente 500 a aproximadamente 509, aproximadamente 189 a aproximadamente 202, aproximadamente 189 a aproximadamente 197, aproximadamente 505 a aproximadamente 516, aproximadamente 1 a aproximadamente 63, aproximadamente 82 a aproximadamente 239, aproximadamente 93 a aproximadamente 234, aproximadamente 327 a aproximadamente 445, aproximadamente 327 a aproximadamente 431 y aproximadamente 497 a aproximadamente 517.

En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-MOSPD2 o fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la invención se unen específicamente a una o más de las siguientes regiones de aminoácidos (epítomos) de MOSPD2, numeradas según la SEQ ID NO: 1 (residuos de aminoácidos 1-518): aproximadamente 505 a aproximadamente 515, aproximadamente 500 a aproximadamente 515, aproximadamente 230 a aproximadamente 240, aproximadamente 510 a aproximadamente 520, aproximadamente 210 a aproximadamente 220, aproximadamente 15 a aproximadamente 25, aproximadamente 505 a aproximadamente 520, aproximadamente 505 a aproximadamente 515, aproximadamente 90 a aproximadamente 100, aproximadamente 505 a aproximadamente 525, aproximadamente 230 a aproximadamente 245, aproximadamente 505 a aproximadamente 510, aproximadamente 130 a aproximadamente 140, aproximadamente 220 a aproximadamente 230, aproximadamente 15 a aproximadamente 30, aproximadamente 80 a aproximadamente 95, aproximadamente 40 a aproximadamente 50, aproximadamente 460 a aproximadamente 475, aproximadamente 340 a aproximadamente 350, aproximadamente 500 a aproximadamente 515, aproximadamente 460 a aproximadamente 470, aproximadamente 325 a aproximadamente 335, aproximadamente 20 a aproximadamente 35, aproximadamente 215 a aproximadamente 225, aproximadamente 510 a aproximadamente 520, aproximadamente 175 a aproximadamente 190, aproximadamente 500 a aproximadamente 510, aproximadamente 505 a aproximadamente 530, aproximadamente 60 a aproximadamente 75, aproximadamente 500 a aproximadamente 520, aproximadamente 145 a aproximadamente 160, aproximadamente 502 a aproximadamente 515, aproximadamente 85 a aproximadamente 100, aproximadamente 205 a aproximadamente 220, aproximadamente 175 a aproximadamente 190, aproximadamente 500 a aproximadamente 505, aproximadamente 505, aproximadamente 500 a aproximadamente 525, aproximadamente 495 a aproximadamente 505, aproximadamente 495 a aproximadamente 510, aproximadamente 190 a aproximadamente 200, aproximadamente 190 a aproximadamente 198, aproximadamente 502 a aproximadamente 515, aproximadamente 1 a aproximadamente 60, aproximadamente 80 a aproximadamente 240, aproximadamente 90 a aproximadamente 235, aproximadamente 330 a aproximadamente 445, aproximadamente 330 a aproximadamente 430 y aproximadamente 495 a aproximadamente 515.

En algunas realizaciones, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de la invención se unen a MOSPD2 con una constante de disociación en equilibrio anticuerpo-antígeno (K_D) de aproximadamente 10^{-6} M a aproximadamente 10^{-12} M, o cualquier rango de valores del mismo (p. ej., de aproximadamente 10^{-7} M a aproximadamente 10^{-12} , de 10^{-8} M a aproximadamente 10^{-12} M, de aproximadamente 10^{-9} M a aproximadamente 10^{-12} M, de aproximadamente 10^{-10} M a aproximadamente 10^{-12} M, de aproximadamente 10^{-11} M a aproximadamente 10^{-12} M, de aproximadamente 10^{-6} M a aproximadamente 10^{-11} M, de aproximadamente 10^{-7} M a aproximadamente 10^{-11} M, de aproximadamente 10^{-8} M a aproximadamente 10^{-11} M, de aproximadamente 10^{-9} M a aproximadamente 10^{-11} M, de aproximadamente 10^{-10} M a aproximadamente 10^{-11} M, de aproximadamente 10^{-6} M a aproximadamente 10^{-10} M, de aproximadamente 10^{-7} M a aproximadamente 10^{-10} M, de aproximadamente 10^{-8} M a aproximadamente 10^{-10} M, de aproximadamente 10^{-9} M a aproximadamente 10^{-10} M, de aproximadamente 10^{-6} M a aproximadamente 10^{-9} M, de aproximadamente 10^{-7} M a aproximadamente 10^{-9} M, de aproximadamente 10^{-8} M a aproximadamente 10^{-9} M, de aproximadamente 10^{-6} M a aproximadamente 10^{-8} M, o de aproximadamente 10^{-7} M a aproximadamente 10^{-8}). En otras realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo tiene una K_D de aproximadamente 10^{-6} M, aproximadamente 10^{-7} M, aproximadamente 10^{-8} M, aproximadamente 10^{-9} M, aproximadamente 10^{-10} M, aproximadamente 10^{-11} M, o aproximadamente 10^{-12} M. En algunas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno se une a uno o más epítomos en MOSPD2. En algunas realizaciones, la K_D se determina mediante análisis de Scatchard, resonancia de plasmón de superficie u otro método descrito en la presente memoria, en algunas realizaciones, a 37 °C.

En algunas realizaciones, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de la invención se unen a MOSPD2 con una constante de K_{asoc} anticuerpo-antígeno de aproximadamente 10^3 1/Ms a aproximadamente 10^6 1/Ms, o cualquier rango de valores de los mismos (p. ej., de aproximadamente 10^4 1/Ms a aproximadamente 10^6 1/Ms, o de 10^5 1/Ms a aproximadamente 10^6 1/Ms). En otras realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo tiene una K_{asoc} de aproximadamente 10^3 1/Ms, aproximadamente 10^4 1/Ms, aproximadamente 10^5 1/Ms., o aproximadamente 10^6 1/Ms.

En algunas realizaciones, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de la invención se unen a MOSPD2 con

una constante de K_{disoc} anticuerpo-antígeno de aproximadamente 10^{-3} 1/s a aproximadamente 10^{-6} 1/s, o cualquier rango de valores de los mismos (p. ej., de aproximadamente 10^{-4} 1/s a aproximadamente 10^{-6} 1/s, o de 10^{-5} 1/s a aproximadamente 10^{-6} 1/s). En otras realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo tiene una K_{disoc} de aproximadamente 10^{-3} 1/s, aproximadamente 10^{-4} 1/s, aproximadamente 10^{-5} 1/s, o aproximadamente 10^{-6} 1/s.

En algunas realizaciones, el anticuerpo es una molécula de IgG, IgM, IgE, IgA o IgD, o se deriva de ella. En otras realizaciones, el anticuerpo comprende una región Fc.

Algunas realizaciones se refieren a una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno descrito en la presente memoria y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Otras realizaciones se refieren a un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en la presente memoria o una composición farmacéutica descrita en la presente memoria para su uso en el tratamiento, prevención o reducción de la incidencia de una enfermedad o trastorno descrito en la presente memoria.

En realizaciones adicionales, la inhibición de MOSPD2 y la regulación a la baja de la actividad de MOSPD2 pueden efectuarse en el nivel genómico y/o de transcripción utilizando una variedad de moléculas que interfieren con la transcripción y/o traducción [p. ej., agentes silenciadores de ARN (p. ej., antisentido, ARNsi, ARNsh, micro-ARN), Ribozima y ADNzima], o en el nivel de proteína usando, p. ej., antagonistas, enzimas que escinden el polipéptido, pequeñas moléculas que interfieren con la actividad de la proteína (p. ej., ligandos competitivos) y similares.

A continuación, se muestra una lista ejemplar de agentes capaces de regular a la baja el nivel de expresión y/o la actividad de una diana tal como MOSPD2.

La inhibición de MOSPD2 puede ocurrir, por ejemplo, por sobreexpresión ectópica de MOSPD2 por infección, y también se describe en la presente memoria que un inhibidor de MOSPD2 o un inhibidor de MOSPD2 engloba este tipo de inhibición.

La regulación a la baja de MOSPD2 también se puede lograr mediante la edición de genes. La edición de genes se puede realizar, por ejemplo, con un sistema CRISPR-CAS9 de repeticiones palindrómicas cortas agrupadas interespaciadas regularmente. Los sistemas CRISPR-CAS9 se han descrito en la bibliografía y pueden incluir, por ejemplo, CAS9 y un ARN guía. También se han descrito en la bibliografía otras técnicas de edición de genes y también se pueden utilizar.

La regulación a la baja de MOSPD2 también se puede lograr mediante el silenciamiento del ARN. Tal y como se usa en la presente memoria, la frase "silenciamiento del ARN" se refiere a un grupo de mecanismos reguladores [p. ej., interferencia de ARN (ARNi), silenciamiento génico transcripcional (TGS), silenciamiento génico postranscripcional (PTGS), extinción, cosupresión y represión de la traducción] mediados por moléculas de ARN que dan como resultado la inhibición o "silenciamiento" de la expresión de un gen codificador de proteínas correspondiente. El silenciamiento del ARN se ha observado en muchos tipos de organismos, incluyendo plantas, animales y hongos.

Tal y como se usa en la presente memoria, el término "agente silenciador del ARN" se refiere a un ARN que es capaz de inhibir o "silenciar" específicamente la expresión de un gen diana. En algunas realizaciones, el agente silenciador del ARN es capaz de prevenir el procesamiento completo (p. ej., la traducción y/o expresión completa) de una molécula de ARNm a través de un mecanismo de silenciamiento postranscripcional. Los agentes silenciadores del ARN incluyen moléculas de ARN no codificantes, por ejemplo, dúplex de ARN que comprenden cadenas emparejadas, así como ARN precursores a partir de los cuales se pueden generar dichos ARN pequeños no codificantes. Los agentes silenciadores del ARN ejemplares incluyen ARNs tales como ARNsi, miARN y ARNsh. En una realización, el agente silenciador del ARN es capaz de inducir interferencia de ARN. En otra realización, el agente silenciador del ARN es capaz de mediar la represión de la traducción.

La interferencia de ARN se refiere al proceso de silenciamiento génico postranscripcional específico de secuencia en animales mediado por ARN de interferencia cortos (ARNsi). El proceso correspondiente en plantas se conoce comúnmente como silenciamiento génico postranscripcional o silenciamiento de ARN y también se conoce como extinción en hongos. Se cree que el proceso de silenciamiento génico postranscripcional es un mecanismo de defensa celular conservado evolutivamente que se utiliza para prevenir la expresión de genes extraños y que comúnmente lo comparten diversas floras y filos. Dicha protección contra la expresión de genes extraños puede haber evolucionado en respuesta a la producción de ARN bicatenarios (ARNds) derivados de una infección viral o de la integración aleatoria de elementos transposones en el genoma del huésped a través de una respuesta celular que destruye específicamente los ARN monocatenarios homólogos ARN o ARN genómico viral.

Algunas realizaciones descritas en la presente memoria contemplan el uso de ARNs para regular a la baja la expresión de proteínas a partir del ARNm.

El término "ARNsi" se refiere a pequeños dúplex de ARN inhibidores (generalmente entre 18-30 pares de bases) que inducen la vía de interferencia de ARN (ARNi). Por lo general, los ARNsi se sintetizan químicamente como 21 mers con una región dúplex central de 19 pb y protuberancias simétricas en 3' de 2 bases en los extremos, aunque se ha descrito recientemente que los dúplex de ARN sintetizados químicamente de 25-30 bases de longitud pueden tener

tanto como un aumento de 100 veces en la potencia en comparación con 21 mer en la misma ubicación. Se teoriza que la potencia aumentada observada obtenida utilizando ARN más largos en la activación de ARNi es el resultado de proporcionar Dicer con un sustrato (27 mer) en lugar de un producto (21 mer) y que esto mejora la tasa o eficiencia de entrada del dúplex de ARNsi en RISC.

- 5 Las cadenas de un ARN interferente bicatenario (p. ej., un ARNsi) se pueden conectar para formar una estructura de horquilla o tallo-bucle (p. ej., un ARNsh o sh-ARN). Por tanto, como se mencionó, el agente silenciador del ARN de algunas realizaciones descritas en la presente memoria también puede ser un ARN en horquilla corta (ARNsh).

Los términos "ARNsh" o "sh-ARN", como se usan en la presente memoria, se refieren a un agente de ARN que tiene una estructura de tallo-bucle, que comprende una primera y una segunda región de secuencia complementaria, siendo suficiente el grado de complementariedad y orientación de las regiones para que ocurre el emparejamiento de bases entre las regiones, estando unidas la primera y la segunda regiones mediante una región de bucle, siendo el bucle el resultado de una falta de emparejamiento de bases entre nucleótidos (o análogos de nucleótidos) dentro de la región del bucle. El número de nucleótidos en el bucle es un número entre e incluyendo 3 a 23, o 5 a 15, o 7 a 13, o 4 a 9, o 9 a 11. Algunos de los nucleótidos en el bucle pueden estar involucrados en interacciones de pares de bases con otros nucleótidos en el bucle.

Se apreciará que el agente silenciador del ARN de algunas realizaciones descritas en la presente memoria no necesita limitarse a aquellas moléculas que contienen solo ARN, sino que además abarca nucleótidos y no nucleótidos modificados químicamente.

20 En algunas realizaciones, el agente silenciador del ARN se puede asociar funcionalmente con un péptido que penetra en las células. Tal y como se usa en la presente memoria, un "péptido que penetra en las células" es un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos corta (aproximadamente 12-30 residuos) o un resto funcional que confiere las propiedades de translocación independientes de energía (es decir, no endocitóticas) asociadas con el transporte del complejo permeable a la membrana a través de las membranas plasmática y/o nucleares de una célula.

Según otra realización, el agente silenciador del ARN puede ser un miARN o un mimético del mismo.

25 El término "microARN", "miARN" y "miR" son sinónimos y se refieren a una colección de moléculas de ARN monocatenario no codificantes de aproximadamente 19-28 nucleótidos de longitud, que regulan la expresión génica. Los miARN se encuentran en una amplia gama de organismos y se ha demostrado que desempeñan un papel en el desarrollo, la homeostasis y la etiología de la enfermedad.

30 El término "mimético de microARN" se refiere a ARN sintéticos no codificantes que son capaces de entrar en la ruta del ARNi y regular la expresión génica. Los miméticos de miARN imitan la función de los microARN endógenos (miARN) y pueden diseñarse como moléculas bicatenarias maduras o precursores de miméticos (p. ej., o pre-miARN). Los miméticos de miARN pueden estar comprendidos por ARN, ADN, híbridos de ARN-ADN modificados o no modificados, o químicas alternativas de ácidos nucleicos (p. ej., LNA o ácidos nucleicos con puentes de 2'-O,4'-C-etileno (ENA)). Para miméticos de miARN bicatenarios maduros, la longitud de la región de dúplex puede variar entre 13-33, 18-24 o 21-23 nucleótidos. El miARN también puede comprender un total de al menos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 o 40 nucleótidos. La secuencia del miARN puede ser los primeros 13-33 nucleótidos del pre-miARN. La secuencia del miARN también puede ser los últimos 13-33 nucleótidos del pre-miARN.

40 Otro agente capaz de regular a la baja una diana es una molécula de ADNzima capaz de escindir específicamente un transcrito de ARNm o una secuencia de ADN de la diana. Las ADNzimas son polinucleótidos monocatenarios que son capaces de escindir secuencias diana tanto monocatenarias como bicatenarias. (Breaker *et al.*, *Chemistry and Biology* 1995; 2:655; Santoro *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997; 94:4262). Se ha propuesto un modelo general (el modelo "10-23") para la DNazima. Las ADNzimas "10-23" tienen un dominio catalítico de 15 desoxirribonucleótidos, flanqueado por dos dominios de reconocimiento del sustrato de siete a nueve desoxirribonucleótidos cada uno. Este tipo de ADNzima puede escindir eficazmente su ARN sustrato en las uniones purina:pirimidina. (Santoro *et al.*; Khachigian, *Curr. Opin. Mol. Ther.* 2002; 4: 119-121).

La regulación a la baja de una diana también se puede efectuar usando un polinucleótido antisentido capaz de hibridar específicamente con un transcrito de ARNm que codifica la diana.

50 Otro agente capaz de regular a la baja una diana es una molécula de ribozima capaz de escindir específicamente un transcrito de ARNm que codifica una diana. Las ribozimas se utilizan cada vez más para la inhibición específica de secuencia de la expresión génica mediante la escisión de los ARNm que codifican proteínas de interés. (Welch *et al.*, *Curr. Opin. Biotechnol.* 1998; 9: 486-96).

Otro agente capaz de regular a la baja una diana es cualquier molécula que se una a y/o escinda la diana. Dichas moléculas pueden ser antagonistas de la diana o péptidos inhibidores de la diana.

55 Se apreciará que un análogo no funcional de al menos una porción catalítica o de unión de una diana también puede usarse como un agente que regula a la baja la diana.

Otro agente que puede usarse junto con algunas realizaciones para regular a la baja una diana es una molécula que evita la activación de la diana o la unión del sustrato.

En algunas realizaciones, un inhibidor de una proteína diana determinada inhibe la proteína al unirse a la proteína, al unirse a un compuesto que se une a la proteína (p. ej., un sustrato, una proteína reguladora) y/o uniéndose a un oligonucleótido (p. ej., ARNm) que codifica la proteína.

Sin embargo, para los propósitos de la invención, el inhibidor es un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido MOSPD2. En otras realizaciones, el inhibidor es un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido MOSPD2. En otras realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo policlonal, monoclonal, murino, humano, humanizado, quimérico o monocatenario. En otras realizaciones, el fragmento de unión a antígeno es un fragmento Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, scFv, sdFv, dominio VH o dominio VL.

En algunas realizaciones, el inhibidor es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en la presente memoria, que se une específicamente a MOSPD2 (p. ej., MOSPD2 humano), comprende un VH, un VL o un VH y VL. En otras realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región constante.

En algunas realizaciones, el VH, VL o VH y VL comprenden una o más regiones determinantes de la complementariedad (CDR). En algunas realizaciones, el VH comprende CDR1, CDR2, CDR3 o cualquier combinación de los mismos. En algunas realizaciones, el VL comprende CDR1, CDR2, CDR3 o cualquier combinación de los mismos.

En algunas realizaciones, el VH, VL o VH y VL comprenden una o más regiones marco (FR). En algunas realizaciones, el VH comprende FR1, FR2, FR3, FR4 o cualquier combinación de los mismos. En algunas realizaciones, el VL comprende FR1, FR2, FR3, FR4 o cualquier combinación de los mismos.

En una realización particular, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en la presente memoria, que se une específicamente a MOSPD2 (p. ej., MOSPD2 humano), comprende un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3, y un VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3.

En otras realizaciones, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos comprenden una región constante. En algunas realizaciones, la región constante de la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de una región constante de la cadena ligera kappa humana o una región constante de la cadena ligera lambda humana. En algunas realizaciones, la región constante de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de una región constante de la cadena pesada gamma humana. Se han descrito ejemplos no limitantes de secuencias de regiones constantes humanas, p. ej., véase la Patente de EE. UU. No. 5.693.780 y Kabat, EA *et al.*, (1991). En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de la región constante se ha modificado (p. ej., una, dos o más sustituciones de aminoácidos) de modo que tenga al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia con una secuencia humana nativa. En otro aspecto, en la presente memoria se proporcionan anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que reconocen o se unen a un epítipo de MOSPD2 (p. ej., un epítipo de MOSPD2 humano). En otro aspecto, en la presente memoria se proporcionan anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que reconocen o se unen al mismo epítipo o a un epítipo superpuesto de MOSPD2 (p. ej., MOSPD2 humano) como un anticuerpo descrito en la presente memoria (p. ej., un anticuerpo descrito en el Ejemplo 1 u 8). En otro aspecto, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos reconocen más de un epítipo de MOSPD2 (p. ej., dos, tres, cuatro, cinco o seis epítopos).

En ciertas realizaciones, un epítipo de MOSPD2 se puede determinar mediante uno o más métodos descritos en la bibliografía, p. ej., espectroscopia de RMN, estudios de cristalografía de difracción de rayos X, ensayos de ELISA, intercambio de hidrógeno/deuterio acoplado con espectrometría de masa (p. ej., espectrometría de masa MALDI), ensayos de barrido de oligopéptidos basados en matrices y/o mapeo de mutagénesis (p. ej., mapeo de mutagénesis dirigida a sitio). Para la cristalografía de rayos X, la cristalización se puede lograr utilizando métodos descritos en la bibliografía (p. ej., Giegé R *et al.*, (1994) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 50(Pt 4): 339-350; McPherson A (1990) *Eur J Biochem* 189: 1-23.; Chayen NE (1997) *Structure* 5: 1269-1274; McPherson A (1976) *J Biol Chem* 251: 6300-6303). Los cristales de anticuerpo:antígeno se pueden estudiar usando técnicas de difracción de rayos X bien conocidas y se pueden refinar usando software informático tal como X-PLOR (Universidad de Yale, 1992, distribuido por Molecular Simulations, Inc.; véase, p. ej., *Meth Enzymol* (1985) volúmenes 114 y 115, eds Wyckoff HW *et al.*;; Solicitud de Patente de EE. UU. No. 2004/0014194) y BUSTER (Bricogne G (1993) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 49(Pt 1): 37-60; Bricogne G (1997) *Meth Enzymol* 276A: 361-423, ed Carter CW; Roversi P *et al.*, (2000) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 56(Pt 10): 1316-1323). Los estudios de mapeo de mutagénesis se pueden lograr usando métodos descritos en la bibliografía. Véase, p. ej., Champe M *et al.*, (1995) *supra* y Cunningham BC y Wells JA (1989) *supra* para obtener una descripción de las técnicas de mutagénesis, incluyendo las técnicas de mutagénesis de barrido de alanina. En una realización específica, se determina un epítipo de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo usando estudios de mutagénesis de barrido de alanina. La caracterización del epítipo de un anticuerpo también se puede determinar mediante los métodos proporcionados en Ravn *et al.*, *Journal of Biological Chemistry* 288: 19760-19772 (2013).

Además, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que reconocen o se unen a los mismos

epítomos o epítomos superpuestos de MOSPD2 (p. ej., MOSPD2 humano) se pueden identificar usando técnicas de rutina tales como un inmunoensayo, por ejemplo, mostrando la capacidad de un anticuerpo para bloquear la unión de otro anticuerpo a un antígeno diana, es decir., un ensayo de unión competitiva. La unión competitiva se puede determinar en un ensayo en el que la inmunoglobulina en ensayo inhibe la unión específica de un anticuerpo de referencia a un antígeno común, tal como MOSPD2. Se han descrito numerosos tipos de ensayos de unión competitiva, por ejemplo: radioinmunoensayo directo o indirecto (RIA) en fase sólida, inmunoensayo enzimático directo o indirecto (EIA) en fase sólida, ensayo de competición en sándwich (véase, Stahl C *et al.*, (1983) *Methods Enzymol* 9: 242-253); EIA biotina-avidina directa en fase sólida (véase, Kirkland TN *et al.*, (1986) *J Immunol* 137: 3614-9); ensayo de fase sólida marcado directo, ensayo en sándwich de fase sólida marcado directo (véase, Harlow E y Lane D, (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press); RIA de fase sólida marcado directo usando marcaje con I-125 (véase, Morel GA *et al.*, (1988) *Mol Immunol* 25 (1): 7-15); EIA biotina-avidina directa en fase sólida (Cheung RC *et al.*, (1990) *Virology* 176: 546-52); y RIA marcado directo (Moldenhauer G *et al.*, (1990) *Scand J Immunol* 32: 77-82). Típicamente, dicho ensayo implica el uso de antígeno purificado (p. ej., MOSPD2 tal como MOSPD2 humano) unido a una superficie sólida o células que portan cualquiera de estos, una inmunoglobulina de ensayo sin marcar y una inmunoglobulina de referencia marcada. La inhibición competitiva se puede medir determinando la cantidad de marcaje unido a la superficie sólida o células en presencia de la inmunoglobulina de ensayo. Por lo general, la inmunoglobulina de ensayo está presente en exceso. Por lo general, cuando un anticuerpo competidor está presente en exceso, inhibirá la unión específica de un anticuerpo de referencia a un antígeno común en al menos un 50-55 %, 55-60 %, 60-65 %, 65-70 % 70-75 % o más. Un ensayo de unión competitiva se puede configurar en un gran número de formatos diferentes utilizando antígeno marcado o anticuerpo marcado. En una versión común de este ensayo, el antígeno se inmoviliza en una placa de 96 pocillos. A continuación, se mide la capacidad de los anticuerpos no marcados para bloquear la unión de los anticuerpos marcados al antígeno usando marcajes radiactivos o enzimáticos. Para más detalles véase, por ejemplo, Wagener C *et al.*, (1983) *J Immunol* 130: 2308-2315; Wagener C *et al.*, (1984) *J Immunol Methods* 68: 269-274; Kuroki M *et al.*, (1990) *Cancer Res* 50: 4872-4879; Kuroki M *et al.*, (1992) *Immunol Invest* 21: 523-538; Kuroki M *et al.*, (1992) *Hybridoma* 11: 391-407 y *Antibodies: A Laboratory Manual*, Ed Harlow E y Lane D editores *supra*, p. 386-389.

En una realización, se realiza un ensayo de competición usando resonancia de plasmón de superficie (BIAcore®), p. ej., mediante un "enfoque en tándem" como el descrito por Abdiche YN *et al.*, (2009) *Analytical Biochem* 386: 172-180, por lo que el antígeno MOSPD2 se inmoviliza en la superficie del chip, por ejemplo, un chip sensor CM5 y los anticuerpos anti-MOSPD2 se pasan luego sobre el chip. Para determinar si un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo compete con un anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo descrito en la presente memoria, el anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo se pasa primero sobre la superficie del chip para lograr la saturación y se añade el anticuerpo competidor potencial. A continuación, se puede determinar y cuantificar la unión del anticuerpo competidor en relación con un control no competidor.

En ciertos aspectos, pueden usarse ensayos de unión competitiva para determinar si un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo está bloqueado competitivamente, p. ej., de una manera dependiente de la dosis, por otro anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo se une esencialmente al mismo epítomo, o epítomos superpuestos, como un anticuerpo de referencia, cuando los dos anticuerpos reconocen epítomos idénticos o superpuestos estéricamente en ensayos de unión competitiva tales como ensayos ELISA de competición, que se puede configurar en una gran cantidad de formatos diferentes, utilizando antígeno marcado o anticuerpo marcado. En una realización particular, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se puede ensayar en ensayos de unión competitiva con un anticuerpo descrito en la presente memoria (p. ej., los de los ejemplos), o un anticuerpo quimérico o Fab del mismo, o un anticuerpo que comprende CDR de VH y CDR de VL de un anticuerpo descrito en la presente memoria (p. ej., los de los ejemplos).

Por consiguiente, en un cierto aspecto, en la presente memoria se proporcionan anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que compiten (p. ej., de una manera dependiente de la dosis) para unirse a MOSPD2 (p. ej., MOSPD2 humano) con un anticuerpo descrito en la presente memoria (p. ej., los de los ejemplos), según se determina utilizando ensayos conocidos por un experto en la técnica o descritos en la presente memoria (p. ej., ensayos competitivos ELISA, resonancia de plasmón de superficie o análisis Scatchard).

En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-MOSPD2 o fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la invención se unen específicamente a una o más de las siguientes regiones de aminoácidos (epítomos) de MOSPD2, numeradas según la SEQ ID NO: 1 (residuos de aminoácidos 1-518): 508-517, 501-514, 233-241, 509-517, 212-221, 13-24, 505-517, 505-514, 89-100, 506-517, 233-245, 504-514, 128-136, 218-226, 15-24, 83-96, 42-50, 462-474, 340-351, 504-517, 462-470, 327-337, 21-32, 217-226, 510-517, 178-190, 497-509, 504-516, 64-77, 504-515, 147-159, 503-315, 88-97, 208-218, 178-191, 502-515, 503-516, 497-505, 500-509, 189-202, 189-197, 505-516, 1-63, 82-239, 93-234, 327-445, 327-431 y 497-517.

En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-MOSPD2 o fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la invención se unen específicamente a una o más de las siguientes regiones de aminoácidos (epítomos) de MOSPD2, numeradas según la SEQ ID NO: 1 (residuos de aminoácidos 1-518): aproximadamente 508 a aproximadamente 517, aproximadamente 501 a aproximadamente 514, aproximadamente 233 a aproximadamente 241, aproximadamente 509 a aproximadamente 517, aproximadamente 212 a aproximadamente 221, aproximadamente 13 a aproximadamente 24, aproximadamente 505 a aproximadamente 517, aproximadamente 212 a aproximadamente 221, aproximadamente 13 a aproximadamente 24, aproximadamente 505 a aproximadamente 517, aproximadamente 505 a aproximadamente

514, aproximadamente 89 a aproximadamente 100, aproximadamente 506 a aproximadamente 517, aproximadamente 233 a aproximadamente 245, aproximadamente 504 a aproximadamente 514, aproximadamente 128 a aproximadamente 136, aproximadamente 218 a aproximadamente 226, aproximadamente 15 a aproximadamente 24, aproximadamente 83 a aproximadamente 96, aproximadamente 42 a aproximadamente 50, aproximadamente 462 a aproximadamente 474, aproximadamente 340 a aproximadamente 351, aproximadamente 504 a aproximadamente 517, aproximadamente 462 a aproximadamente 470, aproximadamente 327 a aproximadamente 337, aproximadamente 21 a aproximadamente 32, aproximadamente 217 a aproximadamente 226, aproximadamente 510 a aproximadamente 517, aproximadamente 178 a aproximadamente 190, aproximadamente 497 a aproximadamente 509, aproximadamente 504 a aproximadamente 516, aproximadamente 64 a aproximadamente 77, aproximadamente 504 a aproximadamente 515, aproximadamente 147 a aproximadamente 159, aproximadamente 503 a aproximadamente 515, aproximadamente 88 a aproximadamente 97, aproximadamente 208 a aproximadamente 218, aproximadamente 178 a aproximadamente 191, aproximadamente 502 a aproximadamente 515, aproximadamente 503 a aproximadamente 516, aproximadamente 497 a aproximadamente 505, aproximadamente 500 a aproximadamente 509, aproximadamente 189 a aproximadamente 202, aproximadamente 189 a aproximadamente 197, aproximadamente 505 a aproximadamente 516, aproximadamente 1 a aproximadamente 63, aproximadamente 82 a aproximadamente 239, aproximadamente 93 a aproximadamente 234, aproximadamente 327 a aproximadamente 445, aproximadamente 327 a aproximadamente 431 y aproximadamente 497 a aproximadamente 517.

En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-MOSPD2 o fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la invención se unen específicamente a una o más de las siguientes regiones de aminoácidos (epítomos) de MOSPD2, numeradas según la SEQ ID NO: 1 (residuos de aminoácidos 1-518): aproximadamente 505 a aproximadamente 515, aproximadamente 500 a aproximadamente 515, aproximadamente 230 a aproximadamente 240, aproximadamente 510 a aproximadamente 520, aproximadamente 210 a aproximadamente 220, aproximadamente 15 a aproximadamente 25, aproximadamente 505 a aproximadamente 520, aproximadamente 505 a aproximadamente 515, aproximadamente 90 a aproximadamente 100, aproximadamente 505 a aproximadamente 525, aproximadamente 230 a aproximadamente 245, aproximadamente 505 a aproximadamente 510, aproximadamente 130 a aproximadamente 140, aproximadamente 220 a aproximadamente 230, aproximadamente 15 a aproximadamente 30, aproximadamente 80 a aproximadamente 95, aproximadamente 40 a aproximadamente 50, aproximadamente 460 a aproximadamente 475, aproximadamente 340 a aproximadamente 350, aproximadamente 500 a aproximadamente 515, aproximadamente 460 a aproximadamente 470, aproximadamente 325 a aproximadamente 335, aproximadamente 20 a aproximadamente 35, aproximadamente 215 a aproximadamente 225, aproximadamente 510 a aproximadamente 520, aproximadamente 175 a aproximadamente 190, aproximadamente 500 a aproximadamente 510, aproximadamente 505 a aproximadamente 530, aproximadamente 60 a aproximadamente 75, aproximadamente 500 a aproximadamente 520, aproximadamente 145 a aproximadamente 160, aproximadamente 502 a aproximadamente 515, aproximadamente 85 a aproximadamente 100, aproximadamente 205 a aproximadamente 220, aproximadamente 175 a aproximadamente 190, aproximadamente 500 a aproximadamente 505, aproximadamente 500 a aproximadamente 525, aproximadamente 495 a aproximadamente 505, aproximadamente 495 a aproximadamente 510, aproximadamente 190 a aproximadamente 200, aproximadamente 190 a aproximadamente 198, aproximadamente 502 a aproximadamente 515, aproximadamente 1 a aproximadamente 60, aproximadamente 80 a aproximadamente 240, aproximadamente 90 a aproximadamente 235, aproximadamente 330 a aproximadamente 445, aproximadamente 330 a aproximadamente 430 y aproximadamente 495 a aproximadamente 515.

En algunas realizaciones, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de la invención se unen a MOSPD2 con una constante de disociación en equilibrio anticuerpo-antígeno (K_D) de aproximadamente 10^{-6} M a aproximadamente 10^{-12} M, o cualquier rango de valores del mismo (p. ej., de aproximadamente 10^{-7} M a aproximadamente 10^{-12} , de 10^{-8} M a aproximadamente 10^{-12} M, de aproximadamente 10^{-9} M a aproximadamente 10^{-12} M, de aproximadamente 10^{-10} M a aproximadamente 10^{-12} M, de aproximadamente 10^{-11} M a aproximadamente 10^{-12} M, de aproximadamente 10^{-6} M a aproximadamente 10^{-11} M, de aproximadamente 10^{-7} M a aproximadamente 10^{-11} M, de aproximadamente 10^{-8} M a aproximadamente 10^{-11} M, de aproximadamente 10^{-9} M a aproximadamente 10^{-11} M, de aproximadamente 10^{-10} M a aproximadamente 10^{-11} M, de aproximadamente 10^{-6} M a aproximadamente 10^{-10} M, de aproximadamente 10^{-7} M a aproximadamente 10^{-10} M, de aproximadamente 10^{-8} M a aproximadamente 10^{-10} M, de aproximadamente 10^{-9} M a aproximadamente 10^{-10} M, de aproximadamente 10^{-6} M a aproximadamente 10^{-9} M, de aproximadamente 10^{-7} M a aproximadamente 10^{-9} M, de aproximadamente 10^{-8} M a aproximadamente 10^{-9} M, de aproximadamente 10^{-6} M a aproximadamente 10^{-8} M, o de aproximadamente 10^{-7} M a aproximadamente 10^{-8}). En otras realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo tiene una K_D de aproximadamente 10^{-6} M, aproximadamente 10^{-7} M, aproximadamente 10^{-8} M, aproximadamente 10^{-9} M, aproximadamente 10^{-10} M, aproximadamente 10^{-11} M, o aproximadamente 10^{-12} M. En algunas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno se une a uno o más epítomos en MOSPD2. En algunas realizaciones, la K_D se determina mediante análisis de Scatchard, resonancia de plasmón de superficie u otro método descrito en la presente memoria, en algunas realizaciones, a 37 °C.

En algunas realizaciones, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de la invención se unen a MOSPD2 con una K_{asoc} de aproximadamente 10^3 1/Ms a aproximadamente 10^6 1/Ms, o cualquier rango de valores de los mismos (p. ej., de aproximadamente 10^3 1/Ms a aproximadamente 10^5 1/Ms, de aproximadamente 10^4 1/Ms a aproximadamente 10^5 1/Ms, de aproximadamente 10^4 1/Ms a aproximadamente 10^6 1/Ms, de aproximadamente 10^5

1/Ms a aproximadamente 10^6 1/Ms, o de aproximadamente 10^3 1/Ms a aproximadamente 10^4 1/Ms). En otras realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo tiene una K_{asoc} de aproximadamente 10^3 1/Ms, aproximadamente 10^4 1/Ms, aproximadamente 10^5 1/Ms., o aproximadamente 10^6 1/Ms.

5 En algunas realizaciones, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de la invención se unen a MOSPD2 con una K_{disoc} de aproximadamente 10^{-3} 1/s a aproximadamente 10^{-6} 1/s, o cualquier rango de valores de los mismos (p. ej., de aproximadamente 10^{-3} 1/s a aproximadamente 10^{-5} 1/s, de aproximadamente 10^{-4} 1/s a aproximadamente 10^{-5} 1/s, de aproximadamente 10^{-4} 1/s a aproximadamente 10^{-6} 1/s, de aproximadamente 10^{-5} 1/s a aproximadamente 10^{-6} 1/s, o de aproximadamente 10^{-3} 1/s a aproximadamente 10^{-4} 1/s). En otras realizaciones, el anticuerpo o el
10 fragmento de unión a antígeno tiene una K_{disoc} de aproximadamente 10^{-3} 1/s, aproximadamente 10^{-4} 1/s, aproximadamente 10^{-5} 1/s, o aproximadamente 10^{-6} 1/s.

En realizaciones adicionales, un polipéptido MOSPD2 tiene una secuencia al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 96 %, al menos aproximadamente un 97 %, al menos aproximadamente un 98 %, al menos aproximadamente un 99 % o un 100 % idéntica a una cualquiera de las SEQ ID NO: 1-4. En otras realizaciones, el polipéptido MOSPD2 tiene una secuencia de al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % idéntica a una cualquiera de las SEQ ID NO: 1-4. En otras realizaciones, el polipéptido MOSPD2 tiene una secuencia aproximadamente un 75 %, aproximadamente u 80 %, aproximadamente un 85 %, aproximadamente un 90 %, aproximadamente un 95 %, aproximadamente un 96 %, aproximadamente un 97 %, aproximadamente un 98 % o aproximadamente un 99 % idéntica a una cualquiera de las SEQ ID NO: 1-4. En otras realizaciones, el polipéptido MOSPD2 tiene una secuencia con un 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 1-4. En otras realizaciones, el polipéptido MOSPD2 tiene una secuencia con aproximadamente un 75 a 100 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 1-4, o cualquier rango de valores de las mismas, por ejemplo, de aproximadamente un 80 % a 100 % de identidad, de aproximadamente un 85 % a 100 % de identidad, de aproximadamente un 90 % a 100 % de identidad, de aproximadamente un 95 % a 100 % de identidad, de aproximadamente un 96 % a 100 % de identidad, de aproximadamente un 97 % a 100 % de identidad, de aproximadamente un 98 % a 100 % de identidad, de aproximadamente un 99 % a aproximadamente 100 % de identidad, de aproximadamente un 75 % a aproximadamente 99 % de identidad, de aproximadamente un 80 % a aproximadamente 99 % de identidad, de aproximadamente un 85 % a aproximadamente 99 % de identidad, de aproximadamente un 90 % a aproximadamente 99 % de identidad, de aproximadamente un 95 % a aproximadamente 99 % de identidad, de aproximadamente un 96 % a aproximadamente 99 % de identidad, de aproximadamente un 97 % a aproximadamente 99 % de identidad, de aproximadamente un 98 % a aproximadamente 99 % de identidad, de aproximadamente un 99 % a aproximadamente 100 % de identidad, de aproximadamente un 75 % a aproximadamente 95 % de identidad, de aproximadamente un 80 % a aproximadamente 95 % de identidad, de aproximadamente un 85 % a aproximadamente 95 % de identidad, o de aproximadamente un 90 % a aproximadamente 95 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 1-4.

En realizaciones adicionales de la invención, el polipéptido MOSPD2 está codificado por una secuencia de polinucleótidos que tiene al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 96 %, al menos aproximadamente un 97 %, al menos aproximadamente un 98 %, al menos aproximadamente un 99 % o un 100 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 5-8. En otras realizaciones, el polipéptido MOSPD2 está codificado por una secuencia de polinucleótidos que tiene al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 5-8. En otras realizaciones, el polipéptido MOSPD2 está codificado por una secuencia de polinucleótidos que tiene aproximadamente un 75 %, aproximadamente un 80 %, aproximadamente un 85 %, aproximadamente un 90 %, aproximadamente un 95 %, aproximadamente un 96 %, aproximadamente un 97 %, aproximadamente un 98 % o aproximadamente un 99 % identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 5-8. En otras realizaciones, el polipéptido MOSPD2 está codificado por una secuencia de polinucleótidos idéntica en un 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % a una cualquiera de las SEQ ID NO: 1-4. En otras realizaciones, el polipéptido MOSPD2 está codificado por una secuencia de polinucleótidos que tiene de aproximadamente un 75 % a un 100 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 5-8, o cualquier rango de valores de la misma, por ejemplo, de aproximadamente un 80 % a un 100 % de identidad, de aproximadamente un 85 % a un 100 % de identidad, de aproximadamente un 90 % a un 100 % de identidad, de aproximadamente un 95 % a un 100 % de identidad, de aproximadamente un 96 % a un 100 % de identidad, de aproximadamente un 97 % a un 100 % de identidad, de aproximadamente un 98 % a un 100 % de identidad, de aproximadamente un 99 % a aproximadamente un 100 % de identidad, de aproximadamente un 75 % a aproximadamente un 99 % de identidad, de aproximadamente un 80 % a aproximadamente un 99 % de identidad, de aproximadamente un 85 % a aproximadamente un 99 % de identidad, de aproximadamente un 90 % a aproximadamente un 99 % de identidad, de aproximadamente un 95 % a aproximadamente un 99 % de identidad; de aproximadamente un 96 % a aproximadamente un 99 % de identidad, de aproximadamente un 97 % a aproximadamente un 99 % de identidad, de aproximadamente un 98 % a aproximadamente un 99 % de identidad, de aproximadamente un 99 % a aproximadamente un 100 % de identidad, de aproximadamente un 75 % a aproximadamente un 95 % de identidad, de aproximadamente un 80 % a aproximadamente un 95 % de identidad, de

aproximadamente un 85 % a aproximadamente un 95 % de identidad, o de aproximadamente un 90 % a aproximadamente un 95 % de identidad con una cualquiera de las SEQ ID NO: 5-8.

Composiciones farmacéuticas

5 Otras realizaciones se refieren a una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de MOSPD2. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende un inhibidor de MOSPD2 y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En otras realizaciones, la composición farmacéutica comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del inhibidor de MOSPD2 (p. ej., un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo descrito en la presente memoria).

10 En otras realizaciones, el inhibidor de MOSPD2 es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo, y la cantidad terapéuticamente eficaz es de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, o cualquier rango de valores del mismo (p. ej., de aproximadamente 2 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 3 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 4 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 5 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 6 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 7 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 8 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 9 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 2 µg/ml a aproximadamente 9 µg/ml, de aproximadamente 3 µg/ml a aproximadamente 9 µg/ml, de aproximadamente 4 µg/ml a aproximadamente 9 µg/ml, de aproximadamente 5 µg/ml a aproximadamente 9 µg/ml, de aproximadamente 6 µg/ml a aproximadamente 9 µg/ml, de aproximadamente 7 µg/ml a aproximadamente 9 µg/ml, de aproximadamente 8 µg/ml a aproximadamente 9 µg/ml, de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 8 µg/ml, de aproximadamente 2 µg/ml a aproximadamente 8 µg/ml, de aproximadamente 3 µg/ml a aproximadamente 8 µg/ml, de aproximadamente 4 µg/ml a aproximadamente 8 µg/ml, de aproximadamente 5 µg/ml a aproximadamente 8 µg/ml, de aproximadamente 6 µg/ml a aproximadamente 8 µg/ml, de aproximadamente 7 µg/ml a aproximadamente 8 µg/ml, de aproximadamente 8 µg/ml, de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 7 µg/ml, de aproximadamente 2 µg/ml a aproximadamente 7 µg/ml, de aproximadamente 3 µg/ml a aproximadamente 7 µg/ml, de aproximadamente 4 µg/ml a aproximadamente 7 µg/ml, de aproximadamente 5 µg/ml a aproximadamente 7 µg/ml, de aproximadamente 6 µg/ml a aproximadamente 7 µg/ml, de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 6 µg/ml, de aproximadamente 2 µg/ml a aproximadamente 6 µg/ml, de aproximadamente 3 µg/ml a aproximadamente 6 µg/ml, de aproximadamente 4 µg/ml a aproximadamente 6 µg/ml, de aproximadamente 5 µg/ml a aproximadamente 6 µg/ml, de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 5 µg/ml, de aproximadamente 2 µg/ml a aproximadamente 5 µg/ml, de aproximadamente 3 µg/ml a aproximadamente 5 µg/ml, de aproximadamente 4 µg/ml a aproximadamente 5 µg/ml, de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 4 µg/ml, de aproximadamente 2 µg/ml a aproximadamente 4 µg/ml, de aproximadamente 3 µg/ml a aproximadamente 4 µg/ml, de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 3 µg/ml, de aproximadamente 2 µg/ml a aproximadamente 3 µg/ml, o de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 2 µg/ml). En otras realizaciones, el inhibidor de MOSPD2 es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo, y la cantidad terapéuticamente eficaz es aproximadamente 1 µg/ml, aproximadamente 2 µg/ml, aproximadamente 3 µg/ml, aproximadamente 4 µg/ml, aproximadamente 5 µg/ml, aproximadamente 6 µg/ml, aproximadamente 7 µg/ml, aproximadamente 8 µg/ml, aproximadamente 9 µg/ml o aproximadamente 10 µg/ml.

40 En algunas realizaciones, el inhibidor de MOSPD2 es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo, y la cantidad terapéuticamente eficaz es de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 40 mg/kg, o cualquier rango de valores del mismo (p. ej., de aproximadamente 15 mg/kg a aproximadamente 40 mg/kg, de aproximadamente 20 mg/kg a aproximadamente 40 mg/kg, de aproximadamente 25 mg/kg a aproximadamente 40 mg/kg, de aproximadamente 30 mg/kg a aproximadamente 40 mg/kg, de aproximadamente 35 mg/kg a aproximadamente 40 mg/kg, de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 35 mg/kg, de aproximadamente 15 mg/kg a aproximadamente 35 mg/kg, de aproximadamente 20 mg/kg a aproximadamente 35 mg/kg, de aproximadamente 25 mg/kg a aproximadamente 35 mg/kg, de aproximadamente 30 mg/kg a aproximadamente 35 mg/kg, de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 30 mg/kg, de aproximadamente 15 mg/kg a aproximadamente 30 mg/kg, de aproximadamente 20 mg/kg a aproximadamente 30 mg/kg, de aproximadamente 25 mg/kg a aproximadamente 30 mg/kg, de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg, de aproximadamente 15 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg, de aproximadamente 20 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg, de aproximadamente 25 mg/kg, de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg, de aproximadamente 15 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg, o de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 15 mg/kg). En otras realizaciones, el inhibidor de MOSPD2 es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo, y la cantidad terapéuticamente eficaz es aproximadamente 10 mg/kg, aproximadamente 15 mg/kg, aproximadamente 20 mg/kg, aproximadamente 25 mg/kg, aproximadamente 30 mg/kg, aproximadamente 35 mg/kg o aproximadamente 40 mg/kg.

55 En algunas realizaciones, el inhibidor de MOSPD2 (p. ej., un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo) está presente en una cantidad tal que la administración del inhibidor de MOSPD2 causa al menos un 10 % (p. ej., al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 99 %, o superior) de inhibición de una o más actividades de MOSPD2 (p. ej., MOSPD2 humano) (p. ej., expresión de MOSPD2, migración de células inflamatorias (p. ej., migración de leucocitos o monocitos), quimiotaxis (p. ej., quimiotaxis de leucocitos o monocitos), una vía de señalización de quimioquinas, fosforilación del receptor de EGF, fosforilación de ERK y fosforilación de AKT. En algunas realizaciones, la administración del inhibidor de MOSPD2 a un sujeto humano provoca al menos un 10 % (p.

60

ej., al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 99 %, o superior) de inhibición de una o más actividades de un MOSPD2 humano.

5 En otro aspecto, la administración del inhibidor de MOSPD2 (p. ej., un anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo) provoca de aproximadamente un 10 % a un 100 %, de aproximadamente un 10 % a aproximadamente un 99 %, de aproximadamente un 10 % a aproximadamente un 95 %, de aproximadamente un 10 % a aproximadamente un 90 %, de aproximadamente un 10 % a aproximadamente un 85 %, de aproximadamente un 10 % a aproximadamente un 80 %, de aproximadamente un 10 % a aproximadamente un 70 %, de aproximadamente un 20 % a aproximadamente un 99 %, de aproximadamente un 20 % a aproximadamente un 95 %, de aproximadamente un 20 % a aproximadamente un 90 %, de aproximadamente un 20 % a aproximadamente un 85 %, de aproximadamente un 20 % a aproximadamente un 80 %, de aproximadamente un 30 % a aproximadamente un 95 %, de aproximadamente un 30 % a aproximadamente un 90 %, de aproximadamente un 30 % a aproximadamente un 85 %, de aproximadamente un 30 % a aproximadamente un 80 %, de aproximadamente un 40 % a aproximadamente un 95 %, de aproximadamente un 40 % a aproximadamente un 90 %, de aproximadamente un 40 % a aproximadamente un 85 %, de aproximadamente un 40 % a aproximadamente un 80 %, de aproximadamente un 50 % a aproximadamente un 95 %, de aproximadamente un 50 % a aproximadamente un 90 %, de aproximadamente un 50 % a aproximadamente un 85 %, de aproximadamente un 50 % a aproximadamente un 80 %, de aproximadamente un 60 % a aproximadamente un 95 %, de aproximadamente un 60 % a aproximadamente un 90 %, de aproximadamente un 60 % a aproximadamente un 85 %, o de aproximadamente un 60 % a aproximadamente un 80 % de inhibición de una o más actividades de MOSPD2, p. ej., regulación de la migración de células inflamatorias, vías de señalización de quimioquinas, vías de señalización de factores de crecimiento, fosforilación del receptor de EGF, fosforilación de ERK, fosforilación de AKT y/o fosforilación de FAK.

25 Tal y como se usa en la presente memoria, una "composición farmacéutica" se refiere a una preparación de uno o más agentes como se describe en la presente memoria (p. ej., un inhibidor de MOSPD2, o un inhibidor de MOSPD2 con uno o más de otros agentes descritos en la presente memoria), o sales fisiológicamente aceptables o profármacos del mismo, con otros componentes químicos, incluyendo, pero no limitado a, vehículos, excipientes, lubricantes, agentes tamponadores, agentes antibacterianos, agentes de carga (p. ej., manitol), antioxidantes (p. ej., ácido ascórbico o bisulfito de sodio) farmacéuticamente aceptables y similares. El propósito de la composición farmacéutica es facilitar la administración del o de los agentes un sujeto.

30 Tal y como se usa en la presente memoria, "administración" o "administrar" a un sujeto incluye, pero no está limitado a, el acto de un médico u otro profesional médico que prescribe una composición farmacéutica de la invención para un sujeto.

35 En la presente memoria, la frase "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un vehículo o diluyente que no causa una irritación significativa al sujeto y no anula la actividad biológica y las propiedades del o de los agentes descritos en la presente memoria.

Tal y como se usa en la presente memoria, el término "vehículo" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el que se administra el agente terapéutico.

En la presente memoria, el término "excipiente" se refiere a una sustancia inerte añadida a una composición farmacéutica para facilitar aún más la administración de un ingrediente activo.

40 En algunas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de MOSPD2 comprende además uno o más agentes activos adicionales.

45 Cuando se administran dos o más agentes como una composición farmacéutica, cada agente se puede administrar opcionalmente en una composición separada y/o mediante una vía de administración diferente. Las posibles vías de administración para cada agente incluyen independientemente, pero no están limitadas a, administración parenteral, administración transmucosal, administración rectal, administración bucal y/o inhalación (p. ej., como se describe en la presente memoria).

50 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica es adecuada para administración sistémica o local. En otras realizaciones, la composición farmacéutica es adecuada para administración nasal, oral o intraperitoneal. En otras realizaciones, la composición farmacéutica es adecuada para administración intravenosa, administración intramuscular o administración subcutánea.

Métodos para tratar, prevenir o reducir la incidencia de inflamación y enfermedades o trastornos inflamatorios

55 Las realizaciones descritas en la presente memoria se refieren a un método para tratar, prevenir o reducir la incidencia de inflamación que comprende administrar un inhibidor de MOSPD2. Algunas realizaciones se refieren a un método para tratar, prevenir o reducir la incidencia de una enfermedad o trastorno inflamatorio que comprende administrar un inhibidor de MOSPD2. En otras realizaciones, el método comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de MOSPD2 a un sujeto que lo necesite. La presente invención se refiere a un anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad o trastorno

inflamatorio, en donde el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno inhibe la migración de células inflamatorias.

En algunas realizaciones, el inhibidor de MOSPD2 es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo descrito en la presente memoria. Por ejemplo, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede tener una constante de disociación en equilibrio anticuerpo-antígeno (K_D) de 10^{-6} M a aproximadamente 10^{-12} M, o cualquier rango de valores del mismo (p. ej., de aproximadamente 10^{-7} M a aproximadamente 10^{-12} , de 10^{-8} M a aproximadamente 10^{-12} M, de aproximadamente 10^{-9} M a aproximadamente 10^{-12} M, de aproximadamente 10^{-10} M a aproximadamente 10^{-12} M, de aproximadamente 10^{-11} M a aproximadamente 10^{-12} M, de aproximadamente 10^{-6} M a aproximadamente 10^{-12} M, de aproximadamente 10^{-7} M a aproximadamente 10^{-11} M, de aproximadamente 10^{-8} M a aproximadamente 10^{-11} M, de aproximadamente 10^{-9} M a aproximadamente 10^{-11} M, de aproximadamente 10^{-10} M a aproximadamente 10^{-11} M, de aproximadamente 10^{-6} M a aproximadamente 10^{-10} M, de aproximadamente 10^{-7} M a aproximadamente 10^{-10} M, de aproximadamente 10^{-8} M a aproximadamente 10^{-10} M, de aproximadamente 10^{-9} M a aproximadamente 10^{-10} M, de aproximadamente 10^{-6} M a aproximadamente 10^{-9} M, de aproximadamente 10^{-7} M a aproximadamente 10^{-9} M, de aproximadamente 10^{-8} M a aproximadamente 10^{-9} M, de aproximadamente 10^{-6} M a aproximadamente 10^{-8} M, o de aproximadamente 10^{-7} M a aproximadamente 10^{-8}). En otras realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo tiene una K_D de aproximadamente 10^{-6} M, aproximadamente 10^{-7} M, aproximadamente 10^{-8} M, aproximadamente 10^{-9} M, aproximadamente 10^{-10} M, aproximadamente 10^{-11} M, o aproximadamente 10^{-12} M. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno se une a uno o más epítomos en MOSPD2. En algunas realizaciones, la K_D se determina mediante análisis de Scatchard, resonancia de plasmón de superficie u otro método descrito en la presente memoria, en algunas realizaciones, a 37 °C.

En algunas realizaciones, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de la invención se unen a MOSPD2 con una K_{asoc} de aproximadamente 10^3 1/Ms a aproximadamente 10^6 1/Ms, o cualquier rango de valores de los mismos (p. ej., de aproximadamente 10^3 1/Ms a aproximadamente 10^5 1/Ms, de aproximadamente 10^4 1/Ms a aproximadamente 10^5 1/Ms, de aproximadamente 10^4 1/Ms a aproximadamente 10^6 1/Ms, de aproximadamente 10^5 1/Ms a aproximadamente 10^6 1/Ms, o de aproximadamente 10^3 1/Ms a aproximadamente 10^4 1/Ms). En otras realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno tiene una K_{asoc} de aproximadamente 10^3 1/Ms, aproximadamente 10^4 1/Ms, aproximadamente 10^5 1/Ms, o aproximadamente 10^6 1/Ms.

En algunas realizaciones, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de la invención se unen a MOSPD2 con una K_{disoc} de aproximadamente 10^{-3} 1/s a aproximadamente 10^{-6} 1/s, o cualquier rango de valores de los mismos (p. ej., de aproximadamente 10^{-3} 1/s a aproximadamente 10^{-5} 1/s, de aproximadamente 10^{-4} 1/s a aproximadamente 10^{-5} 1/s, de aproximadamente 10^{-4} 1/s a aproximadamente 10^{-6} 1/s, de aproximadamente 10^{-5} 1/s a aproximadamente 10^{-6} 1/s, o de aproximadamente 10^{-3} 1/s a aproximadamente 10^{-4} 1/s). En otras realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno tiene una K_{disoc} de aproximadamente 10^{-3} 1/s, aproximadamente 10^{-4} 1/s, aproximadamente 10^{-5} 1/s, o aproximadamente 10^{-6} 1/s.

En algunas realizaciones, el inhibidor de MOSPD2 es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo, y la cantidad terapéuticamente eficaz es de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, o cualquier rango de valores del mismo (p. ej., de aproximadamente 2 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 3 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 4 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 5 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 6 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 7 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 8 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 9 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 9 µg/ml, de aproximadamente 2 µg/ml a aproximadamente 9 µg/ml, de aproximadamente 3 µg/ml a aproximadamente 9 µg/ml, de aproximadamente 4 µg/ml a aproximadamente 9 µg/ml, de aproximadamente 5 µg/ml a aproximadamente 9 µg/ml, de aproximadamente 6 µg/ml a aproximadamente 9 µg/ml, de aproximadamente 7 µg/ml a aproximadamente 9 µg/ml, de aproximadamente 8 µg/ml a aproximadamente 9 µg/ml, de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 8 µg/ml, de aproximadamente 2 µg/ml a aproximadamente 8 µg/ml, de aproximadamente 3 µg/ml a aproximadamente 8 µg/ml, de aproximadamente 4 µg/ml a aproximadamente 8 µg/ml, de aproximadamente 5 µg/ml a aproximadamente 8 µg/ml, de aproximadamente 6 µg/ml a aproximadamente 8 µg/ml, de aproximadamente 7 µg/ml a aproximadamente 8 µg/ml, de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 7 µg/ml, de aproximadamente 2 µg/ml a aproximadamente 7 µg/ml, de aproximadamente 3 µg/ml a aproximadamente 7 µg/ml, de aproximadamente 4 µg/ml a aproximadamente 7 µg/ml, de aproximadamente 5 µg/ml a aproximadamente 7 µg/ml, de aproximadamente 6 µg/ml a aproximadamente 7 µg/ml, de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 6 µg/ml, de aproximadamente 2 µg/ml a aproximadamente 6 µg/ml, de aproximadamente 3 µg/ml a aproximadamente 6 µg/ml, de aproximadamente 4 µg/ml a aproximadamente 6 µg/ml, de aproximadamente 5 µg/ml a aproximadamente 6 µg/ml, de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 5 µg/ml, de aproximadamente 2 µg/ml a aproximadamente 5 µg/ml, de aproximadamente 3 µg/ml a aproximadamente 5 µg/ml, de aproximadamente 4 µg/ml a aproximadamente 5 µg/ml, de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 4 µg/ml, de aproximadamente 2 µg/ml a aproximadamente 4 µg/ml, de aproximadamente 3 µg/ml a aproximadamente 4 µg/ml, de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 3 µg/ml, de aproximadamente 2 µg/ml a aproximadamente 3 µg/ml, o de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 2 µg/ml). En otras realizaciones, el inhibidor de MOSPD2 es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo, y la cantidad terapéuticamente eficaz es aproximadamente 1 µg/ml, aproximadamente 2 µg/ml, aproximadamente 3 µg/ml, aproximadamente 4 µg/ml, aproximadamente 5 µg/ml, aproximadamente 6 µg/ml, aproximadamente 7 µg/ml, aproximadamente 8 µg/ml, aproximadamente 9 µg/ml o aproximadamente 10 µg/ml.

En algunas realizaciones, el inhibidor de MOSPD2 es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo, y la cantidad terapéuticamente eficaz es de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 40 mg/kg, o cualquier rango de valores del mismo (p. ej., de aproximadamente 15 mg/kg a aproximadamente 40 mg/kg, de aproximadamente 20 mg/kg a aproximadamente 40 mg/kg, de aproximadamente 25 mg/kg a aproximadamente 40 mg/kg, de aproximadamente 30 mg/kg a aproximadamente 40 mg/kg, de aproximadamente 35 mg/kg a aproximadamente 40 mg/kg, de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 35 mg/kg, de aproximadamente 15 mg/kg a aproximadamente 35 mg/kg, de aproximadamente 20 mg/kg a aproximadamente 35 mg/kg, de aproximadamente 25 mg/kg a aproximadamente 35 mg/kg, de aproximadamente 30 mg/kg a aproximadamente 35 mg/kg, de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 30 mg/kg, de aproximadamente 15 mg/kg a aproximadamente 30 mg/kg, de aproximadamente 20 mg/kg a aproximadamente 30 mg/kg, de aproximadamente 25 mg/kg a aproximadamente 30 mg/kg, de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg, de aproximadamente 15 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg, de aproximadamente 20 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg, de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg, de aproximadamente 15 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg, o de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 15 mg/kg). En otras realizaciones, el inhibidor de MOSPD2 es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo, y la cantidad terapéuticamente eficaz es aproximadamente 10 mg/kg, aproximadamente 15 mg/kg, aproximadamente 20 mg/kg, aproximadamente 25 mg/kg, aproximadamente 30 mg/kg, aproximadamente 35 mg/kg o aproximadamente 40 mg/kg.

En algunas realizaciones, el inhibidor de MOSPD2 es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que causa al menos un 10 % (p. ej., al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 99 %, o superior) de inhibición de una o más actividades de MOSPD2 (p. ej., MOSPD2 humano) (p. ej., expresión de MOSPD2, migración de células inflamatorias (p. ej., migración de leucocitos o monocitos), quimiotaxis (p. ej., quimiotaxis de leucocitos o monocitos), una vía de señalización de quimioquinas, fosforilación del receptor de EGF, fosforilación de ERK y fosforilación de AKT. En algunas realizaciones, la administración del inhibidor de MOSPD2 a un sujeto humano provoca al menos un 10 % (p. ej., al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos un 40 %, al menos un 50 %, al menos un 60 %, al menos un 70 %, al menos un 80 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 99 %, o superior) de inhibición de una o más actividades de un MOSPD2 humano.

En otro aspecto, la administración del inhibidor de MOSPD2 (p. ej., un anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo) provoca de aproximadamente un 10 % a un 100 %, de aproximadamente un 10 % a aproximadamente un 99 %, de aproximadamente un 10 % a aproximadamente un 95 %, de aproximadamente un 10 % a aproximadamente un 90 %, de aproximadamente un 10 % a aproximadamente un 85 %, de aproximadamente un 10 % a aproximadamente un 80 %, de aproximadamente un 10 % a aproximadamente un 70 %, de aproximadamente un 20 % a aproximadamente un 99 %, de aproximadamente un 20 % a aproximadamente un 95 %, de aproximadamente un 20 % a aproximadamente un 90 %, de aproximadamente un 20 % a aproximadamente un 85 %, de aproximadamente un 20 % a aproximadamente un 80 %, de aproximadamente un 30 % a aproximadamente un 95 %, de aproximadamente un 30 % a aproximadamente un 90 %, de aproximadamente un 30 % a aproximadamente un 85 %, de aproximadamente un 30 % a aproximadamente un 80 %, de aproximadamente un 40 % a aproximadamente un 95 %, de aproximadamente un 40 % a aproximadamente un 90 %, de aproximadamente un 40 % a aproximadamente un 85 %, de aproximadamente un 40 % a aproximadamente un 80 %, de aproximadamente un 50 % a aproximadamente un 95 %, de aproximadamente un 50 % a aproximadamente un 90 %, de aproximadamente un 50 % a aproximadamente un 85 %, de aproximadamente un 50 % a aproximadamente un 80 %, de aproximadamente un 60 % a aproximadamente un 95 %, de aproximadamente un 60 % a aproximadamente un 90 %, de aproximadamente un 60 % a aproximadamente un 85 %, o de aproximadamente un 60 % a aproximadamente un 80 % de inhibición de una o más actividades de MOSPD2, p. ej., regulación de la migración de células inflamatorias, vía de señalización de quimioquinas, vías de señalización de factores de crecimiento, fosforilación del receptor de EGF, fosforilación de ERK, fosforilación de AKT y/o fosforilación de FAK.

En otras realizaciones, el sujeto es un mamífero o un ser humano.

En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno inflamatorio es una enfermedad o trastorno inflamatorio idiopático, una enfermedad o trastorno inflamatorio crónico, una enfermedad o trastorno inflamatorio agudo, una enfermedad o trastorno autoinmune, una enfermedad o trastorno infeccioso, una enfermedad o trastorno inflamatorio maligno, una enfermedad o trastorno inflamatorio relacionado con un trasplante, una enfermedad o trastorno inflamatorio degenerativo, una enfermedad o trastorno asociado con hipersensibilidad, una enfermedad o trastorno inflamatorio cardiovascular, una enfermedad o trastorno inflamatorio cerebrovascular, una enfermedad o trastorno vascular periférico, una enfermedad o trastorno inflamatorio glandular, una enfermedad o trastorno inflamatorio gastrointestinal, una enfermedad o trastorno inflamatorio cutáneo, una enfermedad o trastorno inflamatorio hepático, una enfermedad o trastorno inflamatorio neurológico, una enfermedad o trastorno inflamatorio músculo-esquelético, una enfermedad o trastorno inflamatorio renal, una enfermedad o trastorno reproductor, una enfermedad o trastorno inflamatorio sistémico, una enfermedad o trastorno inflamatorio del tejido conectivo, necrosis, una enfermedad o trastorno inflamatorio relacionado con implantes, un proceso inflamatorio de envejecimiento, una enfermedad o trastorno de inmunodeficiencia, o una enfermedad o trastorno inflamatorio pulmonar.

En algunas realizaciones, la hipersensibilidad es hipersensibilidad de Tipo I, hipersensibilidad de Tipo II, hipersensibilidad de Tipo III, hipersensibilidad de Tipo IV, hipersensibilidad inmediata, hipersensibilidad mediada por

anticuerpos, hipersensibilidad mediada por complejos inmunes, hipersensibilidad mediada por linfocitos T, hipersensibilidad de tipo retardado, hipersensibilidad mediada por linfocitos T auxiliares, hipersensibilidad mediada por linfocitos T citotóxicos, hipersensibilidad mediada por linfocitos TH1 o hipersensibilidad mediada por linfocitos TH2.

5 En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno inflamatorio cardiovascular es una enfermedad o trastorno oclusivo, aterosclerosis, una enfermedad valvular cardíaca, estenosis, restenosis, estenosis en *stent*, infarto de miocardio, enfermedad arterial coronaria, síndromes coronarios agudos, insuficiencia cardíaca congestiva, angina de pecho, isquemia miocárdica, trombosis, granulomatosis de Wegener, arteritis de Takayasu, síndrome de Kawasaki, enfermedad o trastorno autoinmune antifactor VIII, vasculitis necrotizante de vasos pequeños, poliangeítis microscópica, síndrome de Churg y Strauss, glomerulonefritis necrotizante focal pauciinmune, glomerulonefritis semilunar, síndrome antifosfolípido, 10 insuficiencia cardíaca inducida por anticuerpos, púrpura trombocitopénica, anemia hemolítica autoinmune, autoinmunidad cardíaca, enfermedad o trastorno de Chagas o autoinmunidad antilinfocitos T auxiliares.

En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno inflamatorio cerebrovascular es accidente cerebrovascular, inflamación cerebrovascular, hemorragia cerebral o insuficiencia arterial vertebral.

15 En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno vascular periférico es gangrena, vasculopatía diabética, enfermedad intestinal isquémica, trombosis, retinopatía diabética o nefropatía diabética.

En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno autoinmune es artritis reumatoide crónica, artritis reumatoide juvenil, lupus eritematoso sistémico, esclerodermia, enfermedad mixta del tejido conectivo, poliarteritis nodosa, polimiositis/dermatomiositis, síndrome de Sjogren, enfermedad de Bechet, esclerosis múltiple, diabetes autoinmune, enfermedad de Hashimoto, psoriasis, mixedema primario, anemia perniciosa, miastenia grave, hepatitis crónica activa, 20 anemia hemolítica autoinmune, púrpura trombocitopénica idiopática, uveítis, vasculitis o trombocitopenia inducida por heparina.

En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno inflamatorio glandular es una enfermedad o trastorno pancreático, diabetes de Tipo I, enfermedad o trastorno de la tiroides, enfermedad o trastorno de Graves, tiroiditis, tiroiditis autoinmune espontánea, tiroiditis de Hashimoto, mixedema idiopático, autoinmunidad ovárica, infertilidad autoinmune antiesperma, prostatitis autoinmune o síndrome poliglandular autoinmune de Tipo I. 25

En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno inflamatorio gastrointestinal es colitis, ileítis, enfermedad de Crohn, enfermedad intestinal inflamatoria crónica, síndrome inflamatorio del intestino, enfermedad inflamatoria del intestino, síndrome del intestino irritable, enfermedad inflamatoria crónica del intestino, enfermedad celíaca, colitis 30 ulcerosa, una úlcera, una úlcera cutánea, una úlcera de decúbito, una úlcera gástrica, una úlcera péptica, una úlcera bucal, una úlcera nasofaríngea, una úlcera esofágica, una úlcera duodenal o una úlcera gastrointestinal.

En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno inflamatorio cutáneo es acné, enfermedad o trastorno cutáneo ampolloso autoinmune, pénfigo vulgar, penfigoide ampolloso, pénfigo foliáceo, dermatitis de contacto o erupción farmacológica.

35 En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno inflamatorio hepático es hepatitis autoinmune, cirrosis hepática o cirrosis biliar.

En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno inflamatorio neurológico es esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, miastenia grave, neuropatía motora, síndrome de Guillain-Barré, neuropatía autoinmune, síndrome miasténico de Lambert-Eaton, enfermedad o trastorno neurológico paraneoplásico, atrofia cerebelosa paraneoplásica, síndrome del hombre rígido no paraneoplásico, atrofia cerebelosa progresiva, encefalitis 40 de Rasmussen, esclerosis lateral amiotrófica, corea de Sydeham, síndrome de Gilles de la Tourette, poliendocrinopatía autoinmune, neuropatía disímune, neuromiotonía adquirida, artrogriposis múltiple, enfermedad de Huntington, demencia asociada al SIDA, esclerosis lateral amiotrófica, esclerosis múltiple, accidente cerebrovascular, una enfermedad o trastorno inflamatorio de la retina, una enfermedad o trastorno inflamatorio ocular, neuritis óptica, encefalopatía espongiiforme, migraña, dolor de cabeza, dolor de cabeza en racimo o síndrome del hombre rígido.

45 En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno inflamatorio del tejido conectivo es distrofia muscular de Duchenne (DMD), miositis autoinmune, síndrome de Sjogren primario, enfermedad o trastorno autoinmune del músculo liso, miositis, tendinitis, una inflamación de ligamentos, condritis, una inflamación de articulaciones, una inflamación sinovial, síndrome del túnel carpiano, artritis, artritis reumatoide, osteoartritis, espondilitis anquilosante, una inflamación esquelética, una enfermedad o trastorno autoinmune del oído, o una enfermedad o trastorno 50 autoinmune del oído interno.

En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno inflamatorio renal es nefritis intersticial autoinmune.

En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno inflamatorio reproductivo es una pérdida fetal repetida, un quiste ovárico o una enfermedad o trastorno asociado a la menstruación.

55 En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno inflamatorio sistémico es lupus eritematoso sistémico, esclerosis sistémica, choque séptico, síndrome de choque tóxico o caquexia.

5 En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno infeccioso es una enfermedad o trastorno infeccioso crónico, una enfermedad o trastorno infeccioso subagudo, una enfermedad o trastorno infeccioso agudo, una enfermedad o trastorno viral, una enfermedad o trastorno bacteriano, una enfermedad o trastorno protozoario, una enfermedad o trastorno parasitario, una enfermedad o trastorno fúngico, una enfermedad o trastorno por micoplasma, gangrena, sepsis, una enfermedad o trastorno priónico, gripe, tuberculosis, malaria, síndrome de inmunodeficiencia adquirida o síndrome respiratorio agudo severo.

En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno inflamatorio relacionado con un trasplante es rechazo de injerto, rechazo de injerto crónico, rechazo de injerto subagudo, rechazo de injerto agudo, rechazo de injerto hiperagudo o enfermedad o trastorno de injerto contra huésped.

10 En algunas realizaciones, el implante es un implante protésico, un implante mamario, un implante de silicona, un implante dental, un implante de pene, un implante cardíaco, una articulación artificial, un dispositivo de reparación de fracturas óseas, un implante de reemplazo óseo, un implante de administración de fármacos, un catéter, un marcapasos, un corazón artificial, una válvula cardíaca artificial, un implante de liberación de fármacos, un electrodo o un tubo respirador.

15 En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno inflamatorio pulmonar es asma, asma alérgica, enfisema, enfermedad o trastorno pulmonar obstructivo crónico, sarcoidosis o bronquitis.

En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno inflamatorio es fibrosis.

20 En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno inflamatorio es la inflamación vascular en un sujeto que padece una enfermedad inflamatoria crónica o autoinmune crónica. En algunas realizaciones, la enfermedad inflamatoria o autoinmune crónica es la psoriasis. En algunas realizaciones, la inflamación vascular está asociada con una enfermedad cardiovascular, una enfermedad vascular periférica, una enfermedad de las arterias coronarias, una enfermedad vascular cerebral, una estenosis de la arteria renal, una enfermedad isquémica o un aneurisma aórtico. En algunas realizaciones, la inflamación vascular está asociada con una cardiopatía isquémica, aterosclerosis, síndrome coronario agudo, angina inestable, angina estable o accidente cerebrovascular. En otras realizaciones, la inflamación vascular es la inflamación de una arteria carótida. En otras realizaciones, la inflamación vascular es la inflamación de una aorta.

30 En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno inflamatorio es una inflamación asociada con un implante. En algunas realizaciones, la inflamación asociada con un implante es una inflamación local o una reacción inflamatoria sistémica. En algunas realizaciones, el implante es un implante de silicona, una disolución salina, un metal, un plástico o un polímero. En algunas realizaciones, el implante es un implante cosmético, un implante protésico, un implante subdérmico, un implante transdérmico, un implante de reemplazo óseo o un dispositivo de reparación de fracturas óseas. En algunas realizaciones, el implante es un implante de administración de fármacos o un implante de liberación de fármacos. En otras realizaciones, el implante es una articulación artificial, un corazón artificial, una válvula cardíaca artificial, una prótesis testicular, un implante mamario, un implante dental, un implante ocular, un implante coclear, un implante de pene, un implante cardíaco, un catéter, un dispositivo implantable para la incontinencia urinaria, un marcapasos, un electrodo, un dispositivo de soporte para hernias o un tubo respirador.

35 En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno inflamatorio es hepatitis o esteatohepatitis. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno inflamatorio es la esteatohepatitis no alcohólica (NASH). En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno inflamatorio es glomerulonefritis. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno inflamatorio es la glomeruloesclerosis segmentaria focal (FSGS).

Debido a que la inflamación ejerce influencia sobre el recambio óseo, induciendo osteoporosis, la osteoporosis también es un ejemplo de una enfermedad o trastorno inflamatorio de la presente invención. Por consiguiente, en algunas realizaciones de la invención, la enfermedad o trastorno inflamatorio es osteoporosis.

Métodos para inhibir o prevenir una o más actividades celulares

45 Otras realizaciones se refieren a un inhibidor de MOSPD2 para su uso en métodos para inhibir o prevenir una o más actividades en una célula. En algunas realizaciones, el método comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de MOSPD2 a un sujeto que lo necesite.

50 En algunas realizaciones, el inhibidor de MOSPD2 es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo descrito en la presente memoria. Por ejemplo, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede tener una constante de disociación en equilibrio anticuerpo-antígeno (K_D) de aproximadamente 10^{-6} M a aproximadamente 10^{-12} M, o cualquier rango de valores del mismo (p. ej., de aproximadamente 10^{-7} M a aproximadamente 10^{-12} M, de 10^{-8} M a aproximadamente 10^{-12} M, de aproximadamente 10^{-9} M a aproximadamente 10^{-12} M, de aproximadamente 10^{-10} M a aproximadamente 10^{-12} M, de aproximadamente 10^{-11} M a aproximadamente 10^{-12} M, de aproximadamente 10^{-6} M a aproximadamente 10^{-11} M, de aproximadamente 10^{-7} M a aproximadamente 10^{-11} M, de aproximadamente 10^{-8} M a aproximadamente 10^{-11} M, de aproximadamente 10^{-9} M a aproximadamente 10^{-11} M, de aproximadamente 10^{-10} M a aproximadamente 10^{-11} M, de aproximadamente 10^{-6} M a aproximadamente 10^{-10} M, de aproximadamente 10^{-7} M a aproximadamente 10^{-10} M, de aproximadamente 10^{-8} M a aproximadamente 10^{-10} M, de aproximadamente

10⁻⁹ M a aproximadamente 10⁻¹⁰ M, o de aproximadamente 10⁻⁶ M a aproximadamente 10⁻⁹ M, de aproximadamente 10⁻⁷ a aproximadamente 10⁻⁹, de aproximadamente 10⁻⁸ M a aproximadamente 10⁻⁹ M, de aproximadamente 10⁻⁶ M a aproximadamente 10⁻⁸, o de aproximadamente 10⁻⁷ M a aproximadamente 10⁻⁸ M). En otras realizaciones, el inhibidor de MOSPD2 es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo que tiene una K_D de aproximadamente 10⁻⁶ M, aproximadamente 10⁻⁷ M, aproximadamente 10⁻⁸ M, aproximadamente 10⁻⁹ M, aproximadamente 10⁻¹⁰ M, aproximadamente 10⁻¹¹ M, o aproximadamente 10⁻¹² M. En algunas realizaciones, la K_D se determina mediante análisis de Scatchard, resonancia de plasmón de superficie u otro método descrito en la presente memoria, en algunas realizaciones, a 37 °C.

En algunas realizaciones, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de la invención se unen a MOSPD2 con una K_{asoc} de aproximadamente 10³ 1/Ms a aproximadamente 10⁶ 1/Ms, o cualquier rango de valores de los mismos (p. ej., de aproximadamente 10³ 1/Ms a aproximadamente 10⁵ 1/Ms, de aproximadamente 10⁴ 1/Ms a aproximadamente 10⁵ 1/Ms, de aproximadamente 10⁴ 1/Ms a aproximadamente 10⁶ 1/Ms, de aproximadamente 10⁵ 1/Ms a aproximadamente 10⁶ 1/Ms, o de aproximadamente 10³ 1/Ms a aproximadamente 10⁴ 1/Ms). En otras realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno tiene una K_{asoc} de aproximadamente 10⁻³ 1/Ms, aproximadamente 10⁻⁴ 1/Ms, aproximadamente 10⁻⁵ 1/Ms., o aproximadamente 10⁻⁶ 1/Ms.

En algunas realizaciones, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de la invención se unen a MOSPD2 con una K_{disoc} de aproximadamente 10⁻³ 1/s a aproximadamente 10⁻⁶ 1/s, o cualquier rango de valores de los mismos (p. ej., de aproximadamente 10⁻³ 1/s a aproximadamente 10⁻⁵ 1/s, de aproximadamente 10⁻⁴ 1/s a aproximadamente 10⁻⁵ 1/s, de aproximadamente 10⁻⁴ 1/s a aproximadamente 10⁻⁶ 1/s, de aproximadamente 10⁻⁵ 1/s a aproximadamente 10⁻⁶ 1/s, o de aproximadamente 10⁻³ 1/s a aproximadamente 10⁻⁴ 1/s). En otras realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno tiene una K_{disoc} de aproximadamente 10⁻³ 1/s, aproximadamente 10⁻⁴ 1/s, aproximadamente 10⁻⁵ 1/s, o aproximadamente 10⁻⁶ 1/s.

En algunas realizaciones, el inhibidor de MOSPD2 es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo, y la cantidad terapéuticamente eficaz es de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, o cualquier rango de valores del mismo (p. ej., de aproximadamente 2 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 3 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 4 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 5 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 6 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 7 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 8 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 9 µg/ml a aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 9 µg/ml, de aproximadamente 2 µg/ml a aproximadamente 9 µg/ml, de aproximadamente 3 µg/ml a aproximadamente 9 µg/ml, de aproximadamente 4 µg/ml a aproximadamente 9 µg/ml, de aproximadamente 5 µg/ml a aproximadamente 9 µg/ml, de aproximadamente 6 µg/ml a aproximadamente 9 µg/ml, de aproximadamente 7 µg/ml a aproximadamente 9 µg/ml, de aproximadamente 8 µg/ml a aproximadamente 9 µg/ml, de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 8 µg/ml, de aproximadamente 2 µg/ml a aproximadamente 8 µg/ml, de aproximadamente 3 µg/ml a aproximadamente 8 µg/ml, de aproximadamente 4 µg/ml a aproximadamente 8 µg/ml, de aproximadamente 5 µg/ml a aproximadamente 8 µg/ml, de aproximadamente 6 µg/ml a aproximadamente 8 µg/ml, de aproximadamente 7 µg/ml a aproximadamente 8 µg/ml, de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 7 µg/ml, de aproximadamente 2 µg/ml a aproximadamente 7 µg/ml, de aproximadamente 3 µg/ml a aproximadamente 7 µg/ml, de aproximadamente 4 µg/ml a aproximadamente 7 µg/ml, de aproximadamente 5 µg/ml a aproximadamente 7 µg/ml, de aproximadamente 6 µg/ml a aproximadamente 7 µg/ml, de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 6 µg/ml, de aproximadamente 2 µg/ml a aproximadamente 6 µg/ml, de aproximadamente 3 µg/ml a aproximadamente 6 µg/ml, de aproximadamente 4 µg/ml a aproximadamente 6 µg/ml, de aproximadamente 5 µg/ml a aproximadamente 6 µg/ml, de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 5 µg/ml, de aproximadamente 2 µg/ml a aproximadamente 5 µg/ml, de aproximadamente 3 µg/ml a aproximadamente 5 µg/ml, de aproximadamente 4 µg/ml a aproximadamente 5 µg/ml, de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 4 µg/ml, de aproximadamente 2 µg/ml a aproximadamente 4 µg/ml, de aproximadamente 3 µg/ml a aproximadamente 4 µg/ml, de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 3 µg/ml, de aproximadamente 2 µg/ml a aproximadamente 3 µg/ml, o de aproximadamente 1 µg/ml a aproximadamente 2 µg/ml). En otras realizaciones, el inhibidor de MOSPD2 es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo, y la cantidad terapéuticamente eficaz es aproximadamente 1 µg/ml, aproximadamente 2 µg/ml, aproximadamente 3 µg/ml, aproximadamente 4 µg/ml, aproximadamente 5 µg/ml, aproximadamente 6 µg/ml, aproximadamente 7 µg/ml, aproximadamente 8 µg/ml, aproximadamente 9 µg/ml o aproximadamente 10 µg/ml.

En algunas realizaciones, el inhibidor de MOSPD2 es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo, y la cantidad terapéuticamente eficaz es de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 40 mg/kg, o cualquier rango de valores del mismo (p. ej., de aproximadamente 15 mg/kg a aproximadamente 40 mg/kg, de aproximadamente 20 mg/kg a aproximadamente 40 mg/kg, de aproximadamente 25 mg/kg a aproximadamente 40 mg/kg, de aproximadamente 30 mg/kg a aproximadamente 40 mg/kg, de aproximadamente 35 mg/kg a aproximadamente 40 mg/kg, de aproximadamente 40 mg/kg a aproximadamente 40 mg/kg, de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 35 mg/kg, de aproximadamente 15 mg/kg a aproximadamente 35 mg/kg, de aproximadamente 20 mg/kg a aproximadamente 35 mg/kg, de aproximadamente 25 mg/kg a aproximadamente 35 mg/kg, de aproximadamente 30 mg/kg a aproximadamente 35 mg/kg, de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 30 mg/kg, de aproximadamente 15 mg/kg a aproximadamente 30 mg/kg, de aproximadamente 20 mg/kg a aproximadamente 30 mg/kg, de aproximadamente 25 mg/kg a aproximadamente 30 mg/kg, de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg, de aproximadamente 15 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg, de aproximadamente 20 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg, de

5 aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg, de aproximadamente 15 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg, o de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 15 mg/kg). En otras realizaciones, el inhibidor de MOSPD2 es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo, y la cantidad terapéuticamente eficaz es aproximadamente 10 mg/kg, aproximadamente 15 mg/kg, aproximadamente 20 mg/kg, aproximadamente 25 mg/kg, aproximadamente 30 mg/kg, aproximadamente 35 mg/kg o aproximadamente 40 mg/kg.

10 En algunas realizaciones, el inhibidor de MOSPD2 (p. ej., un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo) provoca al menos aproximadamente un 10 % (p. ej., al menos aproximadamente un 20 %, al menos aproximadamente un 30 %, al menos aproximadamente un 40 %, al menos aproximadamente un 50 %, al menos aproximadamente un 60 %, al menos aproximadamente un 70 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 99 % o superior) de inhibición de una o más actividades de MOSPD2 (p. ej., MOSPD2 humano) (p. ej., expresión de MOSPD2, migración de células inflamatorias (p. ej., migración de leucocitos o monocitos), quimiotaxis (p. ej., quimiotaxis de leucocitos o monocitos), una vía de señalización de quimioquinas, fosforilación del receptor de EGF, fosforilación de ERK, fosforilación de AKT y/o fosforilación de FAK. En algunas realizaciones, la administración del inhibidor de MOSPD2 a un sujeto humano

15 provoca al menos aproximadamente un 10 % (p. ej., al menos aproximadamente un 20 %, al menos aproximadamente un 30 %, al menos aproximadamente un 40 %, al menos aproximadamente un 50 %, al menos aproximadamente un 60 %, al menos aproximadamente un 70 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 99 % o superior) de inhibición de una o más actividades de un MOSPD2 humano.

20 En algunas realizaciones, la una o más actividades es una o más de: expresión de: expresión de MOSPD2, migración de una célula inflamatoria, quimiotaxis, una vía de señalización de quimioquinas, fosforilación de ERK, fosforilación de AKT y/o fosforilación de FAK. En algunas realizaciones, se inhiben al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco o todas estas actividades.

25 En algunas realizaciones, se inhiben al menos la quimiotaxis de leucocitos y una vía de señalización de quimioquinas. En otras realizaciones, la inhibición de una vía de señalización de quimioquinas es la inhibición de la fosforilación de ERK y/o fosforilación de AKT. En otras realizaciones, la quimiotaxis es inducida por más de una quimioquina o receptor de quimioquina.

En algunas realizaciones, la célula inflamatoria es, por ejemplo, un leucocito, granulocito, neutrófilo, basófilo, eosinófilo, monocito, macrófago o mastocito.

30 En otras realizaciones, la quimiotaxis está asociada con una célula inflamatoria tal como un leucocito o un monocito.

En algunas realizaciones, la quimioquina es CCL14, CCL19, CCL20, CCL21, CCL25, CCL27, CXCL12, CXCL13, CXCL-8, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL11, CXCL10, CCL7, CCL8, CCL13, CCL17 o CCL22. En otras realizaciones, la migración o quimiotaxis es inducida por uno o más de RANTES, MCP-3, MCP-1 y SDF-1.

Ejemplos

35 Materiales y métodos

Inhibición de MOSPD2

40 La línea celular monocítica U937 (CRL-1593.2) se obtuvo de la American Type Culture Collection (ATCC) (Manassas, VA). Las células (2×10^6 en 2 ml) se colocaron en un tubo de 15 ml. Se aplicaron a las células partículas de Lenti-virus control (2×10^5 partículas virales) (SHC202V, Sigma, Israel) o partículas de Lenti-virus que contenían ARN-sh MOSPD2 (2×10^6 partículas virales; Sigma), que después se centrifugaron durante 60 min a 2.000 rpm, temperatura ambiente en presencia de 8 $\mu\text{g/ml}$ de polibreno (Sigma). Las secuencias de horquilla de ARNsh artificiales y sus correspondientes secuencias diana en MOSPD2 se proporcionan en las SEQ ID NO: 9-14. A continuación, las células se sembraron en una placa de 6 pocillos en medio RPMI que contenía glutamina, suero de ternero fetal (FCS) al 10 % y penicilina/estreptomina, todos de Biological Industries (Beit Haemek, Israel). Después de 72 horas, se añadió

45 medio fresco que contenía puromicina (4 $\mu\text{g/ml}$, Sigma) para la selección de las células transducidas.

Ensayo de migración celular transwell

50 Para ensayar la migración celular inducida por quimioquinas, se disolvieron RANTES (CCL5, 100 ng/ml), MCP-1 (CCL2, 100 ng/ml), MCP-3 (CCL7, 100 ng/ml) o SDF-1 (CXCL12, 25 ng/ml) (PeproTech, Israel) en medio RPMI-1640 suplementado con suero bovino fetal (FBS) al 0,5 % y se colocaron en la cámara inferior de placas de ensayo de migración QCM de 24 pocillos y 5 mm de poro (Corning-Costar, Corning, Nueva York). Las células U937 (3×10^5) se transdujeron con partículas de Lenti-virus control o se sembraron partículas de Lenti-virus que contenían ARN-sh de MOSPD2 (sh-MOSPD2) en la cámara superior y se incubaron durante 2-4 horas. Posteriormente, se determinó el número de células que migraron al compartimento inferior mediante clasificación de células activada por fluorescencia (FACS).

55

Transferencia Western

Las células U937 transducidas con Lenti-virus sh-control o sh-MOSPD2 (10⁶) se privaron de alimento durante 3 horas en medio RPMI que contenía FCS al 0,5 % (Biological Industries, Beit Haemek, Israel) y luego se activaron con RANTES (100 ng/ml), MIP-1 α (100 ng/ml), MCP-3 (100 ng/ml/ml) o SDF-1 (25 ng/ml) durante 5 minutos. Las células se lavaron y se resuspendieron en tampón de lisis que contenía 1:100 de ditioneitol (DTT), inhibidores de fosfatasa y proteasa (Thermo Scientific). Las muestras se cargaron en un gel Criterion TGX prefabricado (Bio-Rad, Hemel Hempstead, Reino Unido) y se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa. Las transferencias se bloquearon con leche al 5 % o albúmina de suero bovino (BSA) en disolución salina tamponada con Tris y Tween 20 (TBST) durante 1 hora, seguido de incubación con anticuerpos primarios y secundarios. Las membranas se revelaron utilizando un kit ECL (Thermo Scientific). Se utilizaron los siguientes anticuerpos para la inmunotransferencia:

Anticuerpos primarios: los anticuerpos anti-tubulina (1:4.000) y anti-fosfo-quinasa regulada extracelular (p-ERK1/2) (Thr 183 y Tyr 185, 1: 4.000) se adquirieron en Sigma (Israel). Los anticuerpos anti-fosfo-AKT (Ser 473, 1: 1.000) se adquirieron en Cell Signaling. Los anticuerpos anti-proteína de choque térmico 90 (HSP90) (1: 1.000) se adquirieron en Santa Cruz Biotechnology (Dallas, TX).

Anticuerpos secundarios: Los anticuerpos anti-conejo de burro peroxidasa de rábano picante (HRP) (1: 5.000) y anti-ratón de cabra HRP (1: 5.000) se adquirieron en Jackson ImmunoResearch (West Grove, PA).

Q-PCR

Para determinar la inhibición de MOSPD2, se extrajo ARN de células U937 transducidas con partículas de Lenti-virus control o partículas de Lenti-virus que contenían sh-MOSPD2 usando un mini kit RNeasy (Qiagen, Valencia, CA). Para la preparación del ADNc, se combinaron 2 μ g de ARN con una mezcla de reacción qScript y transcriptasa inversa qScript (Quanta Bioscience, Gaithersburg, MD). La reacción se colocó en un termociclador (BioRad, Hercules, CA) y se estableció un programa de ejecución de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las reacciones de PCR en tiempo real se realizaron en un sistema de PCR en tiempo real 7300 de Applied Biosystems (Grand Island, NY) utilizando conjuntos de cebadores para MOSPD2 humano, 28S para normalizar los niveles de ARN (Biosearch Technologies, Petaluma, CA) y mezcla maestra de PCR SYBR Green (Applied Biosystems, Warrington, Reino Unido).

Transfección de MOSPD2

Se transfectaron células HEK293 durante 48 horas con plásmido vacío o plásmido que codifica MOSPD2 humano etiquetado con hemaglutinina (HA) usando reactivo de transfección jetPRIME (Polyplus transfection, Francia). La eficacia de la transfección se determinó mediante citometría de flujo utilizando anticuerpo anti-HA-PE (milenyi Biotec, Alemania).

Aislamiento de monocitos humanos

Se obtuvieron muestras de sangre venosa de donantes varones sanos de conformidad con la Junta de Revisión Institucional del Centro Médico Sheba, Ramat Gan, Israel. Se aislaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) en Ficoll-Paque PLUS (GE Healthcare, Suecia) utilizando tubos Leucosep de 50 ml (Greiner Bio-One, Alemania). Las células se lavaron en disolución salina tamponada con fosfato (PBS) (Beit Haemek, Israel) y se incubaron a 4 °C durante 15 min en un tampón que contenía PBS y albúmina de suero bovino (BSA) al 0,5 % con microperlas de CD14 humana (Milenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Alemania).

Fraccionamiento subcelular

El fraccionamiento de los compartimentos celulares se realizó utilizando el kit de fraccionamiento de proteínas subcelulares (Thermo Fisher Scientific) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Proliferación celular

Las células U937 transducidas con partículas de Lenti-virus control o partículas de Lenti-virus que contenían sh-MOSPD2 se sembraron en placas de 6 pocillos (10⁴ por pocillo) en medio RPMI que contenía glutamina, FCS al 10 % y penicilina/estreptomocina, todos de Biological Industries (Beit Haemek, Israel). Las células se contaron mediante FACS cada 24 horas en pocillos por triplicado durante 3 días consecutivos.

Ejemplo 1

Migración de monocitos inducida por MOSPD2 y quimioquinas

Para evaluar el papel de MOSPD2 en la migración de monocitos, la expresión de MOSPD2 se silenció en células U937 como se describe en la sección Materiales y Métodos utilizando partículas de Lenti-virus que contenían sh-ARN dirigido contra tres regiones diferentes del ARNm de MOSPD2 (sh-MOSPD2). La expresión del ARNm de MOSPD2 en las células se evaluó usando PCR cuantitativa (Q-PCR) y se normalizó respecto a la expresión de β -actina como control. La Figura 1 muestra que todos los sh-MOSPD2 ensayados redujeron profundamente los niveles de expresión del ARNm de MOSPD2 humano. Las células U937 transducidas con partículas de Lenti-virus control o con partículas de Lenti-virus sh-MOSPD2 se ensayaron entonces para determinar la migración hacia la quimioquina, RANTES, usando

un ensayo de migración transwell. Las Figuras 2 y 3 muestran que la migración celular inducida por RANTES se inhibió significativamente en las células transducidas con sh-MOSPD2 en comparación con las células en las que MOSPD2 no estaba silenciado.

Ejemplo 2

5 MOSPD2, fosforilación de ERK y fosforilación de AKT

El efecto de la inhibición de MOSPD2 sobre la activación de las vías de señalización inducidas por quimioquinas se determinó ensayando los efectos de la inhibición de MOSPD2 sobre la fosforilación de ERK y AKT. Las células U937 transducidas con partículas de Lenti-virus control o partículas de Lenti-virus sh-MOSPD2 se trataron con RANTES durante 2 o 5 minutos y luego se analizaron mediante transferencia Western para ERK y AKT fosforilados. Se usó la proteína de choque térmico 90 (HSP90) como control de carga. La Figura 4 muestra que la inhibición de MOSPD2 abolió casi por completo la fosforilación de ERK y AKT inducida por RANTES.

Ejemplo 3

MOSPD2 y señalización dirigida por receptores de quimioquinas

También se ensayó el efecto de la inhibición de MOSPD2 sobre otras quimioquinas. Se ensayaron las células U937 transducidas con partículas de Lenti-virus control o partículas de Lenti-virus sh-MOSPD2 para determinar la migración hacia MCP-3, MCP-1, RANTES y SDF-1 en un ensayo transwell y para determinar los niveles de ERK y AKT fosforilados mediante transferencia western. La Figura 5 muestra que la inhibición de MOSPD2 inhibió significativamente la migración celular inducida por todas las quimioquinas ensayadas. Además, la Figura 6 muestra que la inhibición de MOSPD2 abolió casi por completo la fosforilación de ERK y AKT inducida por todas las quimioquinas ensayadas. Como tales, los efectos de la inhibición de MOSPD2 sobre la migración y la señalización no se limitan a una única vía de quimioquina o de receptor de quimioquina.

Ejemplo 4

MOSPD2 y proliferación de células U937

También se ensayó el efecto de la inhibición de MOSPD2 sobre la proliferación de células U937. Se sembraron células U937 transducidas con partículas de Lenti-virus control o partículas de Lenti-virus sh-MOSPD2 como se describe en los Métodos y Materiales y se contaron cada 24 horas durante tres días consecutivos. La Figura 7 muestra que la inhibición de MOSPD2 no afectó la proliferación de U937, lo que sugiere que los efectos de la inhibición de MOSPD2 sobre la migración y la señalización se producen por inhibición de procesos intracelulares aguas abajo de los receptores de quimioquinas, y no inhibiendo la actividad de los monocitos en general.

30 Ejemplo 5

Anticuerpos anti-MOSPD2

Se generaron anticuerpos policlonales anti-MOSPD2 de acuerdo con los siguientes métodos.

Materiales y métodos

Producción y purificación de MOSPD2 humano recombinante etiquetado con hemaglutinina (HA) (HA-rhMOSPD2)

35 Se insertó ADNc de MOSPD2 humano de longitud completa, usando sitios de restricción EcoRI y XbaI, en el vector plasmídico de lentivirus pLVX-EF1 α -IRES-Puro (Clontech, CA). El oligonucleótido que codifica la etiqueta HA (YPYDVPDYA; SEQ ID NO: 15) se insertó en la región N-terminal de MOSPD2 con sitios de restricción EcoRI. Para la transducción, se centrifugaron células de melanoma A2058 (ATCC CRL-11147, VA) durante 60 minutos a 2.000 rpm a temperatura ambiente en presencia de 8 μ g/ml de polibreno (Sigma, Israel) y partículas lentivirales que contenían el vector que expresa HA-rhMOSPD2. A continuación, las células se sembraron en una placa de 6 pocillos. Después de 72 horas, se añadió medio fresco que contenía puomicina (4 μ g/ml, Sigma, Israel) para la selección de las células transducidas. Para purificar HA-rhMOSPD2, se lisaron las células transducidas A2058 con reactivo de extracción de proteína de mamífero M-PER (Thermo Scientific) y se pasaron a través de perlas de agarosa anti-HA (Thermo Scientific). Se utilizó glicina o tiocianato de sodio para la elución de HA-rhMOSPD2 de las perlas, seguido de una diálisis exhaustiva frente a PBS.

Generación y aislamiento de anticuerpos policlonales de α -MOSPD2

Se inmunizaron conejos con aproximadamente 0,5 mg de HA-rhMOSPD2 emulsionado en adyuvante completo de Freund seguido de tres refuerzos cada tres semanas con aproximadamente 0,25 mg de HA-rhMOSPD2 emulsionado en adyuvante incompleto de Freund. Se recogió suero una semana después de cada refuerzo para evaluar la inmunogenicidad y las titulaciones de los anticuerpos. Los anticuerpos de α -MOSPD2 se aislaron del suero usando perlas de proteína A/G (SantaCruz, CA).

Resultados

Los anticuerpos policlonales de α -MOSPD2 de conejo detectan y precipitan MOSPD2 humano endógeno

5 Los anticuerpos policlonales de α -MOSPD2 aislados se evaluaron para determinar su capacidad para detectar y precipitar MOSPD2 endógeno. El lisado celular se preparó a partir de células U937 transducidas con partículas de Lenti-virus control o sh-MOSPD2. Las muestras se analizaron mediante transferencia Western usando los anticuerpos de α -MOSPD2 aislados (diluidos 1:5.000). La expresión de HSP90 se determinó como control de carga. La inmunoprecipitación del lisado de células U397 también se realizó usando los anticuerpos de α -MOSPD2 aislados o IgG de conejo (10 μ g) como control. Los precipitados resultantes se analizaron mediante inmunotransferencia con los anticuerpos de α -MOSPD2 aislados, seguido de incubación con anticuerpo de cabra anti-conejo-HRP (1:5.000). La Figura 8 muestra que los anticuerpos de α -MOSPD2 aislados detectan fácilmente (Figura 8A) e inmunoprecipitan (Figura 8B) MOSPD2 expresado endógenamente en células U937.

Ejemplo 6

Localización subcelular de MOSPD2

15 La localización subcelular de MOSPD2 se estudió utilizando células HEK293, que se transfectaron con plásmidos vacíos o con MOSPD2 humano etiquetado con HA como se describe en los Métodos y Materiales. A continuación, las células HEK293 se tiñeron con anticuerpo anti-HA en condiciones que solo permiten la tinción de la superficie (sin detergentes). La FIG. 9 muestra que las células transfectadas con el plásmido de MOSPD2 etiquetado con HA expresaron la proteína en la membrana plasmática celular. Para determinar si el MOSPD2 endógeno también se puede localizar en la membrana celular, se aislaron fracciones subcelulares de monocitos CD14 humanos primarios y se ensayaron para determinar la presencia de MOSPD2 (véanse los Métodos y Materiales). Los resultados de la FIG. 10 muestran que MOSPD2 se encuentra en la membrana y no en la fracción citoplásmica. Se utilizaron anticuerpos de ERK y de MHC de Clase I para demostrar la pureza de las fracciones citoplásmica y de membrana, respectivamente.

Ejemplo 7

VB-201 inhibe MOSPD2

25 Marcaje de VB-201 y VB-221

30 VB-201 y VB-221 se marcaron con biotina como sigue. VB-201, VB-221 y ovoalbúmina (OVA, Sigma, Israel) se disolvieron en tampón MES 0,1 M (Thermo Scientific, Rockford, IL) y se conjugaron usando EDC [1-etil-3-(dimetilaminopropil) carbodiimida HCL] (Thermo Scientific) en una relación molar de 100 (VB-201/VB-221):1 (OVA):240 (EDC) durante 2-3 h a temperatura ambiente. Después de esto, las muestras se transfirieron a casetes de diálisis de 10 kDa (Thermo Scientific) y se dializaron toda la noche frente a PBS. Se conjugaron entonces VB-201 (OB201) y VB-221 (OB221) con ovoalbúmina unida con amina-PEG2-biotina (en tampón MES 0,1 M) usando EDC en una relación molar de 1 (OB201/OB221):100 (amina-PEG2-biotina):700 (EDC). Se dejó que la reacción prosiguiera durante 2-3 h a temperatura ambiente, después de lo cual las muestras se transfirieron de nuevo a un casete de diálisis de 10 kDa y se dializaron toda la noche frente a PBS.

35 Especificidad de unión a la superficie celular de VB-201 y VB-221 por citometría de flujo

Se usó estreptavidina-APC (eBioscience, San Diego, CA) para detectar la unión de VB-201 o VB-221 marcados en experimentos de citometría de flujo.

Precipitación

40 Las células se lisaron usando un tampón de lisis NP-40 al 1 % que contenía inhibidores de proteasa y fosfatasa 1:100, seguido de 20 min de incubación en hielo y 15 min de centrifugación a velocidad máxima. Las muestras se incubaron toda la noche a 4 °C con disolvente, OB201 u OB221 en un rotador. Se añadieron perlas de estreptavidina agarosa (Sigma, Israel) durante 2 horas. La elución de proteínas se realizó con tampón de lisis sin DTT durante 10 min a temperatura ambiente. La carga de la muestra, la transferencia y la inmunotransferencia se realizaron como se ha descrito anteriormente.

45 Resultados

VB-201 se une a MOSPD2 expresado en la superficie

50 Anteriormente, se ha mostrado que VB-201 inhibe la migración de monocitos *in vitro* e *in vivo*. Sin embargo, VB-221, un derivado de VB-201, no inhibió la señalización ni la migración inducidas por quimioquinas en monocitos humanos. Usando VB-201 y VB-221 marcados, se precipitaron proteínas de monocitos humanos y se estudió la presentación diferencial por espectrometría de masa. Los resultados de la espectrometría de masa revelaron que MOSPD2 tiene una fuerte unión a VB-201 pero no a VB-221.

Para validar aún más estos resultados, se emplearon VB-201 y VB-221 marcados en lisados celulares de monocitos

CD14 humanos. A continuación, las muestras se ensayaron con anti MOSPD2 y TLR2. Mientras que VB-201 y VB-221 precipitaron TLR2 en una intensidad comparable, VB-201 precipitó MOSPD2 de forma marcadamente más intensa que VB-221 (Figura 11). Estos resultados también indican que VB-201 se une a MOSPD2.

5 También se realizaron estudios para evaluar si VB-201 puede unirse a MOSPD2 en su forma nativa, cuando se expresa en la superficie celular. Por tanto, las células HEK293 se transfectaron con un plásmido que codificaba MOSPD2 humano etiquetado con HA y luego se tiñeron con VB-201 o VB-221 marcado. La FIG. 12 muestra una tinción profunda de VB-201 marcado en células que expresan MOSPD2 (positivas para HA), mientras que solo se detectó una tinción débil con VB-221 marcado. En conjunto, estos resultados muestran que VB-201 puede unirse a MOSPD2 humano expresado en la superficie celular.

10 Ejemplo 8

Generación de anticuerpos monoclonales (Fab')₂ anti-MOSPD2

Los anticuerpos monoclonales (mAb) (Fab')₂ anti-MOSPD2 se obtuvieron usando la plataforma HuCAL PLATINUM® (Bio-Rad AbD Serotec, GmnH) que contiene una selección de Fab humanos presentados en fagos.

15 Brevemente, la proteína recombinante de la región extracelular de MOSPD2 fusionada a Fc humano se inmovilizó sobre un soporte sólido. La biblioteca de HuCAL® presentada en partículas de fagos se incubó con el antígeno inmovilizado. Los anticuerpos inespecíficos se eliminaron mediante un lavado exhaustivo y los fagos de anticuerpos específicos se eluyeron añadiendo un agente reductor. El ADN del anticuerpo se aisló como un conjunto y se subclonó en un vector de expresión de *E. coli* para generar mAb F(ab')₂ bivalentes. Las colonias se recogieron y se cultivaron en una placa de microtitulación. Los cultivos se lisaron para liberar las moléculas de anticuerpo y se cribaron para
20 determinar la unión de antígenos específicos mediante ELISA y FACS. Los anticuerpos únicos se expresaron y purificaron usando cromatografía de afinidad de una etapa, y luego se volvieron a ensayar mediante ELISA y FACS para determinar su especificidad.

25 La FIG. 13 lista 17 clones de anticuerpos monoclonales F(ab')₂ anti-MOSPD2 que se identificaron después de un cribado primario para determinar la unión a células que sobreexpresan MOSPD2. Un análisis adicional de los clones para determinar la unión de MOSPD2 con ELISA identificó 12 clones que tenían valores superiores a 5 veces sobre el fondo (* en la FIG. 13).

Ejemplo 9

El mAb F(ab')₂ anti-MOSPD2 se une a MOSPD2 humano sobreexpresado en células

30 Se transfectaron células de melanoma A2058 con MOSPD2 humano etiquetado con HA para generar células que sobreexpresan MOSPD2.

35 La unión de los 12 clones de anticuerpos identificados en el Ejemplo 8 a MOSPD2 se ensayó entonces usando citometría de flujo con estas células. Específicamente, se incubaron 10⁵ células con 2,5 µg de mAb F(ab')₂ a 4 °C durante 1 h en 100 µl de tampón FACS (PBS + FCS al 2 % + azida sódica al 0,02 %). Después, las células se lavaron, se resuspendieron en tampón FACS y se tiñeron durante 30 min a 4 °C con F(ab')₂ anti-IgG humana de cabra conjugado con Alexa-Fluor 647, F(ab')₂ 1:200 (no. de Cat 109-606-097, Jackson Immunoresearch, PA). Las células se lavaron, se resuspendieron en tampón FACS y se analizaron en un dispositivo FACS-Calibur.

Todos los clones tiñeron positivamente las células. La tinción representativa para 2 clones se muestra en las FIG. 14A-14B. Un clon que no se identificó como un clon positivo en el Ejemplo 8 con ELISA se usó como control negativo.

Ejemplo 10

40 Definición de la especificidad de la expresión celular y la localización de MOSPD2

45 El análisis de diferentes subpoblaciones de células inmunes indicó que MOSPD2 se expresa predominantemente en monocitos CD14+ sobre linfocitos T y B (FIG. 15A). Para determinar el nivel de expresión del ARNm de MOSPD2, se extrajo ARN de las células usando el mini kit RNeasy (Qiagen, ValenVBa, CA). Para la preparación del ADNc, se combinaron 2 µg de ARN con una mezcla de reacción qScript y transcriptasa inversa qScript (Quanta Bioscience, Gaithersburg, MD). La reacción se colocó en un termociclador (BioRad, Hercules, CA) y se programó un ciclo de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las reacciones de PCR en tiempo real se realizaron en un sistema de PCR en tiempo real 7300 de Applied Biosystems (Grand Island, NY) utilizando conjuntos de cebadores para MOSPD2 humano, 28S para normalizar los niveles de ARN (BIOSEARCH TECHNOLOGIES, Petaluma, CA) y mezcla maestra de PCR SYBR Green (Applied Biosystems, Warrington, Reino Unido).

50 Se predice que MOSPD2 es una proteína de la membrana plasmática con una región transmembrana y una cola intracelular de residuo largo. El fraccionamiento de los compartimentos celulares y la tinción por inmunofluorescencia de monocitos humanos y la citometría de flujo en células HEK 293 transfectadas para sobreexpresar MOSPD2 etiquetado con HA (realizado de acuerdo con los métodos descritos anteriormente) revelaron que MOSPD2 es una proteína de la superficie celular que se expresa en la membrana plasmática de monocitos humanos (FIG. 15B-15D,

respectivamente).

Ejemplo 11

MOSPD2 se expresa en monocitos infiltrados en tejidos inflamados

Los tejidos fijados con formalina se deshidrataron, se incluyeron en parafina y se seccionaron a 4 μ m. La inmunotinción se calibró completamente en un módulo de tinción Benchmark XT (Ventana Medical Systems). Después de desparafinar y rehidratar las secciones, se añadió anti-CD163 (Cell Marque, Rocklin, EE. UU., MRQ-26) o anti-MOSPD2 a 1:80 y 1:100, respectivamente, durante 40 minutos. La tinción con anti-CD163 se detectó utilizando el kit de detección de rojo de fosfatasa alcalina universal UltraView (Ventana Medical Systems, 760-501) y la tinción con anti-MOSPD2 se detectó utilizando el kit de detección de DAB universal UltraView (Ventana Medical Systems, 760-500). Cuando se aplicó la tinción doble, primero se realizó la tinción de MOSPD2 seguida de la tinción de CD163. Los portaobjetos se contratiñeron con hematoxilina (Ventana Medical Systems). Después de que se completó la ejecución en el teñidor automático, los portaobjetos se deshidrataron consecutivamente en etanol al 70 %, etanol al 95 % y etanol al 100 % durante 10 segundos cada uno. Antes de deslizar el cubreobjetos, las secciones se aclararon en xileno durante 10 segundos y se montaron con Entellan. Los portaobjetos teñidos para MOSPD2 y CD163 se visualizaron utilizando un microscopio Olympus BX51. Las imágenes se tomaron usando una cámara de visión digital Nikon y el software NIS Elements Imaging.

Como se muestra en las FIG. 16A-16C, MOSPD2 se expresa en monocitos infiltrados en una variedad de tejidos inflamados. La FIG. 16A muestra la tinción de la membrana sinovial de un paciente con artritis reumatoide para CD163, MOSPD2 o tanto CD163 como MOSPD2. La FIG. 16B muestra la tinción del tejido carotídeo aterosclerótico para CD163, MOSPD2 o tanto CD163 como MOSPD2. La FIG. 16C muestra la tinción del tejido mamario de carcinoma ductal infiltrante para MOSPD2. Las flechas oscuras indican tinción positiva para células tumorales. Las flechas claras indican la tinción de los monocitos infiltrantes.

Ejemplo 12

MOSPD2 no afecta la activación inducida por IFN-gamma o la activación mediada por PKC

La selección de MOSPD2 no comprometió las funciones biológicas de los monocitos además de la migración. Se transdujeron células de la línea monocítica U937 con partículas virales sh-lenti control o sh-lenti MOSPD2 como se ha descrito anteriormente y se trataron con IFN-gamma o con PMA. El análisis por transferencia Western de las células tratadas mostró que el silenciamiento de MOSPD2 no alteraba la fosforilación de los marcadores de señalización aguas abajo por IFN-gamma o PMA (FIG. 17A y 17B, respectivamente). Estos resultados sugieren que MOSPD2 promueve específicamente la migración de monocitos.

Ejemplo 13

Mapeo de epítomos de anticuerpos anti-MOSPD2

Para determinar el o los epítomos a los que los anticuerpos anti-MOSPD2 pueden unirse específicamente en MOSPD2 humano, se miden las afinidades de unión a varios fragmentos de MOSPD2 humano, como se describe en la presente memoria, mediante la captura de fragmentos de MOSPD2 biotinilados N-terminalmente a través de una estreptavidina (SA) preinmovilizada en un chip SA y midiendo la cinética de unión de los anticuerpos anti-MOSPD2 titulados a través de la superficie de MOSPD2 (el sistema de resonancia de plasmón de superficie (SPR) BIAcore@3000™, Biacore, Inc., Piscataway NJ). Los ensayos BIAcore se realizan en tampón de ejecución HBS-EP (HEPES 10 mM pH 7,4, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, polisorbato P20 al 0,005 % v/v). Las superficies de MOSPD2 se preparan diluyendo el MOSPD2 N-biotinilado a una concentración de menos de 0,001 mg/ml en tampón HBS-EP e inyectándolo a través del chip sensor SA utilizando tiempos de contacto variables. Se usan superficies de baja capacidad, correspondientes a niveles de captura <50 unidades de respuesta (RU) para estudios cinéticos de alta resolución, mientras que se usan superficies de alta capacidad (aproximadamente 800 RU de MOSPD2 capturado) para estudios de concentración, cribado y determinaciones de afinidad en disolución.

Los datos cinéticos se obtienen diluyendo el anticuerpo G1 Fab de forma seriada en incrementos de dos o tres veces hasta concentraciones que abarcan 1 μ M-0,1 nM (con el objetivo de 0,1-10 veces la K_d estimada). Las muestras se inyectan típicamente durante 1 minuto a 100 μ L/min y se permiten tiempos de disociación de al menos 10 minutos. Después de cada ciclo de unión, las superficies se regeneran con NaOH 25 mM en etanol al 25 % v/v, que se tolera durante cientos de ciclos. Una serie de titulación completa (generada típicamente por duplicado) se ajusta globalmente a un modelo de unión de Langmuir 1:1 utilizando el programa BIAevaluation. Esto devuelve un par único de constantes de velocidad cinética de asociación y disociación (respectivamente, K_{asoc} y K_{disoc}) para cada interacción de unión, cuya relación proporciona la constante de disociación en equilibrio (K_D= K_{disoc}/ K_{asoc}).

Los anticuerpos anti-MOSPD2 pueden unirse específicamente a una o más de las siguientes regiones de aminoácidos de MOSPD2 humano, numeradas según la SEQ ID NO: 1 (residuos de aminoácidos 1-518): 508-517, 501-514, 233-241, 509-517, 212-221, 13-24, 505-517, 505-514, 89-100, 506-517, 233-245, 504-514, 128-136, 218-226, 15-24, 83-96, 42-50, 462-474, 340-351, 504-517, 462-470, 327-337, 21-32, 217-226, 510-517, 178-190, 497-509, 504-516, 64-

77, 504-515, 147-159, 503-315, 88-97, 208-218, 178-191, 502-515, 503-516, 497-505, 500-509, 189-202, 189- 197, 505-516, 1-63, 82-239, 93-234, 327-445, 327-431 y 497-517.

Ejemplo 14

Anticuerpos anti-MOSPD2 adicionales

- 5 Se generan anticuerpos anti-MOSPD2 adicionales que reconocen uno o más epítomos de MOSPD2, siguiendo la metodología descrita en el Ejemplo 5 (anticuerpos policlonales) o el Ejemplo 8 (anticuerpos monoclonales).

10 Brevemente, porciones de MOSPD2 identificadas en el Ejemplo 14 como epítomos de MOSPD2 se fusionan con Fc humano y se inmovilizan en un soporte sólido. Una biblioteca HuCAL® (Plataforma HuCAL PLATINUM®; Bio-Rad AbD Serotec, GmnH) presentada en partículas de fagos se incuba con el antígeno inmovilizado. Los anticuerpos inespecíficos se eliminan mediante un lavado exhaustivo y los fagos de anticuerpos específicos se eluyen mediante la adición de un agente reductor. El ADN del anticuerpo se aísla como un conjunto y se subclona en un vector de expresión de *E. coli* para generar mAb F(ab')₂ bivalentes. Las colonias se recogen y se cultivan en una placa de microtitulación. Los cultivos se lisan para liberar las moléculas de anticuerpo y se criban para determinar la unión de antígenos específicos mediante ELISA y FACS. Los anticuerpos únicos se expresan y purifican mediante cromatografía de afinidad de una etapa, y después se vuelven a analizar mediante ELISA y FACS para determinar su especificidad.

15

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo anti- proteína 2 que contiene el dominio de esperma móvil (MOSPD2) o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad o trastorno inflamatorio, en donde el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno inhibe la migración de células inflamatorias.
- 5 2. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según la reivindicación 1, en donde el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.
3. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según la reivindicación 1 o 2, en donde el anticuerpo es humano o humanizado.
- 10 4. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el fragmento de unión a antígeno es un fragmento Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, scFv, sdFv, dominio VH o dominio VL.
5. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo se une específicamente a un polipéptido que tiene una secuencia de SEQ ID NO: 1.
- 15 6. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo se une específicamente a un polipéptido que tiene una secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NO: 2-4.
- 20 7. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une a MOSPD2 con una afinidad de unión (K_D) de aproximadamente 10⁻⁶ M a aproximadamente 10⁻¹² M.
- 25 8. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde la enfermedad o trastorno inflamatorio es una enfermedad o trastorno inflamatorio idiopático, una enfermedad o trastorno inflamatorio crónico, una enfermedad o trastorno inflamatorio agudo, una enfermedad o trastorno autoinmune, una enfermedad o trastorno infeccioso, una enfermedad o trastorno inflamatorio maligno, una enfermedad o trastorno inflamatorio relacionado con el trasplante, una enfermedad o trastorno inflamatorio degenerativo, una enfermedad o trastorno asociado con hipersensibilidad, una enfermedad o trastorno inflamatorio cardiovascular, una enfermedad o trastorno inflamatorio cerebrovascular, una enfermedad o trastorno vascular periférico, una enfermedad o trastorno inflamatorio glandular, una enfermedad o trastorno inflamatorio gastrointestinal, una enfermedad o trastorno inflamatorio cutáneo, una enfermedad o trastorno inflamatorio hepático, una enfermedad o trastorno inflamatorio neurológico, una enfermedad o trastorno inflamatorio músculo-esquelético, una enfermedad o trastorno inflamatorio renal, una enfermedad o trastorno inflamatorio de la reproducción, una enfermedad o trastorno inflamatorio sistémico, una enfermedad o trastorno inflamatorio del tejido conectivo, necrosis, una enfermedad o trastorno inflamatorio relacionado con implantes, un proceso inflamatorio de envejecimiento, una enfermedad o trastorno de inmunodeficiencia, o una enfermedad o trastorno inflamatorio pulmonar.
- 30 9. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según la reivindicación 8, en donde la enfermedad o trastorno inflamatorio cardiovascular es una enfermedad o trastorno oclusivo, aterosclerosis, una enfermedad valvular cardíaca, estenosis, restenosis, estenosis en *stent*, infarto de miocardio, enfermedad arterial coronaria, síndromes coronarios agudos, insuficiencia cardíaca congestiva, angina de pecho, isquemia miocárdica, trombosis, granulomatosis de Wegener, arteritis de Takayasu, síndrome de Kawasaki, enfermedad o trastorno autoinmune antifactor VIII, vasculitis necrotizante de vasos pequeños, poliangeítis microscópica, síndrome de Churg y Strauss, glomerulonefritis necrotizante focal pauciinmune, glomerulonefritis semilunar, síndrome antifosfolípido, insuficiencia cardíaca inducida por anticuerpos, púrpura trombocitopénica, anemia hemolítica autoinmune, autoinmunidad cardíaca, enfermedad o trastorno de Chagas o autoinmunidad antilinfocitos T auxiliares.
- 35 40 10. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según la reivindicación 8, en donde la enfermedad o trastorno inflamatorio cerebrovascular es accidente cerebrovascular, inflamación cerebrovascular, hemorragia cerebral o insuficiencia arterial vertebral.
- 45 11. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según la reivindicación 8, en donde la enfermedad o trastorno vascular periférico es gangrena, vasculopatía diabética, enfermedad intestinal isquémica, trombosis, retinopatía diabética o nefropatía diabética.
- 50 55 12. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según la reivindicación 8, en donde la enfermedad o trastorno autoinmune es artritis reumatoide crónica, artritis reumatoide juvenil, lupus eritematoso sistémico, esclerodermia, enfermedad mixta del tejido conectivo, poliarteritis nodosa, polimiositis/dermatomiositis, síndrome de Sjogren, enfermedad de Bechet, esclerosis múltiple, diabetes autoinmune, enfermedad de Hashimoto, psoriasis, mixedema primario, anemia perniciosa, miastenia grave, hepatitis crónica activa, anemia hemolítica autoinmune, púrpura trombocitopénica idiopática, uveítis, vasculitis o trombocitopenia inducida por heparina.

- 5 13. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según la reivindicación 8, en donde la enfermedad o trastorno inflamatorio glandular es una enfermedad o trastorno pancreático, diabetes de Tipo I, enfermedad o trastorno de la tiroides, enfermedad o trastorno de Graves, tiroiditis, tiroiditis espontánea autoinmune, tiroiditis de Hashimoto, mixedema idiopático, autoinmunidad ovárica, infertilidad autoinmune antiesperma, prostatitis autoinmune o síndrome poliglandular autoinmune de Tipo I.
- 10 14. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según la reivindicación 8, en donde la enfermedad o trastorno inflamatorio gastrointestinal es colitis, ileítis, enfermedad de Crohn, enfermedad intestinal inflamatoria crónica, síndrome inflamatorio intestinal, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad celíaca, colitis ulcerosa, una úlcera, una úlcera cutánea, una úlcera de decúbito, una úlcera gástrica, una úlcera péptica, una úlcera bucal, una úlcera nasofaríngea, una úlcera esofágica, una úlcera duodenal o una úlcera gastrointestinal.
- 15 15. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según la reivindicación 8, en donde la enfermedad o trastorno inflamatorio hepático es hepatitis autoinmune, cirrosis hepática o cirrosis biliar.
- 20 16. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según la reivindicación 8, en donde la enfermedad o trastorno inflamatorio neurológico es esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, miastenia grave, neuropatía motora, síndrome de Guillain-Barré, neuropatía autoinmune, síndrome miasténico de Lambert-Eaton, enfermedad o trastorno neurológico paraneoplásico, atrofia cerebelosa paraneoplásica, síndrome del hombre rígido no paraneoplásico, atrofia cerebelosa progresiva, encefalitis de Rasmussen, esclerosis lateral amiotrófica, corea de Sydeham, síndrome de Gilles de la Tourette, poliendocrinopatía autoinmune, neuropatía disimmune, neuromiotonía adquirida, artrogriposis múltiple, enfermedad de Huntington, demencia asociada al SIDA, accidente cerebrovascular, una enfermedad o trastorno inflamatorio de la retina, una enfermedad o trastorno inflamatorio ocular, neuritis óptica, encefalopatía espongiiforme, migraña, dolor de cabeza, dolor de cabeza en racimo o síndrome del hombre rígido.
- 25 17. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según la reivindicación 8, en donde la enfermedad o trastorno inflamatorio pulmonar es asma, asma alérgico, enfisema, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, sarcoidosis o bronquitis.
- 30 18. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde la enfermedad o trastorno inflamatorio es fibrosis.
19. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde la enfermedad o trastorno inflamatorio es esteatohepatitis, esteatohepatitis no alcohólica (NASH), glomerulonefritis o glomeruloesclerosis focal y segmentaria (FSGS).
20. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde la enfermedad o trastorno inflamatorio es una enfermedad o trastorno inflamatorio renal.
21. El anticuerpo anti-MOSPD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-20, en donde el uso es en un ser humano.

FIG. 1

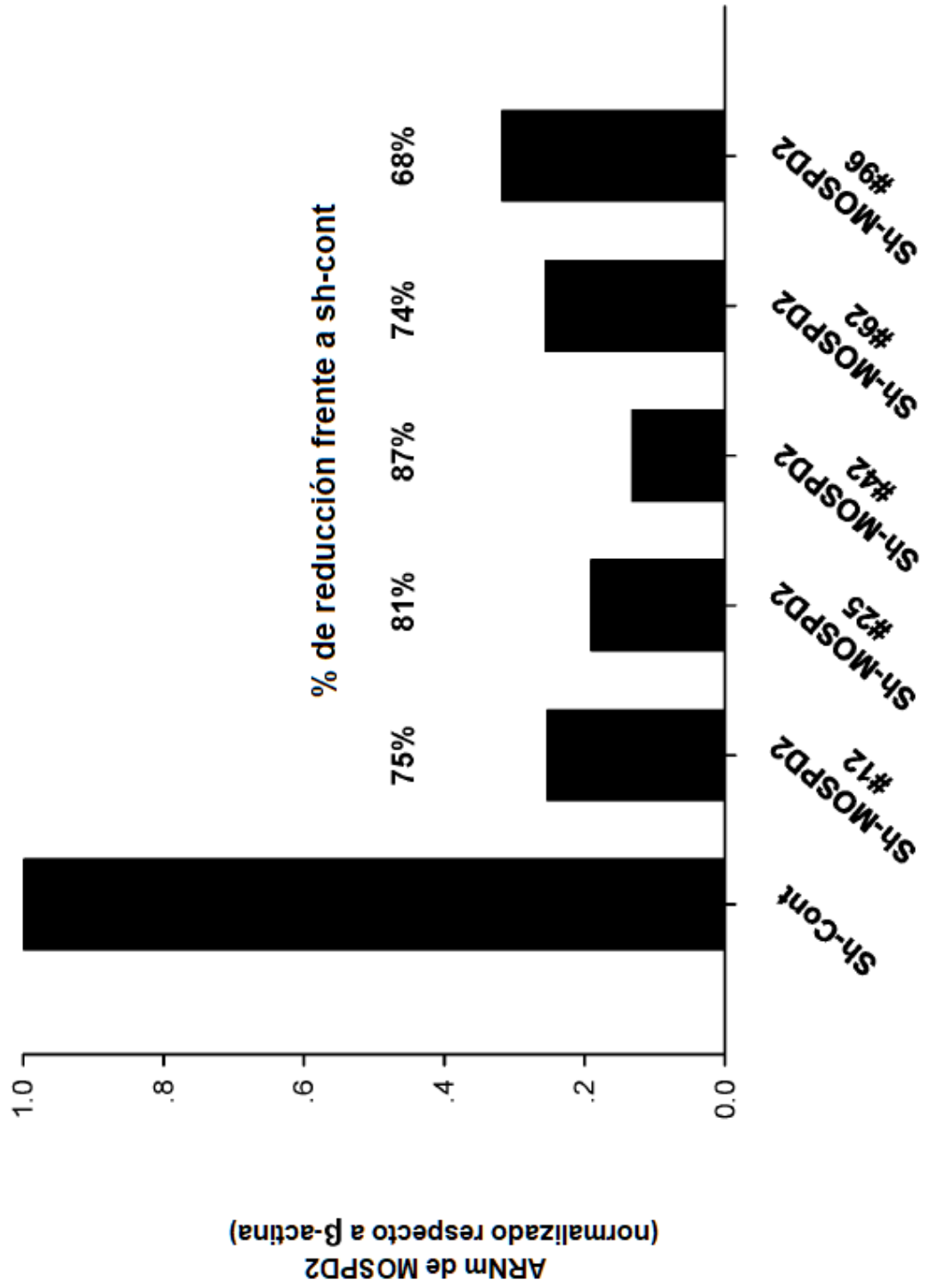


FIG. 2

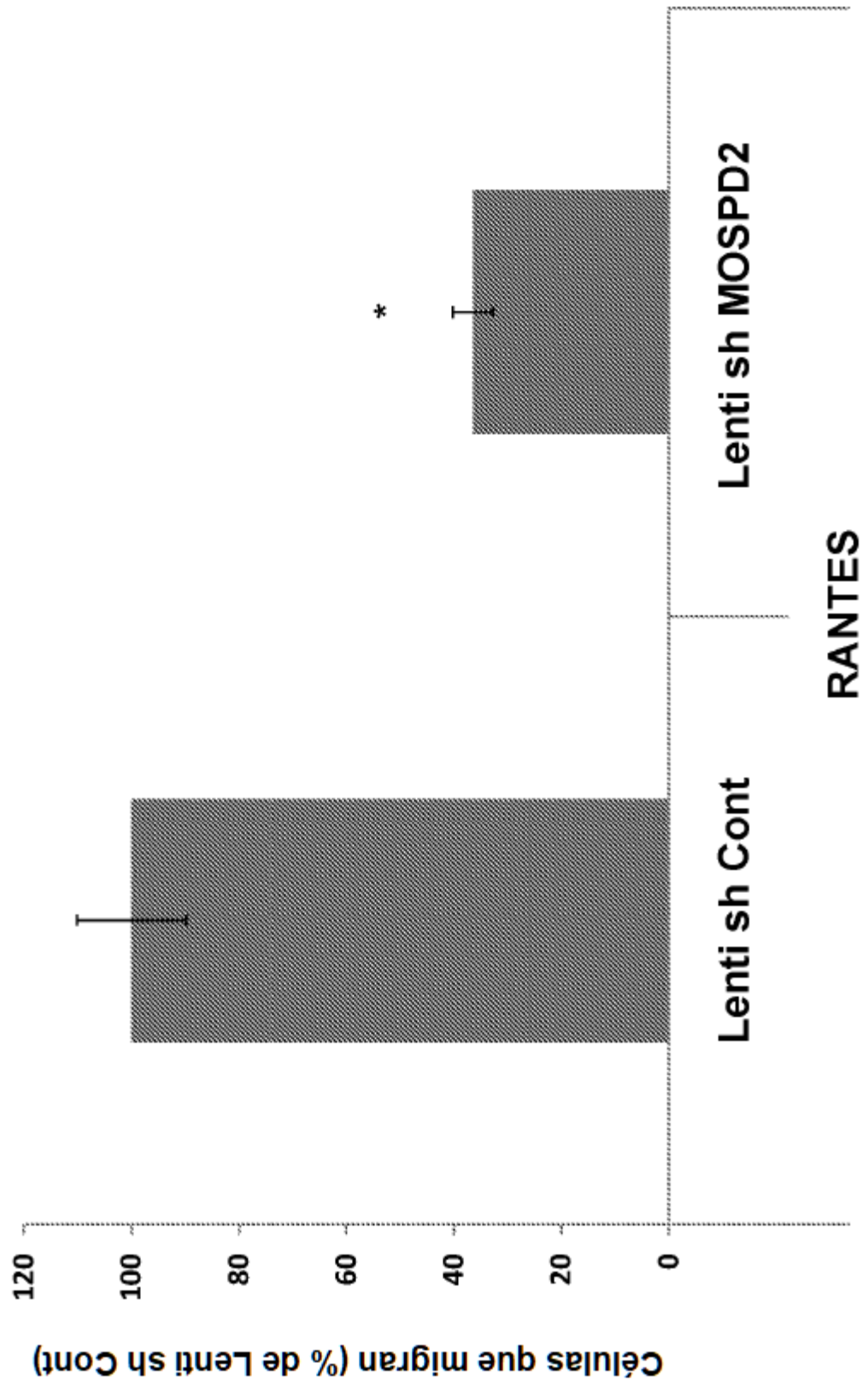


FIG. 3

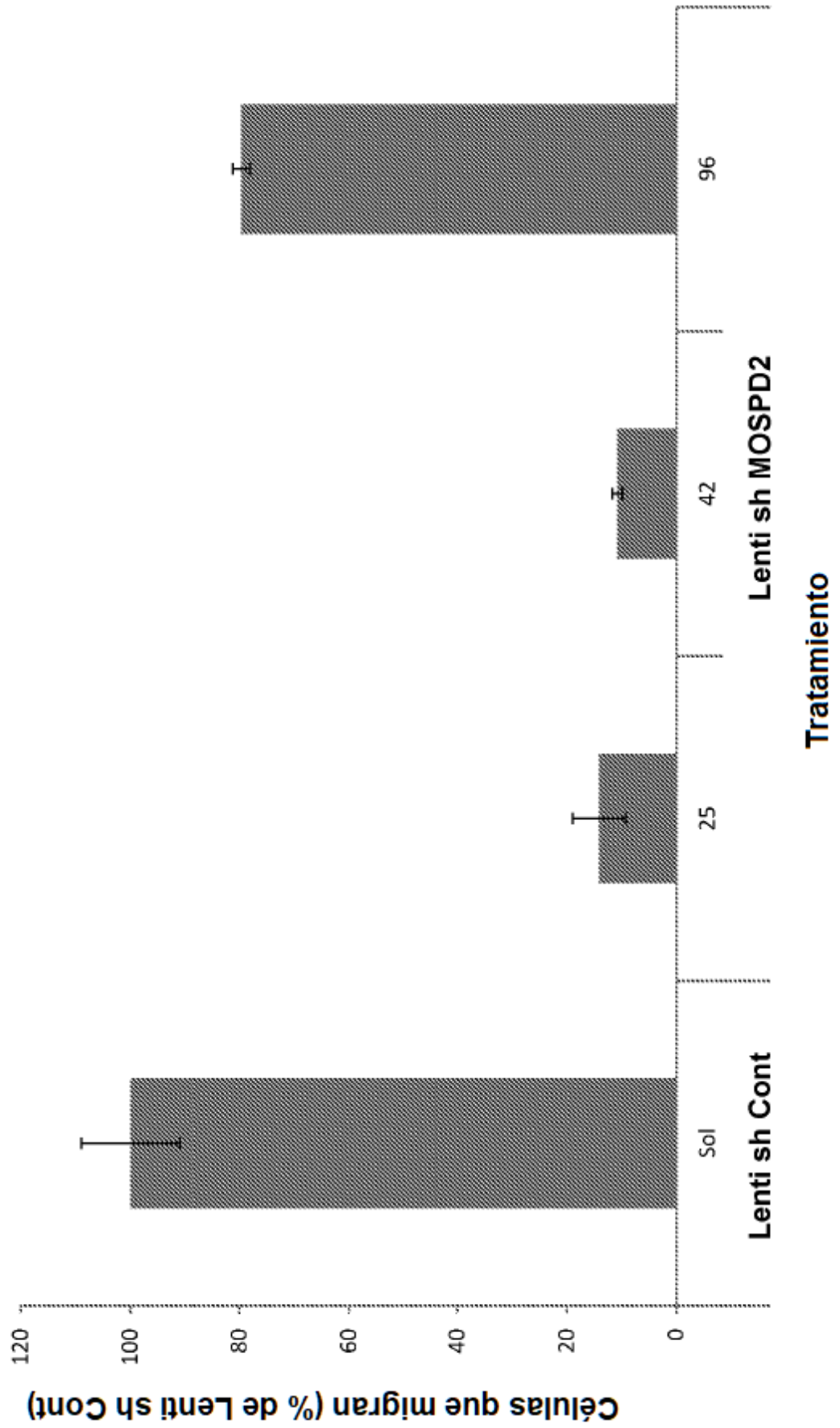


FIG. 4

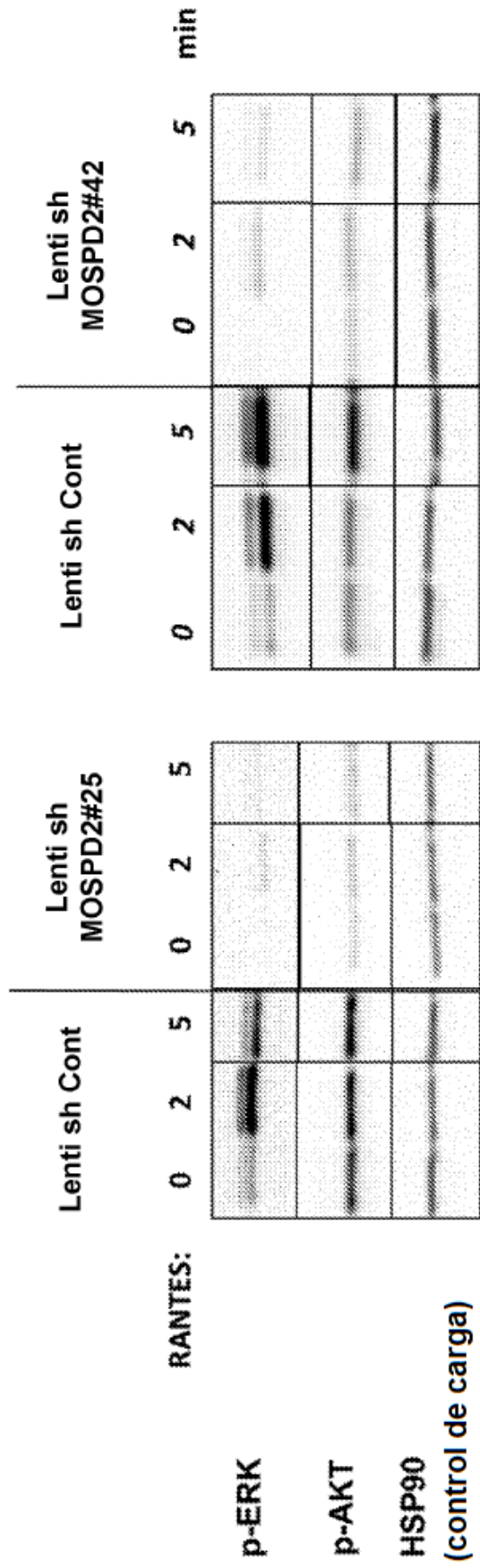


FIG. 5

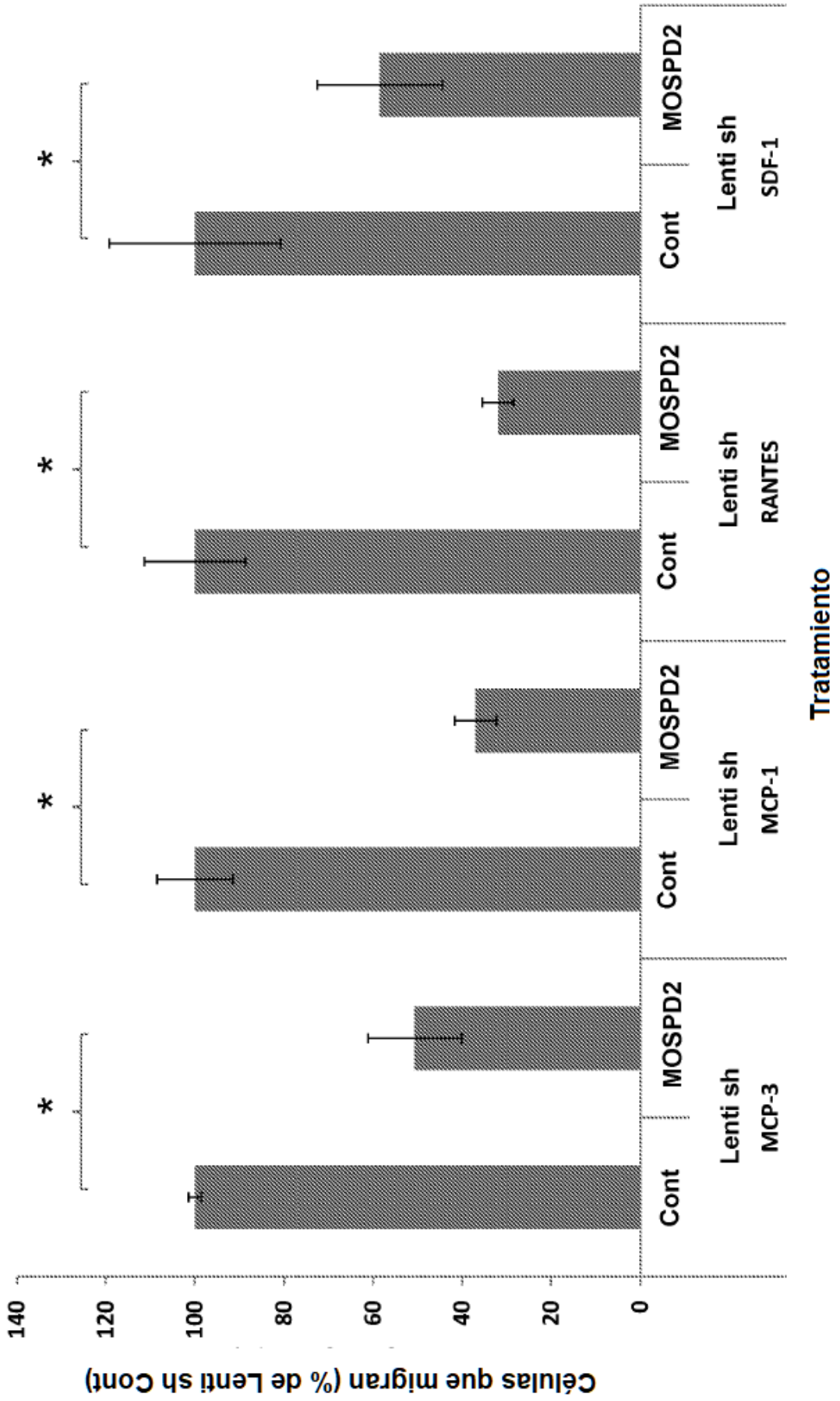


FIG. 6

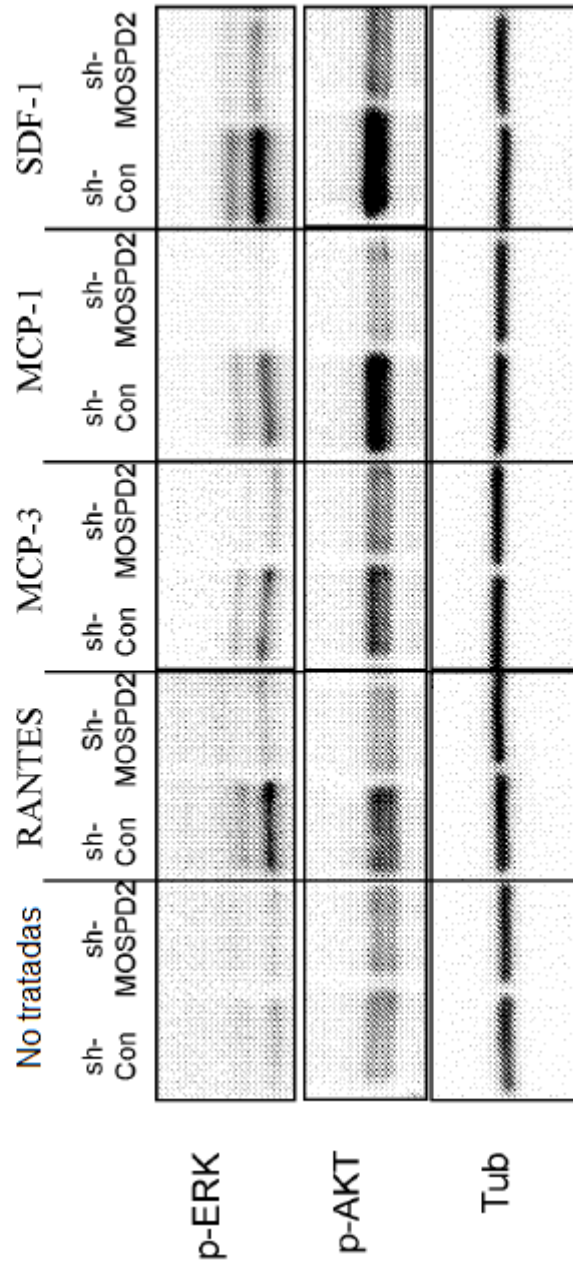


FIG. 7

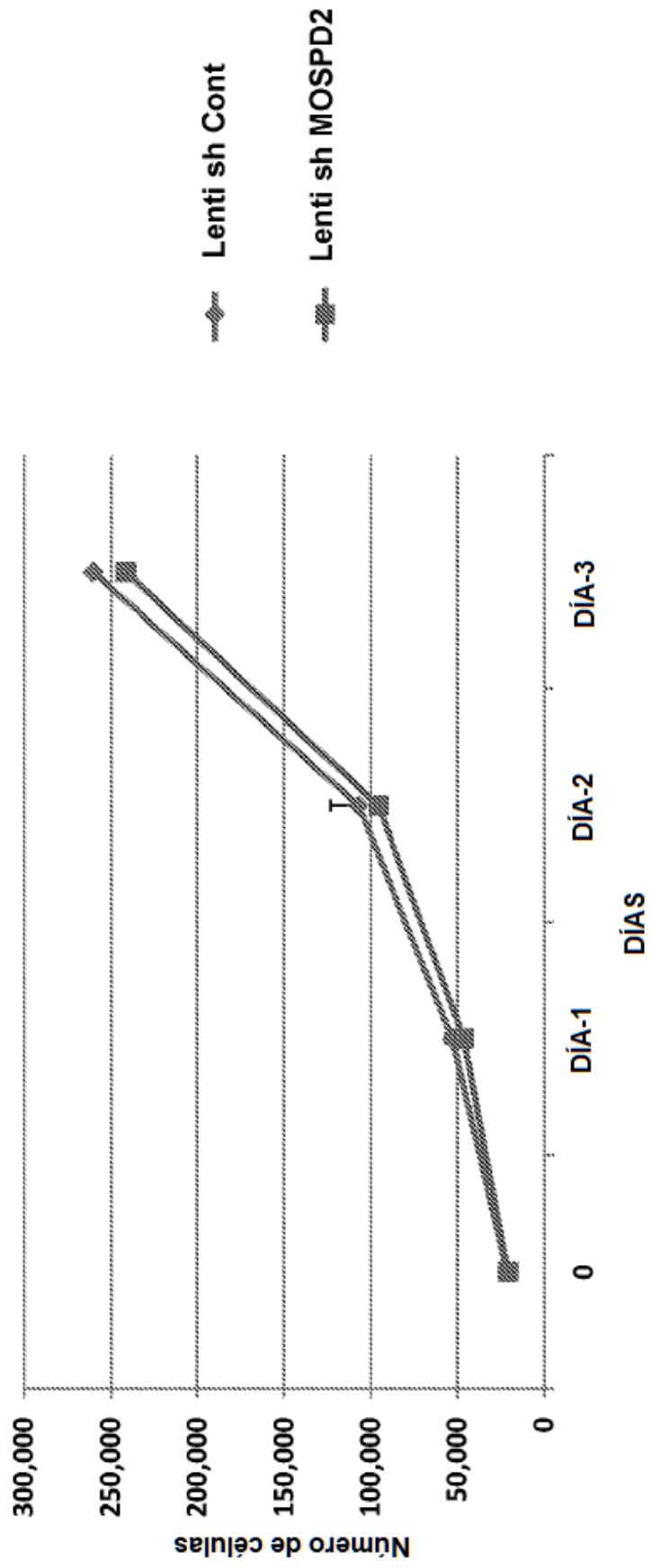


FIG. 8

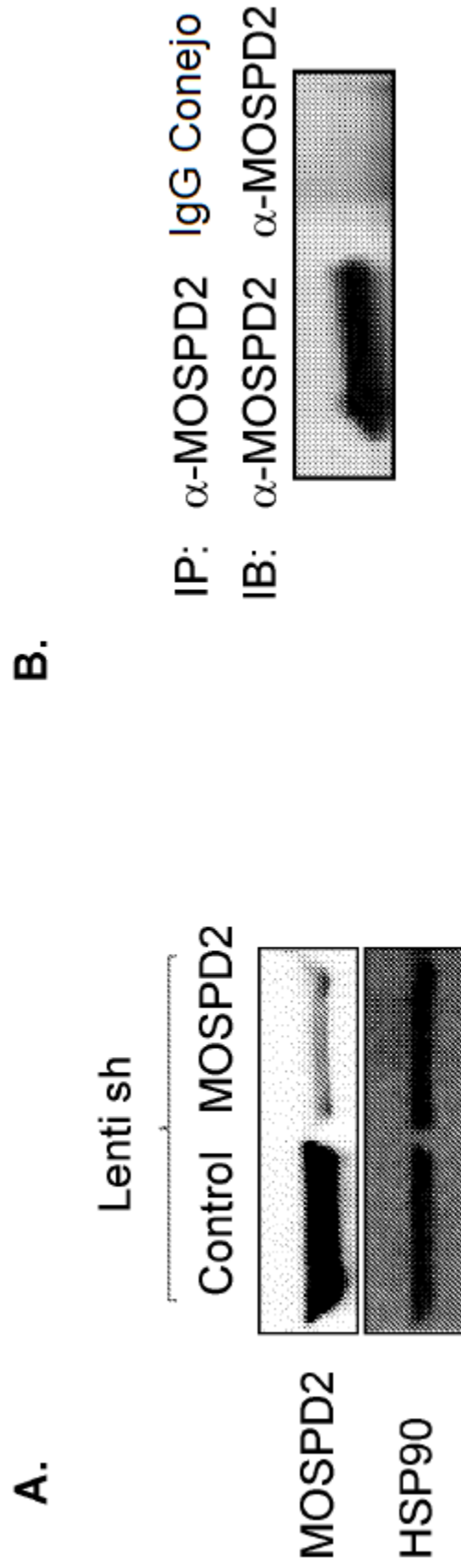


FIG. 9

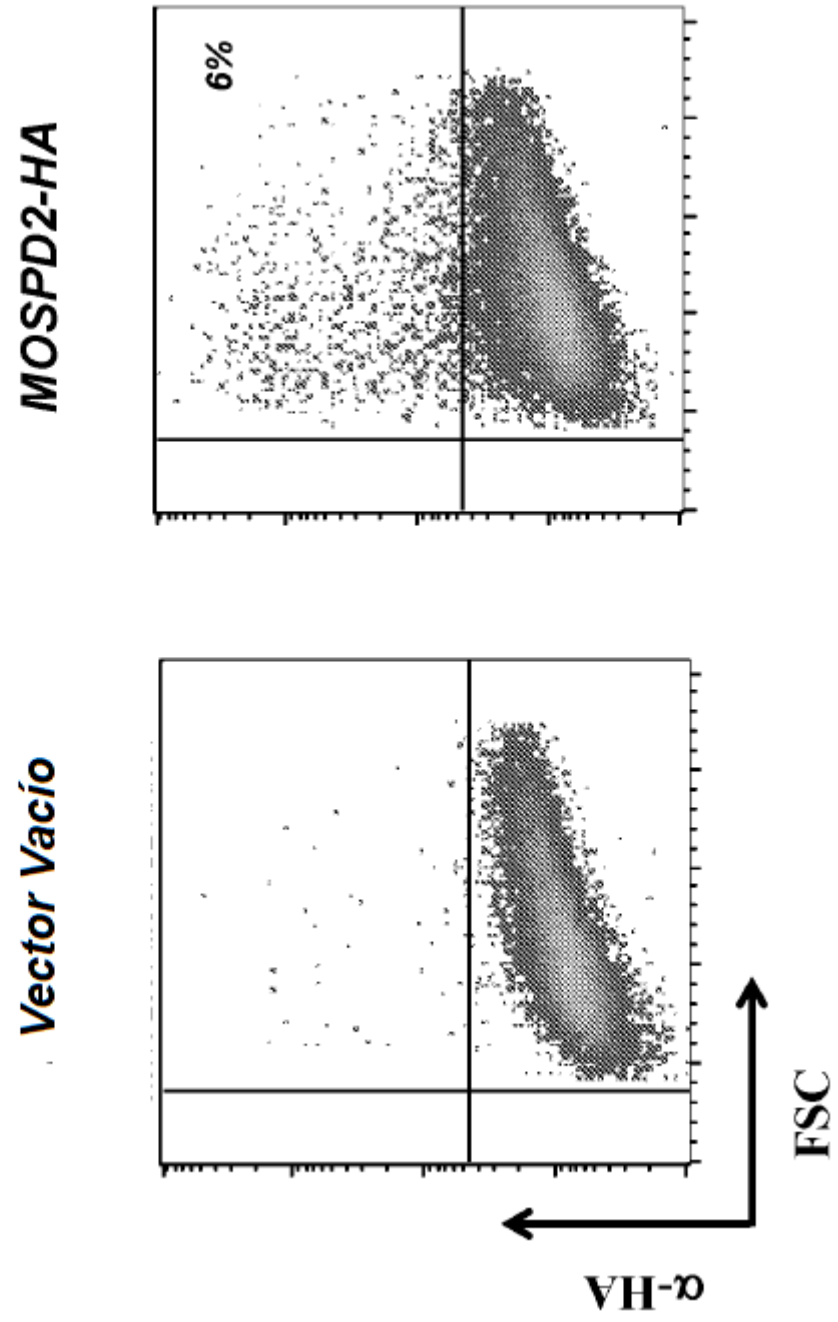


FIG. 10

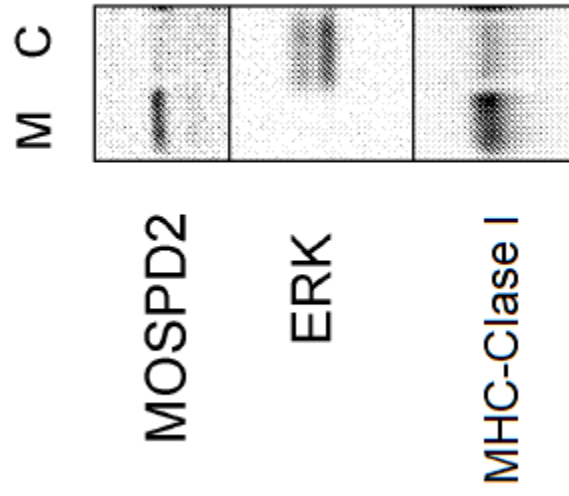


FIG. 11

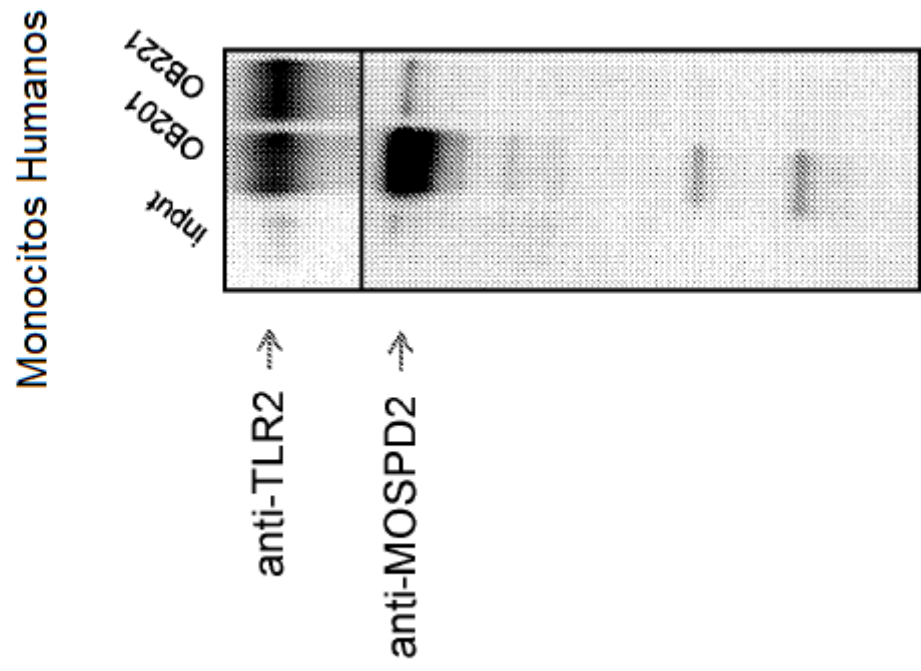


FIG. 12

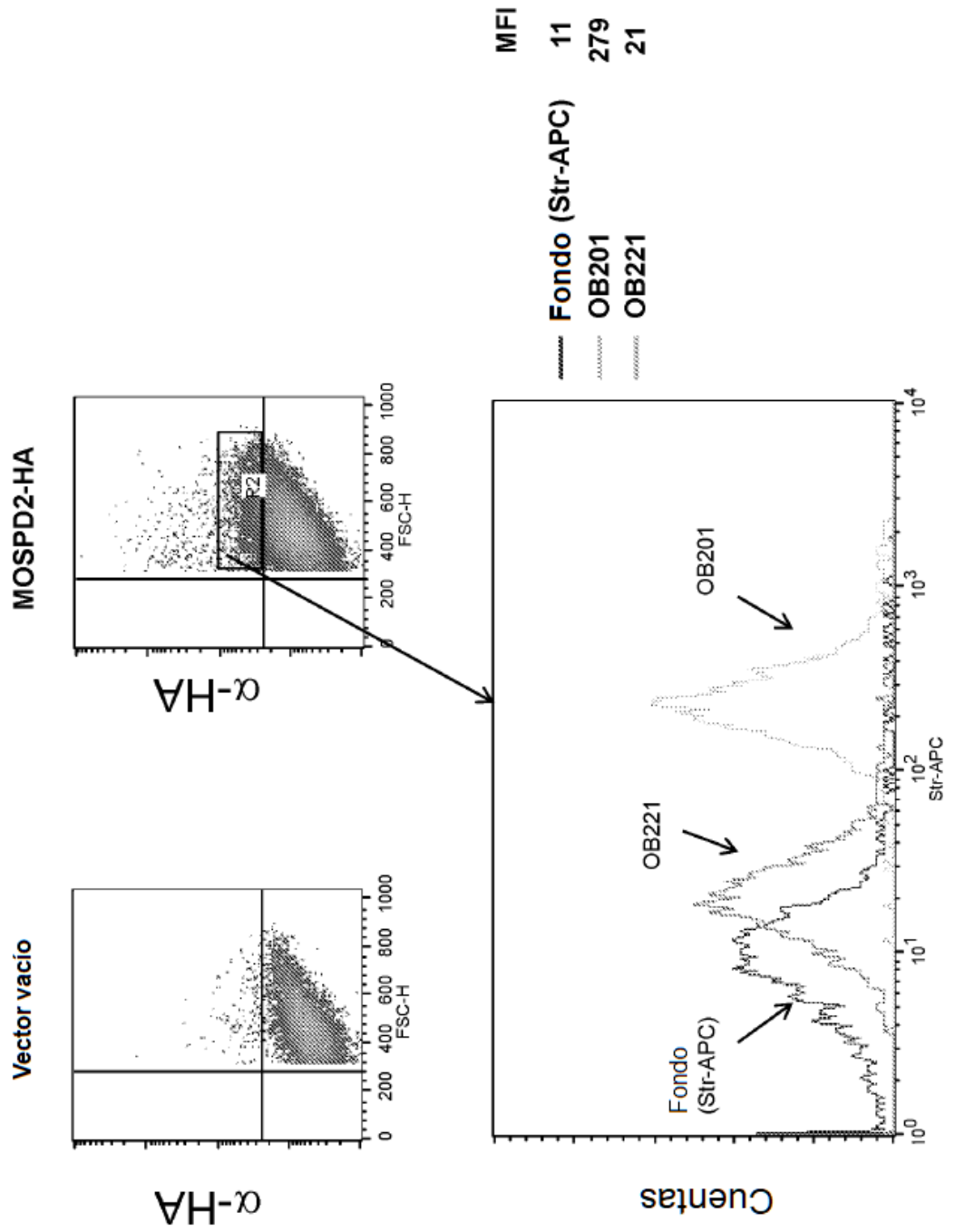


FIG. 13

	BSA	N1-CD33-His6	GST	Fc-Control	MOSP2-FC	
1	1.5	1.6	1.1	1.2	10.5	*
2	0.8	1	0.8	0.9	14.6	*
3	1.1	1.6	1.4	1.1	41.2	*
4	0.8	0.8	1	1.3	2.4	*
5	0.7	0.9	0.8	0.8	10	*
6	1	0.8	0.8	0.8	12.6	*
7	1	2.7	2.4	1.6	350.1	*
8	0.8	1	1.5	0.8	341	*
9	0.7	0.8	0.7	0.6	15.2	*
10	1	0.7	3.8	0.7	1.4	*
11	2.4	0.9	0.8	0.8	25.5	*
12	0.9	1.2	1.1	1.1	6.5	*
13	0.8	1.8	1.1	2.3	3.7	*
14	0.8	1	0.8	1.1	4	*
15	0.9	1.5	1.1	0.9	238.6	*
16	0.9	0.8	0.8	0.7	110.8	*
17	0.7	0.9	0.8	0.9	1	

FIG. 14

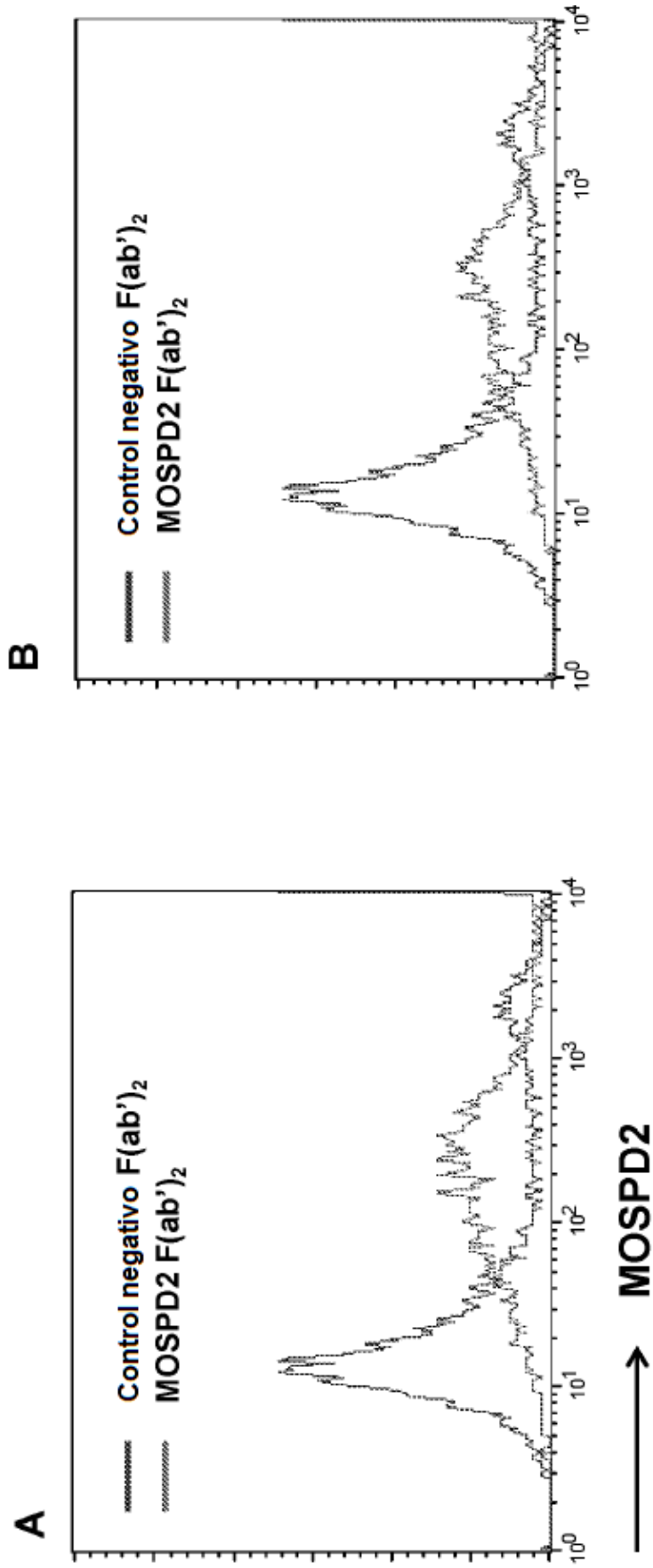


FIG. 15

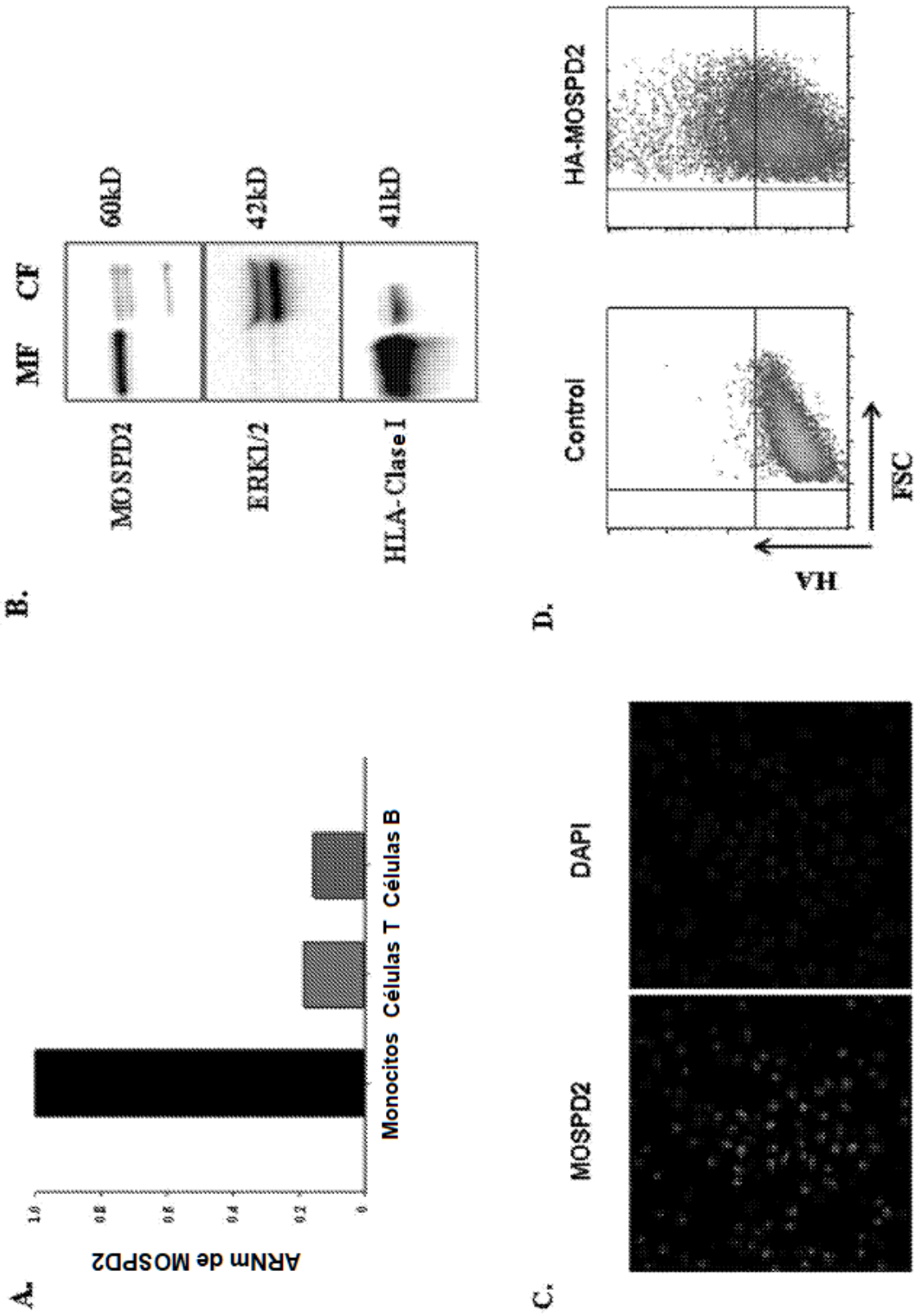


FIG. 16

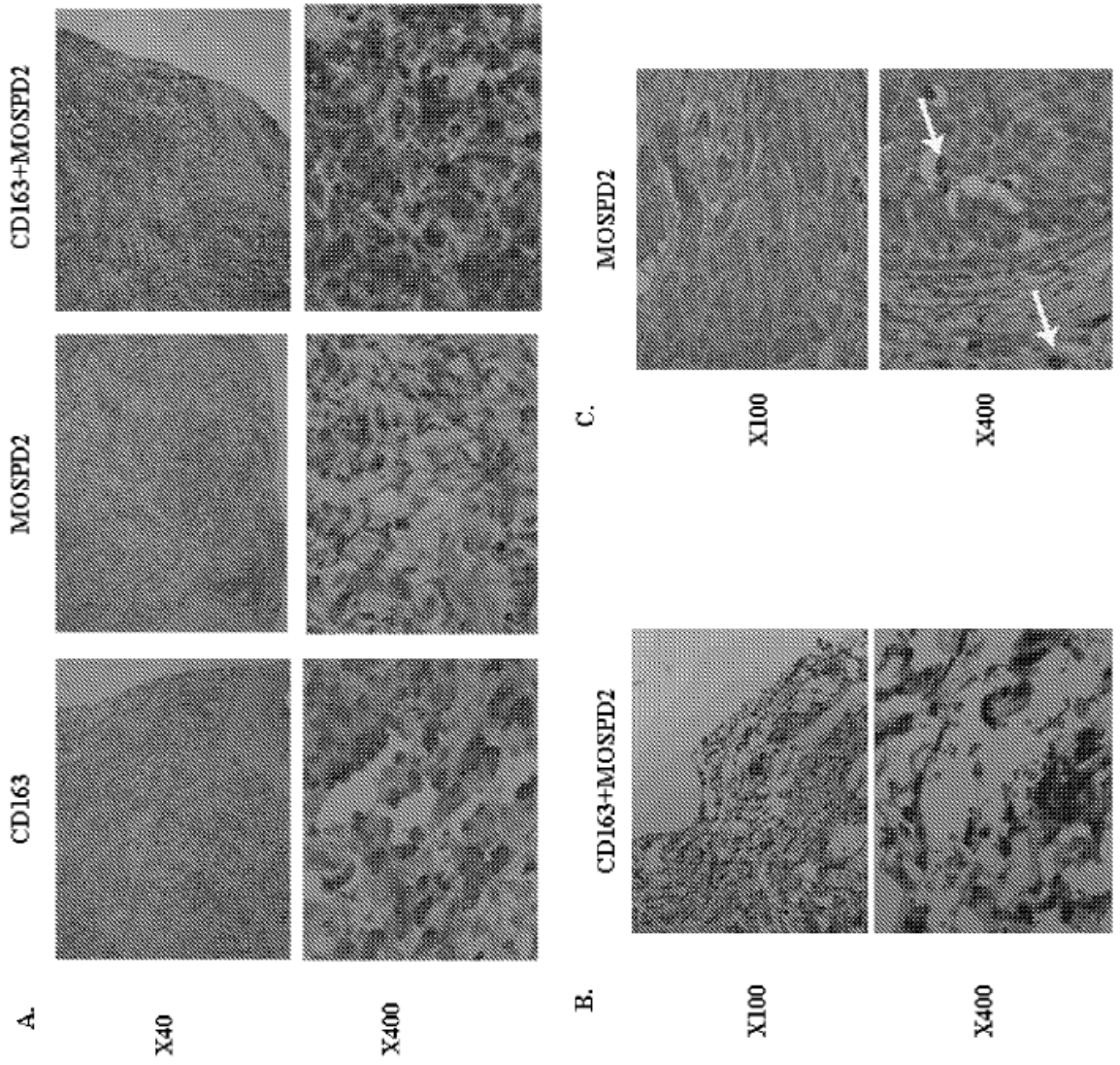


FIG. 17

