

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 989 007**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.10.2018** **E 22199536 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.07.2024** **EP 4177270**

54 Título: **Terapia contra el cáncer de ovarios basada en agente anti-CD47**

30 Prioridad:

18.10.2017 US 201762573835 P

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

25.11.2024

73 Titular/es:

FORTY SEVEN, INC. (100.0%)

333 Lakeside Drive

Foster City, CA 94404, US

72 Inventor/es:

TAKIMOTO, CHRIS HIDEMI, MIZUFUNE;

CHAO, MARK, PING y

VOLKMER, JENS-PETER

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

Observaciones:

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

ES 2 989 007 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

Terapia contra el cáncer de ovarios basada en agente anti-CD47

5 ANTECEDENTES

La gran mayoría de los cánceres en todo el mundo son tumores sólidos. En 2016, se estima que a más de 1.600.000 personas se les diagnosticará un tumor sólido maligno en los Estados Unidos (Siegel et al. (2016), Cancer statistics, 2016. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 66:7-30). Los estándares actuales de atención para los tumores sólidos incluyen la escisión quirúrgica, la radioterapia, la quimioterapia citotóxica y las moléculas pequeñas dirigidas molecularmente y los anticuerpos monoclonales (mAb). A pesar de estas terapias, la mayoría de los pacientes con cáncer metastásico morirán a causa de la enfermedad y/o por complicaciones del tratamiento. Las moléculas pequeñas que se dirigen a los cánceres tienen una eficacia limitada como agentes individuales debido a la resistencia preexistente o emergente y habitualmente presentan toxicidad para las células normales.

El desarrollo de anticuerpos terapéuticos ha tenido un impacto sustancial en el tratamiento de algunos tipos de cáncer. Convencionalmente, estas proteínas recombinantes se unen específicamente a las células cancerosas y bloquean las vías de señalización o las marcan para su destrucción por el sistema inmunitario. Sin embargo, solo hay anticuerpos dirigidos para unos pocos tipos de cáncer, incluso los anticuerpos más eficaces pueden requerir una terapia de combinación con quimioterapia convencional y, a menudo, producen una respuesta terapéutica incompleta. En muchos pacientes, la enfermedad se vuelve resistente al tratamiento con anticuerpos por la pérdida del objetivo del anticuerpo (cuando la molécula no es esencial para la supervivencia de las células tumorales) o por el desarrollo de resistencia a la destrucción del tumor. Habitualmente, los pacientes experimentan una recaída de su enfermedad.

La CD47 se ha identificado como una molécula clave que media en la evasión de la fagocitosis de las células cancerosas por parte del sistema inmunitario innato. CD47 parece ser un medio indispensable por el cual las células cancerosas, incluyendo las células madre cancerosas, superan la expresión intrínseca de sus señales profagocíticas de "cómeme". La progresión de una célula normal a una célula cancerosa implica cambios en los genes y/o en la expresión génica que desencadenan la muerte celular programada (PCD) y la eliminación celular programada (PCR). Muchos de los pasos en la progresión del cáncer subvierten los múltiples mecanismos de la PCD, y la expresión de la señal antifagocítica dominante, CD47, puede representar un punto de control importante.

La expresión de CD47 aumenta en la superficie de las células cancerosas de un gran número de varios tipos de tumores humanos, incluyendo las siguientes enfermedades malignas primarias: cabeza y cuello, melanoma, mama, pulmón, ovario, páncreas, colon, vejiga, próstata, leiomiomasarcoma, glioblastoma, meduloblastoma, oligodendroglioma, glioma, linfoma, leucemia y mieloma múltiple. En estudios de xenoinjertos murinos, se ha demostrado que los anticuerpos bloqueadores de CD47 inhiben el crecimiento y la metástasis del cáncer humano al permitir la fagocitosis y la eliminación de células madre cancerosas y células cancerosas de varias enfermedades neoplasias malignas hematológicas y varios tumores sólidos.

La CD47 sirve como ligando para SIRPα, que se expresa en células fagocíticas, incluyendo macrófagos y células dendríticas. Cuando SIRPα se activa por la unión de CD47, inicia una cascada de transducción de señales que da como resultado la inhibición de la fagocitosis. De esta manera, CD47 funciona como una señal antifagocítica enviando una señal inhibidora dominante a las células fagocíticas. Se ha demostrado que un anticuerpo bloqueante anti-CD47 permitió la eliminación fagocítica de células madre cancerosas y células cancerosas.

En xenoinjertos de ratón, los anticuerpos bloqueantes de CD47 inhiben el crecimiento y la metástasis del tumor del xenoinjerto humano permitiendo la fagocitosis y la eliminación de células cancerosas de varias enfermedades malignas hematológicas y tumores sólidos. Además, los anticuerpos bloqueantes de CD47 actúan en sinergia con los anticuerpos dirigidos a las células cancerosas establecidos rituximab, trastuzumab y cetuximab para potenciar la eficacia terapéutica en algunos tipos de tumores.

Los métodos para la administración eficaz de anticuerpos que bloquean CD47 son de interés clínico y se proporcionan en la presente.

La WO 2017/127707 describe el tratamiento del cáncer con combinaciones de agentes inmunoreguladores. La WO 2017/100462 describe el tratamiento del cáncer con el direccionamiento dual de CD47 y EGFR. La WO 2017/121771 describe anticuerpos monoclonales anti-CD47 humanizados, de ratón o quiméricos. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02953782> describe un ensayo de Hu5F9-G4 en combinación con Cetuximab en pacientes con tumores sólidos y cáncer colorrectal avanzado.

Cualquier referencia en la descripción a métodos de tratamiento se refieren a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante terapia (o para diagnóstico).

SUMARIO

La invención proporciona un anticuerpo anti-CD47 para su uso en un método de tratamiento del cáncer de ovario en un sujeto humano resistente al platino, en donde el método comprende:

- a. administrar una dosis de cebado del anticuerpo anti-CD47 al sujeto, en donde la dosis de cebado es de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5 mg/kg de anticuerpo; y
- b. administrar una dosis terapéuticamente eficaz del anticuerpo anti-CD47 al sujeto, en donde el paso (b) se realiza después de por lo menos de aproximadamente 3 a 14 días después de iniciar el paso (a), opcionalmente siendo 7 días después de (a).

En la presente se divulga un método para tratar a un sujeto humano que tiene un cáncer de ovario epitelial o reducir el tamaño del cáncer de ovario epitelial en el sujeto humano, que comprende administrar un agente anti-CD47 al sujeto. Un agente anti-CD47 puede incluir un anticuerpo anti-CD47.

El cáncer de ovario epitelial puede ser tumor seroso, tumor mucinoso, tumor de células claras, tumor de endometrio, tumor de células de transición, tumor de Brenner, tumor de carcinosarcoma, tumor epitelial mixto, tumor epitelial limítrofe, tumor de carcinoma indiferenciado, tumor de las trompas de Falopio o tumor peritoneal primario. En algunos aspectos, el cáncer de ovario epitelial es un tumor seroso. En algunos aspectos, el cáncer de ovario seroso es de grado bajo o alto según sea determinado por el subtipo del análisis histológico.

En algunos aspectos, los métodos divulgados en la presente comprenden además administrar por lo menos un agente adicional al sujeto humano.

También se divulga en la presente un método para tratar a un sujeto humano que tiene cáncer de ovario o reducir el tamaño del cáncer de ovario epitelial en el sujeto humano, que comprende administrar un agente anti-CD47 al sujeto humano; y administrar por lo menos un agente adicional al sujeto humano. Un agente anti-CD47 puede incluir un anticuerpo anti-CD47.

El agente adicional puede comprender por lo menos uno de un agente quimioterapéutico, un inhibidor de VEGF, un inhibidor de PARP, un inhibidor de punto de control inmunitario, un agente de inmunooncología y un inhibidor de folato.

En algunos aspectos, el agente adicional es un agente quimioterapéutico. En algunos aspectos, el agente quimioterapéutico es platino (cisplatino/carboplatino). En algunos aspectos, el agente quimioterapéutico es Taxano (paclitaxel (Taxol®) o docetaxel (Taxotere®)), gemcitabina, paclitaxel unido a albúmina (nab-paclitaxel, Abraxane®), altretamina (Hexalen®), capecitabina (Xeloda®), ciclofosfamida (Cytosan®), etopósido (VP-16), gemcitabina (Gemzar®), ifosfamida (Ifex®), irinotecán (CPT-11, Camptosar®), doxorubicina liposomal (Doxil®), melfalán, pemetrexed (Alimta®), topotecán, vinorelbina (Navelbine®) o trabectedina (Yondelis®).

En algunos aspectos, el agente adicional es un inhibidor de VEGF, opcionalmente bevacizumab (Avastin®), regorafenib (Stivarga®) o aflibercept (Eylea®).

En algunos aspectos, el agente adicional es un inhibidor de PARP, opcionalmente el inhibidor de PARP es Rucaparib (Rubraca®), Niraparib (Zejula®), Olaparib (Lynparza®), Talazoparib (BMN-673) o Veliparib (ABT-888).

En algunos aspectos, el agente adicional es un inhibidor del punto de control inmunitario, en donde opcionalmente el agente adicional inhibe por lo menos uno de CTLA4, PD1 y PDL1.

En algunos aspectos, el agente adicional es un inhibidor de folato que inhibe el metabolismo del folato o se dirige al receptor de folato.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD47 y el agente adicional se administran concurrente o secuencialmente.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD47 comprende un IgG4 Fc. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD47 compete por unirse a CD47 con Hu5F9-G4. En algunos aspectos, el anti-CD47 se une al mismo epítipo de CD47 que Hu5F9-G4. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD47 es Hu5F9-G4.

En algunos aspectos, el anticuerpo se formula en una composición farmacéutica con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En algunos aspectos, el sujeto humano es sensible al platino.

En algunos aspectos, el sujeto humano es resistente al platino.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD47 se administra por vía intravenosa. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD47 se administra por vía intraabdominal. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD47 se administra por vía intratumoral.

En algunos aspectos, la administración reduce el nivel de CA125 en el sujeto en comparación con el valor de referencia, opcionalmente en donde el nivel de CA125 se mide aproximadamente una vez al mes. En algunos aspectos, la administración reduce el nivel de CA125 en el sujeto en por lo menos un 30-90, 40-80, 50-70, 30, 40, 50, 60, 70, 80 o 90% en comparación con el valor de referencia. CA125 puede medirse con un inmunoensayo. CA125 puede medirse usando uno o más de los ensayos divulgados en Mongia et al., Performance characteristics of seven automated CA 125 assays. Am J Clin Pathol. 2006 Jun; 125(6):921-7.

En algunos aspectos, la administración reduce el tamaño del cáncer o metástasis del mismo en comparación con el valor de referencia, opcionalmente según se mide mediante imagenología, opcionalmente en donde la imagenología es CT/PET/CT o MRI, opcionalmente que comprende una enfermedad que aumenta inicialmente desde el valor de referencia pero que posteriormente disminuye de tamaño.

En algunos aspectos, la administración reduce el nivel de por lo menos uno de CA125, HE4 (proteína 4 del epidídimo humano), CA-72-4, CA-19-9 y CEA; en comparación con el valor de referencia.

En algunos aspectos, el cáncer de ovario es un cáncer de ovario epitelial, opcionalmente tumor seroso, tumor mucinoso, tumor de células claras, tumor de endometrio, tumor de células de transición, tumor de Brenner, tumor de carcinosarcoma, tumor epitelial mixto, tumor epitelial limítrofe, tumor de carcinoma indiferenciado, tumor de trompa de Falopio o tumor peritoneal primario. En algunos aspectos, el cáncer de ovario es un tumor seroso. En algunos aspectos, el tumor seroso es de grado bajo o alto según se determina mediante análisis histológico.

En algunos aspectos, el tipo de tumor se determina mediante análisis histológico.

En algunos aspectos, un método divulgado en la presente comprende además administrar una dosis de cebado de anticuerpo anti-CD47. En algunos aspectos, un método divulgado en la presente comprende además administrar una dosis de cebado de un agente estimulante de la eritropoyetina.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD47 se administra al sujeto como una dosis de cebado que varía de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5 mg/kg de anticuerpo, opcionalmente 1 mg/kg de anticuerpo. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD47 se administra al sujeto como una dosis que varía de aproximadamente 20 a aproximadamente 67,5 mg/kg de anticuerpo, opcionalmente 20 mg/kg de anticuerpo, 30 mg/kg de anticuerpo, 45 mg/kg de anticuerpo, 60 mg/kg de anticuerpo, o 67,5 mg/kg de anticuerpo. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD47 se administra al sujeto semanalmente, cada 2 semanas o cada 3 semanas.

El método de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el método comprende: (a) administrar una dosis de cebado de anticuerpo anti-CD47 al sujeto, en donde la dosis de cebado es de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5 mg/kg de anticuerpo; y (b) administrar una dosis terapéuticamente efectiva de anticuerpo anti-CD47 al sujeto, en donde el paso (b) se realiza después de por lo menos aproximadamente 3 a 14 días después de comenzar el paso (a), siendo opcionalmente 7 días después de (a).

En algunos aspectos, el método comprende (a) administrar la dosis de cebado del anticuerpo anti-CD47 al sujeto a una dosis de 1 mg/kg de anticuerpo el día 1; y (b) administrar la dosis terapéuticamente eficaz del anticuerpo anti-CD47 al sujeto a una dosis de 20 mg/kg de anticuerpo, 30 mg/kg de anticuerpo, 45 mg/kg de anticuerpo, 60 mg/kg de anticuerpo, o 67,5 mg/kg de anticuerpo el día 8.

En algunos aspectos, la eficacia de la dosis de cebado se determina en base al estado de anemia del sujeto después de la administración de la dosis de cebado. En algunos aspectos, la dosis de cebado se considera eficaz si: la caída en el nivel de hemoglobina del sujeto no es menor de 8,0 g/dL; y/o la caída absoluta en el nivel de hemoglobina del sujeto es menor de 3,0 a 3,75 g/dL.

En algunos aspectos, un método divulgado en la presente comprende además después del paso (a) y antes del paso (b): un paso para determinar si la administración de la dosis de cebado fue eficaz. En algunos aspectos, el paso de determinación comprende realizar un recuento de reticulocitos, en el que se determina que la administración de la dosis de cebado ha sido eficaz si el recuento de reticulocitos es de aproximadamente 100×10^9 reticulocitos por L a aproximadamente -1000×10^9 reticulocitos por L. En algunos aspectos, el paso de determinación comprende realizar un recuento de reticulocitos, en donde se determina que la administración de la dosis de cebado ha sido eficaz si el porcentaje de reticulocitos en sangre es mayor que aproximadamente el 1,5%. En algunos aspectos, el paso de determinación comprende realizar un recuento de reticulocitos, en donde se determina que la administración del agente de cebado ha sido eficaz si el índice de reticulocitos es mayor que aproximadamente el 2%.

En algunos aspectos, la dosis de cebado se administra al sujeto humano en una infusión con una concentración de aproximadamente 0,05 mg/ml a aproximadamente 0,5 mg/ml de anticuerpo anti-CD47.

5 El método descrito en el párrafo anterior, en el que la infusión se administra durante un período de por lo menos aproximadamente 1-3, 8-10, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 horas. En algunos aspectos, la infusión se administra durante un período de por lo menos aproximadamente 3 horas. En algunos aspectos, la infusión se administra durante un período de aproximadamente 2,5 horas a aproximadamente 6 horas.

10 En algunos aspectos, la dosis de cebado se administra mediante bombeo continuo durante un período de aproximadamente 6 horas a aproximadamente 3 días.

En algunos aspectos, la dosis de cebado se administra por vía subcutánea.

15 En algunos aspectos, la dosis de cebado satura por lo menos aproximadamente del 50% al 100% de los sitios CD47 en los glóbulos rojos, opcionalmente el 100% de los sitios de CD47 en los glóbulos rojos. En algunos aspectos, la dosis se determina mediante un ensayo de ocupación del receptor, en el que después de la administración de una dosis de agente anti-CD47 no marcado al sujeto, se obtiene una muestra de sangre y se combina con una dosis de saturación de anticuerpo anti-CD47 marcado detectable; y determinar el nivel de unión.

20 En algunos aspectos, la dosis terapéuticamente eficaz de (b) es suficiente para lograr un nivel circulante de más de 100, 250, 500 o 1000 µg/ml del anticuerpo anti-CD47 durante un período de tiempo sostenido, opcionalmente en donde el período de tiempo sostenido es por lo menos 1-28, 7-28, 7-21, 14-28 o 21-28 días. En algunos aspectos, el período de tiempo sostenido es de aproximadamente 1, 2, 3 o 4 semanas.

25 En algunos aspectos, la dosis de cebado del anticuerpo anti-CD47 es de 1 mg/kg de anticuerpo.

En algunos aspectos, la dosis de anticuerpo anti-CD47 terapéuticamente eficaz es de 20 mg/kg de anticuerpo.

30 En algunos aspectos, la dosis de anticuerpo anti-CD47 terapéuticamente eficaz es de 30 mg/kg de anticuerpo.

En algunos aspectos, la dosis de anticuerpo anti-CD47 terapéuticamente eficaz es de 45 mg/kg de anticuerpo.

En algunos aspectos, la dosis de anticuerpo anti-CD47 terapéuticamente eficaz es de 60 mg/kg de anticuerpo.

35 En algunos aspectos, la dosis de anticuerpo anti-CD47 terapéuticamente eficaz es de 67,5 mg/kg de anticuerpo.

En algunos aspectos, la dosis de anticuerpo anti-CD47 terapéuticamente eficaz se administra aproximadamente cada 7, 14, 21 o 28 días.

40 En algunos aspectos, la dosis de anticuerpo anti-CD47 terapéuticamente eficaz se administra cada 7 días.

45 También se divulga en la presente un método para tratar a un sujeto humano que tiene un cáncer de ovario no epitelial, que comprende administrar un agente anti-CD47 al sujeto, opcionalmente en donde el cáncer de ovario no epitelial es un tumor de cordón sexual maligno o un tumor de células germinales maligno. Un agente anti-CD47 puede incluir un anticuerpo anti-CD47.

50 También se divulga en la presente una composición que comprende un agente anti-CD47 y por lo menos un agente adicional, opcionalmente en donde el agente adicional es un agente quimioterapéutico, un inhibidor de VEGF, un inhibidor de PARP, un inhibidor de punto de control inmunitario, un agente de inmunooncología o un inhibidor de folato. Un agente anti-CD47 puede incluir un anticuerpo anti-CD47.

55 También se divulga en la presente un kit que comprende un agente anti-CD47, por lo menos un agente adicional e instrucciones de uso, opcionalmente en donde el agente adicional es un agente quimioterapéutico, un inhibidor de VEGF, un inhibidor de PARP, un inhibidor de punto de control inmunitario, un agente inmunooncológico o un inhibidor de folato. Un agente anti-CD47 puede incluir un anticuerpo anti-CD47.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS VARIAS VISTAS DE LOS DIBUJOS

60 Estas y otras características, aspectos y ventajas de la presente invención se entenderán mejor con respecto a la siguiente descripción y los dibujos acompañantes, donde:

La Figura 1 muestra el cambio porcentual (%) de CA125 con respecto al valor de referencia en cada una de las cinco (5) pacientes con cáncer de ovario a las que se administró Hu-5F9-G4.

65 La Figura 2 muestra exploraciones de 11-305 al inicio y 8 semanas después de la administración de Hu-5F9-G4.

En cada uno se indica el cambio en el tamaño del tumor.

La Figura 3 muestra exploraciones de 11-305 al inicio y 8 semanas después de la administración de Hu-5F9-G4.

En cada uno se indica el cambio en el tamaño del tumor.

La Figura 4 muestra exploraciones de 11-305 al inicio y 8 semanas después de la administración de Hu-5F9-G4.

5 En cada uno se indica el cambio en el tamaño del tumor.

La Figura 5 muestra exploraciones de 01-312 al inicio y 8 semanas después de la administración de Hu-5F9-G4 (ganglio linfático paraaórtico izquierdo). En cada uno se indica el cambio en el tamaño del tumor.

La Figura 6 muestra exploraciones de 01-312 al inicio y 8 semanas después de la administración de Hu-5F9-G4 (nódulo linfático porta hepatis). En cada uno se indica el cambio en el tamaño del tumor.

10 La Figura 7 muestra exploraciones de 01-312 al inicio y 8 semanas después de la administración de Hu-5F9-G4 (nódulo linfático retrocavo). En cada uno se indica el cambio en el tamaño del tumor.

La Figura 8 muestra exploraciones de 01-312 al inicio y 8 semanas después de la administración de Hu-5F9-G4 (nódulo linfático periportal). En cada uno se indica el cambio en el tamaño del tumor.

15 DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente divulgación se refiere a métodos para tratar a un sujeto con cáncer de ovario con un agente anti-CD47 como Hu5F9-G4.

20 Antes de que se describan los presentes métodos y composiciones, debe entenderse que esta divulgación no se limita a un método o composición particulares descritos, ya que tales pueden, por supuesto, variar. También debe entenderse que la terminología usada en la presente tiene el propósito de describir realizaciones particulares solamente, y no se pretende que sea limitativa, ya que el alcance de la presente invención estará limitado únicamente por las reivindicaciones adjuntas.

25 Cuando se proporciona un intervalo de valores, se entiende que también se divulga específicamente cada valor intermedio, hasta la décima parte de la unidad del límite inferior a menos que el contexto dicte claramente lo contrario, entre los límites superior e inferior de ese intervalo. Cada intervalo más pequeño entre cualquier valor indicado o valor intermedio en un intervalo indicado y cualquier otro valor indicado o intermedio en ese intervalo
30 indicado está abarcado dentro de la invención. El límite superior e inferior de estos intervalos más pequeños pueden incluirse o excluirse independientemente en el intervalo, y cada intervalo en el que cualquiera, ninguno o ambos de los límites están incluidos en los intervalos más pequeños también está abarcado dentro de la invención, sujeto a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo indicado. Cuando el intervalo indicado incluye uno o ambos límites, los intervalos que incluyen cualquiera o ambos límites de los límites incluidos también están incluidos en la
35 invención

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente tienen el mismo significado que el entendido comúnmente por un experto en la técnica a la que pertenece esta invención. Aunque en la puesta en práctica o prueba de la presente invención puede usarse cualquier método y material similar
40 o equivalente a los descritos en la presente, ahora se describen algunos métodos y materiales potenciales y preferidos.

Debe tenerse en cuenta que, como se usa en la presente y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "uno" y "el" incluyen referentes en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Así, por ejemplo, la referencia a "una célula" incluye una pluralidad de tales células y la referencia a "el péptido" incluye la
45 referencia a uno o más péptidos y equivalentes de los mismos, por ejemplo, polipéptidos, conocidos por los expertos en la técnica, y demás.

Las publicaciones analizadas en la presente se proporcionan únicamente para su divulgación antes de la fecha de presentación de la presente solicitud. Nada de lo aquí contenido debe interpretarse como una admisión de
50 que la presente invención no tiene derecho a ser anterior a dicha publicación en virtud de una invención anterior. Además, las fechas de publicación proporcionadas pueden diferir de las fechas de publicación reales, que puede ser necesario confirmarlas independientemente.

Como se usa en la presente, el término "agente anti-CD47" se refiere a cualquier agente que reduce la unión
55 de CD47 (por ejemplo, en una célula objetivo) a SIRPα (por ejemplo, en una célula fagocítica). Los ejemplos no limitativos de reactivos anti-CD47 adecuados incluyen reactivos de SIRPα, incluyendo sin limitación, polipéptidos de SIRPα de alta afinidad, anticuerpos anti-SIRPα, polipéptidos de CD47 solubles y anticuerpos o fragmentos de anticuerpos anti-CD47. En algunos casos, un agente anti-CD47 adecuado (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD47, un reactivo de SIRPα, etc.) se une específicamente a CD47 para reducir la unión de CD47 a SIRPα. En algunos casos,
60 un agente anti-CD47 adecuado (por ejemplo, un anticuerpo anti-SIRPα, un polipéptido de CD47 soluble, etc.) se une específicamente a SIRPα para reducir la unión de CD47 a SIRPα. Un agente anti-CD47 adecuado que se une a SIRPα no activa SIRPα (por ejemplo, en la célula fagocítica que expresa SIRPα). La eficacia de un agente anti-CD47 adecuado puede evaluarse ensayando el agente (que se describe con más detalle a continuación). En un ensayo ejemplar, las células objetivo se incuban en presencia o ausencia del agente candidato. Un agente para su uso en los
65 métodos de la divulgación regulará por incremento la fagocitosis en por lo menos un 10% (por ejemplo, por lo menos

un 20%, por lo menos un 30%, por lo menos un 40%, por lo menos un 50%, por lo menos un 60%, por lo menos un 70%, por lo menos un 80%, por lo menos un 90%, por lo menos un 100%, por lo menos un 120%, por lo menos un 140%, por lo menos un 160%, por lo menos un 180% o por lo menos un 200%) en comparación con la fagocitosis en ausencia del agente. De manera similar, un ensayo in vitro para los niveles de fosforilación de tirosina de SIRPα mostrará una disminución en la fosforilación de por lo menos un 5% (por ejemplo, por lo menos un 10%, por lo menos un 15%, por lo menos un 20%, por lo menos un 30%, por lo menos un 40%, por lo menos un 50%, por lo menos un 60%, por lo menos un 70%, por lo menos un 80%, por lo menos un 90%, o un 100%) en comparación con la fosforilación observada en ausencia del agente candidato.

En algunos casos, el agente anti-CD47 no activa CD47 tras la unión.

Cuando se activa CD47, puede producirse un proceso similar a la apoptosis (es decir, muerte celular programada) (Manna y Frazier, Cancer Research, 64, 1026-1036, 1 de febrero de 2004). Por tanto, en algunos casos, el agente anti-CD47 no induce directamente la muerte celular de una célula que expresa CD47.

Algunos patógenos (por ejemplo, los virus de la viruela, el virus del mixoma, el virus de la viruela del venado, el virus de la viruela porcina, el virus de la viruela caprina, el virus de la viruela ovina, etc.) expresan un análogo de CD47 (es decir, un mimético de CD47) (por ejemplo, la proteína M128L) que actúa como un factor de virulencia para permitir la infección (Cameron et al., Virology, 20 de junio de 2005; 337(1):55-67), y algunos patógenos inducen la expresión de CD47 endógeno en la célula huésped. Las células infectadas con un patógeno que expresa un análogo de CD47 pueden, por lo tanto, expresar el análogo de CD47 proporcionado por el patógeno ya sea exclusivamente o en combinación con CD47 endógeno. Este mecanismo permite que el patógeno aumente la expresión de CD47 (mediante la expresión del análogo de CD47) en la célula infectada con o sin aumento del nivel de CD47 endógeno. En algunos casos, un agente anti-CD47 (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD47, un reactivo de SIRPα, un anticuerpo de SIRPα, un polipéptido de CD47 soluble, etc.) puede reducir la unión de un análogo de CD47 (es decir, un imitador de CD47) a SIRPα. En algunos casos, un agente anti-CD47 adecuado (por ejemplo, un reactivo de SIRPα, un anticuerpo anti-CD47, etc.) puede unirse a un análogo de CD47 (es decir, un imitador de CD47) para reducir la unión del análogo de CD47 a SIRPα. En algunos casos, un agente anti-CD47 adecuado (por ejemplo, un anticuerpo anti-SIRPα, un polipéptido de CD47 soluble, etc.) puede unirse a SIRPα. Un agente anti-CD47 adecuado que se une a SIRPα no activa SIRPα (por ejemplo, en la célula fagocítica que expresa SIRPα). Puede usarse un agente anti-CD47 en cualquiera de los métodos proporcionados en la presente cuando el patógeno es un patógeno que proporciona un análogo de CD47. En otras palabras, el término "CD47", como se usa en la presente, abarca CD47 así como análogos de CD47 (es decir, imitadores de CD47).

Un reactivo de SIRPα comprende la porción de SIRPα que es suficiente para unirse a CD47 con una afinidad reconocible, que normalmente se encuentra entre la secuencia señal y el dominio transmembrana, o un fragmento del mismo que retiene la actividad de unión. Un reactivo de SIRPα adecuado reduce (por ejemplo, bloquea, previene, etc.) la interacción entre las proteínas nativas de SIRPα y CD47. El reactivo de SIRPα habitualmente comprenderá por lo menos el dominio dl de SIRPα. En algunos casos, un reactivo de SIRPα es una proteína de fusión, por ejemplo, fusionada en marco con un segundo polipéptido. En algunos casos, el segundo polipéptido es capaz de aumentar el tamaño de la proteína de fusión, por ejemplo, de tal manera que la proteína de fusión no se depure rápidamente de la circulación. En algunos casos, el segundo polipéptido es parte o la totalidad de una región Fc de inmunoglobulina. La región Fc ayuda en la fagocitosis al proporcionar una señal de "cómeme", que potencia el bloqueo de la señal de "no me comas" proporcionada por el reactivo de SIRPα de alta afinidad. En otros casos, el segundo polipéptido es cualquier polipéptido adecuado que sea sustancialmente similar a Fc, por ejemplo, que proporcione un mayor tamaño, dominios de multimerización y/o unión o interacción adicional con moléculas de Ig.

En algunos casos, un agente anti-CD47 en cuestión es un "reactivo de SIRPα de alta afinidad", que incluye polipéptidos derivados de SIRPα y análogos de los mismos. Los reactivos de SIRPα de alta afinidad se describen en la Publicación de Patente Internacional WO 2013/109752. Los reactivos de SIRPα de alta afinidad son variantes de la proteína de SIRPα nativa. En algunos casos, un reactivo de SIRPα de alta afinidad es soluble, donde el polipéptido carece del dominio transmembrana de SIRPα y comprende por lo menos un cambio de aminoácidos con respecto a la secuencia de SIRPα de tipo salvaje, y en donde el cambio de aminoácidos aumenta la afinidad de la unión del polipéptido de SIRPα a CD47, por ejemplo, disminuyendo la tasa de disociación en por lo menos 10 veces, por lo menos 20 veces, por lo menos 50 veces, por lo menos 100 veces, por lo menos 500 veces o más.

Un reactivo de SIRPα de alta afinidad comprende la porción de SIRPα que es suficiente para unirse a CD47 con una afinidad reconocible, por ejemplo, alta afinidad, que normalmente se encuentra entre la secuencia señal y el dominio transmembrana, o un fragmento del mismo que retiene la actividad de unión. El reactivo de SIRPα de alta afinidad habitualmente comprenderá por lo menos el dominio dl de SIRPα con residuos de aminoácidos modificados para aumentar la afinidad. En algunos casos, una variante de SIRPα de la presente divulgación es una proteína de fusión, por ejemplo, fusionada en marco con un segundo polipéptido. En algunos casos, el segundo polipéptido es capaz de aumentar el tamaño de la proteína de fusión, por ejemplo, de tal manera que la proteína de fusión no se depure rápidamente de la circulación. En algunos casos, el segundo polipéptido es parte o la totalidad de una región Fc de inmunoglobulina. La región Fc ayuda en la fagocitosis al proporcionar una señal de "cómeme", que potencia el

bloqueo de la señal de "no me comas" proporcionada por el reactivo de SIRPα de alta afinidad. En otros casos, el segundo polipéptido es cualquier polipéptido adecuado que sea sustancialmente similar a Fc, por ejemplo, que proporcione un mayor tamaño, dominios de multimerización y/o unión o interacción adicional con moléculas de Ig. Los cambios de aminoácidos que proporcionan una mayor afinidad se localizan en el dominio d1 y, por tanto, los reactivos de SIRPα de alta afinidad comprenden un dominio d1 de SIRPα humana, con por lo menos un cambio de aminoácidos con respecto a la secuencia de tipo salvaje dentro del dominio d1. Tal reactivo de SIRPα de alta afinidad comprende opcionalmente secuencias de aminoácidos adicionales, por ejemplo, secuencias Fc de anticuerpos; porciones de proteína de SIRPα de tipo salvaje

Proteína SIRPα distinta del dominio d1, incluyendo sin limitación, los residuos 150 a 374 de la proteína nativa o fragmentos de la misma, habitualmente fragmentos contiguos al dominio d1; y similares. Los reactivos de SIRPα de alta afinidad pueden ser monoméricos o multiméricos, es decir, dímeros, trímeros, tetrámeros, etc.

En algunos casos, un agente anti-CD47 en cuestión es un anticuerpo que se une específicamente a SIRPα (es decir, un anticuerpo anti-SIRPα) y reduce la interacción entre CD47 en una célula (por ejemplo, una célula infectada) y SIRPα en otra célula (por ejemplo, una célula fagocítica). Los anticuerpos anti-SIRPα adecuados pueden unirse a SIRPα sin activar o estimular la señalización a través de SIRPα porque la activación de SIRPα inhibiría la fagocitosis. En cambio, los anticuerpos anti-SIRPα adecuados facilitan la fagocitosis preferencial de las células afectadas sobre las células normales. Aquellas células que expresan niveles más altos de CD47 (por ejemplo, células infectadas) con respecto a otras células (células no infectadas) serán preferentemente fagocitadas. Por tanto, un anticuerpo anti-SIRPα adecuado se une específicamente a SIRPα (sin activar/estimular lo suficiente una respuesta de señalización para inhibir la fagocitosis) y bloquea una interacción entre SIRPα y CD47. Los anticuerpos anti-SIRPα adecuados incluyen versiones completamente humanas, humanizadas o quiméricas de tales anticuerpos. Los anticuerpos humanizados son especialmente útiles para aplicaciones in vivo en humanos debido a su baja antigenicidad. De manera similar, los anticuerpos caninizados, felinizados, etc. son especialmente útiles para aplicaciones en perros, gatos y otras especies, respectivamente. Los anticuerpos de interés incluyen anticuerpos humanizados, o anticuerpos caninizados, felinizados, equinizados, bovinizados, porcinizados, etc., y variantes de los mismos.

Polipéptidos de CD47 solubles. En algunas realizaciones, un agente anti-CD47 en cuestión es un polipéptido de CD47 soluble que se une específicamente a SIRPα y reduce la interacción entre

Como se usa en la presente, un "anticuerpo anti-CD47" se refiere a cualquier anticuerpo que reduce la unión de CD47 (por ejemplo, en una célula objetivo) a SIRPα (por ejemplo, en una célula fagocítica). Los ejemplos no limitativos se describen con más detalle a continuación e incluyen, pero no se limitan a, Hu5F9-G4. En algunas realizaciones, un agente anti-CD47 en cuestión es un anticuerpo que se une específicamente a CD47 (es decir, un anticuerpo anti-CD47) y reduce la interacción entre CD47 en una célula (por ejemplo, una célula infectada) y SIRPα en otra célula (por ejemplo, una célula fagocítica). En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-CD47 adecuado no activa CD47 tras la unión. Los ejemplos no limitativos de anticuerpos adecuados incluyen los clones B6H12, 5F9, 8B6 y C3 (por ejemplo, como se describe en la Publicación de Patente Internacional WO 2011/143624). Los anticuerpos anti-CD47 adecuados incluyen versiones completamente humanas, humanizadas o quiméricas de tales anticuerpos. Los anticuerpos humanizados (por ejemplo, hu5F9-G4) son especialmente útiles para aplicaciones in vivo en humanos debido a su baja antigenicidad. De manera similar, los anticuerpos caninizados, felinizados, etc. son especialmente útiles para aplicaciones en perros, gatos y otras especies, respectivamente. Los anticuerpos de interés incluyen anticuerpos humanizados, o anticuerpos caninizados, felinizados, equinizados, bovinizados, porcinizados, etc., y variantes de los mismos.

Como se usa en la presente, "anticuerpo" incluye la referencia a una molécula de inmunoglobulina inmunológicamente reactiva con un antígeno particular, e incluye tanto anticuerpos policlonales como monoclonales. El término también incluye formas manipuladas genéticamente como anticuerpos quiméricos (por ejemplo, anticuerpos murinos humanizados) y anticuerpos heteroconjugados. El término "anticuerpo" también incluye formas de unión a antígeno de anticuerpos, incluyendo fragmentos con capacidad de unión a antígeno (por ejemplo, Fab', F(ab')₂, Fab, Fv y rIgG. El término también se refiere a fragmentos Fv de cadena sencilla recombinantes (scFv). El término anticuerpo también incluye moléculas bivalentes o biespecíficas, diacuerpos, triacuerpos y tetracuerpos. A continuación se encuentra una descripción adicional del término anticuerpo.

Un "paciente" para los propósitos de la presente divulgación incluye humanos y otros animales, particularmente mamíferos, incluyendo mascotas y animales de laboratorio, por ejemplo, ratones, ratas, conejos, etc. Por tanto, los métodos son aplicables tanto a la terapia humana como a las aplicaciones veterinarias. En un caso, el paciente es un mamífero, preferiblemente un primate. En otras realizaciones, el paciente es un ser humano.

Los términos "sujeto", "individuo" y "paciente" se usan indistintamente en la presente para referirse a un mamífero que está siendo evaluado para tratamiento y/o que se está tratando. En la invención, el mamífero es un humano. Los términos "sujeto", "individuo" y "paciente" abarcan, sin limitación, individuos que tienen cáncer. Los sujetos pueden ser humanos, pero también incluyen otros mamíferos, particularmente aquellos mamíferos útiles como

modelos de laboratorio para enfermedades humanas, por ejemplo, ratones, ratas, etc.

Como se usa en la presente, la frase "sensible al platino" se refiere a un sujeto humano que desarrolla una enfermedad recurrente más de 6 meses después de recibir la última quimioterapia basada en platino.

Como se usa en la presente, la frase "resistente al platino" se refiere a un sujeto humano que desarrolla una enfermedad recurrente menos de 6 meses después de recibir la última quimioterapia basada en platino.

Como se usa en la presente, el término "valor de referencia" se define como un período de 30 días antes de la administración del primer tratamiento a un sujeto humano con cáncer de ovario.

El término "muestra" con respecto a un paciente abarca sangre y otras muestras líquidas de origen biológico, muestras de tejido sólido, como una muestra de biopsia o cultivos de tejidos o células derivadas de los mismos y la progenie de los mismos. La definición también incluye muestras que han sido manipuladas de cualquier manera después de su obtención, como por tratamiento con reactivos; lavado; o enriquecimiento para ciertas poblaciones de células, como las células cancerosas. La definición también incluye muestras que han sido enriquecidas para tipos particulares de moléculas, por ejemplo, ácidos nucleicos, polipéptidos, etc. El término "muestra biológica" abarca una muestra clínica y también incluye tejido obtenido por resección quirúrgica, tejido obtenido por biopsia, células en cultivo, sobrenadantes celulares, lisados celulares, muestras de tejidos, órganos, médula ósea, sangre, plasma, suero y similares. Una "muestra biológica" incluye una muestra obtenida de la célula cancerosa de un paciente, por ejemplo, una muestra que comprende polinucleótidos y/o polipéptidos que se obtiene de la célula cancerosa de un paciente (por ejemplo, un lisado celular u otro extracto celular que comprende polinucleótidos y/o polipéptidos); y una muestra que comprende células cancerosas de un paciente. Una muestra biológica que comprende una célula cancerosa de un paciente también puede incluir células no cancerosas.

El término "diagnóstico" se usa en la presente para referirse a la identificación de un estado, enfermedad o afección molecular o patológica, como la identificación de un subtipo molecular de cáncer de mama, cáncer de próstata u otro tipo de cáncer.

El término "pronóstico" se usa en la presente para referirse a la predicción de la probabilidad de muerte o progresión atribuible al cáncer, incluyendo recurrencia, diseminación metastásica y resistencia a fármacos, de una enfermedad neoplásica, como cáncer de ovario. El término "predicción" se usa en la presente para referirse al acto de predecir o estimar, en base a la observación, la experiencia o el razonamiento científico. En un ejemplo, un médico puede predecir la probabilidad de que un paciente sobreviva, después de la extirpación quirúrgica de un tumor primario y/o quimioterapia durante un cierto período de tiempo sin recurrencia del cáncer.

Como se usa en la presente, los términos "tratamiento", "tratar" y similares, se refieren a administrar un agente, o la realización de un procedimiento, con el propósito de obtener un efecto. El efecto puede ser profiláctico en términos de prevenir total o parcialmente una enfermedad o síntoma de la misma y/o puede ser terapéutico en términos de efectuar una cura parcial o completa de una enfermedad y/o síntomas de la enfermedad. "Tratamiento", como se usa en la presente, puede incluir el tratamiento de un tumor en un mamífero, particularmente en un humano, e incluye: (a) prevenir que se produzca la enfermedad o un síntoma de una enfermedad en un sujeto que puede estar predispuesto a la enfermedad pero que todavía no se le ha diagnosticado que la tiene (por ejemplo, incluyendo enfermedades que pueden estar asociadas o provocadas por una enfermedad primaria; (b) inhibir la enfermedad, es decir, detener su desarrollo; y (c) aliviar la enfermedad, es decir, provocar la regresión de la enfermedad.

El tratamiento puede referirse a cualquier indicio de éxito en el tratamiento o la mejora o la prevención de un cáncer, incluyendo cualquier parámetro objetivo o subjetivo, como la reducción; remisión; disminución de los síntomas o hacer que el estado de la enfermedad sea más tolerable para el paciente; ralentización de la tasa de degeneración o declive; o hacer que el punto final de la degeneración sea menos debilitante. El tratamiento o la mejora de los síntomas puede basarse en parámetros objetivos o subjetivos; incluyendo los resultados de un examen realizado por un médico. Por consiguiente, el término "tratar" incluye la administración de los compuestos o agentes de la presente divulgación para prevenir o retrasar, aliviar o detener o inhibir el desarrollo de los síntomas o condiciones asociadas con el cáncer u otras enfermedades. El término "efecto terapéutico" se refiere a la reducción, eliminación, o prevención de la enfermedad, síntomas de la enfermedad, o efectos secundarios de la enfermedad en un sujeto.

"En combinación con", "terapia de combinación" y "productos de combinación" se refieren, en ciertas realizaciones, a la administración concurrente a un paciente de los agentes descritos en la presente. Cuando se administra en combinación, cada componente puede administrarse al mismo tiempo o secuencialmente en cualquier orden en diferentes puntos temporales. Por tanto, cada componente puede administrarse por separado, pero lo suficientemente cerca en el tiempo como para proporcionar el efecto terapéutico deseado.

La "administración concomitante" de agentes activos en los métodos de la divulgación significa la administración con los reactivos en el momento en que los agentes tendrán un efecto terapéutico al mismo tiempo. Dicha administración concomitante puede implicar la administración concurrente (es decir, al mismo tiempo), anterior

o posterior de los agentes. Un experto en la técnica no tendría dificultad para determinar la cadencia, la secuencia y las dosificaciones de administración apropiadas para fármacos y composiciones particulares de la presente divulgación.

Como se usa en la presente, el término "se correlaciona" o "se correlaciona con" y términos similares, se refiere a una asociación estadística entre casos de dos eventos, donde los eventos incluyen números, conjuntos de datos y similares. Por ejemplo, cuando los eventos implican números, una correlación positiva (también denominada en la presente como "correlación directa") significa que a medida que uno aumenta, el otro también aumenta. Una correlación negativa (también denominada en la presente "correlación inversa") significa que a medida que una aumenta, la otra disminuye.

"Unidad de dosificación" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para el individuo particular a tratar. Cada unidad puede contener una cantidad predeterminada del compuesto o compuestos activos calculada para producir el efecto o efectos terapéuticos deseados en asociación con el portador farmacéutico requerido. La especificación de las formas unitarias de dosificación puede estar dictada por (a) las características únicas del compuesto o compuestos activos y el efecto o efectos terapéuticos particulares que se lograrán, y (b) las limitaciones inherentes en la técnica para preparar dicho compuesto o compuestos activos.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" significa la cantidad que, cuando se administra a un sujeto para tratar una enfermedad, es suficiente para efectuar el tratamiento de esa enfermedad.

El ensayo de ocupación del receptor (RO) mide el nivel de ocupación de CD47 por agentes de unión a CD47, por ejemplo, anticuerpo (Ab) anti-CD47. El propósito de medir el nivel de RO de CD47 es determinar la relación entre la dosis de un agente de unión a CD47, la saturación del receptor de CD47 y el efecto farmacológico. El porcentaje de ocupación del receptor a lo largo del tiempo puede proporcionar información útil referente a la cantidad de fármaco o la duración de la exposición necesaria para producir el efecto farmacológico deseado. Este ensayo puede usarse para determinar la RO total en el cuerpo midiendo la RO de CD47 en células sustitutas, por ejemplo, en glóbulos rojos (RBC) CD45 negativos (-) y glóbulos blancos (WBC) CD45 positivos (+), u otras poblaciones de células, por ejemplo, células de médula ósea o de tejido obtenidas a través de biopsias tisulares. El ensayo de RO también puede usarse para determinar la RO de CD47 en células objetivo, por ejemplo, RBC, células de leucemia o células de tumores sólidos, para la unión a CD47 y/o terapias de bloqueo.

Es de interés el uso de este ensayo para determinar el umbral de ocupación del receptor de CD47 que se correlaciona con el efecto farmacológico deseado. Este umbral puede determinarse mediante ensayos realizados ex vivo (in vitro) o mediante análisis de muestras durante la dosificación/tratamiento in vivo.

En un caso del ensayo, se elabora una curva estándar de unión a CD47 en una célula de interés usando anticuerpo conjugado con fluorocromo a varias concentraciones. La ocupación del receptor se mide incubando las células objetivo con anticuerpos no marcados en diferentes concentraciones, y luego las células o se analizaron en fagocitosis in vitro o se incubaron con una concentración de saturación de anticuerpo marcado en base a la curva estándar y se analizó la unión mediante citometría de flujo. La ocupación del receptor se calculó de la siguiente manera:

$$\% \text{ de RO} = 100 - ((\text{MFI prueba} - \text{MFI sin teñir}) / (\text{MFI saturada STD} - \text{MFI sin teñir})) \times 100$$

En otros casos, el ensayo se realiza infundiendo a un paciente una dosis definida de anticuerpo, obteniendo una muestra de tejido, por ejemplo, una muestra de sangre del paciente, habitualmente antes y después de la infusión del anticuerpo. La muestra de tejido se incubaba con una concentración de saturación de anticuerpo marcado y se analiza mediante citometría de flujo. El análisis puede seleccionarse, por ejemplo, en glóbulos rojos, glóbulos blancos, células cancerosas, etc.

Se ha descubierto que una dosis de cebado que alcanza por lo menos aproximadamente un 80% de saturación de CD47 en RBC es suficiente para inducir la compensación de la anemia y reducir el grado de anemia en dosis posteriores. En humanos, se ha descubierto que la dosis de cebado es como se ha analizado anteriormente, es decir, de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 5 mg/kg. En algunas realizaciones de la invención, se realiza un ensayo de ocupación del receptor con un agente de unión a CD47 candidato para determinar el nivel de dosis de cebado que proporciona por lo menos aproximadamente un 50% de saturación en RBC, por lo menos aproximadamente un 60% de saturación, por lo menos aproximadamente un 70% saturación, por lo menos aproximadamente un 80% de saturación, por lo menos aproximadamente un 90% de saturación, por lo menos aproximadamente un 95% de saturación, por lo menos aproximadamente un 99% de saturación, o más.

En algunas realizaciones de la invención, se realiza un ensayo de ocupación del receptor para determinar la dosis de cebado apropiada para un anticuerpo candidato que se une a CD47.

Métodos de tratamiento

Se proporcionan métodos para tratar a un sujeto con una dosis terapéutica de agente anti-CD47. Los métodos en cuestión incluyen un paso de administración de un agente cebador al sujeto, seguido de un paso de administración de una dosis terapéuticamente eficaz de un agente anti-CD47 al sujeto. En algunas realizaciones, el paso de administrar una dosis terapéuticamente eficaz se realiza después de por lo menos aproximadamente 3 días (por ejemplo, por lo menos aproximadamente 4 días, por lo menos aproximadamente 5 días, por lo menos aproximadamente 6 días, por lo menos aproximadamente 7 días, por lo menos aproximadamente 8 días, por lo menos aproximadamente 9 días, o por lo menos aproximadamente 10 días) después de comenzar la administración de un agente cebador. Este período de tiempo es, por ejemplo, suficiente para proporcionar una producción de reticulocitos mejorada por el individuo.

La administración de una dosis terapéuticamente eficaz de un agente anti-CD47 puede lograrse de varias maneras diferentes. En algunos casos, se administran dos o más dosis terapéuticamente eficaces después de que se haya administrado un agente cebador. La administración adecuada de una dosis terapéuticamente eficaz puede implicar la administración de una sola dosis, o puede implicar la administración de dosis diarias, bisemanales, semanales, una vez cada dos semanas, una vez al mes, anualmente, etc. En algunos casos, una dosis terapéuticamente eficaz se administra como dos o más dosis de concentración ampliada a escala (es decir, dosis crecientes), donde (i) todas las dosis son dosis terapéuticas, o donde (ii) se administra inicialmente una dosis subterapéutica (o dos o más dosis subterapéuticas) y las dosis terapéuticas se alcanzan mediante dicha ampliación a escala. Como un ejemplo no limitativo para ilustrar la concentración ampliada a escala (es decir, dosis crecientes), una dosis terapéuticamente eficaz puede administrarse semanalmente, comenzando con una dosis subterapéutica (por ejemplo, una dosis de 5 mg/kg), y cada dosis posterior puede incrementarse en un incremento particular (por ejemplo, en 5 mg/kg), o en incrementos variables, hasta alcanzar una dosis terapéutica (por ejemplo, 30 mg/kg), momento en el cual la administración puede cesar o continuar (por ejemplo, dosis terapéuticas continuadas, por ejemplo, dosis de 30 mg/kg). Como otro ejemplo no limitativo para ilustrar la concentración ampliada a escala (es decir, dosis crecientes), puede administrarse semanalmente una dosis terapéuticamente eficaz, comenzando con una dosis terapéutica (por ejemplo, una dosis de 10 mg/kg), y cada dosis posterior puede aumentarse en un incremento particular (por ejemplo, en 10 mg/kg), o en incrementos variables, hasta que se alcance una dosis terapéutica (por ejemplo, 30 mg/kg, 100 mg/kg, etc.), momento en el cual la administración puede cesar o continuar (por ejemplo, dosis terapéuticas continuas, por ejemplo, dosis de 30 mg/kg, 100 mg/kg, etc.). En algunas realizaciones, la administración de una dosis terapéuticamente eficaz puede ser una infusión continua y la dosis puede alterarse (por ejemplo, ampliarse a escala) a lo largo del tiempo.

La dosificación y la frecuencia pueden variar dependiendo de la vida media del agente anti-CD47 en el paciente. Un experto en la técnica entenderá que dichas pautas se ajustarán al peso molecular del agente activo, por ejemplo, en el uso de fragmentos de anticuerpos, en el uso de conjugados de anticuerpos, en el uso de reactivos de SIRPα, en el uso de péptidos de CD47 solubles, etc. La dosificación también puede variarse para administración localizada, por ejemplo, intranasal, inhalación, etc., o para administración sistémica, por ejemplo, i.m, i.p., i.v., s.c. y similares.

Una dosis inicial de un agente de unión a CD47, incluyendo, pero no limitado a una dosis de cebado, puede provocar hemaglutinación durante un período de tiempo inmediatamente después de la infusión. Sin querer estar limitados por la teoría, se cree que la dosis inicial de un agente de unión a CD47 multivalente puede provocar la reticulación de los RBC unidos al agente. En ciertos casos de la divulgación, un agente de unión a CD47 se infunde a un paciente en una dosis inicial y, opcionalmente, en dosis posteriores, durante un período de tiempo y/o concentración que reduce la posibilidad de microentornos hematológicos donde hay una alta concentración local de RBC y el agente.

En algunas realizaciones, se infunde una dosis inicial de un agente de unión a CD47 durante un período de por lo menos aproximadamente 2 horas, por lo menos aproximadamente 2,5 horas, por lo menos aproximadamente 3 horas, por lo menos aproximadamente 3,5 horas, por lo menos aproximadamente 4 horas, por lo menos aproximadamente 4,5 horas, por lo menos aproximadamente 5 horas, por lo menos aproximadamente 6 horas o más. En algunas realizaciones, se infunde una dosis inicial durante un período de tiempo de aproximadamente 2,5 horas a aproximadamente 6 horas; por ejemplo, de aproximadamente 3 horas a aproximadamente 4 horas. En algunas de tales realizaciones, la dosis de agente en la infusión es de aproximadamente 0,05 mg/ml a aproximadamente 0,5 mg/ml; por ejemplo, de aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 0,25 mg/ml.

En otros casos, se administra una dosis inicial de un agente de unión a CD47, por ejemplo, una dosis de cebado, mediante fusión continua, por ejemplo, como bomba osmótica, parche de administración, etc., donde la dosis se administra durante un período de por lo menos aproximadamente 6 horas, por lo menos aproximadamente 12 horas, por lo menos aproximadamente 24 horas, por lo menos aproximadamente 2 días, por lo menos aproximadamente 3 días. En la técnica se conocen muchos de tales sistemas. Por ejemplo, la tecnología DUROS, proporciona un sistema bicompartimental separado por un pistón. Uno de los compartimentos consiste en motor osmótico específicamente formulado con un exceso de NaCl sólido, de tal manera que permanece presente durante todo el periodo de administración y da como resultado un gradiente osmótico constante. También consiste en una membrana semipermeable en un extremo a través de la cual se introduce agua en el motor osmótico y se establece un gradiente osmótico grande y constante entre el agua tisular y el motor osmótico. El otro compartimento consiste en

una solución de fármaco con un orificio por el que se libera el fármaco debido al gradiente osmótico. Esto ayuda a proporcionar una administración sistémica y específica del fármaco cuando se implanta en humanos. El sitio preferido de implantación es la colocación subcutánea en el interior de la parte superior del brazo.

Después de la administración del agente de cebado, y dejando que pase un período de tiempo eficaz para un aumento en la producción de reticulocitos, se administra una dosis terapéutica de un agente anti-CD47. La dosis terapéutica puede administrarse de varias maneras diferentes. En algunos casos, se administran dos o más dosis terapéuticamente eficaces después de administrar un agente cebador, por ejemplo, en un programa de dosificación semanal. En algunos casos, se administra una dosis terapéuticamente eficaz de un agente anti-CD47 como dos o más dosis de concentración creciente, en otras, las dosis son equivalentes. Hay una reducción de la hemaglutinación después de la dosis de cebado y, por lo tanto, no se requiere un tiempo de infusión prolongado.

Se proporcionan métodos para tratar a un sujeto humano que tiene cáncer de ovario o reducir el tamaño del cáncer de ovario, el método comprendiendo administrar al sujeto un anticuerpo anti-CD47 y un agente adicional. Tales métodos incluyen administrar a un sujeto con necesidad de tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz o una dosis eficaz de los agentes combinados de la divulgación, incluyendo sin limitación, las combinaciones con un ESA.

Los agentes adicionales pueden mejorar la eficacia de los agentes anti-CD47. El anticuerpo anti-CD47 puede administrarse en combinación o antes del agente adicional.

El agente adicional puede comprender por lo menos uno de un agente quimioterapéutico, un inhibidor de VEGF, un inhibidor de PARP, un inhibidor de punto de control inmunitario, un agente de inmunooncología y un inhibidor de folato.

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con un agente quimioterapéutico.

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con un inhibidor de VEGF.

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con un inhibidor de PARP.

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con un inhibidor del punto de control inmunitario.

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con un agente inmunooncológico.

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con un inhibidor de folato.

En algunos aspectos, el agente adicional es un agente quimioterapéutico. En algunos aspectos, el agente quimioterapéutico es platino (cisplatino/carboplatino). En algunos aspectos, el agente quimioterapéutico es taxano (paclitaxel (Taxol®) o docetaxel (Taxotere®)), gemcitabina, paclitaxel unido a albúmina (nab-paclitaxel, Abraxane®), altretamina (Hexalen®), capecitabina (Xeloda®), ciclofosfamida (Cytosan®), etopósido (VP-16), gemcitabina (Gemzar®, Ifosfamida (Ifex®), irinotecán (CPT-11, Camptosar®), doxorubicina liposomal (Doxil®, Melfalán, Pemetrexed (Alimta®), topotecán, vinorelbina (Navelbine®) o trabectedina (Yondelis®).

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con platino (por ejemplo, cisplatino/carboplatino).

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con taxano (por ejemplo, paclitaxel (Taxol®) o docetaxel (Taxotere®)).

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con gemcitabina.

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con paclitaxel unido a albúmina (por ejemplo, nab-paclitaxel, Abraxane®).

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con altretamina (por ejemplo, Hexalen®).

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con capecitabina (por ejemplo, Xeloda®).

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con ciclofosfamida (por ejemplo, Cytosan®).

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con etopósido (por ejemplo, VP-16).

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con gemcitabina (por ejemplo,

Gemzar®).

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con ifosfamida (por ejemplo, Ifex®).

5 Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con irinotecán (por ejemplo, CPT-11, Camptosar®).

10 Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con doxorubicina liposomal (por ejemplo, Doxil®).

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con melfalán.

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con Pemetrexed (por ejemplo, Alimta®).

15 Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con topotecán.

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con vinorelbina (por ejemplo, Navelbine®).

20 Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con Trabectedina (por ejemplo, Yondelis®).

25 En algunos aspectos, el agente adicional es un inhibidor de VEGF, opcionalmente bevacizumab (Avastin®), regorafenib (Stivarga®) o aflibercept (Eylea®).

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con bevacizumab (por ejemplo, Avastin®).

30 Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con regorafenib (por ejemplo, Stivarga®).

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con aflibercept (por ejemplo, Eylea®).

35 En algunos aspectos, el agente adicional es un inhibidor de PARP, opcionalmente el inhibidor de PARP es Rucaparib (Rubraca®), Niraparib (Zejula®), Olaparib (Lynparza®), Talazoparib (BMN-673) o Veliparib (ABT-888).

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con Rucaparib (por ejemplo, Rubraca®).

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con Niraparib (por ejemplo, Zejula®).

40 Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con Olaparib (por ejemplo, Lynparza®).

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con Talazoparib (por ejemplo, BMN-673).

45 Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con Veliparib (por ejemplo, ABT-888).

En algunos aspectos, el agente adicional es un inhibidor del punto de control inmunitario, opcionalmente en donde el agente adicional inhibe por lo menos uno de CTLA4, PD1 y PDL1.

50 Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con un inhibidor de CTLA4.

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con un inhibidor de PD1.

55 Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con un inhibidor de PDL1.

En algunos aspectos, el agente adicional es un inhibidor de folato que inhibe el metabolismo del folato o se dirige al receptor de folato.

60 Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con un inhibidor de folato que inhibe el metabolismo del folato.

Un agente anti-CD47 (por ejemplo, Hu5F9-G4) puede administrarse con un inhibidor de folato que se dirige al receptor de folato.

65 Se administra una combinación de un anticuerpo anti-CD47 con un agente adicional descrito en la presente

a pacientes con subtipos de tumores que responden a estas terapias. Estos tumores pueden definirse por una mayor frecuencia de mutaciones, lo que da como resultado más antígenos tumorales y, por lo tanto, son más inmunogénicos, como se describe en la presente. En algunas realizaciones, los pacientes tratados con terapia de combinación responden al tratamiento con un activador inmunitario o un inhibidor de puntos de control; sin embargo, esto representa un subconjunto de aproximadamente el 25% de los pacientes dentro de un subtipo de tumor específico potencialmente sensible. En la invención, los individuos son resistentes a la terapia con platino.

En algunas realizaciones, los métodos en cuestión incluyen un paso de administración de un agente cebador al sujeto, seguido de un paso de administración de una dosis terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-CD47 y un agente adicional al sujeto. En algunas realizaciones, el paso de administrar una dosis terapéuticamente eficaz se realiza después de por lo menos aproximadamente 3 días (por ejemplo, por lo menos aproximadamente 4 días, por lo menos aproximadamente 5 días, por lo menos aproximadamente 6 días, por lo menos aproximadamente 7 días, por lo menos aproximadamente 8 días, por lo menos aproximadamente 9 días, o por lo menos aproximadamente 10 días) después de comenzar la administración de un agente cebador. Este período de tiempo es, por ejemplo, suficiente para proporcionar una producción de reticulocitos mejorada por el individuo.

La administración de una dosis terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-CD47 y/o un agente adicional puede lograrse de varias maneras diferentes. En algunos casos, se administran dos o más dosis terapéuticamente eficaces después de administrar un agente cebador. La administración adecuada de una dosis terapéuticamente eficaz puede implicar la administración de una única dosis, o puede implicar la administración de dosis diarias, bisemanales, semanales, una vez cada dos semanas, una vez al mes, anualmente, etc. En algunos casos, una dosis terapéuticamente eficaz se administra como dos o más dosis de concentración ampliada a escala (es decir, dosis crecientes), donde (i) todas las dosis son dosis terapéuticas, o donde (ii) se administra inicialmente una dosis subterapéutica (o dos o más dosis subterapéuticas) y las dosis terapéuticas se alcanzan mediante dicha ampliación a escala. Como un ejemplo no limitativo para ilustrar la concentración ampliada a escala (es decir, dosis crecientes), una dosis terapéuticamente eficaz puede administrar semanalmente, comenzando con una dosis subterapéutica (por ejemplo, una dosis de 5 mg/kg), y cada dosis posterior puede incrementarse en un incremento particular (por ejemplo, en 5 mg/kg), o en incrementos variables, hasta alcanzar una dosis terapéutica (por ejemplo, 30 mg/kg), momento en el cual la administración puede cesar o puede continuar (por ejemplo, dosis terapéuticas continuadas, por ejemplo, dosis de 30 mg/kg). Como otro ejemplo no limitativo para ilustrar la concentración ampliada a escala (es decir, dosis crecientes), una dosis terapéuticamente eficaz puede administrarse semanalmente, comenzando con una dosis terapéutica (por ejemplo, una dosis de 10 mg/kg), y cada dosis posterior puede aumentarse en un incremento particular (por ejemplo, por 10 mg/kg), o en incrementos variables, hasta que se alcance una dosis terapéutica (por ejemplo, 30 mg/kg, 100 mg/kg, etc.), momento en el cual la administración puede cesar o puede continuar (por ejemplo, dosis terapéuticas continuadas, por ejemplo, dosis de 30 mg/kg, 100 mg/kg, etc.). En algunas realizaciones, la administración de una dosis terapéuticamente eficaz puede ser una infusión continua y la dosis puede modificarse (por ejemplo, ampliarse a escala) con el tiempo.

La dosificación y la frecuencia pueden variar dependiendo de la vida media del anticuerpo anti-CD47 y/o el agente adicional en el paciente. Un experto en la técnica entenderá que tales pautas se ajustarán al peso molecular del agente activo, por ejemplo, en el uso de fragmentos de anticuerpos, en el uso de conjugados de anticuerpos, en el uso de reactivos de SIRPα, en el uso de péptidos de CD47 solubles, etc. La dosificación también puede variarse para administración localizada, por ejemplo, intranasal, inhalación, etc., o para administración sistémica, por ejemplo, i.m., i.p., i.v., s.c. y similares.

En ciertas realizaciones de la invención, el anticuerpo anti-CD47 se infunde a un paciente en una dosis inicial y, opcionalmente en dosis posteriores, durante un período de tiempo y/o concentración que reduce la posibilidad de microentornos hematológicos en los que exista una concentración local alta de glóbulos rojos y el agente.

En algunas realizaciones de la invención, se infunde una dosis inicial del anticuerpo anti-CD47 durante un período de por lo menos aproximadamente 2 horas, por lo menos aproximadamente 2,5 horas, por lo menos aproximadamente 3 horas, por lo menos aproximadamente 3,5 horas, por lo menos aproximadamente 4 horas, por lo menos aproximadamente 4,5 horas, por lo menos aproximadamente 5 horas, por lo menos aproximadamente 6 horas o más. En algunas realizaciones, se infunde una dosis inicial durante un período de tiempo de aproximadamente 2,5 horas a aproximadamente 6 horas; por ejemplo, de aproximadamente 3 horas a aproximadamente 4 horas. En algunas de tales realizaciones, la dosis de agente en la infusión es de aproximadamente 0,05 mg/ml a aproximadamente 0,5 mg/ml; por ejemplo, de aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 0,25 mg/ml.

Cáncer de ovarios

En la presente se proporcionan métodos para tratar a individuos que tienen cáncer de ovario o reducir el tamaño del cáncer de ovario en el sujeto, que comprenden administrar: una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-CD47 al sujeto; y, opcionalmente, una cantidad terapéuticamente eficaz de por lo menos un agente adicional para el sujeto.

Los ejemplos de cáncer de ovario incluyen cáncer de ovario epitelial, opcionalmente tumor seroso, tumor mucinoso, tumor de células claras, tumor de endometrio, tumor de células de transición, tumor de Brenner, tumor de carcinosarcoma, tumor epitelial mixto, tumor epitelial limítrofe, tumor de carcinoma indiferenciado, tumor de las trompas de Falopio o tumor peritoneal primario.

En algunas realizaciones, el cáncer de ovario epitelial es un tumor seroso. Puede determinarse que el cáncer de ovario de tumor seroso es de grado bajo o alto mediante subtipificación de análisis histológico. En un caso de la divulgación, los individuos son sensibles a la quimioterapia con platino. En la invención, los individuos son resistentes a la quimioterapia con platino.

En algunas realizaciones, el paciente tiene una carga de mutaciones baja. En algunas realizaciones, la paciente tiene una carga de mutaciones alta. Como se sabe en la técnica, los tipos de cáncer pueden variar en el grado de mutación medio o específico, donde los niveles más altos de mutación están asociados con una mayor expresión de neoantígenos. Ver, por ejemplo, Vogelstein et al., (2013), supra. Una carga de mutación baja puede ser un tipo de cáncer con una media por tumor, o número específico para un tumor individual, de hasta aproximadamente 10, hasta aproximadamente 20, hasta aproximadamente 30, hasta aproximadamente 40, hasta aproximadamente 50 mutaciones no sinónimas por tumor. Una carga de mutaciones alta puede ser un tipo de cáncer con más de aproximadamente 50, más de aproximadamente 75, más de aproximadamente 100, más de aproximadamente 125, más de aproximadamente 150 mutaciones no sinónimas por tumor.

En la invención, el cáncer es de ovario. En algunas de tales realizaciones, el cáncer es un tipo que tiene una alta carga de neoantígeno o mutagénesis (ver Vogelstein et al. (2013) Science 339 (6127): 1546-1558). En otras realizaciones, el cáncer es con un tipo con una carga de neoantígeno baja. En algunas de tales realizaciones, la terapia de combinación de la presente invención potencia la actividad del inhibidor de puntos de control. En otras realizaciones, cuando el cáncer individual no responde a un inhibidor de punto de control solo, la terapia de combinación proporciona una respuesta terapéutica. En la invención, el individuo es resistente al platino.

Cáncer

En la presente, los términos "cáncer", "neoplasia" y "tumor" se usan indistintamente para referirse a células que muestran un crecimiento autónomo no regulado, de tal manera que muestran un fenotipo de crecimiento aberrante caracterizado por una pérdida significativa de control sobre la proliferación celular. Las células de interés para la detección, el análisis o el tratamiento en la presente solicitud incluyen células precancerosas (por ejemplo, benignas), malignas, premetastásicas, metastásicas y no metastásicas. Se conocen cánceres de prácticamente todos los tejidos. La frase "carga de cáncer" se refiere a la cantidad de células cancerosas o el volumen de cáncer en un sujeto. Por consiguiente, reducir la carga de cáncer se refiere a reducir el número de células cancerosas o el volumen de cáncer en un sujeto. El término "célula cancerosa", como se usa en la presente, se refiere a cualquier célula que sea una célula cancerosa o que se derive de una célula cancerosa, por ejemplo, un clon de una célula cancerosa. Los expertos en la técnica conocen muchos tipos de cánceres, incluyendo tumores sólidos como carcinomas, sarcomas, glioblastomas, melanomas, linfomas, mielomas, etc., y cánceres circulantes como leucemias. Los ejemplos de cáncer incluyen, pero no se limitan a, cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico, cáncer de páncreas, cáncer de cuello uterino, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, cáncer de orina del tracto urinario, cáncer de tiroides, cáncer renal, carcinoma, melanoma, cáncer de cabeza y cuello y cáncer de cerebro.

La "patología" del cáncer incluye todos los fenómenos que comprometen el bienestar del paciente. Esto incluye, sin limitación, crecimiento celular anormal o incontrolable, metástasis, interferencia con el funcionamiento normal de las células colindantes, liberación de citoquinas u otros productos secretores a niveles anormales, supresión o agravamiento de la respuesta inflamatoria o inmunológica, neoplasia, premalignidad, malignidad, invasión de tejidos u órganos circundantes o distantes, como ganglios linfáticos, etc.

Como se usa en la presente, los términos "recurrencia del cáncer" y "recurrencia del tumor", y variantes gramaticales de los mismos, se refieren al crecimiento adicional de células neoplásicas o cancerosas después del diagnóstico de cáncer. Particularmente, la recurrencia puede ocurrir cuando se produce un mayor crecimiento de células cancerosas en el tejido canceroso. De manera similar, la "propagación tumoral" ocurre cuando las células de un tumor se diseminan a tejidos y órganos locales o distantes; por lo tanto, la diseminación tumoral abarca la metástasis tumoral. La "invasión tumoral" ocurre cuando el crecimiento del tumor se disemina localmente para comprometer la función de los tejidos involucrados por compresión, destrucción o prevención de la función normal del órgano.

Como se usa en la presente, el término "metástasis" se refiere al crecimiento de un tumor canceroso en un órgano o parte del cuerpo, que no está conectado directamente con el órgano del tumor canceroso original. Se entenderá que metástasis incluye micrometástasis, que es la presencia de una cantidad indetectable de células cancerosas en un órgano o parte del cuerpo que no está conectado directamente con el órgano del tumor canceroso original. La metástasis también puede definirse como varios pasos de un proceso, como la salida de las células

cancerosas de un sitio tumoral original y la migración y/o invasión de células cancerosas a otras partes del cuerpo.

Criterios de valoración clínicos

5 Los métodos descritos en la presente dan como resultado por lo menos un criterio de valoración mejorado en comparación con el valor de referencia.

10 En algunas realizaciones de la invención, la administración del agente anti-CD47, con o sin un agente adicional, reduce el nivel de marcadores de cáncer como CA125, HE4 (proteína 4 del epidídimo humano), CA-72-4, CA-19-9, y CEA; en comparación con el valor de referencia. En algunas realizaciones, la administración del agente anti-CD47, con o sin un agente adicional, reduce el CA125 en el sujeto en comparación con el valor de referencia. En algunas realizaciones, el nivel de CA125 se mide aproximadamente una vez al mes. En otras realizaciones, la administración reduce el nivel de CA125 en el sujeto en por lo menos un 30-90, 40-80, 50-70, 30, 40, 50, 60, 70, 80 o 90% en comparación con el valor de referencia. En otras realizaciones, la administración reduce el tamaño del cáncer o metástasis del mismo en comparación con el valor de referencia, opcionalmente medido por imagenología, opcionalmente en donde la imagenología es CT/PET/CT o MRI, opcionalmente que comprende una enfermedad que aumenta inicialmente desde el valor de referencia pero posteriormente disminuye en tamaño.

20 Como se usa en la presente, los criterios de valoración para el tratamiento tendrán un significado conocido en la técnica y como lo usa la Food and Drug Administration.

25 La supervivencia global se define como el tiempo desde la aleatorización hasta la muerte por cualquier causa, y se mide en la población por intención de tratar. La supervivencia se considera el criterio de valoración más fiable del cáncer y, cuando pueden realizarse estudios para evaluar adecuadamente la supervivencia, suele ser el criterio de valoración preferido. Este criterio de valoración es preciso y fácil de medir, documentado por la fecha de la muerte. El sesgo no es un factor en la medición del criterio de valoración. La mejora de la supervivencia debe analizarse como un análisis de riesgo-beneficio para evaluar el beneficio clínico. La supervivencia global puede evaluarse en estudios controlados aleatorios. La demostración de una mejora estadísticamente significativa en la supervivencia general puede considerarse clínicamente significativa si el perfil de toxicidad es aceptable y, a menudo, ha respaldado la aprobación de nuevos fármacos. Un beneficio de los métodos de la invención puede incluir una mayor supervivencia global de los pacientes.

35 Los criterios de valoración que se basan en evaluaciones tumorales incluyen DFS, ORR, TTP, PFS y tiempo hasta el fracaso del tratamiento (TTF). La recopilación y el análisis de datos sobre estos criterios de valoración dependientes del tiempo se basan en evaluaciones indirectas, cálculos y estimaciones (por ejemplo, mediciones de tumores). La supervivencia libre de enfermedad (DFS, por sus siglas en inglés) se define como el tiempo desde la aleatorización hasta la recurrencia del tumor o la muerte por cualquier causa. El uso más frecuente de este criterio de valoración es en el entorno adyuvante después de la cirugía definitiva o la radioterapia. La DFS también puede ser un criterio de valoración importante cuando un gran porcentaje de pacientes logra respuestas completas con quimioterapia.

45 Tasa de respuesta objetiva. La ORR se define como la proporción de pacientes con una reducción del tamaño del tumor de una cantidad predefinida y durante un período de tiempo mínimo. La duración de la respuesta habitualmente se mide desde el momento de la respuesta inicial hasta la progresión documentada del tumor. En general, la FDA ha definido la ORR como la suma de las respuestas parciales más las respuestas completas. Cuando se define de esta manera, la ORR es una medida directa de la actividad antitumoral del fármaco, que puede evaluarse en un estudio de un solo brazo.

50 Tiempo hasta la progresión y supervivencia libre de progresión. La TTP y la PFS han servido como criterios de valoración primarios para la aprobación de fármacos. La TTP se define como el tiempo desde la aleatorización hasta la progresión objetiva del tumor; la TTP no incluye muertes. La PFS se define como el tiempo desde la aleatorización hasta la progresión objetiva del tumor o la muerte. La definición precisa de la progresión del tumor es importante y debe detallarse cuidadosamente en el protocolo.

Anticuerpos

60 Los métodos descritos en la presente incluyen la administración de un anticuerpo o anticuerpos, es decir, la administración de un anticuerpo anti-CD47 y, en algunas realizaciones, la administración de un anticuerpo adicional. Como se ha descrito anteriormente, el término "anticuerpo" incluye la referencia a una molécula de inmunoglobulina inmunológicamente reactiva con un antígeno particular e incluye tanto anticuerpos policlonales como monoclonales. El término también incluye formas manipuladas genéticamente como anticuerpos quiméricos (por ejemplo, anticuerpos murinos humanizados) y anticuerpos heteroconjugados. El término "anticuerpo" también incluye formas de unión a antígeno de anticuerpos, incluyendo fragmentos con capacidad de unión a antígeno (por ejemplo, Fab', F(ab')₂, Fab, Fv y rIgG. El término también se refiere a fragmentos Fv de cadena sencilla recombinantes (scFv). El término anticuerpo también incluye moléculas bivalentes o biespecíficas, diacuerpos, triacuerpos y tetracuerpos.

La selección de anticuerpos puede basarse en una variedad de criterios, que incluyen selectividad, afinidad, citotoxicidad, etc. La frase "se une específicamente (o selectivamente)" a un anticuerpo o "específicamente (o selectivamente) inmunorreactivo con", cuando se hace referencia a una proteína o péptido, se refiere a una reacción de unión que determina la presencia de la proteína, en una población heterogénea de proteínas y otros productos biológicos. Por tanto, en las condiciones de inmunoensayo designadas, los anticuerpos especificados se unen a una secuencia de proteína particular por lo menos dos veces el fondo y más típicamente más de 10 a 100 veces el fondo. En general, los anticuerpos de la presente divulgación se unen a antígenos en la superficie de las células objetivo en presencia de células efectoras (tales como células asesinas naturales o macrófagos). Los receptores Fc en las células efectoras reconocen los anticuerpos unidos.

Puede generarse un anticuerpo inmunológicamente reactivo con un antígeno particular mediante métodos recombinantes como la selección de bibliotecas de anticuerpos recombinantes en fagos o vectores similares, o mediante la inmunización de un animal con el antígeno o con el ADN que codifica el antígeno. Los métodos para preparar anticuerpos policlonales son conocidos por los expertos en la técnica. Los anticuerpos pueden, alternativamente, ser anticuerpos monoclonales. Los anticuerpos monoclonales pueden prepararse usando métodos de hibridoma. En un método de hibridoma, típicamente se inmuniza un animal huésped apropiado con un agente inmunizante para provocar linfocitos que produzcan o sean capaces de producir anticuerpos que se unirán específicamente al agente inmunizante. Alternativamente, los linfocitos pueden inmunizarse *in vitro*. Luego, los linfocitos se fusionan con una línea celular inmortalizada usando un agente de fusión adecuado, como polietilenglicol, para formar una célula de hibridoma.

Los anticuerpos humanos pueden producirse usando varias técnicas conocidas en la técnica, incluyendo las bibliotecas de presentación de fagos. De manera similar, los anticuerpos humanos pueden elaborarse introduciendo loci de inmunoglobulina humana en animales transgénicos, por ejemplo, ratones en los que los genes de inmunoglobulina endógena han sido parcial o completamente inactivados. Tras el desafío, se observa la producción de anticuerpos humanos, que se asemeja en gran medida a la observada en humanos en todos los aspectos, incluyendo el reordenamiento de genes, el ensamblaje y el repertorio de anticuerpos.

Los anticuerpos también existen como varios fragmentos bien caracterizados producidos por digestión con varias peptidasas. Así, la pepsina digiere un anticuerpo por debajo de los enlaces disulfuro en la región bisagra para producir F(ab)'₂, un dímero de Fab que en sí mismo es una cadena ligera unida a V_H-C_{H1} por un enlace disulfuro. El F(ab)'₂ puede reducirse en condiciones suaves para romper el enlace disulfuro en la región bisagra, convirtiendo de este modo el dímero F(ab)'₂ en un monómero Fab'. El monómero Fab' es esencialmente Fab con parte de la región bisagra. Aunque varios fragmentos de anticuerpos se definen en términos de la digestión de un anticuerpo intacto, un experto apreciará que tales fragmentos pueden sintetizarse *de novo* o químicamente o usando metodología de ADN recombinante. Por tanto, el término anticuerpo, como se usa en la presente, también incluye fragmentos de anticuerpos producidos por la modificación de anticuerpos completos o aquellos sintetizados *de novo* usando metodologías de ADN recombinante (por ejemplo, Fv de cadena sencilla) o aquellos identificados usando bibliotecas de presentación de fagos.

Un "anticuerpo humanizado" es una molécula de inmunoglobulina que contiene una secuencia mínima derivada de una inmunoglobulina no humana. Los anticuerpos humanizados incluyen inmunoglobulinas humanas (anticuerpo receptor) en las que los residuos de una región determinante de la complementariedad (CDR) del receptor se reemplazan por residuos de una CDR de una especie no humana (anticuerpo donante) como ratón, rata o conejo que tiene la especificidad, afinidad y capacidad deseadas. En algunos casos, los residuos del marco Fv de la inmunoglobulina humana se reemplazan por residuos no humanos correspondientes. Los anticuerpos humanizados también pueden comprender residuos que no se encuentran ni en el anticuerpo receptor ni en las secuencias marco o CDR importadas. En general, un anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente la totalidad de por lo menos uno, y típicamente dos, dominios variables, en el que todas o sustancialmente todas las regiones CDR corresponden a las de una inmunoglobulina no humana y todas o sustancialmente todas las regiones marco (FR) son las de una secuencia de consenso de inmunoglobulina humana. De manera óptima, el anticuerpo humanizado también comprenderá por lo menos una porción de una región constante de inmunoglobulina (Fc), típicamente la de una inmunoglobulina humana.

Los anticuerpos de interés pueden analizarse para determinar su capacidad para inducir la ADCC (citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos) o la ADCP (fagocitosis celular dependiente de anticuerpos). La actividad de ADCC asociada a anticuerpos puede controlarse y cuantificarse mediante la detección de la liberación del marcador o lactato deshidrogenasa de las células lisadas, o la detección de la viabilidad reducida de las células objetivo (por ejemplo, ensayo de anexina). Los ensayos de apoptosis pueden realizarse mediante el ensayo de marcado del extremo de la muesca de digoxigenina-11-dUTP mediado por desoxinucleotidil transferasa terminal (TUNEL) (Lazebnik et al., Nature: 371, 346 (1994)). La citotoxicidad también puede detectarse directamente mediante kits de detección conocidos en la técnica, como el kit de detección de citotoxicidad de Roche Applied Science (Indianapolis, Ind.).

Anticuerpos anti-CD47

Los métodos descritos en la presente incluyen la administración de un anticuerpo anti-CD47.

CD47 es una glicoproteína transmembrana ampliamente expresada con un único dominio similar a Ig y cinco regiones que abarcan la membrana, que funciona como un ligando celular para SIRPα con unión mediada a través del dominio similar a V NH₂-terminal de SIRPα. SIRPα se expresa principalmente en células mieloides, incluyendo macrófagos, granulocitos, células dendríticas mieloides (DC), mastocitos y sus precursores, incluyendo las células madre hematopoyéticas. Los determinantes estructurales de SIRPα que median la unión de CD47 se analizan en Lee et al. (2007) J. Immunol. 179:7741-7750; Hatherley et al. (2008) Mol Cell. 31(2):266-77; Hatherley et al. (2007) J.B.C. 282:14567-75; y el papel de la dimerización en cis de SIRPα en la unión de CD47 se analiza en Lee et al. (2010) JBC 285:37953-63. De acuerdo con el papel de CD47 para inhibir la fagocitosis de las células normales, hay evidencias de que está regulada por incremento transitoriamente en células madre hematopoyéticas (HSC) y progenitoras justo antes y durante su fase migratoria, y que el nivel de CD47 en estas células determina la probabilidad de que sean fagocitadas in vivo.

El término "agente anti-CD47" o "agente que proporciona el bloqueo de CD47" se refiere a cualquier agente que reduce la unión de CD47 (por ejemplo, en una célula objetivo) a SIRPα (por ejemplo, en una célula fagocítica). Los ejemplos no limitativos de reactivos anti-CD47 adecuados incluyen reactivos de SIRPα, incluyendo sin limitación, polipéptidos de SIRPα de alta afinidad, anticuerpos anti-SIRPα, polipéptidos de CD47 solubles y anticuerpos o fragmentos de anticuerpos anti-CD47. En algunos casos, un agente anti-CD47 adecuado (por ejemplo, un anticuerpo anti-CD47, un reactivo de SIRPα, etc.) se une específicamente a CD47 para reducir la unión de CD47 a SIRPα.

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD47 en cuestión se une específicamente a CD47 y reduce la interacción entre CD47 en una célula (por ejemplo, una célula infectada) y SIRPα en otra célula (por ejemplo, una célula fagocítica). En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-CD47 adecuado no activa CD47 tras la unión. Algunos anticuerpos anti-CD47 no reducen la unión de CD47 a SIRPα y a dicho anticuerpo puede hacerse referencia como "anticuerpo anti-CD47 no bloqueante". A un anticuerpo anti-CD47 adecuado que es un "agente anti-CD47" puede hacerse referencia como "anticuerpo bloqueante de CD47". Los ejemplos no limitativos de anticuerpos adecuados incluyen los clones B6H12, 5F9, 8B6 y C3 (por ejemplo, como se describe en la Publicación de Patente Internacional WO 2011/143624). Los anticuerpos anti-CD47 adecuados incluyen versiones completamente humanas, humanizadas o quiméricas de tales anticuerpos. Los anticuerpos humanizados (por ejemplo, hu5F9-G4) son especialmente útiles para aplicaciones in vivo en seres humanos debido a su baja antigenicidad. De manera similar, los anticuerpos caninizados, felinizados, etc. son especialmente útiles para aplicaciones en perros, gatos y otras especies, respectivamente. Los anticuerpos de interés incluyen anticuerpos humanizados, o anticuerpos caninizados, felinizados, equinizados, bovinizados, porcinizados, etc., y variantes de los mismos.

En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-CD47 comprende una región Fc de IgG humana, por ejemplo, una región constante de IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3, IgG4. En una realización, la región Fc de IgG es una región constante de IgG4. La bisagra de IgG4 puede estabilizarse mediante la sustitución del aminoácido S241P (ver Angal et al. (1993) Mol. Immunol. 30(1):105-108).

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD47 compite por unirse a CD47 con Hu5F9-G4. En algunas realizaciones, el anti-CD47 se une al mismo epítipo de CD47 que Hu5F9-G4.

En algunas realizaciones, los métodos descritos en la presente incluyen la administración del anticuerpo anti-CD47 Hu5F9-G4. En algunas realizaciones, los métodos descritos en la presente incluyen la administración de un anticuerpo anti-CD47 con secuencias (cadena ligera, cadena pesada y/o CDR) por lo menos un 97%, por lo menos un 98%, por lo menos un 99% o un 100% idénticas a las secuencias de Hu5f9-G4. La Tabla 1 contiene la secuencia de las cadenas pesada y ligera del anticuerpo Hu5f9-G4. Las regiones de CDR se muestran en negrita.

Tabla 1.

SEQ ID NO	Descripción y Secuencia
1	<p>Cadena pesada de anticuerpo Hu5f9-G4</p> <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYNMHWVRQAPGQRLEWMGTI YPGNDDTSYNQKFKDRVITITADTSASTAYMELSSLRSED TAVYYCARGGGYR AMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKTYTCNVDH KPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK</p>
2	<p>Cadena ligera de anticuerpos Hu5f9-G4</p> <p>DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSIVYSNGNTYLGWYLQKPGQSPQL LIYKVSNRFSGVPDFRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHPYT FGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC</p>

Dosificación

Los métodos descritos en la presente incluyen la administración de una dosis terapéuticamente eficaz de las composiciones, es decir, una dosis terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-CD47 y, opcionalmente, un agente adicional.

Las composiciones se administran a un paciente en una cantidad suficiente para eliminar sustancialmente las células objetivo, como se ha descrito anteriormente. Una cantidad adecuada para lograr esto se define como una "dosis terapéuticamente eficaz", que puede proporcionar una mejora en las tasas de supervivencia global. Pueden administrarse administraciones únicas o múltiples de las composiciones dependiendo de la dosificación y la frecuencia según lo requiera y tolere el paciente. La dosis particular requerida para un tratamiento dependerá de la condición médica y el historial del mamífero, así como de otros factores como la edad, el peso, el género, la vía de administración, la eficacia, etc.

Las dosis eficaces de los agentes combinados de la presente invención para el tratamiento del cáncer varían dependiendo de muchos factores diferentes, incluyendo los medios de administración, el sitio objetivo, el estado fisiológico del paciente, si el paciente es humano o animal, otros medicamentos administrados y si el tratamiento es profiláctico o terapéutico. Habitualmente, el paciente es un humano, pero también pueden tratarse mamíferos no humanos, por ejemplo, animales de compañía como perros, gatos, caballos, etc., mamíferos de laboratorio como conejos, ratones, ratas, etc., y similares. Las dosificaciones de tratamiento pueden titularse para optimizar la seguridad y la eficacia.

Una dosis terapéuticamente eficaz del anticuerpo anti-CD47 puede depender del agente específico usado, pero habitualmente es de aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal o más (por ejemplo, aproximadamente 20 mg/kg o más, aproximadamente 25 mg/kg o más, aproximadamente 30 mg/kg o más, aproximadamente 35 mg/kg o más, aproximadamente 40 mg/kg o más, aproximadamente 45 mg/kg o más, aproximadamente 50 mg/kg o más, o aproximadamente 55 mg/kg o más, o aproximadamente 60 mg/kg o más, o aproximadamente 65 mg/kg o más, o aproximadamente 70 mg/kg o más), o de aproximadamente 20 mg/kg a aproximadamente 70 mg/kg (por ejemplo, de aproximadamente 20 mg/kg a aproximadamente 67,5 mg/kg, o de aproximadamente 20 mg/kg a aproximadamente 60 mg/kg).

En algunas realizaciones, la dosis terapéuticamente eficaz del anticuerpo anti-CD47 es de 20, 30, 45, 60 o 67,5 mg/kg. En algunas realizaciones, la dosis terapéuticamente eficaz del anticuerpo anti-CD47 es de 20 a 60 mg/kg. En algunas realizaciones, la dosis terapéuticamente eficaz del anticuerpo anti-CD47 es de 20 a 67,5 mg/kg.

La dosis requerida para lograr y/o mantener un nivel particular en suero de la composición administrada es proporcional a la cantidad de tiempo entre las dosis e inversamente proporcional al número de dosis administradas. Por tanto, a medida que aumenta la frecuencia de dosificación, disminuye la dosis requerida. La optimización de las estrategias de dosificación será fácilmente comprendida y puesta en práctica por un experto en la técnica. Un régimen de tratamiento ejemplar implica la administración una vez cada dos semanas o una vez al mes o una vez cada 3 a 6 meses. Las entidades terapéuticas de la presente divulgación se administran habitualmente en múltiples ocasiones. Los intervalos entre dosificaciones individuales pueden ser semanales, mensuales o anuales. Los intervalos también pueden ser irregulares, como se indica midiendo los niveles en sangre de la entidad terapéutica en el paciente. Alternativamente, las entidades terapéuticas de la presente divulgación pueden administrarse como una formulación de liberación sostenida, en cuyo caso se requiere una administración menos frecuente. La dosificación y la frecuencia varían dependiendo de la vida media del polipéptido en el paciente.

Una "dosis de mantenimiento" es una dosis destinada a ser una dosis terapéuticamente eficaz. Por ejemplo, en experimentos para determinar la dosis terapéuticamente eficaz, pueden administrarse múltiples dosis de mantenimiento diferentes a diferentes sujetos. Como tal, algunas de las dosis de mantenimiento pueden ser dosis terapéuticamente eficaces y otras pueden ser dosis subterapéuticas.

En aplicaciones profilácticas, puede administrarse una dosificación relativamente baja a intervalos relativamente infrecuentes durante un largo período de tiempo. Algunos pacientes continúan recibiendo tratamiento por el resto de sus vidas. En otras aplicaciones terapéuticas, a veces se requiere una dosificación relativamente alta a intervalos relativamente cortos hasta que se reduce o termina la progresión de la enfermedad, y preferiblemente hasta que el paciente muestra una mejora parcial o completa de los síntomas de la enfermedad. Posteriormente, al paciente se le puede administrar un régimen profiláctico.

En otros casos más, los métodos de la presente divulgación incluyen tratar, reducir o prevenir el crecimiento tumoral, la metástasis tumoral o la invasión tumoral de cánceres que incluyen carcinomas, cánceres hematológicos, melanomas, sarcomas, gliomas, etc. Para aplicaciones profilácticas, se administran composiciones farmacéuticas o medicamentos a un paciente susceptible o en riesgo de padecer una enfermedad en una cantidad suficiente para eliminar o reducir el riesgo, disminuir la gravedad o retrasar la aparición de la enfermedad, incluyendo los síntomas bioquímicos, histológicos y/o conductuales de la enfermedad, sus complicaciones y fenotipos patológicos intermedios que se presentan durante el desarrollo de la enfermedad.

La toxicidad de los agentes combinados descritos en la presente puede determinarse mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales de experimentación, por ejemplo, determinando la LD₅₀ (la dosis letal para el 50% de la población) o la LD₁₀₀ (la dosis letal para el 100% de la población). La relación de dosis entre el efecto tóxico y el terapéutico es el índice terapéutico. Los datos obtenidos de estos ensayos de cultivos celulares y estudios en animales pueden usarse para formular un intervalo de dosificación que no es tóxico para su uso en humanos. La dosificación de las proteínas descritas en la presente se encuentra preferiblemente dentro de un intervalo de concentraciones circulantes que incluyen la dosis eficaz con poca o ninguna toxicidad. La dosificación puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y la vía de administración utilizada. La formulación exacta, la vía de administración y la dosificación pueden ser elegidas por el médico individual en vista de la condición del paciente.

Agentes cebadores y dosis de cebado

En algunas realizaciones de los métodos descritos en la presente, se administra un agente cebador antes de administrar una dosis terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-CD47 al individuo. Los agentes cebadores adecuados incluyen un agente estimulante de la eritropoyesis (ESA) y/o una dosis cebadora de un anticuerpo anti-CD47. Después de la administración del agente de cebado, y dejando pasar un período de tiempo efectivo para un aumento en la producción de reticulocitos, se administra una dosis terapéutica de un anticuerpo anti-CD47. La administración puede realizarse de acuerdo con los métodos descritos en la solicitud de patente en tramitación USSN 14/769.069.

En algunas realizaciones, la administración de una combinación de agentes de la invención se combina con una dosis eficaz de un agente que aumenta el hematocrito del paciente, por ejemplo, agentes estimulantes de la eritropoyetina (ESA). Tales agentes son conocidos y se usan en la técnica, incluyendo, por ejemplo, Aranesp → (darbepoetina alfa), Epogen →_{NF}/Procrit →_{NF} (epoetina alfa), Omontys → (peginesatida), Procrit →, etc.

El término "dosis de cebado" o como se usa en la presente se refiere a una dosis de un agente anti-CD47 que ceba a un sujeto para la administración de una dosis terapéuticamente eficaz de agente anti-CD47 de tal manera

que la dosis terapéuticamente efectiva no resulte en una pérdida grave de RBC (hematocrito reducido o hemoglobina reducida). La dosis de cebado apropiada específica de un agente anti-CD47 puede variar dependiendo de la naturaleza del agente usado y de numerosos factores específicos del sujeto (por ejemplo, edad, peso, etc.). Los ejemplos de dosis de cebado adecuadas de un agente anti-CD47 incluyen de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 5 mg/kg, de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 4 mg/kg, de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 3 mg/kg, de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 5 mg/kg, de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 4 mg/kg, de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 3 mg/kg, aproximadamente 1 mg/kg, aproximadamente 2 mg/kg, aproximadamente 3 mg/kg, aproximadamente 4 mg/kg, aproximadamente 5 mg/kg. En algunas realizaciones, la dosis de cebado es preferiblemente 1 mg/kg.

En algunas realizaciones de los métodos descritos en la presente, el anticuerpo anti-CD47 se administra al sujeto como una dosis de cebado que varía de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5 mg/kg de anticuerpo, opcionalmente 1 mg/kg de anticuerpo. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD47 se administra al sujeto como una dosis que varía de aproximadamente 20 a aproximadamente 67,5 mg/kg de anticuerpo, opcionalmente 20 mg/kg de anticuerpo, 30 mg/kg de anticuerpo, 45 mg/kg de anticuerpo, 60 mg/kg de anticuerpo, o 67,5 mg/kg de anticuerpo.

En algunos casos de la divulgación, se administra un agente cebador antes de administrar una dosis terapéuticamente eficaz de un agente anti-CD47 al individuo. Los agentes cebadores adecuados incluyen un agente estimulante de la eritropoyesis (ESA) y/o una dosis de cebado de un agente anti-CD47. Después de la administración del agente de cebado, y dejando pasar un período de tiempo efectivo para un aumento en la producción de reticulocitos, se administra una dosis terapéutica de un agente anti-CD47. La dosis terapéutica puede administrarse de varias maneras diferentes. En algunos casos, se administran dos o más dosis terapéuticamente eficaces después de administrar un agente cebador. En algunos casos, una dosis terapéuticamente eficaz de un agente anti-CD47 se administra como dos o más dosis de concentración aumentada a escala, en otras, las dosis son equivalentes.

En algunas realizaciones de la invención, se proporciona una dosis de cebado eficaz de Hu-5F9G4, donde la dosis de cebado eficaz para un humano es de aproximadamente 1 mg/kg, por ejemplo, de por lo menos aproximadamente 0,5 mg/kg a no más de aproximadamente 5 mg/kg. mg/kg; de por lo menos aproximadamente 0,75 mg/kg a no más de aproximadamente 1,25 mg/kg; de por lo menos aproximadamente 0,95 mg/kg hasta no más de aproximadamente 1,05 mg/kg; y puede rondar aproximadamente 1 mg/kg

En algunas realizaciones de la invención, se infunde una dosis inicial de un agente de unión a CD47 durante un período de por lo menos aproximadamente 2 horas, por lo menos aproximadamente 2,5 horas, por lo menos aproximadamente 3 horas, por lo menos aproximadamente 3,5 horas, por lo menos aproximadamente 4 horas, por lo menos aproximadamente 4,5 horas, por lo menos aproximadamente 5 horas, por lo menos aproximadamente 6 horas o más. En algunas realizaciones, se infunde una dosis inicial durante un período de tiempo de aproximadamente 2,5 horas a aproximadamente 6 horas; por ejemplo, de aproximadamente 3 horas a aproximadamente 4 horas. En algunas de tales realizaciones, la dosis de agente en la infusión es de aproximadamente 0,05 mg/ml a aproximadamente 0,5 mg/ml; por ejemplo, de aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 0,25 mg/ml.

En algunas realizaciones, una dosis de cebado puede administrarse por vía subcutánea, mediante inyección, parche, bomba osmótica y similares, como se conoce en la técnica.

Después de la administración del agente de cebado, y dejando pasar un período de tiempo eficaz para un aumento en la producción de reticulocitos, se administra una dosis terapéutica de un agente anti-CD47. La dosis terapéutica puede administrarse de varias maneras diferentes. En algunas realizaciones, se administran dos o más dosis terapéuticamente eficaces después de administrar un agente cebador, por ejemplo, en un programa de dosificación semanal. En algunas realizaciones, una dosis terapéuticamente eficaz de un agente anti-CD47 se administra como dos o más dosis de concentración creciente, en otras, las dosis son equivalentes.

En otras realizaciones, se administra una dosis inicial de un agente de unión a CD47, por ejemplo, una dosis de cebado, mediante fusión continua, por ejemplo, como bomba osmótica, parche de administración, etc., donde la dosis se administra durante un período de por lo menos aproximadamente 6 horas, por lo menos aproximadamente 12 horas, por lo menos aproximadamente 24 horas, por lo menos aproximadamente 2 días, por lo menos aproximadamente 3 días. Muchos de tales sistemas son conocidos en la técnica. Por ejemplo, la tecnología DUROS, proporciona un sistema bicompartimental separado por un pistón. Uno de los compartimentos consiste en un motor osmótico específicamente formulado con un exceso de NaCl sólido, de tal manera que permanece presente durante todo el periodo de administración y da como resultado un gradiente osmótico constante. También consiste en una membrana semipermeable en un extremo a través de la cual se introduce agua en el motor osmótico y se establece un gradiente osmótico grande y constante entre el agua tisular y el motor osmótico. El otro compartimento consiste en una solución de fármaco con un orificio por el que se libera el fármaco debido al gradiente osmótico. Esto ayuda a proporcionar una administración sistémica y específica del fármaco cuando se implanta en humanos. El sitio preferido de implantación es la colocación subcutánea en el interior de la parte superior del brazo.

Después de la administración del agente de cebado, y dejando pasar un período de tiempo eficaz para

aumentar la producción de reticulocitos, se administra una dosis terapéutica del anticuerpo anti-CD47. La dosis terapéutica puede administrarse de varias maneras diferentes. En algunas realizaciones, se administran dos o más dosis terapéuticamente eficaces después de administrar un agente cebador, por ejemplo, en un programa de dosificación semanal. En algunas realizaciones, una dosis terapéuticamente eficaz del anticuerpo anti-CD47 se administra como dos o más dosis de concentración aumentada a escala, en otras, las dosis son equivalentes. Hay una reducción de la hemaglutinación después de la dosis de cebado y, por lo tanto, no se requiere un tiempo de infusión prolongado.

Administración

En los métodos descritos en la presente, se administran a un sujeto composiciones, por ejemplo, un anticuerpo anti-CD47 y, opcionalmente, un agente adicional. Las composiciones pueden administrarse por vía parenteral, tópica, intravenosa, intraabdominal, intratumoral, oral, subcutánea, intraarterial, intracraneal, intraperitoneal, intranasal o intramuscular. Una vía típica de administración es la intravenosa o intratumoral, aunque otras vías pueden ser igualmente eficaces.

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD47 y/o el agente adicional se administran por vía intraabdominal. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD47 y/o el agente adicional se administran por vía intravenosa. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD47 y/o el agente adicional se administran por vía intratumoral. En una realización, se administra una dosis de cebado del anticuerpo anti-CD47 y la dosis de cebado se administra por vía subcutánea. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD47 y el agente adicional se administran concurrentemente. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD47 y el agente adicional se administran secuencialmente.

Los agentes activos se administran dentro de un período de tiempo para producir un efecto aditivo o sinérgico sobre el agotamiento de las células cancerosas en el huésped. Los métodos de administración incluyen, sin limitación, administración sistémica, administración intratumoral, etc. Habitualmente, el anticuerpo anti-CD47 se administra dentro de un período de aproximadamente 45 días, aproximadamente 30 días, aproximadamente 21 días, aproximadamente 14 días, aproximadamente 10 días, aproximadamente 8 días, aproximadamente 7 días, aproximadamente 6 días, aproximadamente 5 días, aproximadamente 4 días, aproximadamente 3 días, aproximadamente 2 días, aproximadamente 1 día o sustancialmente el mismo día que el agente adicional. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD47 se administra antes que el agente adicional. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD47 se administra después del agente adicional. Puede considerarse que los agentes se combinan si el programa de administración es tal que el nivel en suero de ambos agentes se encuentra en un nivel terapéutico al mismo tiempo. La administración puede repetirse según sea necesario para el agotamiento de la población de células cancerosas.

Composiciones farmacéuticas

Los métodos descritos en la presente incluyen la administración de composiciones farmacéuticas que comprenden el anticuerpo anti-CD47 y/o el agente adicional.

Típicamente, las composiciones se preparan como inyectables, ya sea como soluciones líquidas o suspensiones; también pueden prepararse formas sólidas adecuadas para solución o suspensión en vehículos líquidos antes de la inyección. La preparación también puede emulsionarse o encapsularse en liposomas o micropartículas como poliláctido, poliglicólido o copolímero para potenciar el efecto adyuvante, como se ha analizado anteriormente. Langer, Science 249: 1527, 1990 y Hanes, Advanced Drug Delivery Reviews 28: 97-119, 1997. Los agentes de esta invención pueden administrarse en forma de inyección de depósito o preparación de implante que puede formularse de tal manera que se permita una liberación sostenida o pulsátil del ingrediente activo. Las composiciones farmacéuticas se formulan generalmente como estériles, sustancialmente isotónicas y en total conformidad con las regulaciones de buenas prácticas de fabricación (GMP) de la U.S. Food and Drug Administration.

Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse en una variedad de formas de dosificación unitaria dependiendo del método de administración. Por ejemplo, las formas de dosificación unitaria adecuadas para administración oral incluyen, pero no se limitan a, polvo, comprimidos, píldoras, cápsulas y pastillas para chupar. Se reconoce que las composiciones de la invención, cuando se administran por vía oral, deben protegerse de la digestión. Esto se logra típicamente formando complejos con las moléculas con una composición para hacerlas resistentes a la hidrólisis ácida y enzimática, o empaquetando las moléculas en un portador resistente apropiado, como un liposoma o una barrera de protección. Los medios para proteger a los agentes de la digestión son bien conocidos en la técnica.

Las composiciones para administración comprenderán comúnmente un anticuerpo u otro agente ablativo disuelto en un portador farmacéuticamente aceptable, preferiblemente un portador acuoso. Pueden usarse una variedad de portadores acuosos, por ejemplo, solución salina tamponada y similares. Estas soluciones son estériles y generalmente están libres de materia indeseable. Estas composiciones pueden esterilizarse mediante técnicas de esterilización convencionales bien conocidas. Las composiciones pueden contener sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables según se requiera para aproximarse a las condiciones fisiológicas como agentes

tamponadores y reguladores del pH, agentes reguladores de la toxicidad y similares, por ejemplo, acetato sódico, cloruro sódico, cloruro potásico, cloruro cálcico, lactato sódico y similares. La concentración de agente activo en estas formulaciones puede variar ampliamente, y se seleccionara principalmente en base a volúmenes de fluido, viscosidades, peso corporal y similares de acuerdo con el modo de administración particular seleccionados y las necesidades del paciente (por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Science (15th ed., 1980) y Goodman & Gillman, The Pharmacological Basis of Therapeutics (Hardman et al., eds., 1996)).

"Excipiente farmacéuticamente aceptable" significa un excipiente que es útil en la preparación de una composición farmacéutica que generalmente es segura, no tóxica y deseable, e incluye excipientes que son aceptables para uso veterinario así como para uso farmacéutico humano. Tales excipientes pueden ser sólidos, líquidos, semisólidos o, en el caso de una composición de aerosol, gaseosos.

"Sales y ésteres farmacéuticamente aceptables" significa sales y ésteres que son farmacéuticamente aceptables y tienen las propiedades farmacológicas deseadas. Tales sales incluyen sales que pueden formarse cuando los protones ácidos presentes en los compuestos son capaces de reaccionar con bases inorgánicas u orgánicas. Las sales inorgánicas adecuadas incluyen aquellas formadas con los metales alcalinos, por ejemplo, sodio y potasio, magnesio, calcio y aluminio. Las sales orgánicas adecuadas incluyen las formadas con bases orgánicas tales como las bases de amina, por ejemplo, etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, N metilglucamina y similares. Tales sales también incluyen sales de adición de ácido formadas con ácidos inorgánicos (por ejemplo, ácido clorhídrico y bromhídrico) y ácidos orgánicos (por ejemplo, ácido acético, ácido cítrico, ácido maleico, y los ácidos alcano- y arenosulfónicos como ácido metanosulfónico y ácido bencenosulfónico). Los ésteres farmacéuticamente aceptables incluyen ésteres formados de grupos carboxi, sulfoniloxi y fosfonoxi presentes en los compuestos, por ejemplo, ésteres de alquilo C₁₋₆. Cuando hay dos grupos ácidos presentes, una sal o éster farmacéuticamente aceptable puede ser un mono-ácido-mono-sal o éster o una di-sal o éster; y de manera similar, cuando hay más de dos grupos ácidos presentes, algunos o todos estos grupos pueden estar salificados o esterificados. Los compuestos mencionados en esta invención pueden estar presentes en forma no salificada o no esterificada, o en forma salificada y/o esterificada, y se pretende que la denominación de tales compuestos incluya tanto el compuesto original (no salificado y no esterificado) como sus sales y ésteres farmacéuticamente aceptables. Además, ciertos compuestos mencionados en esta invención pueden estar presentes en más de una forma estereoisómera, y se pretende que la denominación de tales compuestos incluya todos los estereoisómeros individuales y todas las mezclas (ya sean racémicas o no) de tales estereoisómeros.

Los términos "farmacéuticamente aceptable", "fisiológicamente tolerable" y variaciones gramaticales de los mismos, en la medida que se refieren a composiciones, portadores, diluyentes y reactivos, se usan indistintamente y representan que los materiales pueden administrarse a un humano o sobre él sin la producción de efectos fisiológicos indeseables hasta un grado que prohibiría la administración de la composición.

Kits

También se describen en la presente kits que comprenden los agentes activos, por ejemplo, un anticuerpo anti-CD47 y, opcionalmente, un agente adicional, y formulaciones de los mismos, e instrucciones de uso. El kit puede contener además por lo menos un reactivo adicional, por ejemplo, un fármaco quimioterapéutico, ESA, etc. Los kits típicamente incluyen una etiqueta que indica el uso previsto del contenido del kit. El término etiqueta incluye cualquier escrito o material grabado que se suministre en o con el kit, o que acompañe de otra manera al kit.

También se proporcionan kits para su uso en los varios métodos divulgados en la presente. Los kits en cuestión incluyen un agente cebador y un agente anti-CD47. En algunos casos, un kit comprende dos o más agentes cebadores. En algunos casos, un kit comprende dos o más agentes anti-CD47. En algunos casos, un agente cebador se proporciona en una forma de dosificación (por ejemplo, una forma de dosificación de cebado). En algunos casos, un agente de cebado se proporciona en dos o más formas de dosificación diferentes (por ejemplo, dos o más formas de dosificación de cebado diferentes). En algunos casos, un agente anti-CD47 se proporciona en una forma de dosificación (por ejemplo, una forma de dosificación terapéuticamente eficaz). En algunos casos, un agente anti-CD47 se proporciona en dos o más formas de dosificación diferentes (por ejemplo, dos o más formas de dosificación terapéuticamente eficaces diferentes). En el contexto de un kit, un agente cebador y/o un agente anti-CD47 puede proporcionarse en forma líquida o sólida en cualquier envase conveniente (por ejemplo, envase de barra, envase de dosis, etc.).

Además de los componentes anteriores, los kits en cuestión pueden incluir además (en ciertos casos) instrucciones para poner en práctica los métodos en cuestión. Estas instrucciones pueden estar presentes en los kits en cuestión en una variedad de formas, una o más de las cuales pueden estar presentes en el kit. Una forma en la que estas instrucciones pueden estar presentes es como información impresa en un medio o sustrato adecuado, por ejemplo, un trozo o trozos de papel en los que se imprime la información, en el envase del kit, en un prospecto y similares. Otra forma más de estas instrucciones es un medio legible por ordenador, por ejemplo, disquete, disco compacto (CD), unidad flash y similares, en los que se ha grabado la información. Otra forma más de estas instrucciones que puede estar presente es una dirección de sitio web que puede usarse a través de Internet para

acceder a la información en un sitio eliminado.

Secuencias

En algunas realizaciones, los métodos descritos en la presente incluyen la administración de anticuerpos con secuencias descritas en la presente; por ejemplo, las secuencias de cadena pesada, cadena ligera y/o CDR descritas en la presente. Las secuencias de los anticuerpos administrados pueden ser, por ejemplo, por lo menos un 95, 96, 97, 98, 99 o 100% idénticas a las secuencias descritas en la presente.

El término porcentaje de "identidad", en el contexto de dos o más secuencias de ácidos nucleicos o polipéptidos, se refiere a dos o más secuencias o subsecuencias que tienen un porcentaje específico de residuos de nucleótidos o de aminoácidos que son iguales, cuando se comparan y alinean para obtener la correspondencia máxima, medida usando uno de los algoritmos de comparación de secuencias descritos a continuación (por ejemplo, BLASTP y BLASTN u otros algoritmos disponibles para los expertos en la técnica) o mediante inspección visual. Dependiendo de la aplicación, el porcentaje de "identidad" puede existir sobre una región de la secuencia que se está comparando, por ejemplo, sobre un dominio funcional o, alternativamente, puede existir sobre la longitud total de las dos secuencias que se están comparando.

Para la comparación de secuencias, típicamente una secuencia actúa como secuencia de referencia con la que se comparan las secuencias de prueba. Cuando se usa un algoritmo de comparación de secuencias, las secuencias de prueba y de referencia se introducen en un ordenador, se designan las coordenadas de las subsecuencias, si es necesario, y se designan los parámetros del programa del algoritmo de secuencia. A continuación, el algoritmo de comparación de secuencias calcula el porcentaje de identidad de secuencia para la o las secuencias de prueba con respecto a la secuencia de referencia, en base a los parámetros de programa designados.

La alineación óptima de secuencias para comparación puede realizarse, por ejemplo, mediante el algoritmo de homología local de Smith & Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482 (1981), mediante el algoritmo de alineación de homología de Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443 (1970), mediante el método de búsqueda de similitud de Pearson & Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444 (1988), mediante implementaciones computarizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA en el paquete de software de Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.), o mediante inspección visual (ver en general Ausubel et al., infra).

Un ejemplo de un algoritmo que es adecuado para determinar el porcentaje de identidad de secuencia y la similitud de secuencias es el algoritmo BLAST, que se describe en Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990). El software para realizar análisis BLAST está disponible públicamente a través del National Center for Biotechnology Information (<www.ncbi.nlm.nih.gov/>)

EJEMPLOS

A continuación se muestran ejemplos de realizaciones específicas para llevar a cabo la presente invención. Los ejemplos se ofrecen únicamente con propósitos de ilustración y no se pretende que limiten el alcance de la presente invención de ninguna manera. Se han realizado esfuerzos para garantizar la precisión con respecto a los números usados (por ejemplo, cantidades, temperaturas, etc.), pero, por supuesto, deben permitirse algunos errores y desviaciones experimentales.

La puesta práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique lo contrario, métodos convencionales de química de proteínas, bioquímica, técnicas de ADN recombinante y farmacología, dentro de la experiencia en la técnica. Tales técnicas se explican completamente en la bibliografía. Ver, por ejemplo, T.E. Creighton, Proteins: Structures and Molecular Properties (W.H. Freeman and Company, 1993); A.L. Lehninger, Biochemistry (Worth Publishers, Inc., edición actual); Sambrook, et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2ª Edición, 1989); Methods In Enzymology (S. Colowick y N. Kaplan eds., Academic Press, Inc.); Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª Edición (Easton, Pennsylvania: Mack Publishing Company, 1990); Carey and Sundberg Advanced Organic Chemistry 3ª Ed. (Plenum Press) Vols A and B(1992).

Ejemplo 1: Determinación de la dosis de cebado para el anticuerpo anti-CD47

En un ensayo clínico de Fase I, a pacientes con cáncer humano se les administraron dosis de cebado variables de Hu-5F9-G4 de 0,1 mg/kg (n=1), 0,3 mg/kg (n=2), 1,0 mg/kg (n=6), y 3,0 mg/kg (n=2).

Se observaron dos toxicidades limitantes de la dosis (DLT) (dolor abdominal de grado 3; hemaglutinación) en el grupo de 3,0 mg/kg. No se observaron DLT a 1,0 mg/kg.

Se seleccionó 1,0 mg/kg como dosis de cebado para estudios futuros en sujetos humanos.

Ejemplo 2: Tratamiento del cáncer de ovario con anticuerpo anti-CD47

Se trataron cinco pacientes con cáncer de ovario con Hu-5F9-G4 como monoterapia. El protocolo de dosificación y la respuesta de cada uno a partir de julio de 2017 se resumen en la Tabla A.

Tabla A					
Nº de Pt	Paciente	Dosis	CA125 Nadir	Mejor respuesta	Estado de duración Rx
11-305	71 años C. de ov. de células claras	20 mpk carga	338 a 61 (-80%)	PR (-50%), confirmada	22 semanas, fuera del estudio para PD
01-312	68 años C de trompas de Falopio	20 mpk semanal	890 a 70 (-92%)	PR (-43%), confirmada	20 semanas, activo
11-308	84 años C. de ov. seroso	20 mpk carga	491 a 1472 (+300%)	SD (+5%)	22 semanas, activo
13-311	60 años C. de ov. seroso	30 mpk carga	290 a 145 (-31%)	PD (+30%)	12 semanas, (fuera del estudio)
13-312	40 años C. de ov. seroso	30 mpk carga (reducido a 20)	65 a 29 (-55%)	SD (-2%)	11 semanas, activo

En particular, 4 de los 5 pacientes con cáncer de ovario/trompas de Falopio mostraron una disminución en CA125. Ver la Figura 1, que muestra el cambio porcentual en el valor de referencia CA125 (%).

01-312: Dosis semanal 20 mg/kg

11-305 y 11-308: dosis de carga de 20 mg/kg

13-311 y 13-312: dosis de carga de 30 mg/kg

11-305 y 01-312 también se analizaron con exploraciones al inicio del estudio y a las 8 semanas. Las exploraciones se muestran en las Figuras 2-8. Las Figuras muestran que la masa tumoral disminuyó sustancialmente desde el valor de referencia hasta las 8 semanas en cada paciente. Es de destacar que los pacientes con otros tipos de tumores sólidos, incluyendo el cáncer de páncreas, han sido tratados con dosis similares hasta la fecha sin lograr una respuesta objetivo a la terapia.

Ejemplo 3: Tratamiento de subtipos de cáncer de ovario con anticuerpo anti-CD47

Se seleccionan pacientes con cáncer de ovario para la administración del anticuerpo anti-CD47.

Los cánceres de ovario pueden incluir tumor seroso, tumor mucinoso, tumor de células claras, tumor de endometrio, tumor de células de transición, tumor de Brenner, tumor de carcinosarcoma, tumor epitelial mixto, tumor epitelial limítrofe, tumor de carcinoma indiferenciado, tumor de las trompas de Falopio o tumor peritoneal primario.

Se administra una dosis de cebado de 1 mg/kg de Hu-5F9-G4 a cada paciente. 7 días después se administra una dosis terapéutica (por ejemplo, 20, 30, 45, 60 o 67,5 mg/kg) de Hu-5F9-G4. Hu-5F9-G4 se vuelve a administrar regularmente a una dosis terapéutica después de la dosis terapéutica original, por ejemplo, cada 1, 2, 3 o 4 semanas. Se monitoriza a cada paciente regularmente por seguridad y eficacia.

Se descubre que Hu-5F9-G4 es eficaz en el tratamiento del cáncer de ovario en pacientes mujeres humanas. Se descubre que CA125 se reduce en ciertos pacientes con respecto al valor de referencia. Se descubre que la masa tumoral disminuye en ciertos pacientes con respecto al valor de referencia.

Ejemplo 4: Tratamiento de cáncer de ovario con anticuerpo anti-CD47 y un agente adicional

Se seleccionan pacientes con cáncer de ovario para la administración del anticuerpo anti-CD47.

Los cánceres de ovario pueden incluir tumor seroso, tumor mucinoso, tumor de células claras, tumor de endometrio, tumor de células de transición, tumor de Brenner, tumor de carcinosarcoma, tumor epitelial mixto, tumor epitelial limítrofe, tumor de carcinoma indiferenciado, tumor de las trompas de Falopio o tumor peritoneal primario.

Se administra una dosis de cebado de 1 mg/kg de Hu-5F9-G4 a cada paciente. 7 días después se administra una dosis terapéutica (por ejemplo, 20, 30, 45, 60 o 67,5 mg/kg) de Hu-5F9-G4. Hu-5F9-G4 se vuelve a administrar regularmente a una dosis terapéutica después de la dosis terapéutica original, por ejemplo, cada 1, 2, 3 o 4 semanas.

A cada paciente también se le administra un agente adicional.

El agente adicional puede ser un agente quimioterapéutico, un inhibidor de VEGF, un inhibidor de PARP, un inhibidor de punto de control inmunitario, un agente de inmunooncología y/o un inhibidor de folato.

Un agente quimioterapéutico puede ser platino (cisplatino/carboplatino). Un agente quimioterapéutico puede ser taxano (paclitaxel (Taxol®) o docetaxel (Taxotere®)), gemcitabina, paclitaxel unido a albúmina (nab-paclitaxel, Abraxane®), altretamina (Hexalen®), capecitabina (Xeloda®), ciclofosfamida (Cytosan®), etopósido (VP-16), gemcitabina (Gemzar®), ifosfamida (Ifex®), irinotecán (CPT-11, Camptosar®), doxorubicina liposomal (Doxil®), melfalán, pemetrexed (Alimta®), topotecán, vinorelbina (Navelbine®), o Trabectedina (Yondelis®).

Un inhibidor de VEGF puede ser bevacizumab (Avastin®), regorafenib (Stivarga®) o aflibercept (Eylea®).

Un inhibidor de PARP puede ser Rucaparib (Rubraca®), Niraparib (Zejula®), Olaparib (Lynparza®), Talazoparib (BMN-673) o Veliparib (ABT-888).

Un inhibidor del punto de control inmunitario puede inhibir por lo menos uno de CTLA4, PD1 y PDL1.

Un inhibidor de folato puede inhibir el metabolismo del folato o dirigirse al receptor de folato.

Hu-5F9-G4 y el agente adicional pueden administrarse concurrentemente o secuencialmente.

Se monitoriza a cada paciente regularmente por seguridad y eficacia.

Se descubre que Hu-5F9-G4 en combinación con el agente adicional es eficaz en el tratamiento del cáncer de ovario en pacientes mujeres humanas. Se descubre que CA125 se reduce en ciertos pacientes con respecto al valor de referencia. Se descubre que la masa tumoral disminuye en ciertos pacientes con respecto al valor de referencia.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> FORTY SEVEN, INC.

<120> TERAPIA DE CANCER DE OVARIO BASADA EN AGENTE ANTI-CD47

<130> 32458-41619/WO

<140>

<141>

<150> 62/573,835

<151> 2017-10-18

<160> 2

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 444

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"

<400> 1

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

ES 2 989 007 T3

5 Asn Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 10 Gly Thr Ile Tyr Pro Gly Asn Asp Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 15 Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 20 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 25 Ala Arg Gly Gly Tyr Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 30 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 35 Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140
 40 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160
 45 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 50 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 55 Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 60 Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro
 210 215 220
 65 Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 225 230 235 240

5 Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 245 250 255
 10 Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe
 260 265 270
 15 Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 275 280 285
 20 Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 290 295 300
 25 Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 305 310 315 320
 30 Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 325 330 335
 35 Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln
 340 345 350
 40 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 355 360 365
 45 Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 370 375 380
 50 Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 385 390 395 400
 55 Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu
 405 410 415
 60 Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 420 425 430
 65 Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440

<210> 2
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de Secuencia Artificial: Polipéptido sintético"
 <400> 2

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val Tyr Ser
 20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

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

5	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu
				180					185					190		
10	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser
			195				200					205				
15	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys					
		210					215									
20																
25																
30																
35																
40																
45																
50																
55																
60																
65																

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo anti-CD47 para su uso en un método para reducir el tamaño del cáncer de ovario en un sujeto humano resistente al platino, en donde el método comprende:

- a. administrar una dosis de cebado del anticuerpo anti-CD47 al sujeto, en donde la dosis de cebado es de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5 mg/kg de anticuerpo; y
- b. administrar una dosis terapéuticamente eficaz del anticuerpo anti-CD47 al sujeto, en donde el paso (b) se realiza después de por lo menos de aproximadamente 3 a 14 días después de iniciar el paso (a), opcionalmente siendo 7 días después de (a).

2. El anticuerpo anti-CD47 para el uso de la reivindicación 1, en el que el anticuerpo es monoclonal, y en el que el tratamiento reduce el tamaño del cáncer de ovario.

3. El anticuerpo anti-CD47 para el uso de la reivindicación 1 o 2, en donde el método comprende (a) administrar la dosis de cebado del anticuerpo anti-CD47 al sujeto a una dosis de 1 mg/kg de anticuerpo el día 1; y (b) administrar la dosis terapéuticamente eficaz del anticuerpo anti-CD47 al sujeto a una dosis de 20 mg/kg de anticuerpo, 30 mg/kg de anticuerpo, 45 mg/kg de anticuerpo, 60 mg/kg de anticuerpo, o 67,5 mg/kg de anticuerpo el día 8.

4. El anticuerpo anti-CD47 para el uso de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende administrar por lo menos un agente adicional al sujeto humano, opcionalmente en donde:

a. el agente adicional es un agente quimioterapéutico, opcionalmente en donde:

- i. el agente quimioterapéutico es Platino (cisplatino/carboplatino), o
- ii. el agente quimioterapéutico es Taxano (paclitaxel (Taxol®) o docetaxel (Taxotere®)), Gemcitabina, paclitaxel unido a Albúmina (nab-paclitaxel, Abraxane®), Altretamina (Hexalen®), Capecitabina (Xeloda®), Ciclofosfamida (Cytosan®), Etopósido (VP-16), Gemcitabina (Gemzar®), Ifosfamida (Ifex®), Irinotecán (CPT-11, Camptosar®), doxorubicina Liposomal (Doxil®), Melfalán, Pemetrexed (Alimta®), Topotecán, Vinorelbina (Navelbine®) o Trabectedina (Yondelis®); o

b. el agente adicional es un inhibidor de VEGF, opcionalmente bevacizumab (Avastin®), regorafenib (Stivarga®) o aflibercept (Eylea®); o

c. el agente adicional es un inhibidor de PARP, opcionalmente el inhibidor de PARP es Rucaparib (Rubraca®), Niraparib (Zejula®), Olaparib (Lynparza®), Talazoparib (BMN-673) o Veliparib (ABT-888); o

d. el agente adicional es un inhibidor del punto de control inmunitario, opcionalmente en donde el agente adicional inhibe por lo menos uno de CTLA4, PD1 y PDL1; o

e. el agente adicional es un inhibidor de folato que inhibe el metabolismo del folato o se dirige al receptor de folato, y/o

f. el anticuerpo anti-CD47 y el agente adicional se administran concurrente o secuencialmente.

5. El anticuerpo anti-CD47 para el uso de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde:

a. el anticuerpo anti-CD47 comprende un IgG4 Fc; y/o

b. el anticuerpo anti-CD47 compite por unirse a CD47 con un anticuerpo anti-CD47 que tiene las secuencias de la cadena pesada y la cadena ligera de las SEQ ID NO: 1 y 2 respectivamente; y/o

c. el anti-CD47 tiene las secuencias de cadena pesada y cadena ligera de las SEQ ID NO: 1 y 2 respectivamente.

6. El anticuerpo anti-CD47 para el uso de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el anticuerpo se formula en una composición farmacéutica con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

7. El anticuerpo anti-CD47 para el uso de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde:

a. el anticuerpo se administra:

- i. por vía intravenosa, o
- ii. por vía intraabdominal, o
- iii. por vía intratumoral; y/o

b. la administración del anticuerpo reduce el nivel de CA125 en el sujeto en comparación con el valor de referencia, opcionalmente en donde el nivel de CA125 se mide aproximadamente una vez al mes; y/o

c. la administración del anticuerpo reduce el nivel de CA125 en el sujeto en por lo menos un 30-90, 40-80, 50-70, 30, 40, 50, 60, 70, 80 o 90% en comparación con el valor de referencia; y/o

d. la administración del anticuerpo reduce el tamaño del cáncer o metástasis del mismo en comparación con el valor de referencia, opcionalmente según se mide mediante imagenología, opcionalmente en donde la

imagenología es CT/PET/CT o MRI, opcionalmente que comprende una enfermedad que aumenta inicialmente desde el valor de referencia pero que posteriormente disminuye de tamaño; y/o
 e. la administración del anticuerpo reduce el nivel de por lo menos uno de CA125, HE4 (proteína 4 del epidídimo humano), CA-72-4, CA-19-9 y CEA; en comparación con el valor de referencia.

- 5
8. El anticuerpo anti-CD47 para el uso de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde:
 - a. el cáncer de ovario es epitelial, opcionalmente en donde el cáncer de ovario epitelial es tumor seroso, tumor mucinoso, tumor de células claras, tumor de endometrio, tumor de células de transición, tumor de Brenner, tumor de carcinosarcoma, tumor epitelial mixto, tumor epitelial limítrofe, tumor de carcinoma indiferenciado, tumor de las trompas de Falopio o tumor peritoneal primario; y/o
 - b. el cáncer de ovario es epitelial, y el cáncer de ovario epitelial es un tumor seroso, opcionalmente en donde el tumor seroso es de grado bajo o alto según sea determinado por el análisis histológico.
- 10
9. El anticuerpo anti-CD47 para el uso de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el tipo de tumor se determina mediante análisis histológico.
- 15
10. El anticuerpo anti-CD47 para el uso de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende, además:
 - a. administrar una dosis de cebado del anticuerpo anti-CD47, opcionalmente en donde el anticuerpo anti-CD47 se administra al sujeto como una dosis de cebado de 1 mg/kg de anticuerpo; y/o
 - b. administrar una dosis de cebado de un agente estimulante de eritropoyetina; y/o
 - c. administrar el anticuerpo anti-CD47 al sujeto como una dosis que varía de aproximadamente 20 a aproximadamente 67,5 mg/kg de anticuerpo, opcionalmente 20 mg/kg de anticuerpo, 30 mg/kg de anticuerpo, 45 mg/kg de anticuerpo, 60 mg/kg de anticuerpo, o 67,5 mg/kg de anticuerpo; y/o
 - d. administrar el anticuerpo anti-CD47 al sujeto semanalmente, cada 2 semanas o cada 3 semanas.
- 20
11. El anticuerpo anti-CD47 para el uso de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el método comprende (a) administrar la dosis de cebado del anticuerpo anti-CD47 al sujeto a una dosis de 1 mg/kg de anticuerpo el día 1; y (b) administrar la dosis terapéuticamente eficaz del anticuerpo anti-CD47 al sujeto a una dosis de 20 mg/kg de anticuerpo, 30 mg/kg de anticuerpo, 45 mg/kg de anticuerpo, 60 mg/kg de anticuerpo, o 67,5 mg/kg de anticuerpo el día 8.
- 25
- 30
12. El anticuerpo anti-CD47 para el uso de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el método comprende después del paso (a) y antes del paso (b): un paso de determinar si la administración de la dosis de cebado fue eficaz, opcionalmente en donde:
 - i. el paso de determinación comprende realizar un recuento de reticulocitos, en donde se determina que la administración de la dosis de cebado ha sido eficaz si el recuento de reticulocitos es de aproximadamente 100×10^9 reticulocitos por L a aproximadamente 1000×10^9 reticulocitos por L; o
 - ii. el paso de determinación comprende realizar un recuento de reticulocitos, en donde se determina que la administración de la dosis de cebado ha sido eficaz si el porcentaje de reticulocitos en sangre es mayor que aproximadamente el 1,5%; o
 - iii. el paso de determinación comprende realizar un recuento de reticulocitos, en donde se determina que la administración del agente de cebado ha sido eficaz si el índice de reticulocitos es mayor que aproximadamente el 2%.
- 35
- 40
- 45
13. El anticuerpo anti-CD47 para el uso de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde:
 - a. la eficacia de la dosis de cebado se determina en base al estado de anemia del sujeto después de la administración de la dosis de cebado; y/o
 - b. la dosis de cebado se considera eficaz si: la caída en el nivel de hemoglobina del sujeto no es menor de 8,0 g/dL; y/o la caída absoluta en el nivel de hemoglobina del sujeto es menor de 3,0 a 3,75 g/dL.
- 50
- 55
14. El anticuerpo anti-CD47 para el uso de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde:
 - a. la dosis de cebado se administra al sujeto humano en una infusión con una concentración de aproximadamente 0,05 mg/ml a aproximadamente 0,5 mg/ml de anticuerpo anti-CD47, opcionalmente en donde:
 - i. la infusión se administra durante un período de por lo menos aproximadamente 1-3, 8-10, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 horas, o
 - ii. la infusión se administra durante un período de por lo menos aproximadamente 3 horas, o
 - iii. la infusión se administra durante un período de aproximadamente 2,5 horas a aproximadamente 6 horas.
 - b. la dosis de cebado se administra mediante bombeo continuo durante un período de aproximadamente 6 horas
- 60
- 65

a aproximadamente 3 días; y/o

c. la dosis de cebado se administra por vía subcutánea; y/o

d. la dosis de cebado satura por lo menos aproximadamente del 50% al 100% de los sitios CD47 en los glóbulos rojos, opcionalmente el 100% de los sitios de CD47 en los glóbulos rojos, además opcionalmente en donde la dosis se determina mediante un ensayo de ocupación del receptor, en el que después de la administración de una dosis de agente anti-CD47 no marcado al sujeto, se obtiene una muestra de sangre y se combina con una dosis de saturación de anticuerpo anti-CD47 marcado detectable; y determinar el nivel de unión; y/o

e. en donde la dosis terapéuticamente eficaz de 1 1b es suficiente para lograr un nivel circulante de más de 100, 250, 500 o 1000 µg/ml del anticuerpo anti-CD47 durante un período de tiempo sostenido, opcionalmente en donde el período de tiempo sostenido es de por lo menos 1-28, 7-28, 7-21, 14-28 o 21-28 días, preferiblemente en donde el período de tiempo sostenido es de aproximadamente 1, 2, 3 o 4 semanas.

15. El anticuerpo anti-CD47 para el uso de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde:

a. la dosis de cebado es de 1 mg/kg de anticuerpo; o

b. la dosis terapéuticamente eficaz es de 20 mg/kg de anticuerpo; o

c. la dosis terapéuticamente eficaz es de 30 mg/kg de anticuerpo; o

d. la dosis terapéuticamente eficaz es de 45 mg/kg de anticuerpo; o

e. la dosis terapéuticamente eficaz es de 60 mg/kg de anticuerpo; o

f. la dosis terapéuticamente eficaz es de 67,5 mg/kg de anticuerpo; y/o

g. la dosis terapéuticamente eficaz se administra aproximadamente cada 7, 14, 21 o 28 días, opcionalmente en donde la dosis terapéuticamente eficaz se administra cada 7 días.

Figura 1

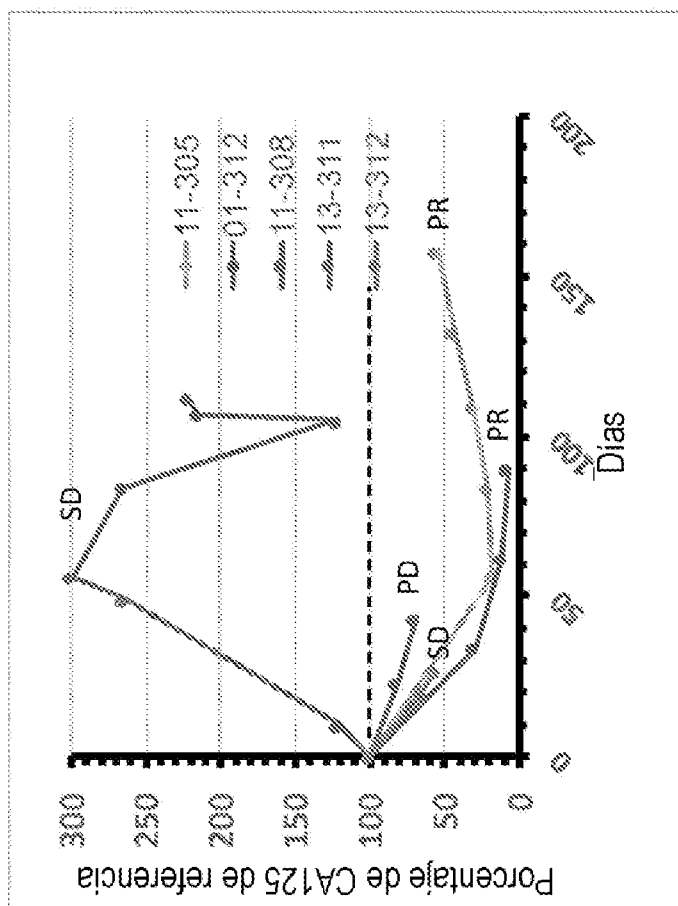
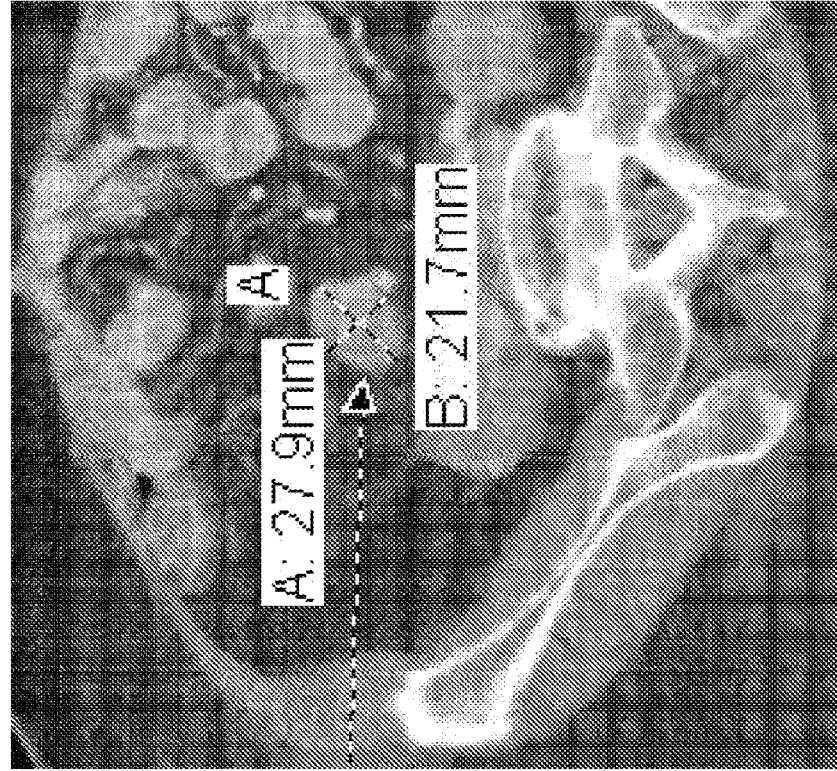


Figura 2: Exploraciones de Re-estadificación de Pt 11-305

Exploración de referencia



Exploración a las 8 semanas

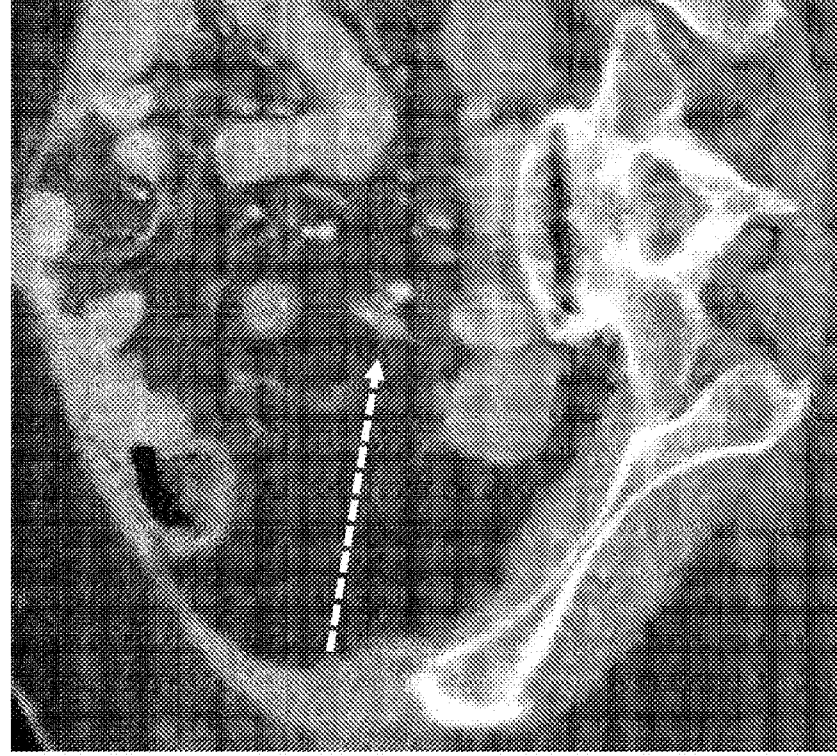
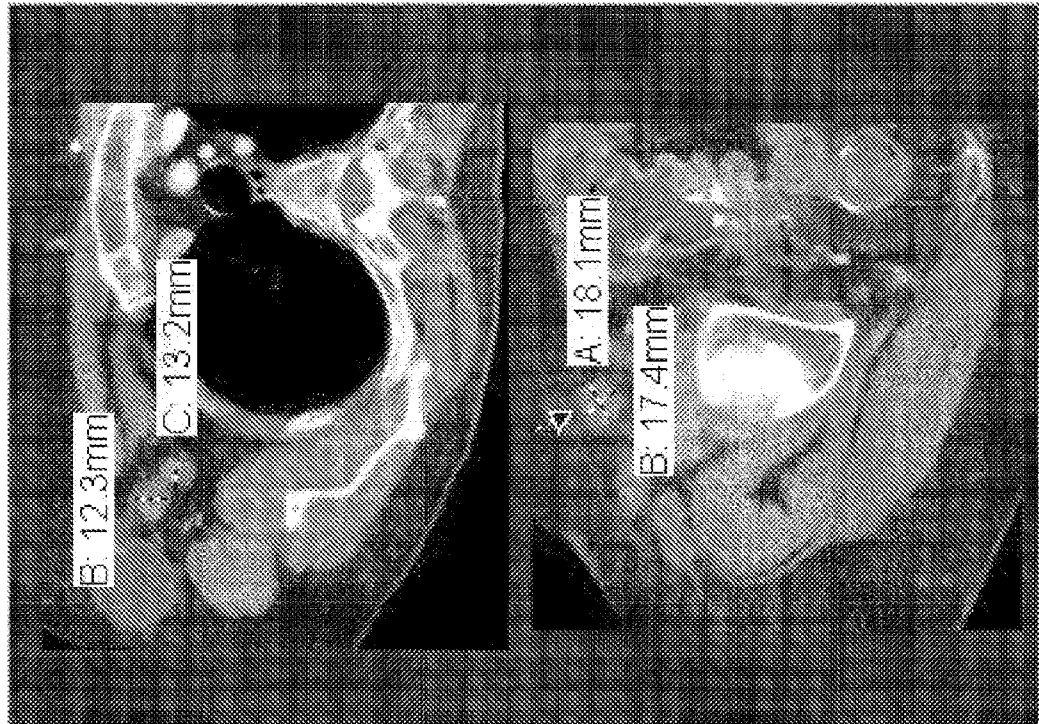


Figura 3: Exploraciones de Re-estadificación de Pt 11-305

Exploración de referencia



Exploración a las 8 semanas

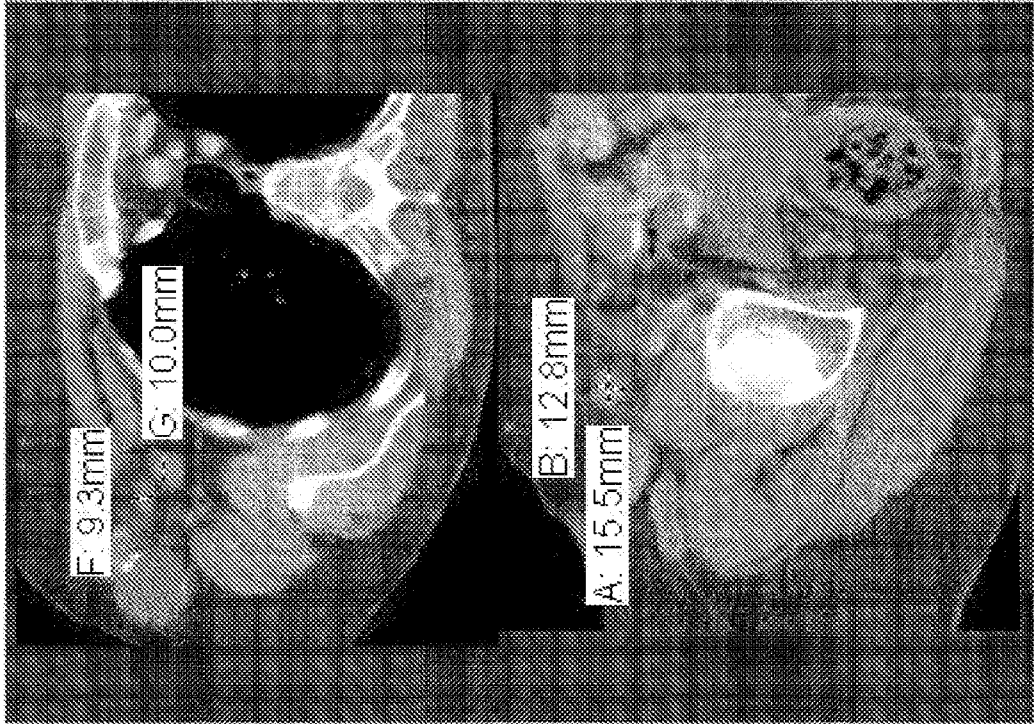
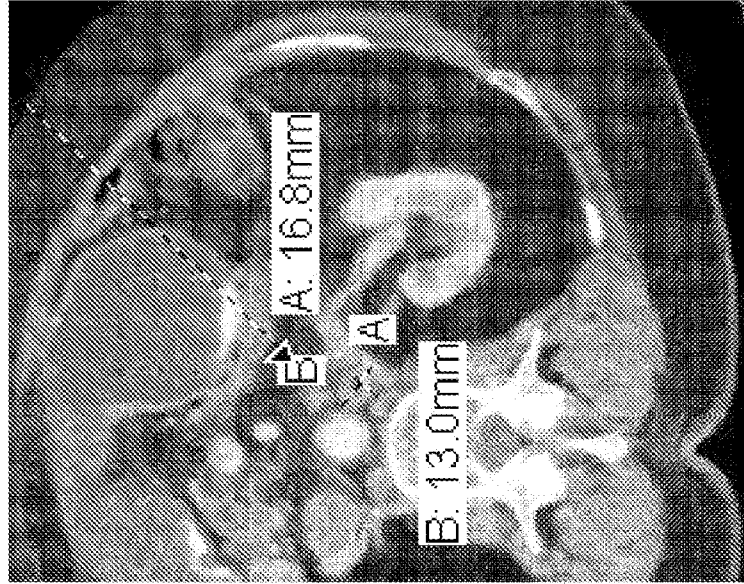


Figura 4: Exploraciones de Re-estadificación de Pt 11-305

Exploración de referencia



Exploración a las 8 semanas

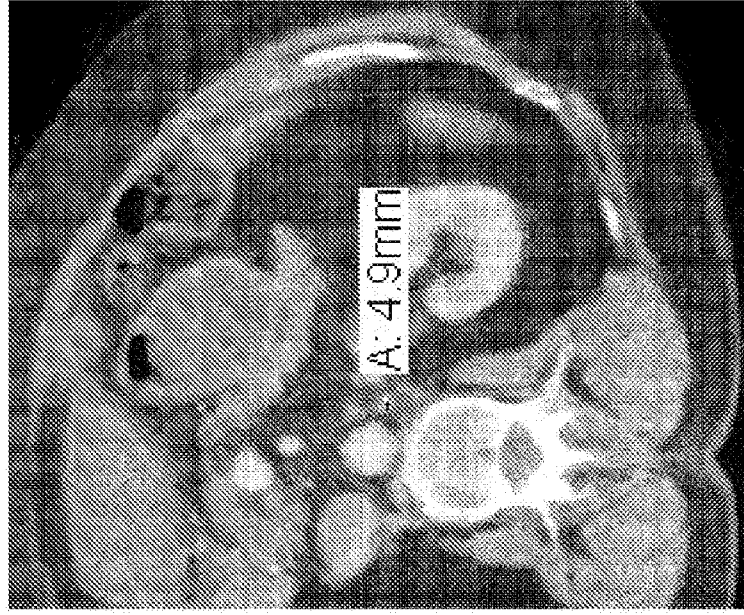
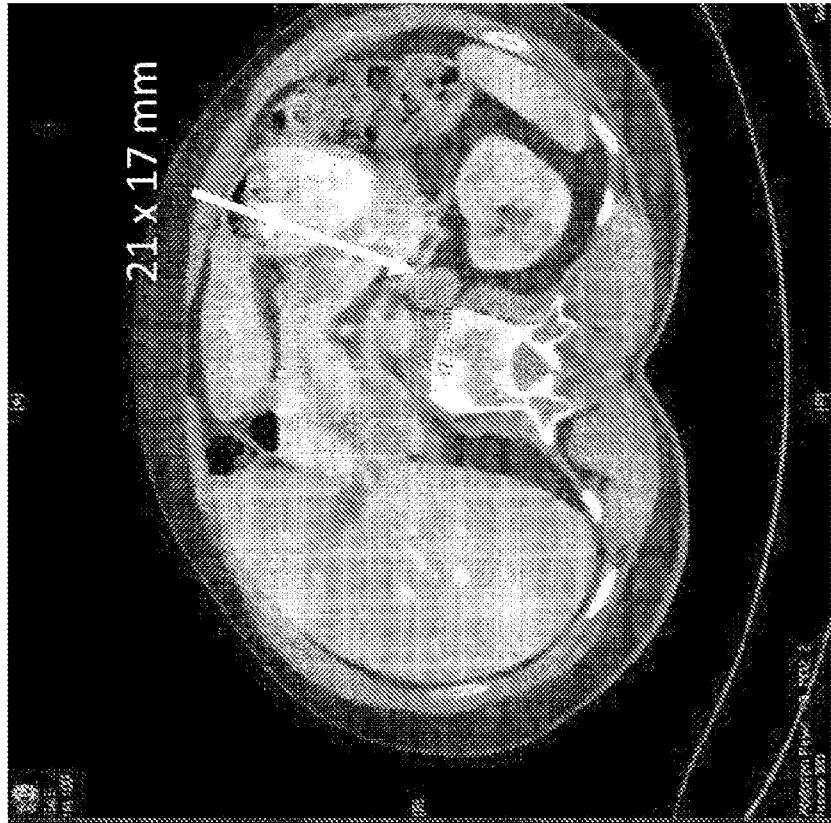


Figura 5: Exploraciones de re-estadificación de Pt 01-312:
Ganglio linfático paraaórtico izquierdo

Exploración de referencia



Exploración a las 8 semanas

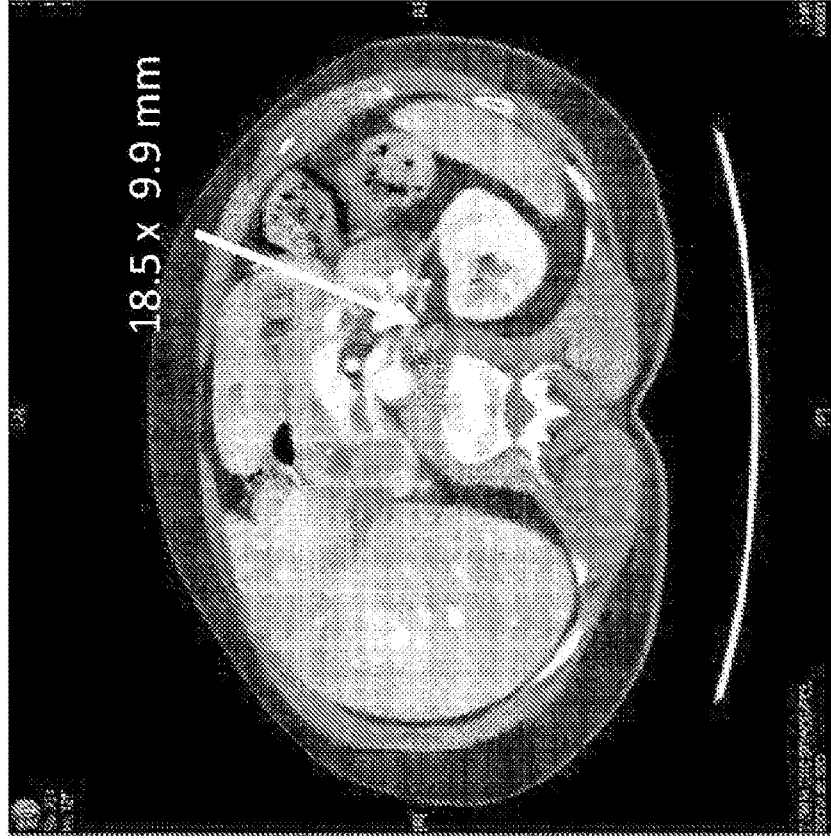
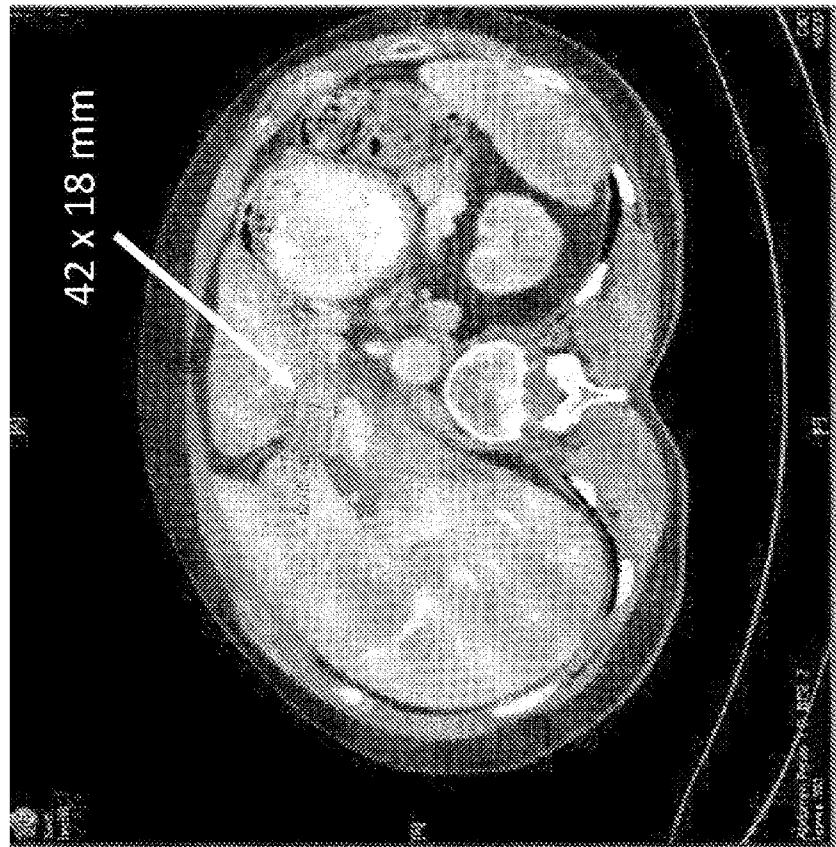


Figura 6: Exploraciones de re-estadificación de Pt 01-312:
Nódulo linfático porta hepatis

Exploración de referencia



Exploración a las 8 semanas

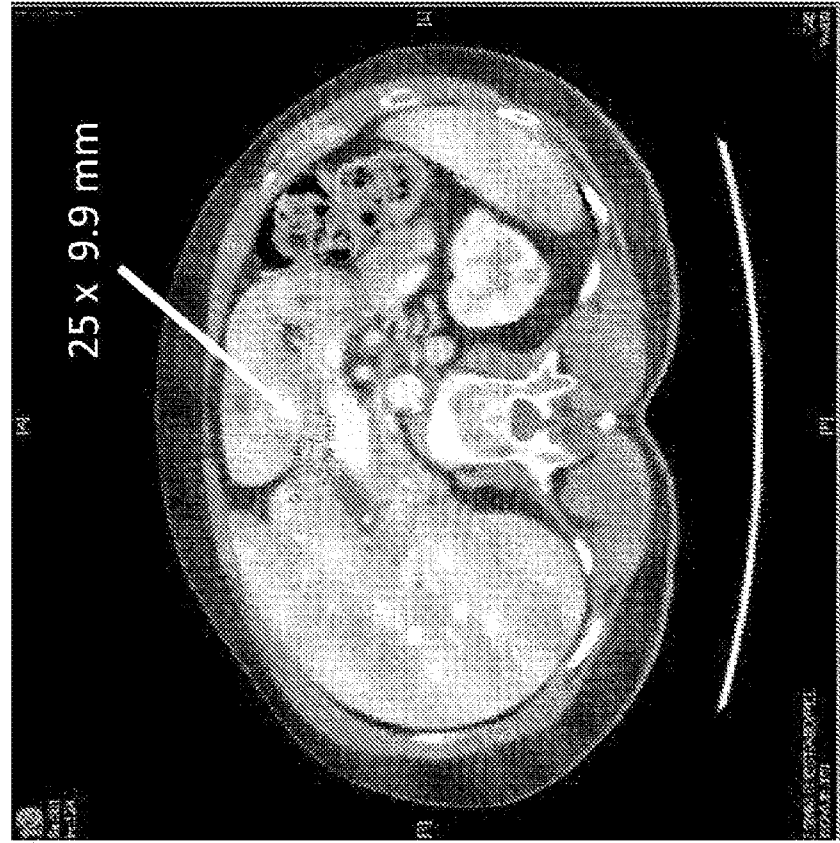
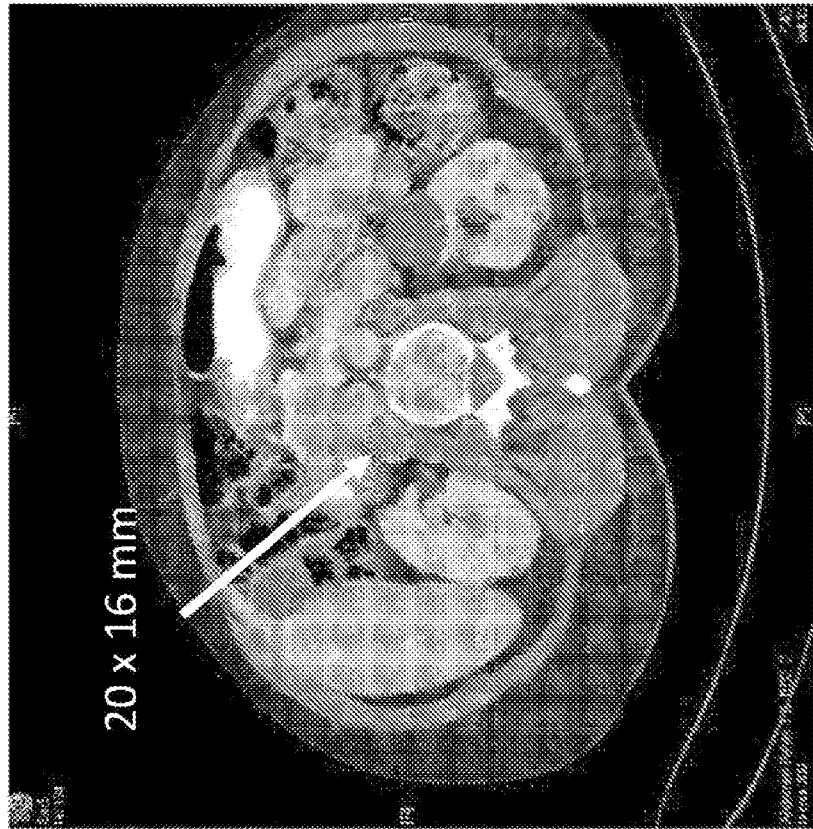


Figura 7: Exploraciones de re-estadificación de Pt 01-312:
Nódulo linfático retrocavo

Exploración de referencia



Exploración a las 8 semanas

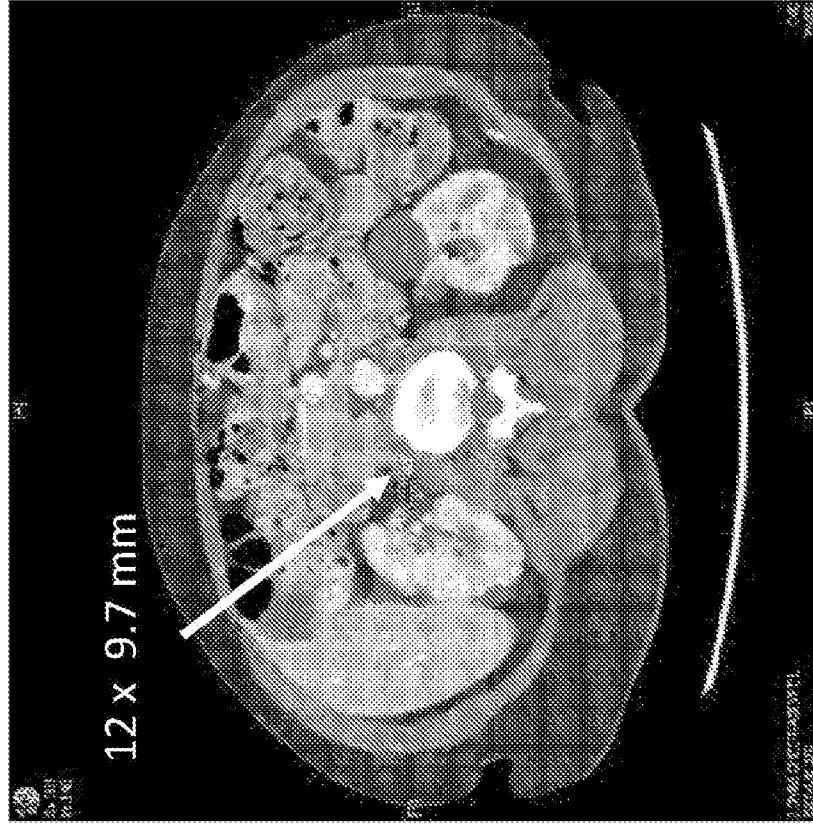
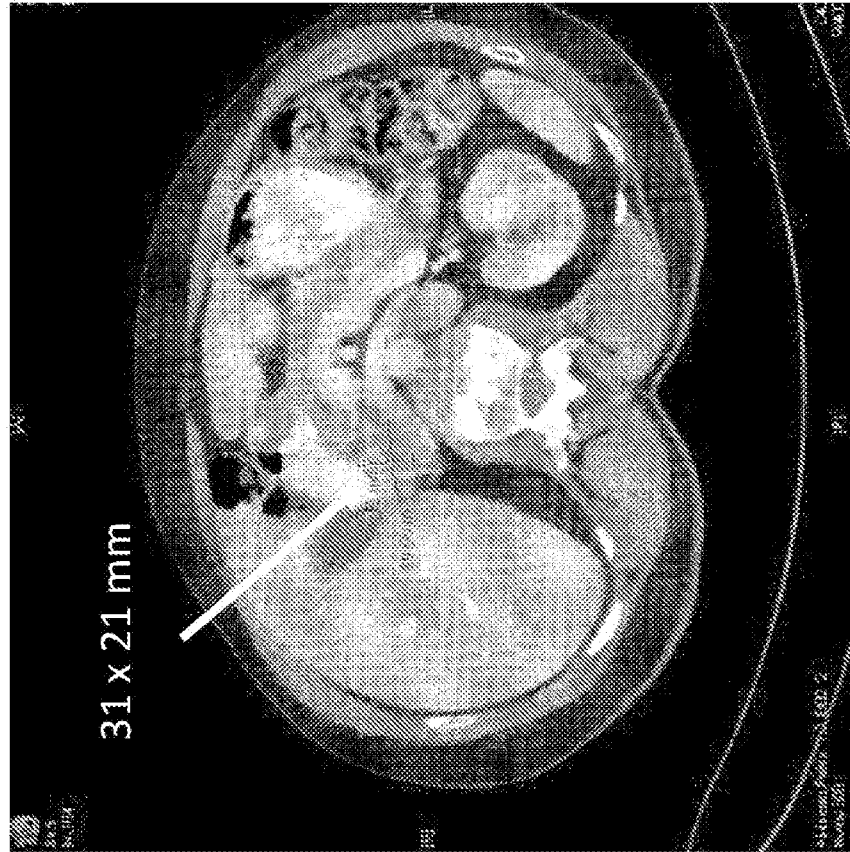


Figura 8: Exploraciones de re-estadificación de Pt 01-312:
Nódulo linfático periportal

Exploración de referencia



Exploración a las 8 semanas

