

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 974 678**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.06.2018 PCT/EP2018/066144**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.12.2018 WO18229303**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.06.2018 E 18732064 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.03.2024 EP 3638696**

54 Título: **Uso del anticuerpo anti CD70 ARGX-110 para tratar la leucemia mieloide aguda**

30 Prioridad:

16.06.2017 GB 201709677

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

01.07.2024

73 Titular/es:

**ARGENX BV (50.0%)
Industriepark-Zwijnaarde 7
9052 Zwijnaarde (Ghent), BE y
UNIVERSITY OF BERN (50.0%)**

72 Inventor/es:

**LEUPIN, NICOLAS;
VAN ROMPAEY, LUC;
DE HAARD, HANS;
OCHSENBEIN, ADRIAN y
RIETHER, CARSTEN**

74 Agente/Representante:

SÁNCHEZ SILVA, Jesús Eladio

Observaciones:

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

ES 2 974 678 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

Uso del anticuerpo anti CD70 ARGX-110 para tratar la leucemia mieloide aguda

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a composiciones y combinaciones para su uso en métodos de tratamiento de la leucemia mieloide aguda (AML) y el síndrome mielodisplásico (MDS).

10 Antecedentes de la invención

La leucemia mieloide aguda (AML) es una enfermedad heterogénea caracterizada por una expansión clonal incontrolada de células progenitoras hematopoyéticas. La AML es la leucemia aguda más común que afecta a los adultos, con una incidencia anual en adultos europeos de 5 a 8 casos por 100 000 personas, y un fuerte aumento en la población mayor de 70 años, donde la incidencia alcanza 15-25/100 000 por año.

Las estadísticas de supervivencia publicadas por Cancer Research UK para la AML diagnosticada en Inglaterra entre 2008 y 2010, para todas las edades, muestran que aproximadamente el 20 % de los sujetos sobreviven 5 años o más después del diagnóstico. Los factores de pronóstico para un mal resultado incluyen la edad del sujeto, la AML inducida por el tratamiento y los antecedentes de síndromes mielodisplásicos u otro trastorno hematológico antecedente. La tasa de supervivencia a 5 años en personas de 65 años o más es aproximadamente del 5 %.

La quimioterapia, ya sea como agente único o como tratamiento combinado, se usa para tratar la mayoría de los tipos de leucemia. En condiciones adecuadas, también se puede usar quimioterapia en dosis altas seguida de un trasplante de células madres hematopoyéticas. Alrededor del 60 % al 70 % de los adultos con AML alcanzarán el estado de remisión completa (CR) después de una terapia de inducción adecuada, y se puede esperar que aproximadamente 45 % de aquellos que alcanzan la CR sobrevivan 3 o más años y puedan curarse (Sociedad Americana del Cáncer). Sin embargo, los efectos secundarios de la quimioterapia pueden suponer una carga significativa para el paciente y muchos pacientes no son aptos para recibir la quimioterapia intensiva estándar. Por lo tanto, son convenientes terapias alternativas para la AML.

El documento WO2012123586 describe anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen a la proteína CD70 humana con alta afinidad y muestran una potente inhibición del crecimiento de células tumorales.

35 Dempke, Wolfram CM y otros, "Second- and third-generation drugs for immuno-oncology treatment-The more the better?", *Eur J Cancer.*, (2017) vol. 74, páginas 55 - 72 (doi: 10.1016/j.ejca.2017.01.001) revisa las dianas de inmunoterapia para el tratamiento del cáncer.

40 Jacobs, J. y otros, "CD70: An emerging target in cancer immunotherapy", *Pharmacol Ther.* (2015) vol. 155, páginas 1-10 (doi: 10.1016/j.pharmthera.2015.07.007.) revisa el eje CD70-CD27 como diana en diversas neoplasias malignas hematológicas y sólidas.

45 Riether, Carsten y otros, "CD70/CD27 signaling promotes blast stemness and is a viable therapeutic target in acute myeloid leukemia" *J Exp Med.*, (28-12-2016), vol. 214, núm. 2, páginas 359 - 380 (doi: 10.1084/jem.20152008) describe un estudio en el que el bloqueo de la interacción CD70/CD27 con un anticuerpo monoclonal indujo divisiones celulares asimétricas y diferenciación en blastos de AML y células madre/progenitoras de AML, inhibió el crecimiento celular y la formación de colonias, y prolongó significativamente la supervivencia en xenoinjertos de AML murinos.

50 Resumen de la invención

En un aspecto, la invención proporciona un anticuerpo anti-CD70 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en un método para tratar la leucemia mieloide aguda (AML) o el síndrome mielodisplásico (MDS) en un sujeto, el método comprende: administrar al sujeto una o más dosis de un anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo y administrar al sujeto un inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI) seleccionado de azacitidina y decitabina, en donde el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe la unión de CD70-CD27.

60 En un aspecto adicional, se proporciona un inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI) seleccionado de azacitidina y decitabina para su uso en un método para tratar la leucemia mieloide aguda (AML) o el síndrome mielodisplásico (MDS) en un sujeto, el método comprende: administrar al sujeto el inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI), y administrar al sujeto una o más dosis de un anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe la unión de CD70-CD27.

65 En un aspecto adicional, se proporciona una combinación que comprende un anticuerpo anti-CD70 o un fragmento de unión a antígeno del mismo y un inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI) seleccionado de azacitidina y

decitabina para su uso en un método para tratar la leucemia mieloide aguda (AML) o el síndrome mielodisplásico (MDS) en un sujeto, el método comprende: administrar al sujeto una o más dosis del anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, y administrar al sujeto el inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI), en donde el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe la unión de CD70-CD27.

Debe entenderse que las referencias en la presente descripción a métodos de tratamiento se refieren al anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, NMI o la combinación para su uso en esos métodos de acuerdo con las reivindicaciones adjuntas. La invención reivindicada no abarca métodos de tratamiento realizados en el cuerpo humano o animal según lo excluido por el Artículo 53 (c) del EPC.

CD70 es un antígeno de superficie celular que normalmente se expresa en un pequeño subconjunto de linfocitos B y T activados, así como también en células dendríticas maduras, y participa en la diferenciación de linfocitos y en la señalización de supervivencia tras la unión a su receptor de superficie celular afín, CD27. La señalización de CD27 inducida por CD70 da como resultado una mayor producción y activación de linfocitos T reguladores, que expresan CD27.

La expresión de CD70 es baja o está ausente en los tejidos normales, que incluye todos los órganos vitales. CD70 se sobreexpresa en varios tipos de tumores, a menudo junto con CD27 en neoplasias hematológicas, lo que sugiere su participación en la proliferación y supervivencia de las células malignas. CD70 también parece desempeñar un papel en la evasión de la vigilancia inmunitaria al inducir Treg, promoviendo así el crecimiento tumoral.

Se cree que la inhibición de la vía de señalización CD70-CD27 en los linfocitos T reguladores impide el reclutamiento y/o la activación de los linfocitos T reguladores, restaurando así potencialmente la inmunovigilancia de un sujeto en el microambiente tumoral.

En la presente descripción se demuestra por primera vez el tratamiento efectivo de la AML y el MDS en seres humanos con un anticuerpo anti-CD70. Dicho tratamiento es efectivo incluso después de una dosis única de anticuerpo anti-CD70, e incluso a una dosis sorprendentemente baja. No sólo el anticuerpo anti-CD70 se administra como una monoterapia sorprendentemente efectiva, sino que en la presente descripción se demuestra que una terapia combinada de un anticuerpo anti-CD70 junto con un inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI) da como resultado una mayor eficacia. Como se usa en la presente descripción, una terapia de combinación de acuerdo con la invención no requiere la administración simultánea de dos o más agentes activos, ni que los dos o más agentes se formulen en una única composición.

Los pacientes con AML tratados con las terapias que se proporcionan en la presente descripción mostraron velocidades de respuesta mayores que 90 % y 2 de cada 3 pacientes lograron una remisión completa. Estos resultados representan un avance significativo en la terapia de AML para todos los pacientes.

Como se demuestra en los Ejemplos adjuntos, el tratamiento de acuerdo con la invención reduce significativamente el porcentaje de blastos de la médula ósea en un paciente. Como ya se ha indicado, el tratamiento de acuerdo con la invención redujo significativamente el número de blastos hasta el punto que los pacientes entraron en remisión completa. Además, reducir significativamente el porcentaje de blastos de la médula ósea en un paciente es importante si éste va a recibir un trasplante exitoso de células madre hematopoyéticas (HSCT), un tratamiento que puede ser curativo. Es importante destacar que el tratamiento de acuerdo con la invención ha dado como resultado que un paciente progrese hasta recibir el trasplante.

En particular, el tratamiento de acuerdo con la invención trata efectivamente la AML sin que se observe ningún aumento de toxicidad en comparación con la informada para el tratamiento convencional de NMI.

Esto es importante para todos los pacientes con AML. La quimioterapia intensiva estándar para la AML conlleva una toxicidad significativa y muchos pacientes experimentan efectos secundarios graves. La toxicidad limitada asociada con el tratamiento efectivo de acuerdo con la presente invención demuestra el potencial de las terapias descritas en la presente descripción para proporcionar un tratamiento de AML mejorado para todos los pacientes.

La sorprendente eficacia del tratamiento de acuerdo con la invención es de mayor importancia dada la naturaleza de los pacientes reclutados para el ensayo. Los pacientes tratados no eran idóneos para la quimioterapia estándar porque no estaban lo suficientemente en forma para tolerar la toxicidad asociada con la quimioterapia intensiva convencional.

Dado que se cree que se requiere quimioterapia intensiva estándar para reducir suficientemente los blastos en la médula ósea, actualmente el HSCT no está disponible para estos pacientes. Sin embargo, como se demuestra en la presente descripción, la monoterapia y la terapia combinada de acuerdo con la presente invención reducen significativamente los blastos de AML en pacientes que no pueden recibir quimioterapia intensiva estándar. En consecuencia, las terapias proporcionadas de acuerdo con la invención abren la perspectiva de un HSCT exitoso en una población de pacientes para quienes no se recomendaba previamente el HSCT. Otra ventaja significativa del hecho de que los anticuerpos anti-CD70 puedan tratar efectivamente la AML tanto como monoterapia como también

en una potente terapia combinada con un inhibidor metabólico de nucleósidos es que permite usar una variedad de modelos de tratamiento. Por ejemplo, la terapia combinada con un inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI) proporciona una terapia potente que surge de los efectos de los anticuerpos CD70 aumentados por la regulación positiva de CD70 en los blastos en respuesta al NMI (in vitro e in vivo (Figura 1)). Esto proporciona una terapia efectiva con una toxicidad reducida en comparación con la quimioterapia intensiva estándar, lo que es particularmente importante para pacientes que no estarían lo suficientemente sanos como para tolerar la quimioterapia intensiva estándar. La monoterapia con anticuerpos CD70 proporciona un tratamiento efectivo sin necesidad ni siquiera de un NMI. Esto reduce aún más la toxicidad al evitar el efecto del NMI en las células no blásticas, lo que puede reducir el riesgo de que el paciente desarrolle citopenias. Al reducir el riesgo de citopenias, el paciente tiene menos riesgo de infección y requiere menos transfusiones de sangre.

Un modelo de tratamiento adicional puesto a disposición por la presente invención es un modelo de "inducción" y "mantenimiento". Es decir, se puede usar un tratamiento de inducción que usa la combinación de anti-CD70 más un inhibidor metabólico de nucleósidos (con una dosis de carga opcional de anti-CD70) para disminuir potentemente los porcentajes de blastos de AML en la médula ósea. Luego, el paciente puede pasar a un tratamiento de mantenimiento con anti-CD70 solo o en combinación con dosis más bajas de NMI. Este modelo tiene la ventaja de que la disminución de blastos se puede mantener sin necesidad de exponer al paciente a una posible toxicidad acumulada por la administración prolongada del inhibidor metabólico de nucleósidos.

Además, dicho tratamiento de mantenimiento con anticuerpo anti-CD70 solo suprime específicamente las células blásticas (que expresan CD70) con un efecto mínimo sobre otros tipos de células (que tienen una expresión mínima o nula de CD70). Dado que las dosis de inhibidores metabólicos de nucleósidos se pueden detener o reducir, se reduce la presión citotóxica sobre los tipos de células no blásticas, lo que permite que estas células proliferen. Esto tiene la ventaja de reducir el riesgo de citopenias que surgen del tratamiento prolongado con NMI, ya que otros tipos de células (por ejemplo, plaquetas, eritrocitos, neutrófilos) pueden recuperarse mientras el anticuerpo CD70 ataca los blastos de AML.

Además, en la presente descripción se demuestra que la administración de un anticuerpo anti-CD70, solo o en combinación con un NMI, promueve la diferenciación de LSC en células mieloides. La promoción de dicha diferenciación reduce la población de LSC capaces de autorrenovarse. Las LSC contribuyen significativamente a la propagación y el mantenimiento de enfermedades, lo que proporciona un conjunto de células malignas que se renuevan automáticamente. Por tanto, al inducir la diferenciación de las LSC, la administración de un anticuerpo anti-CD70, solo o en combinación con un NMI, disminuye la población de LSC, aumentando así la perspectiva de remisión y reduciendo el riesgo de recaída.

En consecuencia, en un aspecto la invención proporciona un anticuerpo anti-CD70 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en un método para tratar la leucemia mieloide aguda (AML) o el síndrome mielodisplásico (MDS) en un sujeto, el método comprende: administrar al sujeto una o más dosis de un anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo y administrar al sujeto un inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI) seleccionado de azacitidina y decitabina, en donde el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe la unión de CD70-CD27.

En un aspecto adicional, se proporciona un inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI) seleccionado de azacitidina y decitabina para su uso en un método para tratar la leucemia mieloide aguda (AML) o el síndrome mielodisplásico (MDS) en un sujeto, el método comprende: administrar al sujeto el inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI), y administrar al sujeto una o más dosis de un anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe la unión de CD70-CD27.

En un aspecto adicional, se proporciona una combinación que comprende un anticuerpo anti-CD70 o un fragmento de unión a antígeno del mismo y un inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI) seleccionado de azacitidina y decitabina para su uso en un método para tratar la leucemia mieloide aguda (AML) o el síndrome mielodisplásico (MDS) en un sujeto, el método comprende: administrar al sujeto una o más dosis del anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, y administrar al sujeto el inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI), en donde el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe la unión de CD70-CD27.

En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra a una dosis en el intervalo de 0,1 mg/kg a 25 mg/kg por dosis, opcionalmente a una dosis en el intervalo de 1 mg/kg a 20 mg/kg. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra a una dosis de 1 mg/kg, 3 mg/kg, 10 mg/kg o 20 mg/kg. En determinadas modalidades preferidas, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra a una dosis de 10 mg/kg.

En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, NMI o la combinación para su uso de acuerdo con las reivindicaciones es para su uso en métodos que comprenden: (i) una primera etapa que comprende la administración de un anticuerpo anti-CD70 y un inhibidor metabólico de nucleósidos seleccionado de azacitidina y decitabina como una terapia de combinación de acuerdo con los regímenes de dosificación que se describen en la presente descripción, y (ii) una segunda etapa que comprende la administración

de un anticuerpo anti-CD70 de acuerdo con los regímenes de dosificación que se describen en la presente descripción y la administración de una dosis más baja del inhibidor metabólico de nucleósidos que la dosis de inhibidor metabólico de nucleósidos que se administra en la primera etapa.

5 En determinadas modalidades, el sujeto no es idóneo para recibir quimioterapia intensiva estándar antes del tratamiento de acuerdo con la invención.

10 En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, NMI o la combinación para su uso de acuerdo con las reivindicaciones es para su uso en métodos que comprenden además realizar un trasplante de células madre hematopoyéticas en el sujeto.

En determinadas modalidades, el paciente tiene 60 años o más, opcionalmente 75 años o más.

15 En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, NMI o la combinación para su uso de acuerdo con las reivindicaciones es para su uso en métodos que comprenden además la administración de uno o más agentes activos seleccionados de un anticuerpo anti-CD33, un anticuerpo anti-CD123, un inhibidor de selectina E, un inhibidor de FLT3, un inhibidor de quinasa dependiente de ciclina, un inhibidor de BCL-2, un inhibidor de aminopeptidasa y un inhibidor de JAK/STAT como parte de una terapia combinada.

20 En todos los aspectos de la invención, el anticuerpo anti-CD70 puede poseer una función efectora de anticuerpo, por ejemplo, citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC), citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) y/o fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP). En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión al antígeno del mismo puede agotar las células que expresan CD70, por ejemplo, mediante la función efectora del anticuerpo.

25 En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 puede ser un anticuerpo modificado, por ejemplo, un conjugado de anticuerpo-fármaco (ADC). Como se describe en otra parte de la presente descripción, los ADC son anticuerpos conjugados con un agente activo tal como un agente citotóxico. Los ADC también pueden poseer una o más funciones efectoras de anticuerpos además de suministrar el agente activo a una diana.

30 En determinadas modalidades de todos los aspectos de la invención, el anticuerpo anti-CD70 comprende un dominio de cadena pesada variable (VH) y un dominio de cadena ligera variable (VL), en donde los dominios VH y VL comprenden las CDR:

35 HCDR3 que comprende o consiste de la SEQ ID NO:3 (DAGYSNHVPIFDS)
 HCDR2 que comprende o consiste de la SEQ ID NO:2 (DINNEGTTYADSVKG)
 HCDR1 que comprende o consiste de la SEQ ID NO:1 (VYYMN)
 LCDR3 que comprende o consiste de la SEQ ID NO:7 (ALFISNPSVE)
 LCDR2 que comprende o consiste de la SEQ ID NO:6 (NTNTRHS), y
 40 LCDR1 que comprende o consiste de la SEQ ID NO:5 (GLKSGSVTSDNFPT).

45 En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno comprende un dominio VH al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 %, al menos 99 % idéntico a la SEQ ID No 4 y/o comprende un dominio VL al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 %, al menos 99 % idéntico a la SEQ ID No 8. Para modalidades en donde los dominios de los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno se definen mediante un porcentaje particular de identidad de secuencia con una secuencia de referencia, los dominios VH y/o VL pueden retener secuencias CDR idénticas a las presentes en la secuencia de referencia de modo que la variación esté presente sólo dentro de las regiones marco.

50 En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 es un anticuerpo IgG1.

En todos los aspectos de la invención, el anticuerpo anti-CD70 es preferentemente ARGX-110.

55 En todos los aspectos de la invención, una modalidad preferida es una combinación de ARGX-110 y azacitidina.

En todos los aspectos de la invención, el sujeto o paciente es un sujeto o paciente humano.

Breve descripción de las figuras

60 Figura 1 La terapia combinada de α CD70/decitabina erradica las células madre/progenitoras de AML CD34⁺CD38 humanas en xenoinjertos murinos. (a-i) Se inyectaron por vía intravenosa 5×10^6 células CD45^{dim}SSC^{lo} purificadas con FACS de BM de pacientes con AML recién diagnosticados (paciente P10 y P21) en la vena de la cola de ratones NSG irradiados de manera subletal. Después del injerto (día 32 (P10) y día 97 (P25) después del trasplante), los ratones se aleatorizaron y se sometieron a tratamiento con mAb de control y 10 mg/kg de mAb α CD70 (41D12-D) por vía intraperitoneal (un total de 3 inyecciones) o decitabina y (1,5 mg/kg/día) durante cinco días consecutivos solos o en combinación. Un día después del
 65

último tratamiento, los animales se sacrificaron y se analizaron la sangre, el bazo y la BM. (a) Configuración experimental. (b) Expresión de CD70 en células madre/progenitoras de AML CD34⁺CD38⁻. El isotipo se representa en gris; tinción CD70 en negro (P10) y azul (P25). Las líneas sólidas representan el vehículo y las líneas discontinuas, el tratamiento con decitabina en células madre/progenitoras de AML. Tinción ΔMFI MFI - isotipo MFI (c) Expresión del factor de cambio de CD70 en células madre/progenitoras de AML que no son CD34⁺CD38⁻ en volumen y CD34⁺CD38⁻ (Veh frente a D). (d) Gráficos FACS representativos de injerto de células humanas CD45⁺ AML en la BM de ratones PDX. (e) Frecuencia de células humanas CD45⁺AML en la BM de ratones PDX AML. (f) Números absolutos de células madre/progenitoras CD45^{dim}SSC^{lo}lin⁻CD90⁻CD34⁺AML en la BM. (g) Gráficos FACS representativos y (h) cuantificación que indica la frecuencia de células CD38⁻ AML dentro de la población de células madre/progenitoras CD45^{dim}SSC^{lo}lin⁻CD90⁻CD34⁺AML. (i) Frecuencia de células CD45RA⁺ en la población de células madre/progenitoras de CD45^{dim}SSC^{lo}lin⁻CD90⁻CD34⁺CD38⁻AML. Los datos se representan como la media ±D.E. Estadísticas: (b, c) Prueba t de Student; (e, f, h, i) ANOVA unidireccional; prueba posterior de Tukey; P<0,05**, P<0,01***, P<0,001.

Figura 2 El tratamiento con HMA induce la expresión de CD70 en células madre/progenitoras primarias de AML. (a) Gráficos FACS representativos de la expresión de CD70 en células madre/progenitoras lin-CD90⁺CD34⁺CD38⁻AML después del cultivo en presencia o ausencia de decitabina 0,5 mM (D) o vehículo (Veh). Isotipo: gris; CD70: negro. (b) Viabilidad celular. (c) Factor de cambio de ΔMFI CD70 y (d) expresión de ARNm de CD70 (AML: n = 9-15; sano: n = 3). (e) Gráfico FACS representativo y (f) factor de cambio de ΔMFI CD70 en células madre/progenitoras en la sangre periférica de pacientes con AML en el momento del diagnóstico y después de 1 ciclo de tratamiento con decitabina o azacitidina (D(5), 20 mg/kg, diariamente durante 5 días; A(7), 75 mg/m², diariamente durante 7 días).

Figura 3 El cotratamiento con αCD70/decitabina reduce la capacidad de replantación de células madre/progenitoras humanas CD34⁺CD38⁻AML. (a-b) Se cultivaron células madre/progenitoras lin-CD90⁺CD34⁺CD38⁻ purificadas con FACS de la BM de pacientes con AML recién diagnosticados (P6, P8, P11) durante la noche por triplicado en presencia o ausencia de 10 mg/ml de anti-CD70 (αCD70) mAb o decitabina 0,5 mM sola o en combinación, seguido de siembra en placas en metilcelulosa que contiene αCD70 y decitabina o ambos. Las colonias y células se contaron después de 14 días. (a) Colonias por 1×10³ células sembradas. (b) Células por colonia. (c) Experimentos de resiembra en serie. (d-f) Las células madre/progenitoras lin-CD90⁺CD34⁺CD38⁻ purificadas con FACS de BM de donantes "sanos" se cultivaron y se sembraron en metilcelulosa como se describe en (a-c). (d) Colonias por 1×10³ células sembradas. (e) Células por colonia. (f) Experimentos de resiembra en serie. Los datos se representan como la media ± D.E. Estadísticas: ANOVA unidireccional. Prueba posterior de Dunnett (frente a αCD70/D); *, P<0,05**, P<0,01***, P<0,001.

Figura 4 Esquema que muestra el régimen de tratamiento para pacientes inscritos en un estudio al descubierto de aumento de dosis con una cohorte de prueba de concepto de ARGX-110 en combinación con AZA.

Figura 5 (a) Fin del tratamiento (EOT): la fecha del EOT es la última fecha en la que se administra ARGX-110. Se planifica una visita dentro de los 7 días posteriores al EOT. (b) Los plazos son los siguientes: - en el momento previo a la dosis: hasta 4 horas antes de la infusión de ARGX-110 (día -14 y día 17 en cada ciclo) o la administración de AZA (días 1, 3 y 7) - a las 0 h (al final de la infusión de ARGX-110) a los ±30 minutos y a las 2 h (después del final de la infusión de ARGX-110): ±30 minutos - a las 24 h: ±4 horas - en el momento posterior a la dosis (día X): dentro de las 2 horas posteriores al final de la infusión de ARGX-110; (c) Hasta 4 horas antes de la infusión de ARGX-110 el día 14, y el día 3 y el día 17 en los ciclos 1-4 y en el ciclo 8 (si corresponde) y en el EOT y visitas de seguimiento; (d) Se puede usar una muestra de genética molecular para la caracterización de la metilación de los promotores CD70 y CD11a y para análisis de ADN genómico del efecto del tratamiento sobre la enfermedad y la patología diana. A partir del ciclo ≥3, el muestreo debe realizarse antes de la administración de AZA en cada ciclo impar en el día 1 (es decir, C3D1, C5D1,...) hasta la remisión completa (CR, CRi); (e) La muestra de expresión genética se usará para la caracterización de los niveles de ARNm de CD70, marcadores de enfermedades y efectos de los fármacos. A partir del ciclo ≥3, el muestreo debe realizarse antes de la administración de AZA en cada ciclo impar en el día 1 (es decir, C3D1, C5D1,...) hasta la remisión completa (CR, CRi); (f) Se puede usar una muestra de citometría de flujo (FACS) para la caracterización adicional del análisis de enfermedad residual mínima, la expresión de CD70 y CD27 y el efecto del fármaco (por ejemplo, blastos, células NK y T). A partir del ciclo >3, el muestreo debe realizarse antes de la administración de AZA en cada ciclo impar en el día 1 (es decir, C3D1, C5D1,...) hasta la remisión completa (CR, CRi); (g) Se puede usar una muestra de suero para una caracterización adicional de sCD27, marcadores de enfermedades y efectos de fármacos, análisis de citocinas inflamatorias. A partir del ciclo ≥3, el muestreo debe realizarse antes de la administración de AZA en cada ciclo impar en el día 1 (es decir, C3D1, C5D1,...) hasta la remisión completa (CR, CRi); (h) Las determinaciones de estado indiferenciado de células madre se realizarán en células mononucleares purificadas de sangre o médula ósea. En dependencia de la cantidad de células que se recolectan, las lecturas pueden incluir tinción de Numb (determina la proporción de

- división asimétrica/simétrica), estudios celulares e in vivo (evaluar el potencial de las células madre mediante, por ejemplo, ensayos de colonias de metilcelulosa CFU o estudios de supervivencia de ratones NSG inyectados con células mononucleares del paciente); (i) El momento del muestreo de la biopsia por aspiración para la evaluación de la respuesta del tratamiento combinado debe realizarse en cada ciclo impar en el día 1 (es decir, C3D1, C5D1,...) hasta la remisión completa (CR, CRi) y en el EOT, a menos que se contraíndique clínicamente. Para los pacientes que logran CR_{M RD}, se recolectará un aspirado/biopsia adicional de BM no antes de 4 semanas después de CR_{M RD}, para confirmar la respuesta. Se pueden tomar muestras adicionales de aspirado/biopsia según lo indique el médico tratante y se manejarán como muestras relacionadas con el estudio; (j) Si se obtiene evidencia de una disminución de la exposición sérica de ARGX-110 y/o un aumento de ADA tras un tratamiento prolongado, se pueden obtener muestras adicionales de PK y/o ADA; (k) Se tomará una muestra de médula ósea, a menos que esté médicamente contraíndicado; (l) La muestra de sobrenadante de médula ósea se puede usar para evaluar la concentración de sCD27 y el efecto del tratamiento sobre la enfermedad y la patología diana.
- 5
- 10
- 15 **Figura 6** La carga de blastos de la médula ósea (BM) se evaluó mediante citomorfología (A.) y citometría de flujo mediante el uso de activación del inmunofenotipo asociado a leucemia (LAIP) (B.) y activación de blastos (SSC^{low} CD45^{dim}; C.). Este último método se usó para determinar el estado de enfermedad residual mínima/mensurable (MRD) del paciente.
- 20 **Figura 7** La carga de blastos en la sangre periférica (PB) se evaluó mediante citomorfología (A.) y citometría de flujo mediante el uso de activación del inmunofenotipo asociado a leucemia (LAIP) (B.) y activación de blastos (SSC^{low} CD45 dim; C.). Este último método se usó para determinar el estado de enfermedad residual mínima/mensurable (MRD) del paciente.
- 25 **Figura 8** Blastos de AML purificados (puerta FACS: CD45^{dim} SSC^{low} AV-CD4-CD8-CD19-) se fijaron, permeabilizaron y las células se incubaron durante la noche con anticuerpo α-Numb, seguido de tinción con un anticuerpo secundario marcado con fluorescencia. Se usó DAPI para contrateñir el ADN. Las muestras se adquirieron en un citómetro de flujo de imágenes ImageStreamX[®] Mark II (Amnis/EMD Millipore) y se analizaron mediante el uso del software INSPIRE[™] e IDEAS[®] (Amnis/EMD Millipore). A.) Se determinó la expresión total de Numb (intensidad media de fluorescencia) en el portaobjetos para muestras de médula ósea de un paciente extraídas al inicio ("selección"), después de la monoterapia con ARGX-110 (C1D1) y después del tratamiento combinado (C4D1). B.) Se puntuaron células que se dividen simétricamente (SD) y asimétricamente (AD) para una muestra de médula ósea del paciente al inicio ("antes") y después de la monoterapia con ARGX-110 (después de αCD70).
- 30
- 35 **Figura 9** El tratamiento con mAb αCD70 reduce las frecuencias de células madre/progenitoras CD34⁺CD38⁻AML en pacientes con AML. (a) Formación de colonias de P2. 10⁴ BM MNC del paciente P002 en el momento del diagnóstico (SCR) y 14 días después de la administración de ARGX110 (1 mg/kg i.v., tiempo 0 o C1 D1) se sembraron en metilcelulosa y se evaluó la formación de colonias 2 semanas después. (b) Factor de cambio en la formación de colonias de diferentes pacientes tratados con las dosis indicadas de ARGX110. (c) Formación de colonias en dilución limitante de P2. (d) Frecuencias de células madre en SCR y tiempo 0 determinadas en experimentos de dilución limitante mejorada para P2 y diferentes pacientes tratados con las dosis indicadas de ARGX110. Los datos se representan como la media ± D.E. Estadísticas: (a, b, e) Prueba t de Student; (d): Prueba X²; **, P<0,01; ***, P<0,001. (f) Formación de colonias de P2. 10⁴, 5×10³, 10³ y 10² BM MNC del paciente P002 en el momento del diagnóstico (SCR), 14 días después de la administración de ARGX110 (1 mg/kg i.v., tiempo 0 o C1D1) y después del tratamiento combinado ("combi") se sembraron en placas de metilcelulosa y se evaluó la formación de colonias 2 semanas después.
- 40
- 45
- 50 **Figura 10** Las muestras de suero se analizaron mediante el uso de un ELISA (Duoset ELISA, CD27/TNFRSF7 humano (cat. DY382-05, R&D Systems). La concentración de CD27 soluble en la muestra se calcula a partir de una curva de calibración. El método permite medir la concentración sérica de CD27 soluble humano natural mediante un método ELISA tipo sándwich. El anticuerpo de captura CD27 antihumano de cabra se recubre sobre una microplaca y se bloquean los sitios de unión no específicos. Se aplican muestras de suero humano y se detecta y visualiza el CD27 humano soluble unido mediante las adiciones posteriores de anticuerpo de detección de CD27 anti-humano de cabra biotinilado, estreptavidina-HRP y la mezcla del reactivo de color H₂O₂ y el sustrato cromogénico tetrametilbencidina (TMB).
- 55
- 60 **Figura 11** La concentración sérica de ARGX-110 se analizó mediante el uso de un método de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) validado. Se proporcionan gráficos de PK de pacientes individuales para la cohorte de 10 mg/kg. El gráfico de PK presenta datos para el ciclo 1 de ARGX-110 (dosis previa de D-14 hasta dosis previa del ciclo 1 D1).
- 65 **Descripción detallada de la invención**
- El tratamiento convencional de la AML mediante el uso de la denominada quimioterapia intensiva estándar "7+3" (es

decir, dosis intensivas de citarabina durante 7 días más 3 días de una antraciclina, normalmente seguida de quimioterapia de consolidación o trasplante de células madre hematopoyéticas (HSCT)) ha sido la terapia estándar durante muchos años. Sin embargo, bajo este régimen la mayoría de los pacientes con AML menores de 60 años no logran sobrevivir más de 5 años. En los adultos mayores que no son aptos para la quimioterapia intensiva estándar, los resultados del tratamiento de menor intensidad no son curativos, el HSCT generalmente no es adecuado y la mediana de supervivencia general es menor que un año. La AML es una enfermedad heterogénea y la recaída de la enfermedad a menudo se debe a uno o más clones de células madre leucémicas (LSC) que son resistentes a la terapia. A pesar de numerosos estudios preclínicos que investigan terapias alternativas, muy pocos se han traducido en la clínica. Por tanto, existe la necesidad de nuevas terapias efectivas contra la AML, especialmente aquellas adecuadas para pacientes que no son aptos para la quimioterapia intensiva estándar. Idealmente, las nuevas terapias no sólo reducen el volumen de la enfermedad al reducir la carga de blastos en la médula ósea y la sangre, sino que también disminuyen o incluso erradican las poblaciones heterogéneas de LSC.

Como se demuestra por primera vez en la presente descripción, los sujetos humanos que tienen AML o MDS se tratan efectivamente mediante la administración de un anticuerpo anti-CD70. Dicho tratamiento de pacientes con AML o MDS es particularmente conveniente, ya que el tratamiento convencional con quimioterapia intensiva estándar se asocia con toxicidad y efectos secundarios significativos. Además, muchos pacientes (por ejemplo, pacientes de edad avanzada) tienen comorbilidades tales que no tolerarían la quimioterapia intensiva estándar, lo que significa que sólo tienen a su disposición terapias menos efectivas. En la presente descripción se proporcionan tratamientos para la AML que son efectivos incluso en dosis bajas y con efectos secundarios y toxicidad limitados, lo que significa que son adecuados para la administración a todos los pacientes. Esto es especialmente ventajoso para el tratamiento de pacientes que de cualquier otra manera no serían idóneos para recibir quimioterapia intensiva estándar.

Por lo tanto, el tratamiento de la AML de acuerdo con la invención proporciona beneficios sorprendentes y significativos sobre las terapias actualmente disponibles. A continuación, se describirán con mayor detalle aspectos y modalidades de la invención. A menos que se indique de cualquier otra manera o sea técnicamente incompatible, cada modalidad de la invención se puede tomar en combinación con cualquier otra modalidad de la invención.

Definiciones

La leucemia mieloide aguda (AML) se refiere a neoplasias hematopoyéticas que involucran células mieloides. La AML se caracteriza por la proliferación clonal de precursores mieloides con capacidad de diferenciación reducida. Los pacientes con AML presentan una acumulación de células blásticas en la médula ósea. Las células blásticas también suelen acumularse en la sangre periférica de los pacientes con AML. Por lo general, la AML se diagnostica si el paciente presenta 20 % o más de células blásticas en la médula ósea o en la sangre periférica.

"Células blásticas", o simplemente "blastos", como se usa en la presente descripción se refiere a células progenitoras mieloides clonales que exhiben un potencial de diferenciación alterado. Un subconjunto de células blásticas son las células madre leucémicas (LSC). Estas son células blásticas que tienen propiedades de células madre tales que, si se trasplantan a un receptor inmunodeficiente, son capaces de iniciar una enfermedad leucémica. Las LSC pueden autorrenovarse dando lugar a leucemia y también diferenciarse parcialmente en células blásticas convencionales no LSC que se asemejan a la enfermedad original pero que no pueden autorrenovarse. Las LSC ocurren con una frecuencia en el intervalo de 1 en 10 000 a 1 en 1 millón como proporción de células blásticas primarias de AML (Pollyea y Jordan, Blood 2017 129:1627-1635). Las LSC pueden caracterizarse como células que son CD34+, CD38-, opcionalmente también CD45- y/o CD123+. Las LSC también pueden caracterizarse como células CD45dim, SSClo, CD90+CD34+.

La AML se puede clasificar y diagnosticar de acuerdo con la clasificación de la OMS de 2008, en combinación con la actualización de 2016 de esta clasificación (Arber y otros, Blood, 19 de mayo de 2016 vol. 127, núm. 20). De acuerdo con la clasificación de la OMS, la AML en general abarca los siguientes subtipos: leucemia mieloide aguda con anomalías genéticas recurrentes; AML con cambios relacionados con mielodisplasia; neoplasias mieloides relacionadas con la terapia; sarcoma mieloide; proliferaciones mieloides relacionadas con el síndrome de Down; neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas; y AML no clasificada de otra manera (por ejemplo, leucemia megacarioblástica aguda, leucemia basófila aguda).

La AML también se puede clasificar de acuerdo con la clasificación franco-estadounidense-británica (FAB), que abarca los subtipos: M0 (leucemia mieloblástica aguda, mínimamente diferenciada); M1 (leucemia mieloblástica aguda, sin maduración); M2 (leucemia mieloblástica aguda, con maduración granulocítica); M3 (leucemia promielocítica o promielocítica aguda (APL)); M4 (leucemia mielomonocítica aguda); M4eo (mielomonocítica junto con eosinofilia de médula ósea); M5 (leucemia monoblástica aguda (M5a) o leucemia monocítica aguda (M5b)); M6 (leucemias eritroides agudas, que incluye la eritroleucemia (M6a) y, muy raramente, leucemia eritroide pura (M6b)); o M7 (leucemia megacarioblástica aguda).

Tal como se usa en la presente descripción, "AML" se refiere a cualquiera de las condiciones abarcadas por las clasificaciones de la OMS y/o FAB, a menos que se especifique de cualquier otra manera. Se considera que

determinados subtipos de AML tienen un pronóstico más favorable, algunos de pronóstico intermedio y otros de pronóstico pobre o adverso. El experto sabe qué subtipos entrarían en qué categoría de riesgo.

El síndrome mielodisplásico (MDS) se caracteriza por displasia, citopenia y/o cambios anormales en la celularidad de la médula ósea y/o la diferenciación mieloide, por ejemplo, aumento de la infiltración de células blásticas. El MDS se puede clasificar y diagnosticar de acuerdo con la clasificación de la OMS de 2008. De acuerdo con la clasificación de la OMS, el MDS en general engloba los siguientes subtipos: MDS con displasia de linaje único (anteriormente denominada "citopenia refractaria con displasia de linaje único", que incluye anemia refractaria, neutropenia refractaria y trombocitopenia refractaria); MDS con sideroblastos en anillo, que incluye subgrupos con displasia de linaje único y displasia multilineaje (anteriormente denominada "anemia refractaria con sideroblastos en anillo"); MDS con displasia multilineaje (anteriormente denominada "citopenia refractaria con displasia multilineaje"); MDS con exceso de blastos (MDS-EB, anteriormente denominada "anemia refractaria con exceso de blastos"), que se puede subclassificar en MDS-EB-1 y MDS-EB-2 en base a los porcentajes de blastos; MDS con del(5q) aislado; y MDS, sin clasificar.

El MDS también se puede clasificar de acuerdo con la clasificación franco-estadounidense-británica (FAB), que abarca los subtipos: M9980/3 (anemia refractaria (RA)); M9982/3 (anemia refractaria con sideroblastos en anillo (RARS)); M9983/3 (anemia refractaria con exceso de blastos (RAEB)); M9984/3 (anemia refractaria con exceso de blastos en transformación (RAEB-T)); y M9945/3 (leucemia mielomonocítica crónica (CMML)).

Tal como se usa en la presente descripción, "MDS" se refiere a cualquiera de las condiciones abarcadas por las clasificaciones de la OMS y/o FAB, a menos que se especifique de cualquier otra manera. Tanto para la AML como para el MDS, en la presente descripción se prefiere la clasificación de la OMS.

Es particularmente conveniente tratar a pacientes con MDS de "alto riesgo", es decir, pacientes con MDS con un alto riesgo de evolucionar a AML y con un mal pronóstico de supervivencia. Se puede determinar si un paciente con MDS es un paciente de "alto riesgo" mediante el uso del Sistema Internacional Revisado de Puntuación de Pronóstico para MDS o IPSS-R (Greenberg y otros, Blood. 20 de septiembre de 2012; 120(12): 2454-2465). El IPSS-R tiene en cuenta el porcentaje de blastos en la médula ósea del paciente, las anomalías citogenéticas, el número y la extensión de las citopenias para colocar a un paciente en una categoría de pronóstico. Un paciente con una puntuación IPSS-R superior a 4,5 se considera un paciente con MDS de "alto riesgo".

La respuesta de un sujeto a la terapia de AML se puede caracterizar clínicamente de acuerdo con los criterios de la Tabla 1:

Tabla 1

Criterios de respuesta	Definición
Remisión completa (CR)*	Blastos en la médula ósea < 5 %; ausencia de blastos con varillas de Auer; ausencia de enfermedad extramedular; recuento absoluto de neutrófilos > 1,0 × 10 ⁹ /l (1000/μl); recuento de plaquetas > 100 × 10 ⁹ /l
Criterios de respuesta	(100 000/μl); independiente de las transfusiones de glóbulos rojos
CR con recuperación incompleta (CRi)	Todos los criterios de CR excepto neutropenia residual (< 1,0 × 10 ⁹ /l [1000/μl]) o trombocitopenia (< 100 × 10 ⁹ /l [100 000/μl])
Estado morfológico libre de leucemia (MLFS)	Blastos en la médula ósea < 5 %; ausencia de blastos con varillas de Auer; ausencia de enfermedad extramedular; no se requiere recuperación hematológica
Remisión parcial (PR)	todos los criterios hematológicos de CR; disminución del porcentaje de blastos en la médula ósea del 5 % al 25 %; y disminución del porcentaje de blastos en la médula ósea previo al tratamiento en al menos un 50 %

Tal como se usa en la presente descripción, se entiende que "dosis" significa una cantidad efectiva de un agente activo. La administración de una dosis a un sujeto es la administración de una cantidad efectiva de un agente activo particular por día. La "dosis" puede administrarse como una administración única o como administraciones múltiples por día, siempre que se administre al sujeto la cantidad efectiva indicada de la dosis. Por ejemplo, una dosis de 1 mg/kg se puede administrar como una administración diaria de 1 mg/kg, o dos administraciones por día, alcanzando las dos administraciones un total de 1 mg/kg.

Como se usan en la presente descripción, los términos "proteína CD70" o "antígeno CD70" o "CD70" o "TNFSF7" o "CD27L" se usan indistintamente y se refieren a un miembro de la familia de ligandos de TNF humano que es un ligando para TNFRSF27/CD27. Los ejemplos específicos de CD70 humano incluyen el polipéptido que tiene la

secuencia de aminoácidos que se muestra en el número de acceso a la secuencia de referencia del NCBI NP_001243, o su dominio extracelular.

5 Como se usa en la presente descripción, el término "anticuerpo" incluye una inmunoglobulina que tiene una combinación de dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras que tienen una actividad inmunorreactiva específica significativa para un antígeno de interés (por ejemplo, CD70 humano). El término "anticuerpos CD70" se usa en la presente descripción para referirse a anticuerpos que presentan especificidad inmunológica por la proteína CD70 humana. La "especificidad" para CD70 humano no excluye la reacción cruzada con especies homólogas de CD70. Los anticuerpos comprenden cadenas ligeras y pesadas, con o sin un enlace covalente entre cadenas entre ellas. 10 Un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo incluye fragmentos peptídicos que exhiben actividad inmunorreactiva específica frente al mismo antígeno que el anticuerpo (por ejemplo, CD70). Ejemplos de fragmentos de unión a antígeno incluyen: un dominio variable de cadena ligera (VL) de anticuerpo; un dominio variable de cadena pesada de anticuerpo; un fragmento variable de simple cadena o anticuerpo de simple cadena (scFv); un fragmento Fab; un fragmento F(ab')₂; un fragmento Fd; un fragmento Fv; un anticuerpo de un solo brazo (monovalente); diacuerpos; triacuerpos; tetracuerpos; o cualquier molécula de unión a antígeno formada por combinación, ensamblaje o conjugación de dichos fragmentos de unión a antígeno. Los fragmentos se pueden obtener, por ejemplo, mediante tratamiento químico o enzimático de un anticuerpo o cadena de anticuerpo intacta o completa, o mediante medios recombinantes.

20 Como se usa en la presente descripción, "inhibidores metabólicos de nucleósidos" (NMI) se refiere a moléculas que interfieren con la modificación epigenética (por ejemplo, metilación, desmetilación, acetilación o desacetilación) de nucleótidos (ADN y/o ARN). Ejemplos de inhibidores metabólicos de nucleósidos incluyen agentes hipometilantes (HMA), inhibidores de isocitrato deshidrogenasa (IDH), inhibidores de histona desacetilasa (HDAC) e inhibidores de bromodominio y extraterminales (BET). Los inhibidores metabólicos de nucleósidos preferidos son agentes 25 hipometilantes. Los agentes hipometilantes inhiben la metilación normal del ADN y/o ARN. Ejemplos de agentes hipometilantes son azacitidina, decitabina y guadecitabina.

30 Como se usa en la presente descripción, cuando se administran dos o más agentes activos como una "terapia combinada", esto no requiere ni excluye que los agentes activos se administren simultáneamente o se formulen en una única composición. A una terapia combinada se le da su interpretación convencional de dos o más agentes activos administrados de manera que el paciente pueda obtener un beneficio de cada agente. Para evitar dudas, la "terapia combinada" no requiere coadministración, administración simultánea o formulación de dosis fija.

35 Como se usa en la presente descripción, "quimioterapia intensiva estándar" se refiere a la denominada quimioterapia de inducción "7+3" caracterizada por 7 días de dosis altas de citarabina seguidos de 3 días de administración de antraciclina (por ejemplo, daunorrubicina o idarrubicina). La quimioterapia intensiva se administra con el objetivo de inducir la remisión completa de la AML, generalmente con la intención de que el paciente se someta a un trasplante de células madre después de una quimioterapia exitosa.

40 La quimioterapia intensiva estándar se asocia con una toxicidad y efectos secundarios importantes, lo que significa que no es adecuada para pacientes que no pueden tolerar estos efectos. Tal como se usa en la presente descripción, estos pacientes se denominan "no idóneos para quimioterapia intensiva estándar". Un paciente puede no ser idóneo para la quimioterapia intensiva estándar porque, por ejemplo, presenta una o más comorbilidades que indican que no toleraría la toxicidad, o los factores pronósticos que caracterizan su enfermedad indican un resultado 45 desfavorable de la quimioterapia intensiva estándar. La determinación de la elegibilidad de un paciente individual para la quimioterapia intensiva estándar la realizaría un médico teniendo en cuenta el historial médico y las directrices clínicas del paciente individual (por ejemplo, las directrices de la Red Nacional Integral del Cáncer (NCCN)). Los pacientes con AML mayores de 60 años a menudo se consideran no idóneos para la quimioterapia intensiva estándar, y se deben considerar otros factores, como la citogenética y/o las anomalías moleculares de la 50 AML que se está tratando.

Un paciente que no es idóneo para la quimioterapia intensiva estándar puede recibir quimioterapia de intensidad reducida, tal como citarabina en dosis bajas (LDAC). Los pacientes que no son idóneos para la quimioterapia intensiva estándar y para quienes la LDAC no es adecuada pueden recibir la mejor atención de apoyo (BSC), que incluye hidroxurea (HU) y soporte de transfusión.

55 Tal como se usan en la presente descripción, "sujeto" y "paciente" se usan indistintamente para referirse a un individuo humano.

60 Descripción detallada

Como se demuestra en la presente descripción, los pacientes que padecen neoplasias mieloides como AML y MDS pueden tratarse con un anticuerpo anti-CD70. Tras una única administración de anticuerpo anti-CD70, el número de células madre leucémicas capaces de aislarse de la médula ósea de los sujetos se redujo significativamente, al igual 65 que el número de células blásticas detectadas en la médula ósea y en la sangre periférica. Este resultado se observó incluso con dosis sorprendentemente bajas del anticuerpo.

La monoterapia con anticuerpos anti-CD70 y la terapia combinada de aCD70+NMI reducen las células blásticas de la médula ósea y la sangre periférica

5 Como se describe en la presente descripción, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, NMI o la combinación para su uso de acuerdo con las reivindicaciones reduce el número y/o proporción de células blásticas en la médula ósea y/o en la sangre periférica, preferentemente en ambos, la médula ósea y la sangre periférica.

10 La proporción de células blásticas en la médula ósea o en la sangre periférica se puede evaluar mediante métodos conocidos en la técnica y descritos en la presente descripción, por ejemplo, evaluación citométrica de flujo o morfológica celular de células obtenidas de una biopsia de médula ósea del sujeto, o un frotis de sangre periférica. La proporción de blastos se determina frente al total de células de la muestra. Por ejemplo, se puede usar la citometría de flujo para determinar la proporción de células blásticas mediante el uso del número de células CD45^{dim},
 15 SSC^{low} en relación con el número total de células. A modo de ejemplo adicional, se puede usar la evaluación morfológica celular para determinar el número de blastos identificados morfológicamente con respecto al número total de células en el campo de visión que se examina.

20 En determinadas modalidades, la proporción de células blásticas en la médula ósea se reduce al menos 5 % en términos absolutos, es decir, reduciendo el porcentaje de células blásticas en la médula ósea del 30 % al 25 % o menos, por ejemplo. En determinadas modalidades, el tratamiento se puede caracterizar por reducir la proporción de células blásticas en la médula ósea en al menos 10 % en términos absolutos, preferentemente al menos 15 %, preferentemente al menos 20 %, preferentemente al menos 25 %, preferentemente al menos 30 %, preferentemente al menos 40 %, preferentemente al menos 50 %, preferentemente al menos 55 %, preferentemente al menos 60 %
 25 en términos absolutos. En determinadas modalidades, la proporción de células blásticas en la médula ósea se reduce al menos 50 % en comparación con antes del tratamiento.

30 En determinadas modalidades, la proporción de blastos de médula ósea se mide mediante evaluación morfológica celular. En determinadas modalidades, la proporción de blastos de médula ósea se mide mediante evaluación por citometría de flujo. En determinadas modalidades, la proporción de blastos de médula ósea se mide de acuerdo con la evaluación de enfermedad residual mínima (MRD).

35 En determinadas modalidades, la proporción de células blásticas en la sangre periférica se reduce al menos 5 % en términos absolutos, es decir, reduciendo el porcentaje de células blásticas en la sangre periférica del 30 % al 25 % o menos, por ejemplo. En determinadas modalidades, la proporción de células blásticas en la sangre periférica se reduce en al menos 5 % en términos absolutos, opcionalmente al menos 10 % en términos absolutos, preferentemente al menos 15 %, preferentemente al menos 20 %, preferentemente al menos 25 % en términos absolutos. En determinadas modalidades, la proporción de blastos de sangre periférica (PB) se mide mediante evaluación morfológica celular. En determinadas modalidades, la proporción de blastos de PB se mide mediante
 40 evaluación por citometría de flujo. En determinadas modalidades, la proporción de blastos de PB se mide de acuerdo con la evaluación de enfermedad residual mínima (MRD).

45 En determinadas modalidades, la proporción de células blásticas en la médula ósea se reduce a menos del 40 %, opcionalmente a menos del 20 %, por ejemplo, a menos del 10 %. En determinadas modalidades, la proporción de células blásticas en la médula ósea se reduce a menos del 5 %.

50 En determinadas modalidades, la proporción de células blásticas en la sangre periférica se reduce a menos del 40 %, opcionalmente a menos del 20 %, por ejemplo, a menos del 10 %. En determinadas modalidades, la proporción de células blásticas en la sangre periférica se reduce a menos del 5 %.

55 En determinadas modalidades, el sujeto tiene un porcentaje de blastos en la médula ósea de al menos 20 %, opcionalmente al menos 40 %, opcionalmente al menos 60 %, opcionalmente al menos 70 %, antes del tratamiento.

60 En determinadas modalidades, el sujeto tiene un porcentaje de blastos en sangre periférica de al menos 5 % antes del tratamiento, opcionalmente de al menos 8 %, opcionalmente de al menos 10 %, opcionalmente de al menos 15 %, opcionalmente de al menos 20 %, opcionalmente de al menos 30 %, opcionalmente de al menos 40 %, opcionalmente de al menos 50 %, opcionalmente al menos 60 % antes del tratamiento.

65 Para la determinación clínica del porcentaje de células blásticas, normalmente se prefiere la evaluación morfológica celular (también conocida como citomorfología).

La monoterapia con anticuerpos anti-CD70 y la terapia combinada aCD70+NMI reducen el nivel de células madre leucémicas y promueven la diferenciación

Un subconjunto importante de blastos en la AML son las células madre leucémicas (LSC). Las LSC son células madre cancerosas capaces de iniciar una enfermedad leucémica. Las LSC pueden autorrenovarse dando lugar a leucemia y también diferenciarse parcialmente en células blásticas convencionales no LSC que se asemejan a la

enfermedad original pero que no pueden autorrenovarse. Las LSC pueden caracterizarse como células que son CD34+, CD38-, opcionalmente también CD45- y/o CD123+. Las LSC también pueden caracterizarse como células CD45dim, SSClo, lin-CD90+CD34+. Reducir la cantidad de LSC en un paciente con AML debería mejorar en gran medida las perspectivas de remisión y reducir el potencial de recaída.

5 Como se demuestra en la presente descripción, los tratamientos de monoterapia y combinación de acuerdo con la invención reducen la proporción de LSC en un paciente al menos 2 veces y en algunos casos en una medida mucho mayor. Por lo tanto, se espera que el tratamiento de acuerdo con la invención no sólo reduzca el porcentaje global de blastos en un paciente, sino que también reduzca la probabilidad de una recaída posterior de la enfermedad.

10 Por lo tanto, en determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, NMI o la combinación para su uso de acuerdo con las reivindicaciones reduce el número de LSC como proporción de células mononucleares (también denominado reducción en la frecuencia de LSC). En determinadas modalidades, la frecuencia de LSC se reduce al menos en un factor de 2.

15 En determinadas modalidades, la evaluación de la proporción de LSC en la médula ósea se puede determinar mediante diluciones en serie en placas, por ejemplo, de metilcelulosa.

20 Los tratamientos de monoterapia y combinados también promueven la diferenciación de LSC en células mieloides. La promoción de dicha diferenciación reduce las poblaciones de LSC capaces de autorrenovarse, aumentando así la perspectiva de remisión y reduciendo el riesgo de recaída.

25 La diferenciación mieloides de las LSC se caracteriza por una división celular asimétrica, en contraste con la división celular simétrica que da como resultado dos células madre hijas. La división asimétrica se puede evaluar mediante técnicas de microscopía o midiendo marcadores de determinación del destino celular, tal como la proteína Numb. Como se demuestra en la presente descripción, las LSC de pacientes que han recibido monoterapia con anticuerpos anti-CD70 exhiben una mayor expresión de Numb (y por lo tanto una mayor diferenciación) en comparación con antes del tratamiento. La expresión de Numb (y por lo tanto la diferenciación) aumenta además cuando los pacientes se tratan con anticuerpo anti-CD70 en combinación con un NMI. Estos datos representan la primera demostración clínica de un anticuerpo anti-CD70 que aumenta la diferenciación de las LSC in vivo y, por lo tanto, aumentan los datos in vitro informados en Riether y otros, J. Exp. Med. Febrero de 2017;214(2):359-380.

35 En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, NMI o la combinación para su uso de acuerdo con las reivindicaciones promueve la diferenciación de células madre leucémicas. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, NMI o la combinación para su uso de acuerdo con las reivindicaciones promueve la división asimétrica de células madre leucémicas. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, NMI o la combinación para su uso de acuerdo con las reivindicaciones promueve la expresión de Numb en células madre leucémicas.

40 La AML se trata efectivamente incluso con dosis bajas de anticuerpo anti-CD70

45 Los datos del ensayo clínico presentado en la presente descripción demuestran que los porcentajes de células blásticas se redujeron en pacientes tratados con anticuerpos CD70 incluso con la dosis más baja. La intención de administrar los anticuerpos a los pacientes en esta dosis era simplemente para confirmar la seguridad del tratamiento con anticuerpos e identificar la toxicidad limitante de la dosis (DLT). Por lo tanto, fue muy sorprendente que incluso después de una única administración de la dosis más baja de anticuerpo, los porcentajes de células blásticas se redujeran considerablemente.

50 Por lo tanto, los datos presentados en la presente descripción demuestran que la AML o MDS se pueden tratar con todas las dosis probadas de anticuerpo anti-CD70, que incluye dosis inesperadamente bajas.

55 Por lo tanto, en determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra a una dosis en el intervalo de 0,1 mg/kg a 25 mg/kg por dosis, por ejemplo en el intervalo de 0,1 mg/kg a 20 mg/kg. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra a una dosis en el intervalo de 1 mg/kg a 20 mg/kg por dosis. Los intervalos que se describen en la presente descripción incluyen los puntos finales del intervalo a menos que se indique de cualquier otra manera; por ejemplo, la administración a una dosis en el intervalo de 0,1-25 mg/kg incluye la administración a una dosis de 0,1 mg/kg y la administración a una dosis de 25 mg/kg, así como también todas las dosis entre los dos puntos finales).

60 En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra a una dosis en el intervalo de 0,1-15 mg/kg. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra a una dosis en el intervalo de 0,5-2 mg/kg. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra a una dosis de 1 mg/kg, 3 mg/kg, 10 mg/kg o 20 mg/kg. En determinadas modalidades preferidas, el anticuerpo anti-CD70 o

fragmento de unión a antígeno del mismo se administra a una dosis de 1 mg/kg. En determinadas modalidades preferidas, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra a una dosis de 10 mg/kg.

5 En determinadas modalidades, se administran múltiples dosis del anticuerpo CD70 o fragmento de unión al antígeno. En determinadas modalidades de este tipo, cada dosis del anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo se separa por 10-20 días, opcionalmente 12-18 días. En determinadas modalidades, cada dosis de anticuerpo anti-CD70 se separa por 14-17 días.

10 En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, NMI o la combinación para su uso de acuerdo con las reivindicaciones da como resultado al menos una remisión parcial. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno, NMI o la combinación para su uso de acuerdo con las reivindicaciones da como resultado que el paciente muestre un estado morfológico libre de leucemia. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, NMI o la combinación para su uso de acuerdo con las reivindicaciones da como resultado al menos una remisión completa con recuperación incompleta (CRi). En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, NMI o la combinación para su uso de acuerdo con las reivindicaciones da como resultado al menos una remisión completa.

20 El anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, NMI y la combinación para su uso de acuerdo con las reivindicaciones son, por lo tanto, capaces de tratar la AML o MDS reduciendo el número de células blásticas (que incluye las células madre leucémicas) en la médula ósea y en la sangre periférica. El anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, NMI y la combinación para su uso de acuerdo con las reivindicaciones también son particularmente efectivas para reducir específicamente el nivel de LSC.

25 Características del paciente

30 El anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, NMI y la combinación para uso de acuerdo con las reivindicaciones son particularmente ventajosos ya que proporcionan un medio efectivo para inducir la remisión (parcial o completa) de la AML sin la toxicidad y morbilidad significativas asociadas con la quimioterapia intensiva estándar. Proporcionar una terapia sin estos efectos secundarios es una ventaja significativa de la invención.

35 Reducir los efectos secundarios de la terapia de AML es claramente conveniente para el tratamiento de pacientes con AML en general. Además, es particularmente ventajoso para pacientes que normalmente no podrían recibir tratamientos más potentes para la AML. Existe la necesidad de una terapia efectiva para pacientes no idóneos para quimioterapia intensiva estándar debido a las comorbilidades del paciente, por ejemplo, que tengan 60 años o más. Si bien se encuentran disponibles terapias alternativas para estos pacientes (por ejemplo, citarabina en dosis bajas (LDAC)), proporcionan una probabilidad reducida de lograr la remisión y todavía se asocian con efectos secundarios importantes. Por el contrario, el tratamiento de acuerdo con la invención proporciona una terapia efectiva para la

40 AML que puede ser tolerada por pacientes que no serían capaces de tolerar la toxicidad de la quimioterapia intensiva estándar.

45 Por lo tanto, en determinadas modalidades de la invención, el sujeto no es idóneo para recibir quimioterapia intensiva estándar antes del tratamiento. En determinadas modalidades de este tipo, el sujeto tiene al menos 60 años, opcionalmente al menos 70 años.

50 Una terapia convencional adicional para la AML es el trasplante de células madre hematopoyéticas (HSCT), mediante el uso tanto de células madre alogénicas o autólogas. Los pacientes que no son idóneos para recibir quimioterapia intensiva estándar generalmente no pueden recibir HSCT. Esto se debe a que las perspectivas de un trasplante exitoso se reducen en pacientes que reciben sólo dosis bajas de quimioterapia, ya que no pueden recibir la quimioterapia intensiva estándar destinada a extirpar los blastos de la médula ósea en preparación para recibir el trasplante. Si bien el HSCT se puede realizar mediante el uso de quimioterapia de intensidad reducida, las perspectivas de éxito son menores debido a la mayor probabilidad de que queden blastos residuales en la médula ósea.

55 La idoneidad de un paciente individual para el HSCT dependerá de la evaluación del caso por un médico, teniendo en cuenta la perspectiva de que el trasplante sea exitoso y otros factores tales como las opciones de tratamiento restantes y la calidad de vida. Un factor ilustrativo pero significativo a considerar es el porcentaje de blastos en la médula ósea que presenta el paciente.

60 Como se demuestra en la presente descripción, el tratamiento de acuerdo con la invención es capaz de reducir significativamente el porcentaje de blastos en la médula ósea. Al proporcionar un medio para reducir el porcentaje de blastos en la médula ósea en pacientes que no son idóneos para la quimioterapia intensiva estándar, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión al antígeno del mismo, NMI y la combinación para su uso de acuerdo con las reivindicaciones abren la perspectiva de un HSCT exitoso en una población de pacientes para quienes no se recomendó previamente el HSCT.

Por lo tanto, en determinadas modalidades de todos los aspectos de la invención, el sujeto no es idóneo para quimioterapia intensiva estándar antes del tratamiento y el tratamiento reduce el porcentaje de blastos de la médula ósea de modo que el sujeto es idóneo para HSCT. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, NMI o la combinación para su uso de acuerdo con las reivindicaciones es para su uso en un método que comprende además realizar un trasplante de células madre hematopoyéticas en el sujeto.

Se espera que el tratamiento de acuerdo con la invención sea particularmente efectivo en el tratamiento de pacientes con niveles anormalmente altos de CD27 soluble en suero.

Sin desear limitarnos a ninguna teoría, se cree que esto se debe a que la unión de CD27-CD70 da como resultado la liberación de CD27 soluble (sCD27) mediante desprendimiento. Por lo tanto, el CD27 soluble puede servir como biomarcador del alcance de las interacciones CD70/CD27 (Riether y otros, J. Exp. Med. Febrero de 2017; 214(2):359-380). En particular, se cree que sCD27 se correlaciona con el porcentaje de células blásticas en la médula ósea, así como también de servir como marcador de la gravedad de los blastos de un paciente, con un aumento de sCD27 que indica mayores niveles de estado indiferenciado (Riether y otros, J. Exp. Med. Febrero de 2017; 214(2):359-380).

Se cree que la señalización mediada por CD70/CD27 promueve divisiones celulares aberrantes y los niveles altos de sCD27 en suero se correlacionan con un mal pronóstico de los pacientes con AML. El uso de un anticuerpo anti-CD70 de acuerdo con la invención reduce el porcentaje de células blásticas en la médula ósea (ver Ejemplos) y bloquea las interacciones CD27/CD70, disminuyendo así los niveles de estado indiferenciado blástico y promoviendo la diferenciación. En consecuencia, se espera que los pacientes con AML que presentan sCD27 elevado obtengan un beneficio particular del tratamiento con anticuerpo anti-CD70 de acuerdo con la invención.

Las muestras de individuos sanos seleccionados muestran niveles de sCD27 en suero de entre 10 y 200 U/ml, y los pacientes con AML muestran niveles elevados de sCD27 en suero (Riether y otros, J. Exp. Med. Febrero de 2017; 214(2):359-380). Por lo tanto, en determinadas modalidades de la invención, el paciente a tratar tiene una concentración sérica de sCD27 mayor que 200 U/ml. También se ha determinado que, para todos los pacientes con AML de todas las edades y categorías de riesgo de subtipo de AML (es decir, entre pacientes con clasificaciones citogenéticas favorable, intermedio y de alto riesgo/adverso), aquellos con un nivel sérico de sCD27 mayor que un umbral de 577 U/ml tienen peor pronóstico que aquellos pacientes con niveles de sCD27 menores que este umbral. Por lo tanto, en determinadas modalidades, el paciente a tratar tiene una concentración sérica de sCD27 mayor que 577 U/ml.

Cuando se analizaron los niveles séricos de sCD27 dentro de las categorías de riesgo del subtipo de AML, se identificó que los pacientes con AML de un subtipo favorable que tienen un nivel sérico de sCD27 mayor que un umbral de 470 U/ml tienen un peor pronóstico que los pacientes con AML de un subtipo favorable y con niveles de sCD27 menores que este umbral. Por lo tanto, en determinadas modalidades, el paciente a tratar tiene un subtipo de AML favorable o de bajo riesgo y tiene una concentración sérica de sCD27 mayor que 470 U/ml.

Para los pacientes con AML de un subtipo de riesgo intermedio, aquellos que tienen un nivel sérico de sCD27 mayor que un umbral de 586 U/ml tienen un peor pronóstico que los pacientes con AML de un subtipo intermedio y con niveles de sCD27 menores que este umbral. Por lo tanto, en determinadas modalidades, el paciente a tratar tiene un subtipo de AML de riesgo intermedio y tiene una concentración sérica de sCD27 mayor que 586 U/ml.

Para los pacientes con AML de un subtipo de alto riesgo, aquellos que tienen un nivel sérico de sCD27 mayor que un umbral de 714 U/ml tienen un peor pronóstico que los pacientes con AML de un subtipo de alto riesgo y con niveles de sCD27 menores que este umbral. Por lo tanto, en determinadas modalidades, el paciente a tratar tiene un subtipo de AML de alto riesgo y tiene una concentración sérica de sCD27 mayor que 714 U/ml.

Será evidente que a un paciente a tratar de acuerdo con la invención se le puede haber determinado previamente que su concentración sérica de sCD27 está por encima o por debajo de cualquiera de los umbrales descritos. Sin embargo, en ciertas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno, NMI o la combinación para su uso de acuerdo con las reivindicaciones es para su uso en un método que comprende además la etapa de medir la concentración de CD27 en suero del paciente.

Como ya se describió en la presente descripción, la administración de un anticuerpo anti-CD70 de acuerdo con la invención reduce el número de blastos de la médula ósea y puede bloquear la interacción de CD27 y CD70.

La reducción de células blásticas junto con la inhibición de la interacción CD27/CD70 reduce significativamente los niveles de eliminación de sCD27, como se demuestra en los Ejemplos.

En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, NMI o la combinación para su uso de acuerdo con las reivindicaciones reduce la sCD27 sérica en comparación con antes del tratamiento. En determinadas modalidades, la sCD27 sérica se reduce en al menos 200 pg/ml, opcionalmente al

menos 500 pg/ml. En determinadas modalidades, la CD27 sérica se reduce en al menos 1000 pg/ml, al menos 1500 pg/ml o al menos 10 000 pg/ml en comparación con antes del tratamiento.

Se demuestra además en los Ejemplos de la presente descripción que los niveles de sCD27 podrían usarse como un correlato de la participación del anticuerpo anti-CD70 de su antígeno diana. Los niveles de CD27 soluble pueden disminuir en respuesta a la administración del anticuerpo CD70 y luego aumentar cuando se suspende la terapia. En consecuencia, en algunas modalidades el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, NMI o la combinación para su uso de acuerdo con las reivindicaciones es para su uso en métodos que comprenden además monitorear la eficacia del tratamiento mediante la detección de sCD27 en suero.

La administración de un anticuerpo anti-CD70 de acuerdo con la invención no sólo reduce el porcentaje de blastos, sino que reduce preferentemente el número de células blásticas que expresan CD70 (blastos CD70+). Se entiende que las células blásticas aberrantes de AML sobreexpresan CD70 en relación con las células progenitoras sanas. Dirigirse a las células blásticas que expresan CD70 reduce así el número de blastos patógenos, pero con un efecto insignificante sobre las células progenitoras sanas, reduciendo así el riesgo de que el paciente desarrolle citopenias.

En determinadas modalidades de la invención, se reduce el porcentaje de blastos CD70+. En determinadas modalidades, el porcentaje de blastos CD70+ se reduce al menos 5 %, opcionalmente al menos 10 % en términos absolutos. En determinadas modalidades, el porcentaje de células CD70+ se reduce a menos del 20 %, opcionalmente a menos del 10 %. En determinadas modalidades, el porcentaje de células blásticas CD70+ se reduce a menos del 5 %. El porcentaje de blastos CD70+ puede reducirse en la cantidad indicada en la médula ósea y/o en la sangre periférica.

Con respecto al tratamiento de MDS, es particularmente conveniente tratar a pacientes con MDS de "alto riesgo", es decir, pacientes con MDS con un mal pronóstico de supervivencia, una progresión más rápida de la enfermedad y una mayor probabilidad de progresar a AML. Por lo tanto, en determinadas modalidades, el paciente es un paciente con MDS de "alto riesgo". En determinadas modalidades, el paciente tiene una puntuación IPSS-R mayor que 4,5.

Terapia con anticuerpos anti-CD70 en combinación con un inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI)

Como ya se describe en la presente descripción, la monoterapia con anticuerpo anti-CD70 proporciona un tratamiento efectivo para la AML o el MDS, lo que da como resultado una reducción significativa del porcentaje de células blásticas. Además de proporcionar una monoterapia efectiva, los datos de la presente descripción demuestran una eficacia terapéutica adicional de los anticuerpos anti-CD70 cuando se administran como parte de una terapia combinada con un inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI), por ejemplo, un agente hipometilante (HMA) tal como la azacitidina (también denominado en la presente descripción azacitidina, AZA o aza) o decitabina.

Por tanto, en un aspecto la invención proporciona un anticuerpo anti-CD70 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en un método para tratar la leucemia mieloide aguda (AML) o el síndrome mielodisplásico (MDS) en un sujeto, el método comprende: administrar al sujeto una o más dosis de un anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo y administrar al sujeto un inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI) seleccionado de azacitidina y decitabina, en donde el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe la unión CD70-CD27.

En un aspecto adicional, se proporciona un inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI) seleccionado de azacitidina y decitabina para su uso en un método para tratar la leucemia mieloide aguda (AML) o el síndrome mielodisplásico (MDS) en un sujeto, el método comprende: administrar al sujeto el inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI), y administrar al sujeto una o más dosis de un anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe la unión de CD70-CD27.

En un aspecto adicional, se proporciona una combinación que comprende un anticuerpo anti-CD70 o un fragmento de unión a antígeno del mismo y un inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI) seleccionado de azacitidina y decitabina para su uso en un método para tratar la leucemia mieloide aguda (AML) o el síndrome mielodisplásico (MDS) en un sujeto, el método comprende: administrar al sujeto una o más dosis del anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, y administrar al sujeto el inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI), en donde el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe la unión de CD70-CD27.

Las siguientes modalidades son aplicables a todos los aspectos de la invención proporcionada en la presente descripción a menos que se especifique de cualquier otra manera.

La azacitidina es un análogo de la citidina y la decitabina es su derivado desoxi. La AZA y la decitabina son inhibidores de las ADN metiltransferasas (DNMT) que se sabe que regulan positivamente la expresión genética mediante la hipometilación del promotor. Esta hipometilación altera la función celular, lo que da como resultado efectos citotóxicos.

Sin desear limitarse a ninguna teoría, se cree que el efecto terapéutico que surge del tratamiento con un anticuerpo

CD70 y un inhibidor metabólico de nucleósidos tal como AZA se debe a un efecto potenciado al combinar los dos agentes activos. Como ya se describió, el anticuerpo anti-CD70 por sí solo agota la médula ósea y los blastos circulantes (es decir, los de la médula ósea, la sangre periférica o ambos), y un inhibidor metabólico de nucleósidos (tal como la AZA) por sí solo altera la actividad celular.

5 Además, la regulación positiva de CD70 en la superficie de los blastos de AML y las LSC se induce mediante el tratamiento con un inhibidor metabólico de nucleósidos (azacitidina o decitabina) (ver Ejemplos y Figura 1). Este efecto de regulación positiva del antígeno se correlaciona con un aumento en la eficacia del anticuerpo anti-CD70 cuando se usa en combinación con un inhibidor metabólico de nucleósidos tal como azacitidina, como se demuestra en los Ejemplos adjuntos. Esto da como resultado que el número de células blásticas se reduzca aún más que después de la administración de cualquiera de los agentes activos solos y podría explicar la sorprendente eficacia del tratamiento combinado cuando el anticuerpo anti-CD70 se administra en una dosis baja.

15 En todos los aspectos de la invención, el inhibidor metabólico de nucleósidos es azacitidina o decitabina. En determinadas modalidades preferidas, el inhibidor metabólico de nucleósidos es azacitidina.

20 En determinadas modalidades, el inhibidor metabólico de nucleósidos (por ejemplo, azacitidina) se administra a una dosis en el intervalo de 50-100 mg/m² por día. Como ya se señaló, los intervalos descritos en la presente descripción incluyen los puntos finales del intervalo a menos que se indique de cualquier otra manera; por ejemplo, la administración a una dosis en el intervalo de 50-100 mg/m² por día incluye la administración a una dosis de 50 mg/m² por día y la administración a una dosis de 100 mg/m² por día, así como también todas las dosis entre los dos puntos finales. En determinadas modalidades, el inhibidor metabólico de nucleósidos se administra a una dosis en el intervalo de 70-80 mg/m² por día. En determinadas modalidades preferidas, el inhibidor metabólico de nucleósidos se administra a una dosis de 75 mg/m² por día.

25 En determinadas modalidades, el inhibidor metabólico de nucleósidos se administra durante un período de dosificación de una dosis diaria durante 5-9 días. Es decir, se administra una dosis del inhibidor de nucleósidos todos los días durante un período de 5, 6, 7, 8 o 9 días de duración. En determinadas modalidades preferidas, el inhibidor metabólico de nucleósidos se administra durante un período de dosificación de una dosis diaria durante 7 días.

30 En determinadas modalidades, el inhibidor metabólico de nucleósidos se administra de acuerdo con un régimen de dosificación de períodos de dosificación repetidos, en donde el final de un período de dosificación y el inicio del siguiente período de dosificación están separados por 18-25 días. Es decir, el régimen de dosificación incluye al menos 2 períodos de dosificación en los que se administra una dosis del inhibidor de nucleósidos todos los días (por ejemplo, durante un período de 5, 6, 7, 8 o 9 días de duración), en donde el final de un período de dosificación y el inicio del siguiente período de dosificación están separados por 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 o 25 días. En determinadas modalidades, el final de un período de dosificación y el inicio del siguiente período de dosificación están separados por 21 días.

35 En determinadas modalidades, cada período de dosificación tiene la misma duración (por ejemplo, 7 días). En determinadas modalidades, el final de cada período de dosificación y el inicio del siguiente período de dosificación están separados por el mismo número de días (por ejemplo, 21 días).

40 En determinadas modalidades, la primera dosis del inhibidor metabólico de nucleósidos se administra 7-21 días después de la primera dosis de anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo. En determinadas modalidades la primera dosis del inhibidor metabólico de nucleósidos se administra 10-17 días después de la primera dosis del anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión al antígeno del mismo. En determinadas modalidades, la primera dosis del inhibidor metabólico de nucleósidos se administra 14 días después de la primera dosis de anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo.

45 En determinadas modalidades, una de las dosis diarias del inhibidor metabólico de nucleósidos se administra el mismo día que una dosis del anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo. Es decir, en modalidades de los métodos de la invención en las que al sujeto se le administra tanto un anticuerpo anti-CD70 (o un fragmento de unión a antígeno del mismo) y un inhibidor metabólico de nucleósidos, los regímenes de dosificación tanto del anticuerpo anti-CD70 como del inhibidor metabólico de nucleósidos son tales que al menos una de las dosis programadas del anticuerpo anti-CD70 es el mismo día que una de las dosis diarias programadas del inhibidor metabólico de nucleósidos. Ese día podría ser el primer, segundo, tercer, cuarto, quinto, sexto o séptimo día del período de dosificación del inhibidor metabólico de nucleósidos.

50 En determinadas modalidades, se administra una dosis del anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo cada 14-17 días y el inhibidor metabólico de nucleósidos se administra de acuerdo con un régimen de dosificación de períodos de dosificación repetidos de una dosis diaria durante 7 días, en donde el final de un período de dosificación y el comienzo del siguiente período de dosificación están separados por 21 días, y en donde la primera dosis diaria del primer período de dosificación se administra 14 días después de la primera dosis del anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión al antígeno del mismo.

Una ventaja adicional de la invención es que después de un período inicial de terapia combinada, la administración de NMI (por ejemplo, aza) puede reducirse o detenerse. Por ejemplo, como se demuestra en la presente descripción, un período inicial de terapia combinada con anticuerpo CD70 y NMI puede reducir significativamente el porcentaje de blastos del paciente. Sin embargo, existe la posibilidad de que se produzca toxicidad acumulada derivada de períodos prolongados de tratamiento con NMI, por ejemplo, citopenias que surgen del efecto de NMI en tipos de células no blásticas. Al reducir o suspender la dosis de NMI después de un período inicial, se reducirá el riesgo de dicha toxicidad y los tipos de células no blásticas podrán recuperarse. Sin embargo, el porcentaje de blastos seguirá controlándose manteniendo la dosis de anticuerpo anti-CD70. En otras palabras, el paciente puede ser tratado con una terapia de inducción del tratamiento combinado ya descrito y luego puede pasarse a una terapia de mantenimiento que comprende terapia anti-CD70 con dosis decrecientes de NMI o simplemente anticuerpo CD70 como monoterapia.

Por lo tanto, en determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, NMI o la combinación para uso de acuerdo con las reivindicaciones es para uso en un método que comprende administrar al paciente el anticuerpo anti-CD70 y el NMI como una terapia de combinación de acuerdo con cualquiera de las modalidades descritas anteriormente en una primera etapa (terapia de inducción), y en una segunda etapa posterior administrar al paciente el anticuerpo anti-CD70 y administrar una dosis de NMI menor que la dosis de NMI administrada en la primera etapa (terapia de mantenimiento). La dosis de NMI en la segunda etapa puede ser cero, es decir, la segunda etapa puede implicar la administración únicamente del anticuerpo anti-CD70.

En tales modalidades, la dosis de anticuerpo CD70 administrada en la segunda etapa (es decir, terapia de mantenimiento) es cualquier dosis de acuerdo con las modalidades ya descritas. Es decir, en determinadas modalidades la dosis está en el intervalo de 0,1 mg/kg a 25 mg/kg, por ejemplo, de 0,1 mg/kg a 20 mg/kg, por ejemplo, de 1 mg/kg a 20 mg/kg. En determinadas modalidades, la dosis está en el intervalo de 0,1 mg/kg a 15 mg/kg por dosis. En determinadas modalidades, la dosis está en el intervalo de 0,5 mg/kg a 2 mg/kg. En determinadas modalidades, la dosis es 1 mg/kg, 3 mg/kg, 10 mg/kg o 20 mg/kg. En determinadas modalidades, la dosis es 1 mg/kg. En determinadas modalidades, la dosis es 10 mg/kg.

La duración de la primera etapa (es decir, la terapia de inducción), el momento de la transición a la segunda etapa (es decir, la terapia de mantenimiento) y el grado en que la dosis de NMI se reduce gradualmente o se suspende por completo son factores que se adaptarán a cada paciente individual y determinado por su médico de acuerdo con la respuesta individual del paciente a la terapia y su historial médico. Por lo tanto, las siguientes modalidades se proporcionan a modo de ejemplo no limitante.

En determinadas modalidades, la terapia de inducción se administra al paciente hasta que su porcentaje de blastos en la médula ósea y/o en la sangre periférica sea menor que 10 %, opcionalmente menor que 5 %. En determinadas modalidades, la terapia de inducción se administra durante al menos 5 períodos de dosificación de NMI, opcionalmente al menos 6, 7, 8, 9 o al menos 10 períodos de dosificación de NMI.

En determinadas modalidades, la dosis de NMI en el período de mantenimiento no es mayor que 50 mg/m² por día, opcionalmente no mayor que 40 mg/m² por día, opcionalmente no mayor que 30 mg/m² por día, opcionalmente no mayor que 20 mg/m² por día.

Composiciones farmacéuticas

En todos los aspectos de la invención, el anticuerpo anti-CD70 puede estar en una composición farmacéutica que comprende un excipiente o portador farmacéuticamente aceptable. Los portadores y excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados resultarán familiares para el experto. Ejemplos de portadores y excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados para su inclusión en las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen citrato de sodio, glicina, polisorbato (por ejemplo, polisorbato 80) y solución salina.

El anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno se puede formular para administración por la misma vía o por una vía diferente en comparación con el inhibidor metabólico de nucleósidos.

En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 se administra al sujeto por vía parenteral, preferentemente por vía intravenosa (i.v.). En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 se administra como una infusión i.v. continua hasta que se alcanza la dosis deseada.

En determinadas modalidades, el inhibidor metabólico de nucleósidos se administra por vía parenteral, preferentemente por vía subcutánea (s.c.).

Terapias combinadas

En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, NMI o la combinación para su uso de acuerdo con las reivindicaciones se administra como una terapia de combinación con uno o más agentes activos adicionales, tales como agentes terapéuticos o paliativos (por ejemplo, radioterapia,

analgésicos o antibióticos). Tales agentes activos pueden administrarse como terapéuticos, para mejorar la respuesta del paciente a la terapia y/o su calidad de vida.

5 Sorprendentemente, se ha demostrado que el tratamiento de la AML o MDS con un anticuerpo anti-CD70 (tal como monoterapia o como terapia combinada con un NMI tal como aza) es particularmente efectivo para reducir los blastos en la médula ósea y la sangre periférica. Una ventaja particular es que los anticuerpos CD70 son selectivos para blastos sobre otros tipos de células (ya que CD70 tiene una expresión mínima en tejidos normales) y pueden inducir la diferenciación de células madre/reducir su estado indiferenciado (por ejemplo, interfiriendo con la señalización mediada por CD27/CD70).

10 Estos efectos sobre los blastos y las células madre leucémicas indican que el tratamiento de acuerdo con la invención se combinará ventajosamente con agentes que también se dirijan a los blastos y las LSC. CD33 es un receptor que se expresa en la mayoría de los blastos mieloides y LSC, pero está ausente o presente solo en niveles bajos en las células madre hematopoyéticas normales. Mientras que CD33 se expresa en una variedad de otros tipos de células menos asociadas con la AML, CD33 se expresa en la mayoría de las células de AML y el nivel de CD33 parece correlacionarse con el pronóstico de la enfermedad. Se ha descrito que los anticuerpos contra CD33, tales como el anticuerpo biespecífico AMG330 y el conjugado de fármaco-anticuerpo (ADC), vadastuximab talirina, tratan efectivamente la AML y vadastuximab talirina (también conocido como SGN-CD33A de Seattle Genetics) se está probando en ensayos de fase III. Por lo tanto, se espera que los anticuerpos anti-CD33 se combinen con un anticuerpo anti-CD70 y azacitidina o decitabina para proporcionar una terapia particularmente efectiva para la AML. Por lo tanto, en determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, NMI o la combinación para su uso de acuerdo con las reivindicaciones es para su uso en un método que comprende además la administración de un agente anti-CD33, por ejemplo, un anticuerpo anti-CD33, al paciente como parte de una terapia combinada.

25 CD123 es otro receptor asociado con blastos mieloides y LSC, pero con un bajo nivel de expresión en otros tipos de células, tales como las células madre hematopoyéticas sanas y los linfocitos. Las células de AML con alta expresión de CD123 exhiben una mayor proliferación y una mayor expresión de CD123 entre los blastos de AML y se asocia con tasas de remisión completa más bajas y una supervivencia general más pobre. Por lo tanto, los agentes dirigidos a CD123 representan otra combinación adecuada para su uso con el tratamiento de acuerdo con la presente invención. Los agentes anti-CD123 adecuados para su uso en el tratamiento de la AML incluyen ligando natural unido a toxina (por ejemplo, DT₃₈₈L3) y anticuerpos tales como CSL360, CSL362 y MGD006 (un anticuerpo modificado (DART)). Por lo tanto, en determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, NMI o la combinación para su uso de acuerdo con las reivindicaciones es para su uso en un método que comprende además la administración de un agente anti-CD123, por ejemplo, un anticuerpo anti-CD123, al paciente como parte de una terapia combinada.

40 El tratamiento de la AML con un anticuerpo anti-CD70 junto con azacitidina o decitabina puede combinarse además ventajosamente en una terapia combinada con otros agentes terapéuticos de la AML, por ejemplo, inhibidores de la selectina E, inhibidores del receptor de tirosina quinasa 3 similar a FMS (FLT3), inhibidores de quinasa dependientes de ciclina, inhibidores de BCL-2, inhibidores de aminopeptidasa e inhibidores de JAK/STAT.

45 Como ya se describió, otros agentes terapéuticos para la AML incluyen citarabina, compuestos de antraciclina (por ejemplo, daunorrubicina, idarrubicina) e hidroxiurea.

Anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo

50 En todos los aspectos de la invención descrita en la presente descripción, al sujeto a tratar se le administra un anticuerpo anti-CD70 o un fragmento de unión a antígeno del mismo. Como se usa en la presente descripción, un "anticuerpo" se refiere a inmunoglobulinas que tienen una combinación de dos cadenas pesadas y dos ligeras que tienen actividad inmunorreactiva específica para un antígeno de interés (por ejemplo, CD70 humano). Los términos "anticuerpos CD70" o "anticuerpos anti-CD70" se usan indistintamente en la presente descripción para referirse a anticuerpos que exhiben especificidad inmunológica por la proteína CD70 humana. La "especificidad" para CD70 humano en este contexto no excluye la reacción cruzada con especies homólogas de CD70.

55 "Anticuerpo", tal como se usa en la presente descripción, abarca anticuerpos de cualquier clase humana (por ejemplo, IgG, IgM, IgA, IgD, IgE) así como también subclases/isotipos de los mismos (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1). Anticuerpo como se usa en la presente descripción también se refiere a anticuerpos modificados. Los anticuerpos modificados incluyen formas sintéticas de anticuerpos, que están alteradas de modo que no se produzcan de forma natural, por ejemplo, anticuerpos que comprenden al menos dos porciones de cadena pesada pero no dos cadenas pesadas completas (tales como anticuerpos o minicuerpos con dominio eliminado); formas multiespecíficas de anticuerpos (por ejemplo, biespecíficos, trispecíficos, etc.) alterados para unirse a dos o más antígenos diferentes o a diferentes epítomos en un único antígeno); moléculas de cadena pesada unidas a moléculas scFv y similares. Además, el término "anticuerpo modificado" incluye formas multivalentes de anticuerpos (por ejemplo, trivalentes, tetravalentes, etc., anticuerpos que se unen a tres o más copias del mismo antígeno).

Los anticuerpos descritos en la presente descripción pueden poseer una función efectora de anticuerpo, por ejemplo, una o más de citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC), citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) y fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP).

5 El anticuerpo CD70 adecuado para su uso de acuerdo con todos los aspectos de la invención incluye ARGX-110 descrito en los documentos WO2012123586 y SGN-70 (WO2006113909, y McEarChern y otros, Clin Cancer Res 2008;14(23) p7763).

10 Un anticuerpo CD70 adecuado para su uso de acuerdo con todos los aspectos de la invención también puede ser un conjugado anticuerpo-fármaco (ADC). Los ADC son anticuerpos unidos a agentes activos, por ejemplo, auristatinas y maitansinas u otros agentes citotóxicos. Determinados ADC mantienen el bloqueo del anticuerpo y/o la función efectora (por ejemplo, ADCC, CDC, ADCP) al mismo tiempo que suministran el agente activo conjugado a las células que expresan la diana (por ejemplo, CD70). Ejemplos de ADC anti-CD70 incluyen vorsetuzumab mafodotin (también conocido como SGN-75, Seattle Genetics), SGN-70A (Seattle Genetics) y MDX-1203/BMS936561 (Bristol-Myers Squibb), cada uno de los cuales puede usarse de acuerdo con la invención. Los ADC anti-CD70 adecuados también se describen en los documentos WO2008074004 y WO2004073656).

15 Un "fragmento de unión a antígeno" se refiere a un fragmento polipeptídico de un anticuerpo que mantiene la especificidad de unión para CD70 e incluye: un dominio variable de cadena ligera (VL) de anticuerpo; un dominio variable de cadena pesada de anticuerpo; un fragmento variable de cadena sencilla o anticuerpo de cadena sencilla (scFv); un fragmento Fab; un fragmento F(ab')₂; un fragmento Fd; un fragmento Fv; un anticuerpo de un solo brazo (monovalente); diacuerpos; triacuerpos; tetracuerpos; o cualquier molécula de unión a antígeno que incluye dichos fragmentos de unión a antígeno (por ejemplo, un receptor de antígeno quimérico), o cualquier molécula de unión a antígeno formada por combinación, ensamblaje o conjugación de dichos fragmentos de unión a antígeno. Los fragmentos se pueden obtener, por ejemplo, mediante tratamiento químico o enzimático de un anticuerpo o cadena de anticuerpo intacta o completa, o mediante medios recombinantes.

20 Como se establece en los Ejemplos, se ha demostrado el tratamiento efectivo de pacientes con AML con el anticuerpo CD70 ARGX-110. ARGX-110 es un anticuerpo IgG1 anti-CD70 que se ha demostrado que inhibe la interacción de CD70 con su receptor CD27 (Silence y otros, MAbs. Marzo-abril, 2014;6(2):523-32). En particular, se ha demostrado que ARGX-110 inhibe la señalización de CD27 inducida por CD70. Los niveles de señalización de CD27 pueden determinarse, por ejemplo, midiendo la CD27 soluble en suero como se describe en Riether y otros, (J. Exp. Med. 2017 Feb;214(2):359-380) o de la expresión de IL-8 como se describe en Silence y otros, (MAbs. Marzo-abril, 2014;6(2):523-32). Sin limitarse a ninguna teoría, se cree que la inhibición de la señalización de CD27 reduce la activación y/o la proliferación de células Treg, reduciendo así la inhibición de los linfocitos T efectores antitumorales.

30 Por lo tanto, en todos los aspectos de la invención, el anticuerpo anti-CD70 puede ser un anticuerpo que inhibe la interacción de CD70 con su receptor CD27. En determinadas modalidades de este tipo, el anticuerpo anti-CD70 puede competir con CD27 por la unión a CD70. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 puede inhibir la señalización de CD27 inducida por CD70. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 puede inhibir la activación y/o proliferación de Treg.

45 También se ha demostrado que ARGX-110 agota las células tumorales que expresan CD70. En particular, se ha demostrado que ARGX-110 lisa las células tumorales que expresan CD70 mediante citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC) y citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), y también aumenta la fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) de células que expresan CD70 (Silence y otros, MAbs. Marzo-abril, 2014;6 (2):523-32).

50 Por lo tanto, en determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 puede ser un anticuerpo que agota las células que expresan CD70. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 puede inducir la lisis de células que expresan CD70. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 puede poseer funcionalidad ADCC y/o CDC. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 puede inducir ADCP.

55 La región Fc de ARGX-110 es una región Fc defucosilada de acuerdo al sistema Potelligent™ y se ha descrito que ARGX-110 exhibe una mayor funcionalidad ADCC en comparación con una contraparte fucosilada (Silence y otros, MAbs. Marzo-abril, 2014;6(2):523-32). Por lo tanto, en determinadas modalidades el anticuerpo anti-CD70 está total o parcialmente defucosilado.

60 En determinadas modalidades, el anticuerpo CD70 comprende un dominio Fc, un dominio CH3 o una bisagra Fc derivada de IgG1 humana que comprende Lys433, Phe434 y Tyr436 (de acuerdo con la numeración EU). En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 comprende además uno o más de Tyr252, Thr254 y Glu256 (de acuerdo con la numeración EU). Se ha demostrado que estos residuos en estas posiciones prolongan el tiempo de circulación de los anticuerpos.

65 En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 es un anticuerpo IgG, preferentemente un anticuerpo IgG1.

Como ya se describió y a la luz de los datos proporcionados por primera vez en la presente descripción, se espera que los anticuerpos anti-CD70 distintos de ARGX-110 sean tratamientos efectivos de acuerdo con la invención, por ejemplo, los anticuerpos CD70 que inhiben la interacción de CD70 con CD27, compiten con CD27 por la unión a CD70, inhiben la señalización de CD27 inducida por CD70, inhiben la activación y/o proliferación de Treg, agotan las células que expresan CD70, inducen la lisis de células que expresan CD70, poseen funcionalidad ADCC, CDC y/o inducen ADCP. Se conocen en la técnica anticuerpos CD70 alternativos que se espera que sean útiles en el tratamiento de acuerdo con la invención, por ejemplo, SGN-70 y los descritos en los documentos WO2006044643 y WO2007038637. Los anticuerpos CD70 modificados tales como los ADC SGN-75, SGN-70A y MDX-1203/BMS936561 son ejemplos adicionales de anticuerpos anti-CD70 que se espera que sean efectivos en tratamientos de acuerdo con la invención.

En determinadas modalidades, no limitantes, el anticuerpo anti-CD70 puede comprender las secuencias CDR de ARGX-110. Es decir, en determinadas modalidades el anticuerpo anti-CD70 comprende un dominio de cadena pesada variable (VH) y un dominio de cadena ligera variable (VL), en donde los dominios VH y VL comprenden las CDR (según la definición de Kabat):

- HCDR3 que comprende o consiste de la SEQ ID NO:3 (DAGYSNHVPIFDS)
- HCDR2 que comprende o consiste de la SEQ ID NO:2 (DINNEGTTYADSVKGG)
- HCDR1 que comprende o consiste de la SEQ ID NO:1 (VYYMN)
- LCDR3 que comprende o consiste de la SEQ ID NO:7 (ALFISNPSVE)
- LCDR2 que comprende o consiste de la SEQ ID NO:6 (NTNTRHS), y
- LCDR1 que comprende o consiste de la SEQ ID NO:5 (GLKSGSVTSDNFPT).

En determinadas modalidades, los dominios VH y/o VL del anticuerpo anti-CD70 muestran al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 98 %, al menos 99 % de identidad de secuencia con los dominios VH y/o VL de ARGX-110, respectivamente (VH: SEQ ID NO: 4; VL: SEQ ID NO: 8). Para modalidades en donde los dominios de los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno se definen mediante un porcentaje particular de identidad de secuencia con una secuencia de referencia, los dominios VH y/o VL pueden retener secuencias CDR idénticas a las presentes en la secuencia de referencia de modo que la variación esté presente sólo dentro de las regiones marco. En determinadas modalidades, el anticuerpo anti-CD70 es ARGX-110.

Tabla 2

ARGX-110	Secuencia	SEQ ID NO
HCDR1	VYYMN	1
HCDR2	DINNEGTTYADSVKGG	2
HCDR3	DAGYSNHVPIFDS	3
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRSLCAASGFTFSVYYMNWVRQAPGKGLEWVSDI NNEGTTYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDAGYS NHVPIFDSWGQGLTVTVSS	4
LCDR1	GLKSGSVTSDNFPT	5
LCDR2	NTNTRHS	6
LCDR3	ALFISNPSVE	7
VL	QAVVTQEPSTLTVSPGGTVLTCGLKSGSVTSDNFPTWYQQTPGQAPRLLIYNT NTRHSGVPRDFSGSILGNKAAALTITGAQADDEAEYFCALFISNPSVEFGGGTQL TVLG	8

Ejemplos

Ejemplo 1: Efecto de la monoterapia con anticuerpos anti-CD70, o en combinación con decitabina, en LSC de AML humana injertadas en ratones

Se trasplantaron ratones NSG con 5×10^6 CD45^{dim}SS^{lo} células de AML humana. 32 días después del injerto (injerto en PB: 14,45 +/- 0,95 %), los ratones NSG se asignaron aleatoriamente al tratamiento con vehículo (Veh), mAb aCD70 (aCD70, ARGX-110, 10 mg/kg), decitabina (D, 1,5 mg/kg/d) o la combinación (aCD70/D) durante 5 días y se analizaron la médula ósea, el bazo y la sangre.

Tanto el anti-CD70 como la decitabina sola dieron como resultado una reducción del injerto total en la médula ósea, el bazo y la sangre (Figura 1). La combinación de anti-CD70 y decitabina dio como resultado una mayor reducción del porcentaje de células humanas injertadas en comparación con cualquiera de las terapias solas (Figura 1).

La terapia combinada también redujo las células CD34+ de AML (un marcador de células progenitoras) en la médula ósea mejor que la decitabina o el anti-CD70 solos (Figura 1). Además, el tratamiento anti-CD70 redujo tanto el número de células CD34+CD38- como de células CD34+CD45-, ambas poblaciones de células que se cree que son marcadores de células madre leucémicas (LSC). Mientras que la decitabina sola mostró un efecto mínimo en la

reducción del número de LSC, la combinación de anti-CD70 y decitabina dio como resultado una reducción muy mejorada de las LSC (Figura 1).

Ejemplo 2: Los agentes hipometilantes (HMA) regulan positivamente la expresión de CD70 en células madre primarias de AML ex vivo e in vivo, lo que se correlaciona con una mayor reducción en la formación de colonias de AML mediante el anticuerpo anti-CD70 combinado con un HMA.

El hallazgo de que el tratamiento con anticuerpos anti-CD70 en combinación con un inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI), por ejemplo, el agente hipometilante decitabina, da como resultado una reducción mejorada en el injerto de blastos de AML en ratones, se investigó además en LSC de AML primarias humanas.

Se investigó el efecto del tratamiento con NMI (por ejemplo, HMA tal como azacitidina o decitabina) sobre la expresión de CD70 por las LSC de AML. Se aislaron células CD34+ CD38- de pacientes con AML y se cultivaron en presencia de decitabina a 0,5 mM o vehículo.

Los datos de la Figura 2A demuestran que la expresión de CD70 por las células LSC de AML aumenta cuando las células se cultivan con decitabina. Este aumento en la expresión de CD70 en respuesta a la decitabina se produce en células extraídas de pacientes con leucemia mieloide aguda en todas las categorías de riesgo de enfermedad (favorable, intermedia y adversa) y cuando se mide a nivel proteico o transcripcional (Figura 2C y 2D).

Significativamente, el aumento en la expresión de CD70 en respuesta a agentes hipometilantes (HMA) se observó in vivo. Las LSC tomadas de pacientes recién diagnosticados con AML y tratados con decitabina o azacitidina mostraron un aumento en la expresión de CD70 en respuesta al tratamiento con HMA en comparación con el nivel de expresión en el momento del diagnóstico (Figura 2E y 2F).

A la luz del aumento de la expresión de CD70 en respuesta a los HMA, se investigó ex vivo el efecto de la combinación de anticuerpo anti-CD70/decitabina en las LSC de AML.

La Figura 3A muestra que tanto la monoterapia con anti-CD70 como con decitabina reducen el número de colonias formadas por LSC de AML en un ensayo de cultivo en placas de colonias. En particular, la combinación de anti-CD70 y decitabina redujo la formación de colonias más que cualquiera de las monoterapias solas. Este efecto se observó en todas las categorías de riesgo de enfermedad (favorable (P6), intermedio (P8) y adverso (p11)). La capacidad de reposición de las LSC de AML también se redujo (Figura 3C).

Significativamente, el anticuerpo anti-CD70 no afectó negativamente a las células madre sanas. Las Figuras 3D-F muestran que el anti-CD70 como monoterapia no tuvo ningún efecto sobre las células sanas en comparación con el vehículo solo, y cuando se usó en combinación no tuvo ningún efecto en comparación con la decitabina usada sola.

Estos datos respaldan el uso de anti-CD70 como monoterapia para la AML, así como también en combinación con un inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI), por ejemplo, un HMA tal como azacitidina o decitabina.

Ejemplo 3: Ensayo de fase I/II del anticuerpo anti-CD70 ARGX-110 en combinación con la dosis estándar de AZA en sujetos con AML no tratada previamente y MDS de alto riesgo

Se inició un ensayo clínico de fase I/II para investigar la eficacia/beneficios clínicos y la seguridad y tolerabilidad de ARGX-110 en combinación con dosis estándar de AZA en sujetos con AML no tratada previamente y MDS de alto riesgo que son idóneos para el tratamiento con AZA.

Protocolo de régimen de prueba y ensayos de muestras

El estudio incluyó una fase de selección (entre el día -35 y el día -14), una dosis de carga de ARGX-110 (día -14) y una fase de tratamiento al descubierto durante la cual los sujetos visitaron el centro del estudio para la administración del fármaco del estudio (Día -14 hasta la progresión de la enfermedad) y evaluaciones de fin de tratamiento (EOT) realizadas dentro de los 7 días posteriores al último tratamiento con ARGX-110. Se programaron evaluaciones de seguimiento adicionales a los 30 y 60 días (\pm 7 días) después de la fecha EOT. La visita de seguimiento de 60 días también fue la visita de fin del estudio (EOS).

Se eligieron sujetos masculinos y femeninos, de al menos 18 años de edad, con diagnóstico reciente de leucemia mieloide aguda confirmada histológicamente (biopsia de médula ósea) o síndrome mielodisplásico (MDS) de alto riesgo con recuento de blastos > 20 %, que no eran aptos para recibir quimioterapia intensiva estándar para la inscripción en el estudio. Se requirió que los sujetos tuvieran una esperanza de vida de 3 o más meses y un estado funcional del Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) de 0 - 2 en el momento de la selección. Los sujetos recibieron una dosis de carga de ARGX-110 el día -14, seguida de la administración de ARGX-110 en combinación con dosis estándar de AZA. Se administraron dosis de ARGX-110 por vía intravenosa cada 2 semanas (dosis de carga el día -14 y dosis adicionales los días 3 y 17) en combinación con dosis estándar de AZA para determinar la toxicidad limitante de la dosis (ver Figura 4). El primer paciente de cada cohorte se monitoreó hasta el día 7 antes de

que se incluyera un segundo paciente. Dado que no se produjeron eventos adversos significativos dentro de este período, se inscribieron los demás pacientes de cada cohorte. El nivel de dosis de ARGX-110 en la primera cohorte de la Fase I fue de 1 mg/kg de peso corporal.

5 Todos los sujetos del estudio recibieron una dosis de carga única de ARGX-110 el día -14, al mismo nivel de dosis que la dosis quincenal. Los sujetos de la Fase I del estudio recibieron uno de los siguientes tratamientos:

- Cohorte 1: 1 mg/kg de peso corporal IV los días 3 y 17 de un ciclo de 28 días
- Cohorte 2: 3 mg/kg de peso corporal IV los días 3 y 17 de un ciclo de 28 días
- 10 • Cohorte 3: 10 mg/kg de peso corporal IV los días 3 y 17 de un ciclo de 28 días
- Cohorte 4: 20 mg/kg de peso corporal IV los días 3 y 17 de un ciclo de 28 días

La infusión se inició a una velocidad de 10 ml/h. Luego se aumentó la velocidad de acuerdo con la tolerabilidad del fármaco por parte del paciente.

15 La respuesta clínica al tratamiento se clasificó de acuerdo con la Tabla 3:

Tabla 3

Criterios de respuesta	Definición
20 Remisión completa (CR)*	Blastos en la médula ósea < 5 %; ausencia de blastos con varillas de Auer; ausencia de enfermedad extramedular; recuento absoluto de neutrófilos > $1,0 \pm 10^9/l$ (1000/ μ l); recuento de plaquetas > $100 \times 10^9/l$ (100 000/ μ l); independiente de las transfusiones de glóbulos rojos
25 CR con recuperación incompleta (CRi)	Todos los criterios de CR excepto para neutropenia residual (< $1,0 \pm 10^9/l$ [1000/ μ l]) o trombocitopenia (< $100 \times 10^9/l$ [100 000/ μ l])
Estado morfológico libre de leucemia (MLFS)	Blastos en la médula ósea < 5 %; ausencia de blastos con varillas de Auer; ausencia de enfermedad extramedular; no se requiere recuperación hematológica
30 Remisión parcial (PR)	Relevante únicamente en el contexto de ensayos clínicos de fase I y II; todos los criterios hematológicos de CR; disminución del porcentaje de blastos en la médula ósea del 5 % al 25 %; y disminución del porcentaje de blastos en la médula ósea previo al tratamiento en al menos 50 %
Fracaso del tratamiento	
35 Enfermedad resistente (RD)	No lograr CR o CRi (práctica general; ensayos de fase II/III), o no lograr CR, CRi o PR (ensayos de fase I); solo incluye sujetos que sobreviven > 7 días después de completar el tratamiento inicial, con evidencia de leucemia persistente mediante examen de sangre y/o médula ósea
Muerte en aplasia	Muertes que ocurren > 7 días después de completar el tratamiento inicial mientras están citopénicos; con una médula ósea aplásica o hipoplásica
40 Muerte por causa indeterminada	obtenido dentro de los 7 días posteriores a la muerte, sin evidencia de leucemia persistente
Muerte por causa indeterminada	Muertes que ocurren antes de completar la terapia, o < 7 días después de su finalización; o muertes que ocurren > 7 días después de la finalización
45 Recaída	Blastos en la médula ósea > 5 %; o reaparición de blastos en la sangre; o desarrollo de enfermedad extramedular
50	*Se deben cumplir todos los criterios; la evaluación de la médula debe basarse en un recuento de 200 células nucleadas en un aspirado con espículas; si hay ambigüedad, considere repetir el examen después de 5 a 7 días; la evaluación por citometría de flujo puede ayudar a distinguir entre leucemia persistente y médula normal en regeneración; se debe realizar una biopsia de médula en casos de punción seca o si no se obtienen espículas; no se requiere una duración mínima de respuesta.

Las concentraciones séricas de ARGX-110 se analizaron mediante el uso de un método de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) validado. Se evaluaron los siguientes parámetros farmacocinéticos:

- 55 • $C_{m\acute{a}x}$: concentración máxima observada; C_{mi} : concentración mínima; AUC_{∞} : área bajo la curva de concentración sérica-tiempo desde el tiempo cero hasta el infinito; AUC_{au} : área bajo la curva de concentración sérica-tiempo durante el intervalo de dosificación; V_d : volumen aparente de distribución; CL: aclaramiento sistémico total del fármaco después de la administración intravenosa; $t_{1/2}$: vida media.

60 De todos los sujetos del estudio, se extrajeron muestras de sangre venosa para evaluar los anticuerpos antifármacos (ADA). La inmunogenicidad de ARGX-110 se evaluó en muestras de suero mediante el uso de un método ELISA que puede detectar cualquier clase de ADA. Las muestras reactivas se analizaron en un ensayo confirmatorio para verificar la especificidad.

65 La evaluación de biomarcadores se puede realizar en aspirados de médula ósea y/o sangre total extraída en momentos como se especifica en la Figura 5. La farmacodinámica se examinó midiendo una serie de biomarcadores

que incluyen:

Genética molecular: caracterización de la metilación de los promotores de CD70 y CD11a, para identificar aberraciones genómicas de AML recurrentes y para análisis de ADN genómico del efecto del tratamiento sobre la enfermedad y la patología diana.

Expresión génica: caracterización de niveles de ARNm de CD70, marcadores de enfermedad y efecto de fármacos.

Citometría de flujo (FACS): caracterización adicional de CD70 (por ejemplo, tratamiento previo con ARGX-110, después de la recaída) y expresión de CD27, y efecto del fármaco (por ejemplo, blastos, células NK y linfocitos T) y análisis de enfermedad residual mínima (MRD).

Cuantificación de proteínas séricas: caracterización adicional de sCD27, marcadores de enfermedades y efectos de fármacos (por ejemplo, IL-8). Si las reacciones relacionadas con la infusión son más graves que en ensayos anteriores con ARGX-110, se pueden evaluar análisis de citocinas inflamatorias.

Las determinaciones de estado indiferenciado de células madre se realizaron en células mononucleares purificadas de sangre o médula ósea. En dependencia de la cantidad de células que se recolectaron, las lecturas incluyeron tinción de Numb (para determinar la proporción de división asimétrica/simétrica), estudios celulares e in vivo (evaluar el potencial de las células madre mediante, por ejemplo, ensayos de colonias de metilcelulosa CFU o estudios de supervivencia de ratones NSG inyectados con células mononucleares del paciente) o análisis de expresión génica.

Se realizaron evaluaciones de enfermedad residual mínima (MRD) en aspirados de médula ósea y/o sangre completa recolectada en los momentos especificados en la Figura 5. La citometría de flujo se usó como método principal de análisis de MRD. Los marcadores de citometría de flujo adecuados para la evaluación de MRD y la determinación del subtipo de AML incluyen CD16, CD13, CD34, CD117, CD11b, CD10, HLA-DR, CD45, CD35, CD64, IREM-2, CD36, CD105, CD14, CD33, CD71, CD36, CD105, CD33, CD71, cTdT, CD56, CD7, CD19, cMPO, cLactoferrina, cLisozima. Se usó un panel adicional como parte del ensayo, centrándose en la expresión de CD70, CD27, así como también en marcadores indicativos del potencial de células madre o de diferenciación mielóide: CD27, CD70, CD34, CD117, CD11b, HLA-DR, CD45, CD38 y CD123. Cuando estuvieron disponibles, los resultados de la citometría de flujo se compararon con otros enfoques moleculares, tales como la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Se pueden usar aspirados de médula ósea o sangre completa para la inmunofenotipificación (realizada mediante citometría de flujo o citometría de masas), que incluye análisis de células NK y linfocitos T, así como también otras subpoblaciones potenciales de células inmunitarias.

Resultados

Resultados clínicos generales

Significativamente, más del 90 % de los pacientes reclutados para el ensayo respondieron a la terapia anti-CD70 (10/11 pacientes que han sido tratados durante el tiempo suficiente para evaluar la respuesta).

La Tabla 4 muestra la mejor respuesta de aquellos pacientes a quienes se les ha dedicado suficiente tiempo al ensayo para evaluar la respuesta. En cada una de las cohortes de 1 mg/kg, 3 mg/kg y 10 mg/kg, 2 de los 3 pacientes de cada cohorte mostraron una remisión completa. En la cohorte 1, el tercer paciente logró una remisión completa con una recuperación hematológica incompleta.

Un nivel de respuesta mayor que 90 % contrasta marcadamente con la velocidad de respuesta de aproximadamente 25 % observada con aza solo (Dombret y otros, Blood 2015 (Blood. 2015;126(3):291-299).

Tabla 4

	Riesgo	La mejor respuesta hasta la fecha	Tiempo para la mejor respuesta
Cohorte 1 (1 mg/kg)	Adverso	CRi	C5D1
	Intermedio	CR	EOT
	Adverso	CR	C7D1
Cohorte 2 (3mg/kg)	Intermedio	CR	C4D1
	Intermedio	CR	C7D2
	Adverso	PR	EOT
Cohorte 3 (10mg/kg)	Intermedio	CR	C3D23
	Intermedio	CR	C4D1
	Adverso	MLFS	C1D1
Cohorte 4 (20mg/kg)	Adverso	CRi	C3D1
	Adverso	PR	C1D1
	Intermedio	Sin respuesta hasta la fecha	

En particular, el estado morfológico libre de leucemia (MLFS) se alcanzó después de la monoterapia con ARGX-110 solo. Un paciente de 71 años de la Cohorte 2 con 20 % de blastos en la médula ósea en el momento del reclutamiento y un paciente de 74 años de la Cohorte 3 con > 50 % de blastos en la médula ósea en el momento del reclutamiento lograron MLFS caracterizado por ningún blasto en el tiempo C1D1, es decir, después de la dosis de carga con ARGX-110 y antes de la primera dosis de aza.

Esto demuestra claramente que la terapia con anticuerpos anti-CD70 por sí sola puede ser un tratamiento efectivo para la AML.

Además, también se indujo la remisión completa mediante la terapia combinada con ARGX-110/aza. Seis pacientes de cada una de las cohortes 1-4 lograron una remisión completa después de la terapia combinada, y otros dos pacientes lograron CRi después de la terapia combinada.

De mayor importancia es el hecho de que el tratamiento combinado permitió que un paciente progresara hacia un trasplante de médula ósea. Esto es importante debido al hecho de que muchos pacientes con AML, particularmente los pacientes de edad avanzada, generalmente no pueden someterse a un trasplante debido a la naturaleza agresiva de las terapias convencionales necesarias para cumplir con los criterios del trasplante. El hecho de que el tratamiento combinado fuera lo suficientemente efectivo como para permitir que un paciente con AML de 75 años progresara hasta el trasplante muestra las ventajas de la terapia combinada sobre el tratamiento convencional.

La terapia mono y combinada reduce los blastos en la médula ósea y la sangre periférica

Para cada paciente, se evaluó el número de blastos en la médula ósea y la sangre periférica en varios momentos, como se describe en la Figura 5.

Para evaluar los blastos de la médula ósea, se analizaron aspirados de médula ósea tomados en distintos momentos. Se usaron ensayos de colonias de metilcelulosa mediante el uso de monocitos clasificados por FACS (células mononucleares (CD45^{dim}), se clasificaron selectivamente excluyendo dobletes, células muertas y linfocitos mediante el uso de anexina V y anticuerpos para CD19 y CD4/CD8) para evaluar el número de LSC en la médula ósea. Además, los porcentajes de blastos en la médula ósea también se evaluaron mediante análisis de morfología celular y citometría de flujo.

Los resultados de blastos en la médula ósea de cada paciente se muestran recopilados en la Figura 6. Estos datos muestran que, para la mayoría de los pacientes, el porcentaje de blastos en la médula ósea se redujo al menos parcial o completamente con C1D1, es decir, después de la monoterapia con ARGX-110.

Además, una vez que se inicia la terapia con aza (desde C1 D1), el porcentaje de blastos en la médula ósea se reduce aún más y se mantiene en un nivel bajo durante el resto del tratamiento. Este es el caso independientemente de si se usan ensayos citomorfológicos o de blastos basados en flujo.

Es particularmente notable que los blastos de la médula ósea medidos de acuerdo con los criterios de enfermedad residual mínima (MRD) se reducen significativamente tanto con la monoterapia con ARGX-110 como con la terapia combinada con ARGX-110 y aza, dada la importancia clínica de la evaluación de la MRD. Dos pacientes (uno en la cohorte 1 y otro en la cohorte 2) alcanzaron el estado de MRD.

También se observan resultados similares cuando se evalúan los porcentajes de blastos en sangre periférica (Figura 7). Los cambios en los datos de la sangre periférica de un paciente son más susceptibles a factores externos, lo que genera una mayor variación en los datos. Sin embargo, los resultados en sangre periférica (PB) corresponden a los cambios observados en la médula ósea después de la monoterapia y la terapia combinada (Figura 7).

La Figura 7 muestra que, de manera similar a los datos de la médula ósea, el porcentaje de blastos de PB en general se reduce después de la monoterapia con ARGX-110 (es decir, en C1D1 en comparación con puntos de datos anteriores) y luego se reduce aún más con la terapia combinada (de C1D1 en adelante). Nuevamente, este efecto se observa independientemente de si se usan ensayos citomorfológicos o de blastos basados en flujo, y es evidente cuando se usan criterios de evaluación de MRD.

La monoterapia con anticuerpos anti-CD70 y la combinación de anti-CD70 más un HMA tal como aza son capaces de reducir el porcentaje de blastos en la médula ósea y en la sangre periférica y, en el caso de la terapia combinada, mantener este porcentaje reducido durante un cierto número de puntos de tiempo.

La terapia mono y combinada aumenta la diferenciación mieloide de las LSC

La persistencia de células madre leucémicas (LSC) en la AML representa un obstáculo importante para el tratamiento exitoso de los pacientes con AML. Las LSC son responsables de la recaída de la enfermedad en la AML y su número se mantiene mediante un proceso de división celular simétrica, es decir, cada LSC se divide simétricamente para generar dos LSC hijas. Esta división simétrica es un factor determinante en la agresividad de la

AML y la recaída del paciente.

Un destino celular alternativo para las LSC es sufrir una diferenciación mieloide. En este proceso, una LSC sufre una división asimétrica, generando una célula hija mieloide diferenciada junto con una célula madre hija.

5 Dicha división asimétrica reduce en gran medida el conjunto de LSC en el paciente y una mayor división asimétrica es indicativa de una mejor respuesta por parte del paciente.

10 El nivel de división asimétrica en una población de LSC se puede determinar midiendo el nivel de un determinante del destino celular como la proteína Numb (Riether y otros, J Exp Med. Febrero de 2017;214(2): 359-380). El aumento de la expresión de Numb es indicativo de un aumento en la división asimétrica y, por lo tanto, un aumento en la diferenciación mieloide y una disminución de las poblaciones de LSC.

15 La Figura 8 muestra que la expresión de Numb aumenta después de la monoterapia con ARGX-110 (C1D1) y luego aumenta aún más con la terapia combinada ARGX-110/aza, lo que indica que ambas terapias aumentan la división asimétrica y, por lo tanto, la diferenciación mieloide de las LSC.

20 Estos datos indican que la monoterapia anti-CD70 y la terapia combinada con aza no solo reducen el recuento de blastos del paciente al modular la vía CD70-CD27 (promoviendo así la capacidad de respuesta de los linfocitos T), sino que el anticuerpo anti-CD70 también promueve la diferenciación de LSC. Esta diferenciación reduce la población de células madre y, por tanto, contribuye aún más a la reducción de blastos observada en los pacientes del ensayo.

25 La monoterapia y la terapia combinada disminuyen la formación de colonias ex vivo

Para explorar más a fondo el impacto de las terapias mono y combinadas en las poblaciones de LSC en pacientes, se realizaron ensayos de colonias de metilcelulosa mediante el uso de monocitos ex vivo clasificados por FACS. Las células mononucleares (CD45^{dim}) se clasificaron selectivamente excluyendo dobles, células muertas y linfocitos mediante el uso de Anexina V y anticuerpos para CD19 y CD4/CD8 y se sembraron en serie en metilcelulosa durante 14 días.

30 La Figura 9A-E proporciona datos representativos de la formación de colonias por pocillo (y, por tanto, el número de LSC) antes del tratamiento (SCR) y después de la monoterapia con ARGX-110 (tiempo 0, correspondiente a C1D1)

35 La Figura 9F proporciona datos representativos de la formación de colonias por pocillo (y por tanto el número de LSC) antes del tratamiento, después de la monoterapia con ARGX-110 (es decir, en C1D1) y después de la terapia combinada (C4D1). Estos datos corresponden a aproximadamente una reducción de 24 veces en la frecuencia de LSC en comparación con los niveles iniciales.

40 Además, la terapia no solo reduce la cantidad de LSC, sino que también se reduce la cantidad de células por colonia, lo que indica que el potencial proliferativo de las LSC también se reduce después de la terapia (datos no mostrados).

45 Nuevamente, estos datos demuestran que los niveles circulantes de LSC se reducen después de la monoterapia con ARGX-110 y luego se reducen aún más después de la combinación de ARGX-110 y aza. Además, el potencial proliferativo de estas LSC también se reduce con la terapia.

La monoterapia y la terapia combinada disminuyen los niveles de CD27 soluble

50 El CD27 (sCD27) soluble puede servir como biomarcador del alcance de las interacciones CD70/CD27.

55 Se cree que la señalización mediada por CD70/CD27 promueve divisiones celulares aberrantes y los niveles altos de sCD27 en suero se correlacionan con un mal pronóstico de los pacientes con AML. Además, se cree que sCD27 se correlaciona con el porcentaje de células blásticas en la médula ósea, así como también sirve como marcador de la gravedad de los blastos de un paciente, con un aumento de sCD27 que indica mayores niveles de estado indiferenciado (Riether y otros, J. Exp. Med. Febrero de 2017; 214(2):359-380).

60 Para evaluar el efecto de la monoterapia anti-CD70 y la terapia combinada sobre la interacción CD27/CD70, así como también para explorar más a fondo el efecto sobre el porcentaje de blastos y el estado indiferenciado, también se midieron los niveles de CD27 soluble de los pacientes.

65 La Figura 10 muestra niveles representativos de sCD27 para un paciente durante el ciclo de tratamiento. La monoterapia con ARGX-110 (C1 D1) reduce los niveles de sCD27 en comparación con antes del tratamiento ("Loading"), y esta reducción continúa disminuyendo durante la terapia combinada de manera que alcanza niveles representativos de un paciente sano.

Estos datos demuestran que tanto la monoterapia como la terapia combinada inhiben la interacción CD27/CD70 y reducen los porcentajes de blastos y el estado indiferenciado, de acuerdo con los resultados de otros ensayos.

Además, la Figura 10 muestra que los niveles de sCD27 aumentan después del final del tratamiento (EOT). Es probable que esto se deba a un aumento en la interacción CD27/CD70 una vez que se elimina el anticuerpo anti-CD70, e indica que sCD27 puede usarse como un marcador efectivo para la interacción del fármaco anti-CD70 en un paciente.

La terapia con ARGX-110 no aumenta la toxicidad

Un factor importante en la idoneidad de un régimen terapéutico es la toxicidad asociada para el paciente. Ventajosamente, el anticuerpo anti-CD70 ARGX-110 no produjo ningún aumento observado en la toxicidad, ni como monoterapia ni cuando se usó en combinación con aza.

Para cada una de las cohortes de 1 mg/kg, 3 mg/kg y 10 mg/kg, los eventos adversos y la toxicidad hematológica no fueron diferentes de los que reflejan el perfil de seguridad habitual de azacitidina. Esto es particularmente sorprendente y ventajoso, ya que la adición de un agente terapéutico combinado frecuentemente da como resultado un aumento de la toxicidad. Sin embargo, con la combinación ARGX-110/aza, no se observó ningún aumento de la toxicidad y se indujo un aumento significativo de la eficacia.

Tabla 5

Eventos adversos de grado 3-5 en pacientes de fase 1	Eventos de la Cohorte 1 (1 mg/kg) (pacientes)	Eventos de la Cohorte 2 (3mg/kg) (pacientes)	Eventos de la Cohorte 3 (10mg/kg) (pacientes)	Eventos de la Cohorte 4 (20 mg/kg) (pacientes)	Total
Anemia	4 (1)	10 (3)		2 (1)	16
Trombocitopenia	8 (2)	3 (3)	2 (1)	2 (2)	15
Neutropenia	2 (1)	4 (1)			6
Neutropenia febril	2 (2)		1 (1)	1 (1)	4
Hipertensión		2 (1)			2
Proctitis		2 (1)			2
Leucopenia	1 (1)	1 (1)			1
Infección pulmonar	1 (1)				1
Pleuropericarditis	1 (1)				1
Constipación		1 (1)			1
Fiebre		1 (1)			1
Hipotalasemia		1 (1)			1
Infección dental		1 (1)			1
Enfermedad progresiva			1 (1)		1

Datos farmacocinéticos (PK)

La concentración sérica de ARGX-110 se analizó mediante un método de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) validado. La Figura 11 proporciona gráficos de PK de pacientes individuales para la cohorte de 10 mg/kg. El gráfico PK presenta datos para el ciclo 1 de ARGX-110 (predosis de D-14 hasta predosis del ciclo 1 D1).

En general, la farmacocinética de ARGX-110 mostró proporcionalidad de la dosis de C_{máx} y AUC en el intervalo de dosis estudiado y una vida media de aproximadamente 9,2 días con 10 mg/kg.

La concentración de ARGX-110 en aspirados de médula ósea se midió en muestras limitadas y se comparó con las muestras de plasma correspondientes. La concentración de ARGX-110 en los aspirados de médula ósea fue comparable a los niveles plasmáticos de los pacientes 1001005 y 1001007 en la cohorte de dosis de 3 mg/kg y 10 mg/kg respectivamente.

Tabla 6

Paciente	Dosis de la Cohorte	Muestra	C _{ARGX-110} aspirado de BM	C _{ARGX-110} de plasma
1001005	3 mg/kg	Ciclo 7 Día 2	33,1 µg/ml	37,3 µg/ml
1001007	10 mg/kg	Ciclo 4 Día 1	117,7 µg/ml	126,6 µg/ml

Características de los pacientes y estudios de casos

La Tabla 7 proporciona un resumen de los pacientes con AML recién diagnosticados reclutados para cada cohorte:

Tabla 7

	Característica del paciente	1 mg/kg	3 mg/kg	10 mg/kg	20 mg/kg	Total
5	Edad Media (intervalo)	78 (71-80)	75 (71-84)	71 (64-75)	75 (72-77)	74 (64-84)
	Género (Masculino: Femenino)	2:1	1:2	2:1	2:1	7:5
	Riesgo (ELN 2017)					
	Intermedio	1	2	2	1	6
	Adverso	2	1	1	2	6
10	Blastos de la médula ósea Mediana % (intervalo)	51,3 (24-90)	40 (20-60)	70 (50-80)	50 (22-80)	52,7 (20-90)
	Clasificación de AML (OMS 2016)					
	NOS	0	1	3	0	4
15	Cambios relacionados con mielodisplasia-	2	2	0	2	6
	Neoplasia mieloide relacionada con la terapia	1	0	0	0	1
	Genética recurrente anormalidades	0	0	0	1	1
20	Clasificación británica francoamericana	M4, M1, M2	M4, M5, M2	M1, M2, M5a	M2, M2, M4	

Los siguientes son estudios de casos de pacientes individuales reclutados para el ensayo.

25 La paciente 1001001 es una mujer de 80 años con AML relacionada con el tratamiento 5 años después de la quimioterapia adyuvante para el cáncer de mama con recuentos de blastos del 90 % en la médula ósea (BM) y del 80 % en sangre periférica (PB) (39,5 g/l), subtipo FAB: Mielomonocítico M4 y clasificación de la OMS 2016: Subentidad provisional: AML con RUNX1 mutado. La paciente se trató de acuerdo con el protocolo en el grupo de terapia de 1 mg/kg.

30 El aspirado de médula ósea tomado el día 1 se comparó con el aspirado de médula ósea tomado antes de la administración de la dosis de carga de ARGX-110. Se usaron ensayos de colonias de metilcelulosa mediante el uso de monocitos clasificados por FACS (células mononucleares (CD45^{dim}), se clasificaron selectivamente excluyendo dobletes, células muertas y linfocitos mediante el uso de anexina V y anticuerpos para CD19 y CD4/CD8) para evaluar el número de LSC en la médula ósea.

35 Los resultados mostraron que una dosis única de ARGX-110 redujo la cantidad de LSC en la médula ósea en un factor de 140 000 (cálculo de la frecuencia de células madre mediante ELDA: Extreme Limiting Dilution Analysis (<http://bioinf.wehi.edu.au>; Hu y Smyth (2009) ELDA: Journal of Immunological Methods 347, 70-78.).

40 Además, la morfología celular y el análisis de citometría de flujo de las poblaciones de células blásticas demostraron una reducción en la médula ósea y en la sangre periférica después de una dosis única (dosis de carga) de ARGX-110. Después del tratamiento continuado en combinación con AZA de acuerdo con el programa de la Figura 5, los blastos de BM se redujeron al 2,8 % (de acuerdo con la citometría de flujo) mediante C3D1 (es decir, después de 2 ciclos de tratamiento). Por lo tanto, la evaluación de la respuesta clínica del paciente en este momento fue de remisión completa con recuperación incompleta (CRi). Se determinó que el análisis de enfermedad residual mínima (MRD) era del 0,2 %. El estado de CRi mediante aspirado de médula ósea y la evaluación de MRD se mantuvo hasta al menos C5D1. En sangre periférica, los blastos se eliminaron siguiendo el primer ciclo de tratamiento completo (C2D1). Para C3D1, la MRD para sangre periférica fue del 0,3 %, y para C4D1, el porcentaje de blastos en sangre periférica fue del 0,8 % según citometría de flujo y del 0 % según morfología celular. En C4D17, el número de células blásticas en sangre periférica era lo suficientemente bajo como para clasificarlo como MRD negativo.

50 El paciente 1001002 es un hombre de 75 años con AML con cambios relacionados con mielodisplasia (clasificación de la OMS; AML M1/M2 de acuerdo con la clasificación FAB). El paciente presentaba un 40 % de blastos en la médula ósea antes del tratamiento. El paciente se trató de acuerdo con el protocolo en el grupo de terapia de 1 mg/kg.

60 El aspirado de médula ósea tomado el día 1 se comparó con el aspirado de médula ósea tomado antes de la administración de la dosis de carga de ARGX-110 y se evaluó mediante el uso de ensayos de colonias de metilcelulosa en monocitos. De manera similar a la paciente 1001001, una dosis única de monoterapia con ARGX-110 redujo la cantidad de LSC en la médula ósea. En el paciente 1001002, las LSC se redujeron en un factor de 2 después de la dosis de carga de ARGX-110. La formación de colonias disminuyó en más del 50 % en todas las concentraciones de dilución en serie informativas y también se redujo el número de células por colonia.

65 Después de una dosis única de ARGX-110, el porcentaje de blastos totales en la médula ósea pareció reducirse cuando se evaluó mediante citometría de flujo, pero se observó un aumento cuando se evaluó mediante la

morfología celular.

5 De manera similar a la paciente 1001001, el porcentaje general de blastos en sangre periférica disminuyó después de la dosis de carga de ARGX-110 (C1D1 frente a la selección) y continuó disminuyendo durante el ciclo 1, acercándose a cero al final del ciclo 1 (C2D1). En C2D17, el porcentaje de blastos en sangre periférica era del 0,8 % mediante citometría de flujo y del 0 % según la morfología celular. Después de 3 ciclos (C3D17), los recuentos de sangre periférica se recuperaron (Hb 10,2 g/dl; plaquetas 128 g/l; recuento absoluto de neutrófilos (ACN) 0,97 g/l) y el análisis de médula ósea en C4D1 indicó CRi.

10 El paciente 1001003 es un hombre de 77 años con AML con cambios relacionados con mielodisplasia según la clasificación de la OMS (AML-M2 según la clasificación FAC) y 24 % de blastos en la médula ósea. Al cabo de 1 ciclo (C2D1), el paciente no presentó blastos periféricos y se estaba recuperando después de una breve trombopenia y linfopenia (plaquetas 98 g/l; ANC 0,38 g/l; Hb 9,2 g/dl). El porcentaje de blastos en C1D1 se mantuvo estable.

15 Los datos de estos pacientes demuestran que el tratamiento en monoterapia con un anticuerpo anti-CD70 (ARGX-110) reduce el número de células madre leucémicas en la médula ósea de pacientes con AML y puede reducir el porcentaje total de blastos en la médula ósea y en la sangre periférica. La terapia combinada con un anticuerpo anti-CD70 (ARGX-110) y un inhibidor metabólico de nucleósidos (azacitidina) reduce aún más el porcentaje de blastos
20 totales en la médula ósea y en la sangre periférica hasta el punto de que el paciente puede clasificarse como libre de enfermedad residual mínima, un resultado que normalmente no se observa con el tratamiento con azacitidina sola.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un anticuerpo anti-CD70 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en un método para tratar la leucemia mieloide aguda (AML) o el síndrome mielodisplásico (MDS) en un sujeto, el método comprende:
- administrar al sujeto una o más dosis del anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, y administrar al sujeto un inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI) seleccionado de azacitidina y decitabina, en donde el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe la unión de CD70-CD27.
- 10 2. Un inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI) seleccionado de azacitidina y decitabina para su uso en un método para tratar la leucemia mieloide aguda (AML) o el síndrome mielodisplásico (MDS) en un sujeto, el método comprende:
- 15 administrar al sujeto el inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI), y administrar al sujeto una o más dosis de un anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe la unión de CD70-CD27.
- 20 3. Una combinación que comprende un anticuerpo anti-CD70 o un fragmento de unión a antígeno del mismo y un inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI) seleccionado de azacitidina y decitabina para su uso en un método para tratar la leucemia mieloide aguda (AML) o el síndrome mielodisplásico (MDS) en un sujeto, el método comprende:
- 25 administrar al sujeto una o más dosis del anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión al antígeno del mismo, y administrar al sujeto el inhibidor metabólico de nucleósidos (NMI), en donde el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe la unión de CD70-CD27.
- 30 4. El anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, el NMI para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, o la combinación para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el método reduce el porcentaje de blastos en la médula ósea y/o sangre periférica del sujeto.
- 35 5. El anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 4, el NMI para su uso de acuerdo con la reivindicación 2 o la reivindicación 4, o la combinación para su uso de acuerdo con la reivindicación 3 o la reivindicación 4, en donde el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo se encuentra en una composición farmacéutica que comprende un excipiente o portador farmacéuticamente aceptable.
- 40 6. El anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 4 o 5, el NMI para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2, 4 o 5, o la combinación para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 3-5, en donde el sujeto no es idóneo para quimioterapia intensiva estándar antes del tratamiento.
- 45 7. El anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 4-6, el NMI para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 o 4-6, o la combinación para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 3-6, en donde el método comprende además la etapa de realizar un trasplante de células madre hematopoyéticas en el sujeto.
- 50 8. El anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 4-7, el NMI para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 o 4-7, o la combinación para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 3-7, en donde el sujeto tiene 60 años o más, opcionalmente 75 años o más.
- 55 9. El anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 4-8, el NMI para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 o 4-8, o la combinación para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 3-8, en donde el anticuerpo anti-CD70 comprende un dominio de cadena pesada variable (VH) y un dominio de cadena ligera variable (VL), en donde los dominios VH y VL comprenden las CDR:
- 60 HCDR3 que comprende o consiste de la SEQ ID NO:3 (DAGYSNHVPIFDS)
HCDR2 que comprende o consiste de la SEQ ID NO:2 (DINNEGTTYADSVKG)
65 HCDR1 que comprende o consiste de la SEQ ID NO: 1 (VYYMN)
LCDR3 que comprende o consiste de la SEQ ID NO:7 (ALFISNPSVE)

ES 2 974 678 T3

LCDR2 que comprende o consiste de la SEQ ID NO:6 (NTNTRHS) y
LCDR1 que comprende o consiste de la SEQ ID NO:5 (GLKSGSVTSDNFPT).

- 5 10. El anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, NMI, o la combinación para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en donde el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno comprende un dominio VH al menos 80 % idéntico a la SEQ ID NO:4 y/o comprende un dominio VL al menos 80 % idéntico a la SEQ ID NO:8.
- 10 11. El anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno del mismo, NMI o la combinación para su uso de acuerdo con la reivindicación 9 o la reivindicación 10, en donde el anticuerpo anti-CD70 o fragmento de unión a antígeno comprende un dominio VH que comprende o consiste de la SEQ ID NO:4 y/o comprende un dominio VL que comprende o consiste de la SEQ ID NO:8.
- 15 12. El anticuerpo anti-CD70 para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 4-11, el NMI para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 o 4-11, o la combinación para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 3-11, en donde el anticuerpo anti-CD70 es un anticuerpo IgG1.
- 20 13. El anticuerpo anti-CD70, NMI o la combinación para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde el anticuerpo anti-CD70 comprende un dominio VH que consiste de la SEQ ID NO:4 y comprende un dominio VL que consiste de la SEQ ID NO:8.
14. El anticuerpo anti-CD70, NMI o la combinación para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde el anticuerpo anti-CD70 se administra a una dosis en un intervalo de 0,1 mg/kg a 25 mg/kg por dosis.
- 25 15. El anticuerpo anti-CD70, NMI o la combinación para su uso de acuerdo con la reivindicación 13 o la reivindicación 14, en donde cada dosis del anticuerpo anti-CD70 se separa por 10-20 días, opcionalmente 12-18 días, opcionalmente 14-17 días.

Figura 1

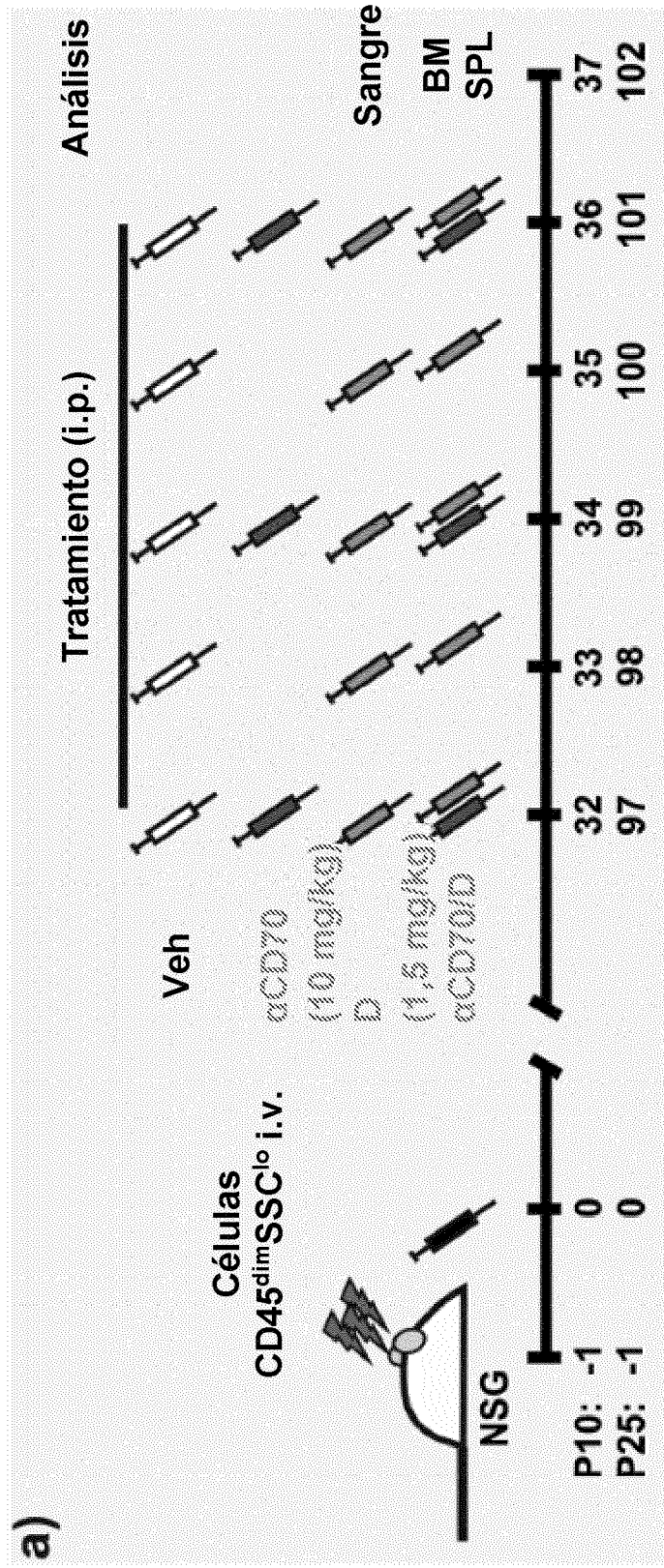


Figura 1 (cont.)

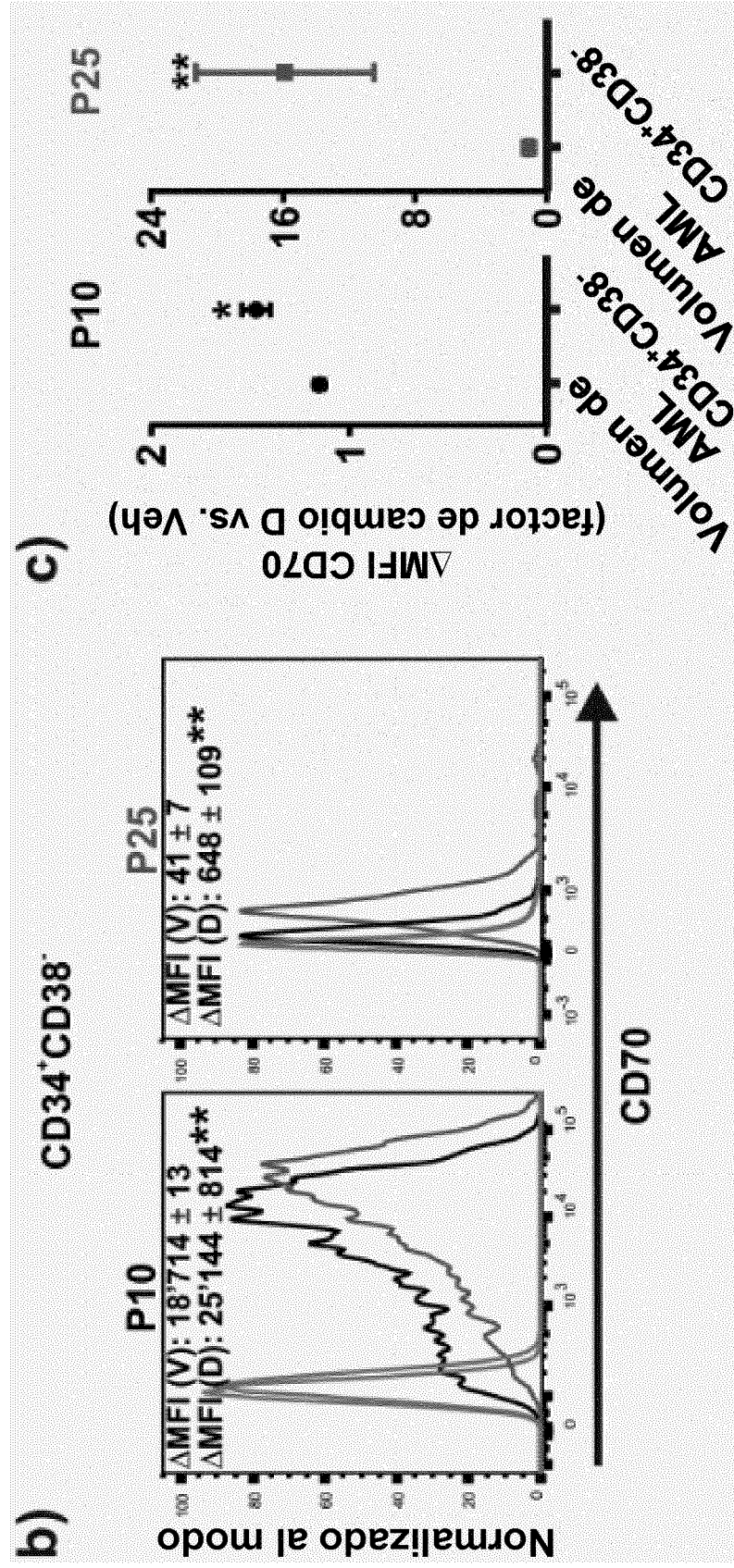


Figura 1 (cont.)

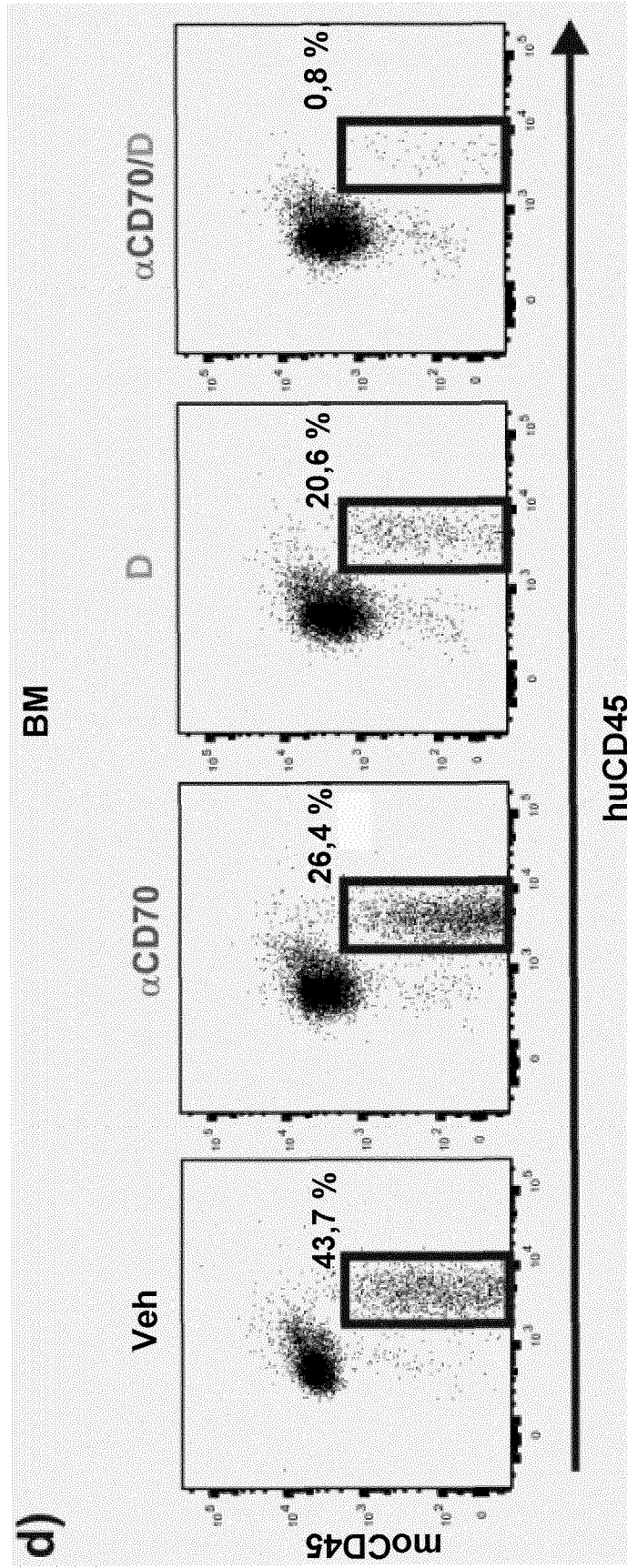


Figura 1 (cont.)

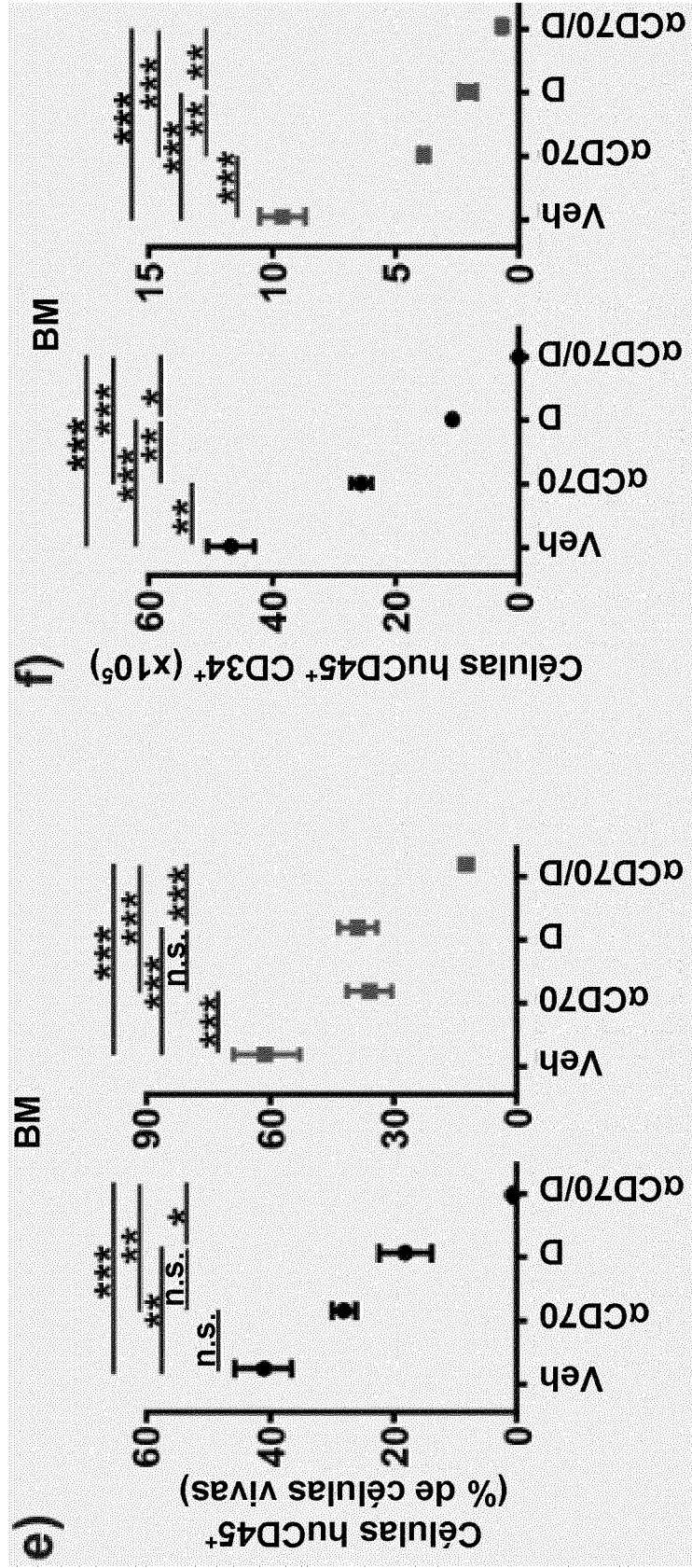


Figura 1 (cont.)

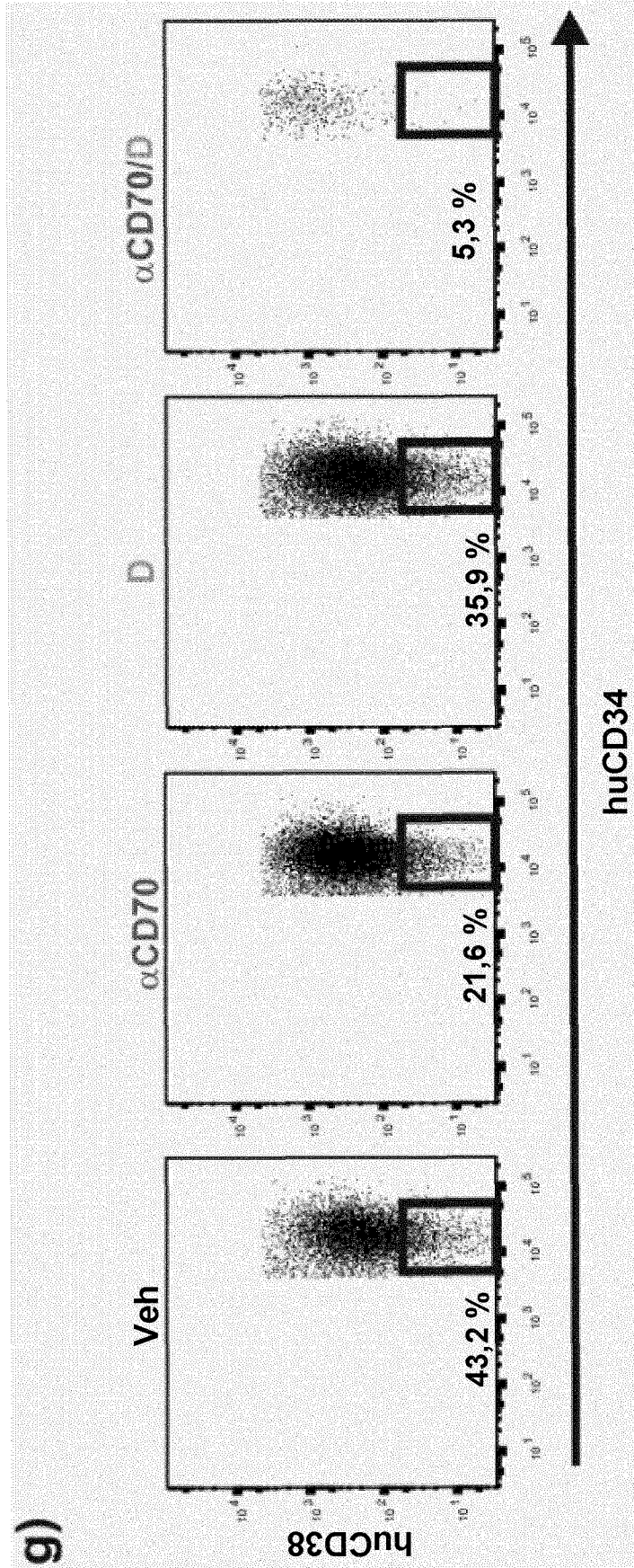
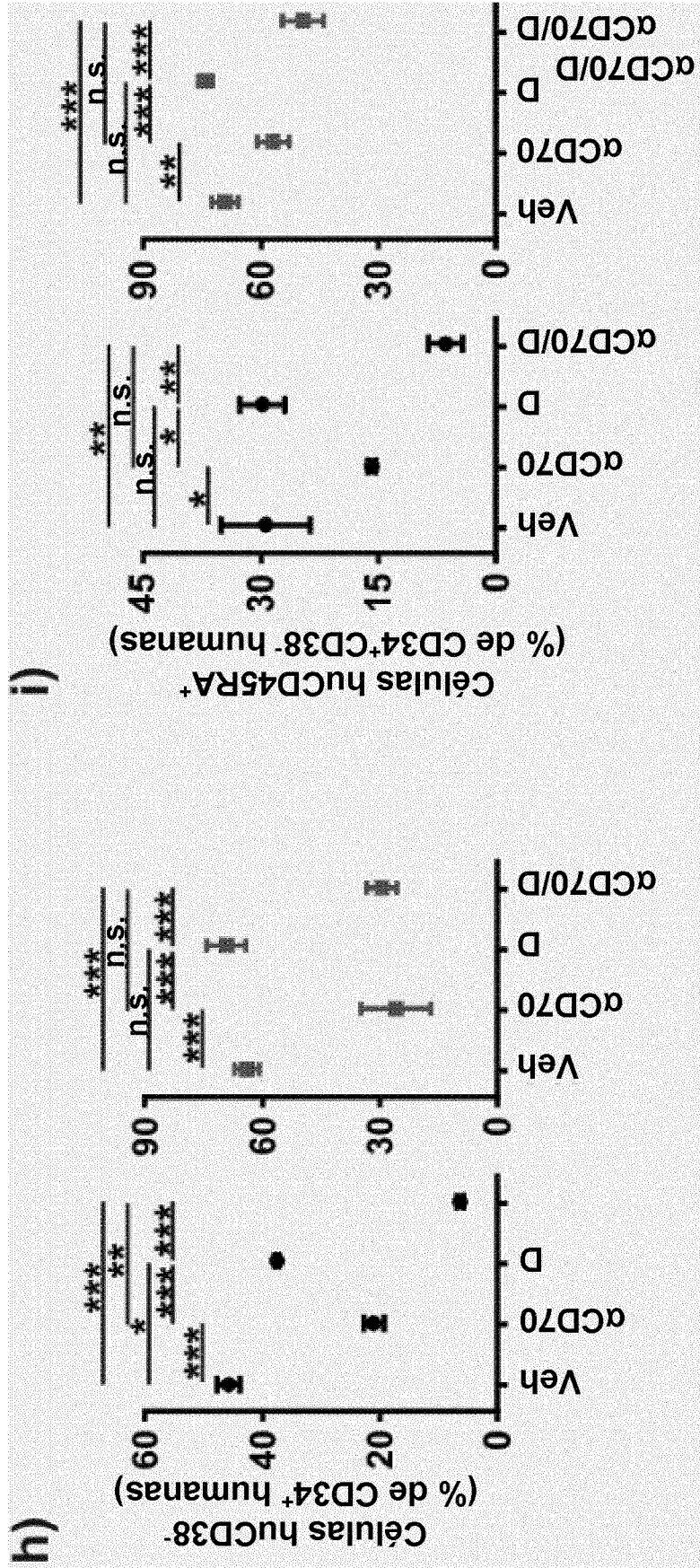


Figura 1 (cont.)



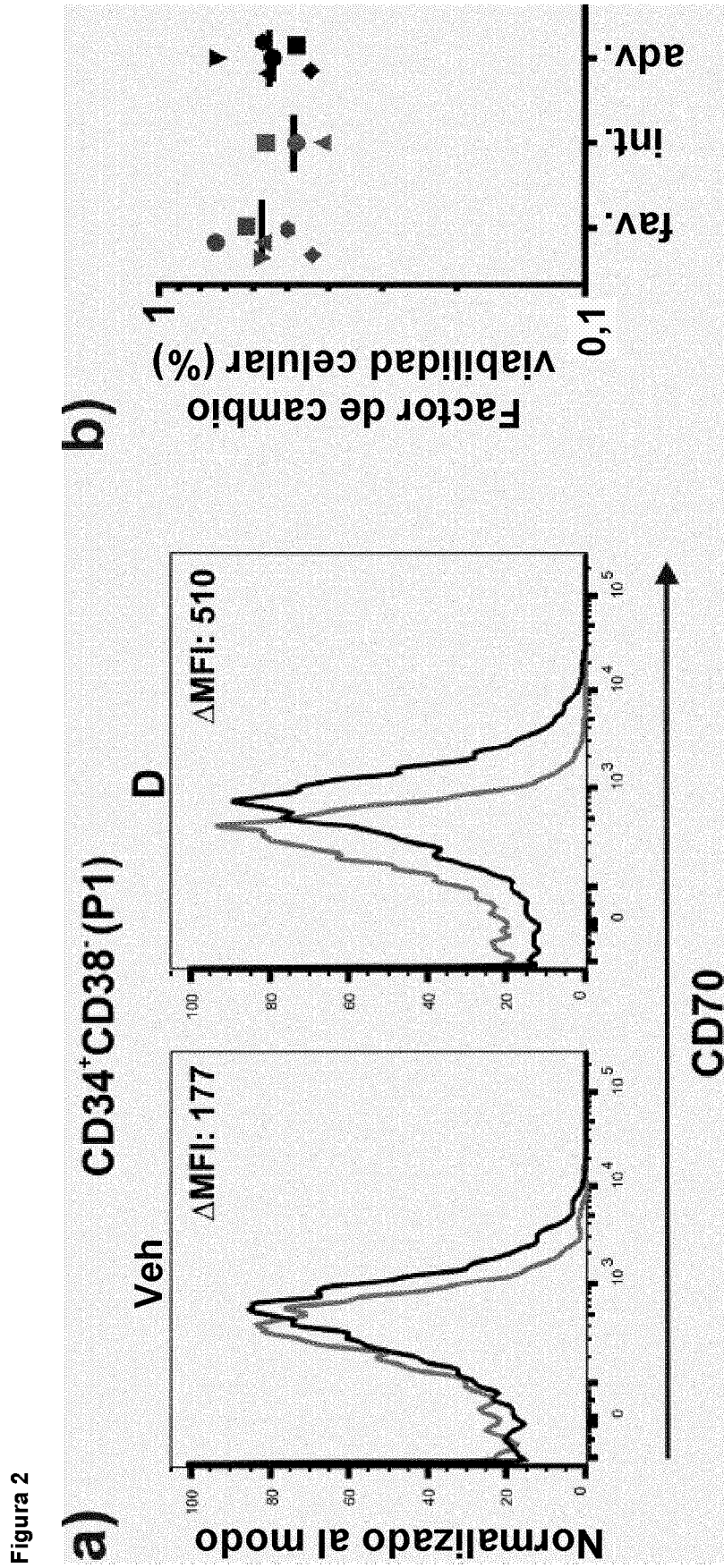


Figura 2

Figura 2 (cont.)

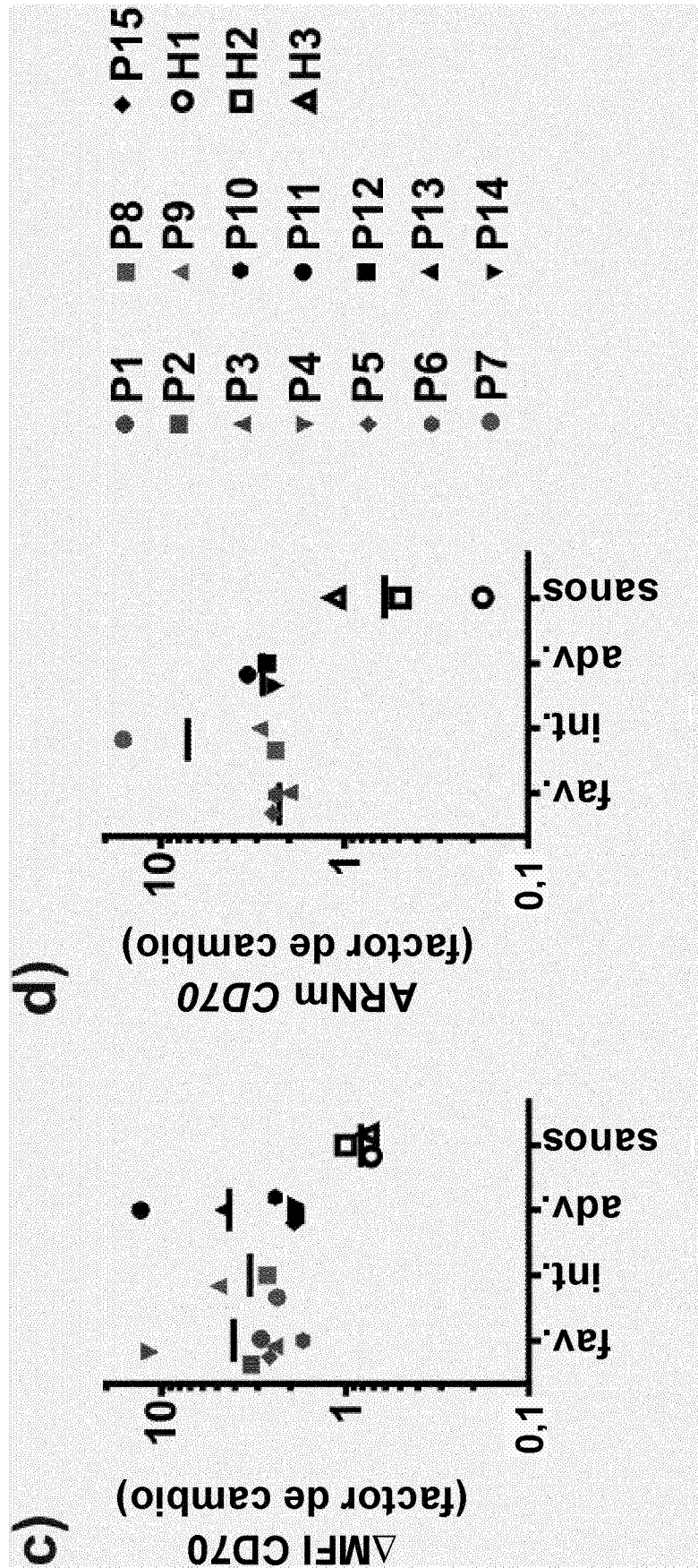
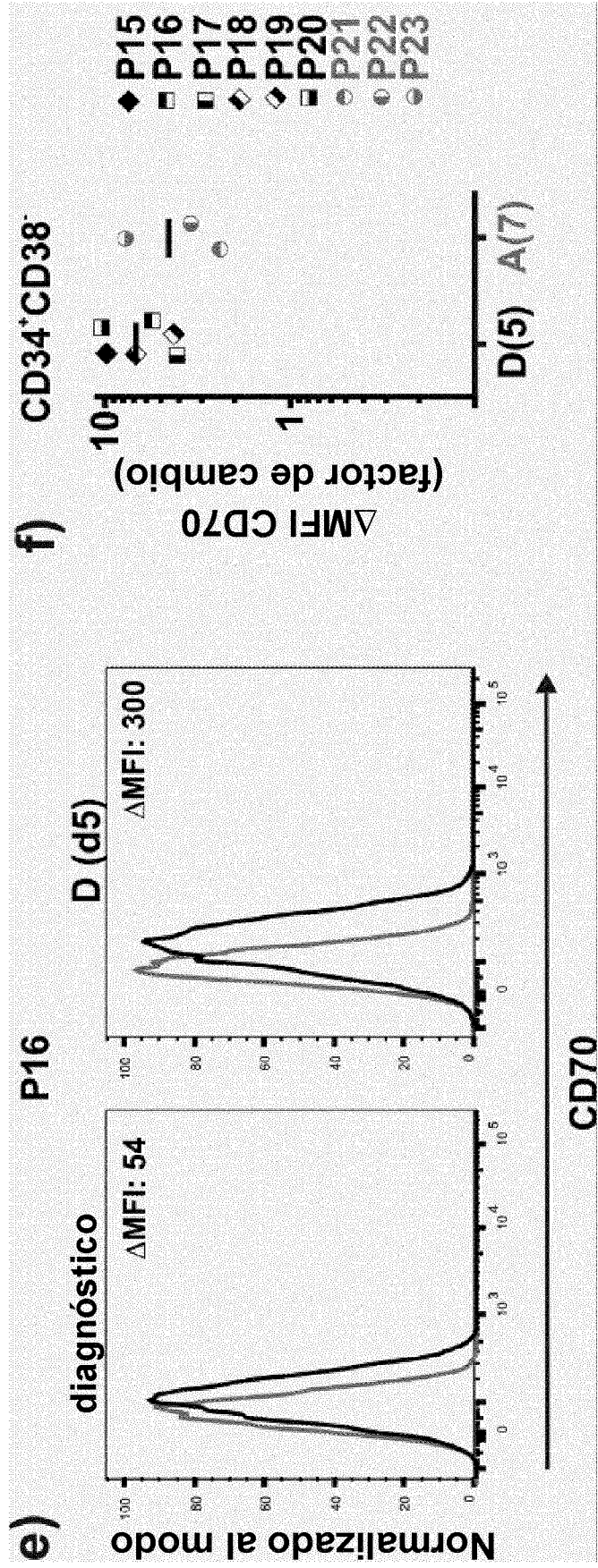


Figura 2 (cont.)



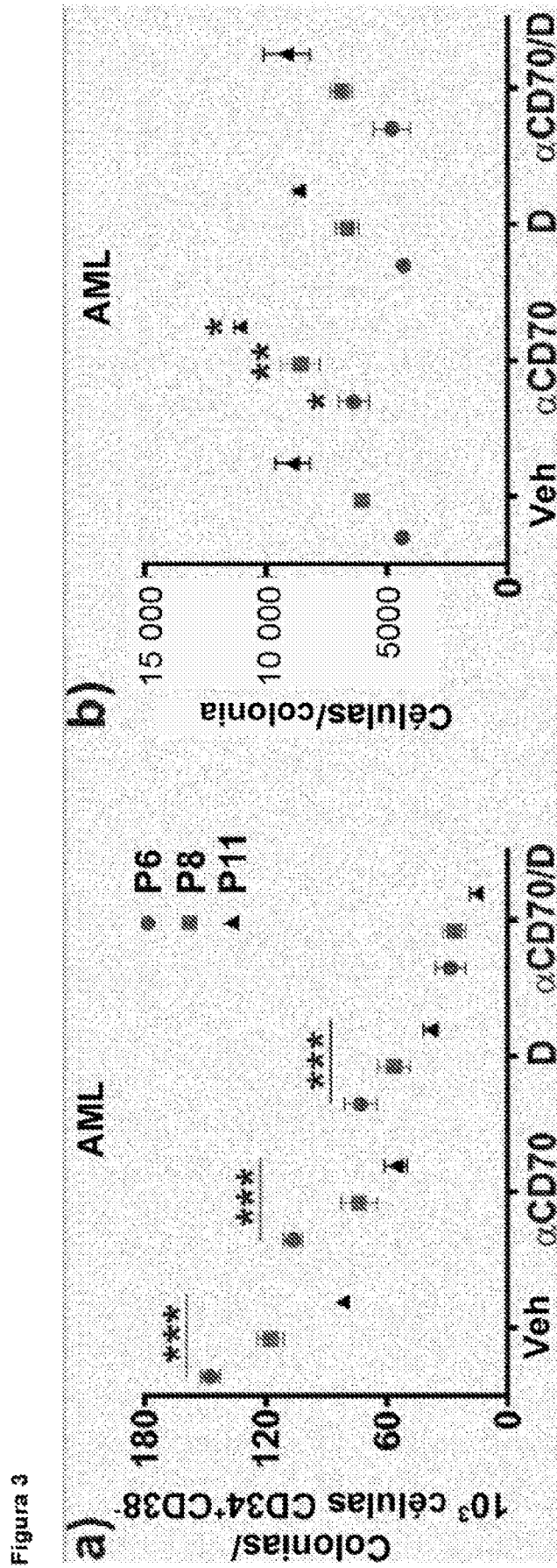


Figura 3

Figura 3 (cont.)

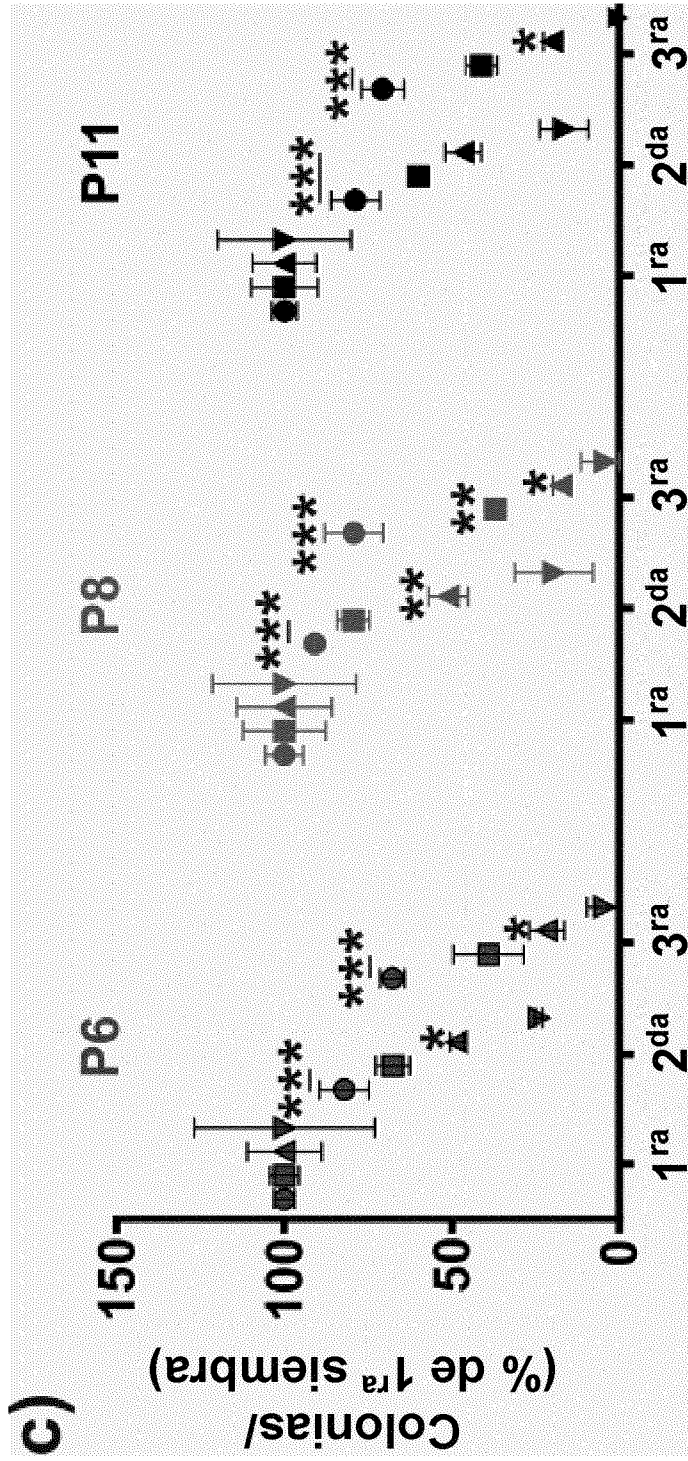


Figura 3 (cont.)

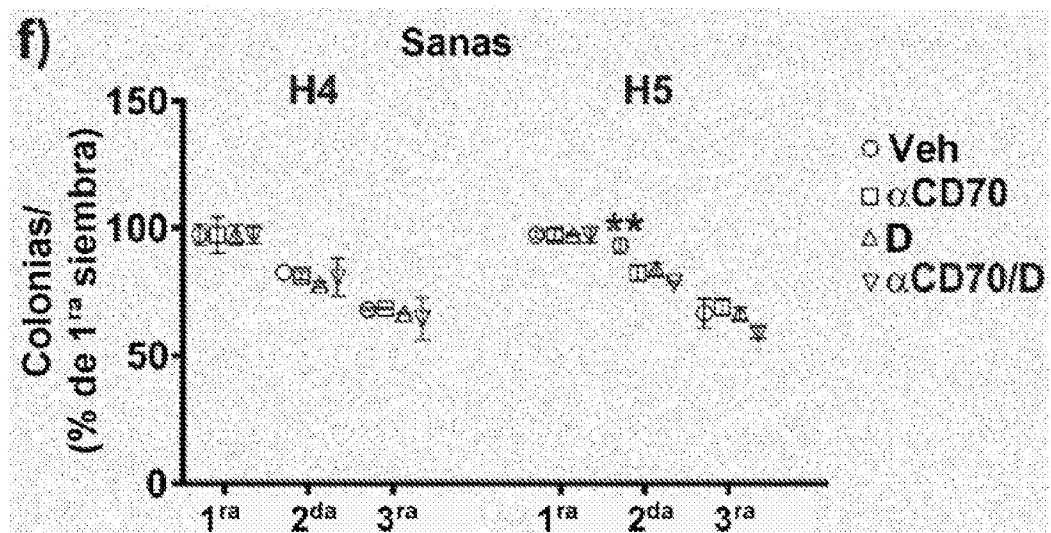
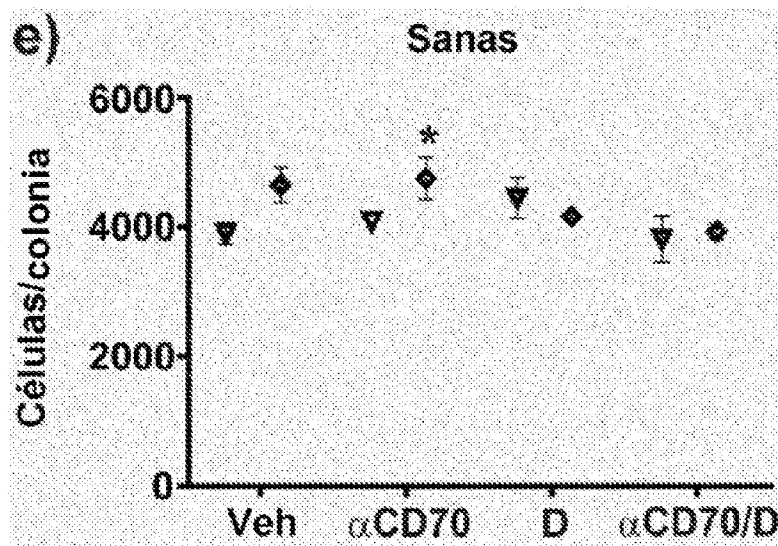
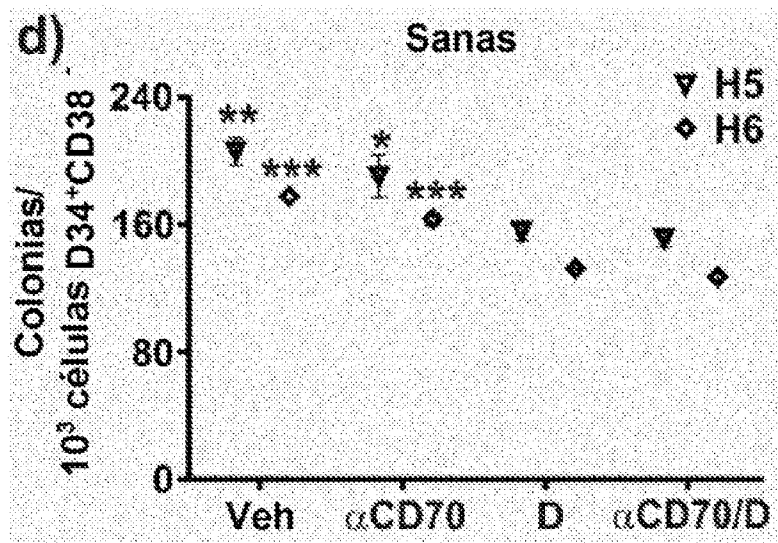


Figura 4

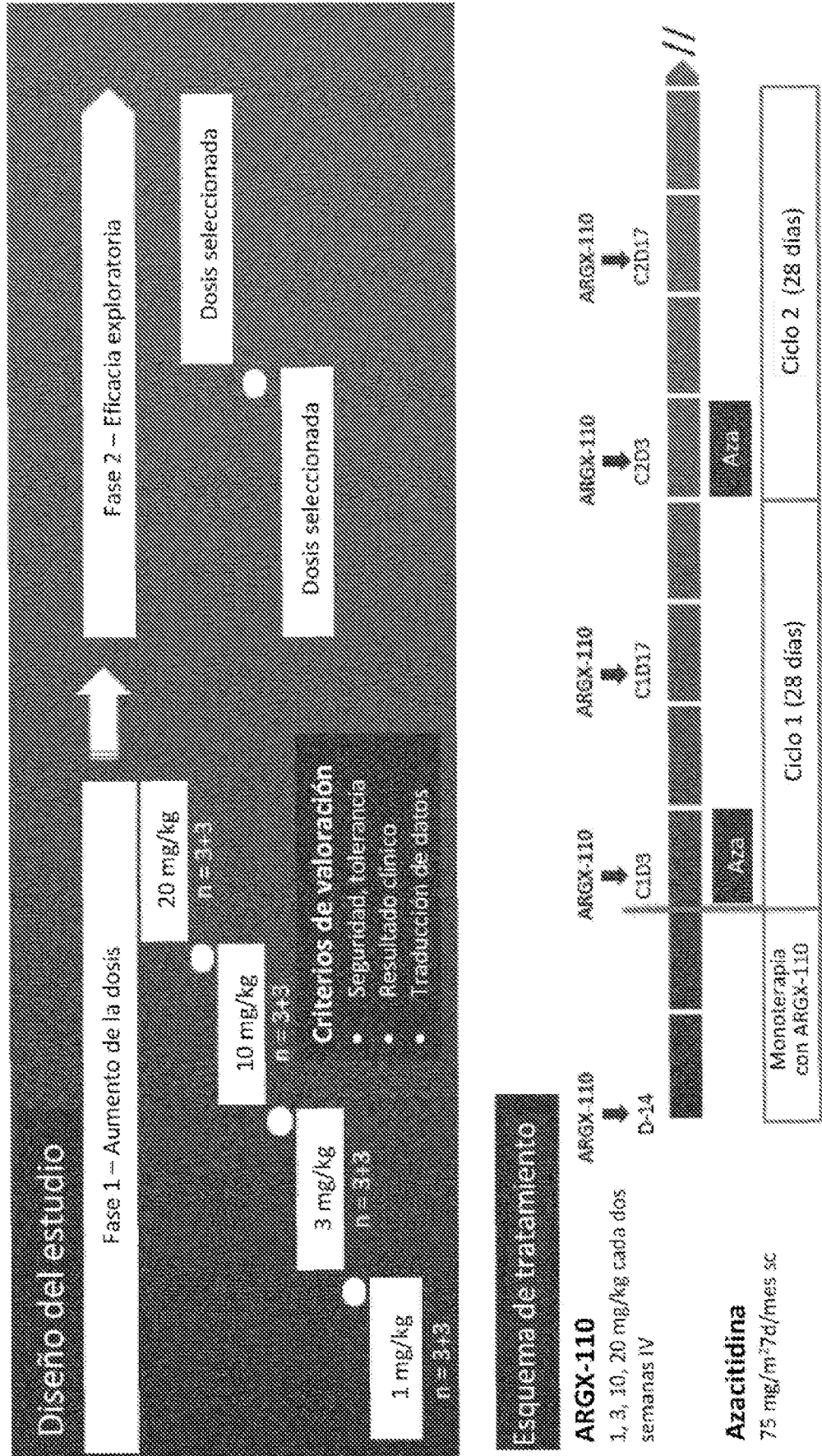


Figura 5

Las notas al pie se incluyen en la página siguiente

Procedimiento	Fase de selección Entre los días -35 a -14	Dosis de carga Día -14	Fase de tratamiento al descuberto							Visita de fin de tratamiento (EOT) ^a	Fase de seguimiento 30 y 60 días después de EOT ^a
			Ciclo 1 Día 1 ± 7 Días	Ciclo 1 Día 1 ± 7 Días	Ciclo 1 Día 1 ± 7 Días	Ciclo 2 Día 17 ± 7 Días	Ciclo 2 Día 17 ± 7 Días	Ciclo 3 Día 17 ± 7 Días	Ciclo 3 Día 17 ± 7 Días		
Administración del fármaco de estudio											
ABCX-110		X	X	X (D3)	X	X (D3)	X (D3)	X (D3)	X	X	
Azaciidina			X (D1-7)		X (D1-7)		X (D1-7)		X (D1-7)		
Recogida de muestra de sangre para el análisis farmacocinético y la inmunogenicidad											
Farmacocinética ^{a,p}		Pre-y 0h, 2h, 24h, D-10	Pre-AZA y Post-ABCX (0h, 2h, 24h)	Pre-AZA Post-ABCX y Post-ABCX (0h)	Pre-ABCX y Post-ABCX (0h)	Pre-AZA y Post-ABCX (0h)	Pre-ABCX y Post-ABCX (0h)	Pre-ABCX y Post-ABCX (0h)	Pre-ABCX y Post-ABCX (0h)	X	X
Inmunogenicidad/ADA ^{a,q}		Pre-	Pre-AZA	Pre-ABCX	Pre-ABCX	Pre-ABCX	Pre-ABCX	Pre-ABCX	Pre-ABCX	Pre-	X
Recogida de muestra de sangre para la evaluación de la enfermedad y los biomarcadores											
Genética molecular ^a		Pre-									X
Expresión génica ^a		Pre-									X
Clonometría de flujo ^a		Pre-									X
Cuantificación de proteínas del suero ^a		Pre-									X
Determinación de estado indiferenciado de células madre	X										X
Recogida de médula ósea (BM) para farmacocinética, inmunogenicidad, y evaluación de la enfermedad y biomarcadores											
	Entre los días -25 a -14	Día -14	Evaluación de la respuesta a la inmunoterapia (CI D1 pre-AZA) ^b	Evaluación de la respuesta a la inmunoterapia (CI D1 pre-AZA) ^b	Evaluación de la respuesta a la inmunoterapia (CI D1 pre-AZA) ^b	Evaluación de la respuesta a la inmunoterapia (CI D1 pre-AZA) ^b	Evaluación de la respuesta a la inmunoterapia (CI D1 pre-AZA) ^b	Evaluación de la respuesta a la inmunoterapia (CI D1 pre-AZA) ^b	Evaluación de la respuesta a la inmunoterapia (CI D1 pre-AZA) ^b	Evaluación de la respuesta a la inmunoterapia (CI D1 pre-AZA) ^b	30 y 60 días después de EOT ^a
Aspirada/Pneumia ^a	X		X	X	X	X	X	X	X	X	
Genética molecular ^a	X		X	X	X	X	X	X	X	X	
Expresión génica ^a	X		X	X	X	X	X	X	X	X	
Clonometría de flujo ^a	X		X	X	X	X	X	X	X	X	
Determinación de estado indiferenciado de células madre ^k	X		X	X	X	X	X	X	X	X	
Farmacocinética ^b	X		X	X	X	X	X	X	X	X	
Inmunogenicidad/ADA ^q	X		X	X	X	X	X	X	X	X	

Figura 6

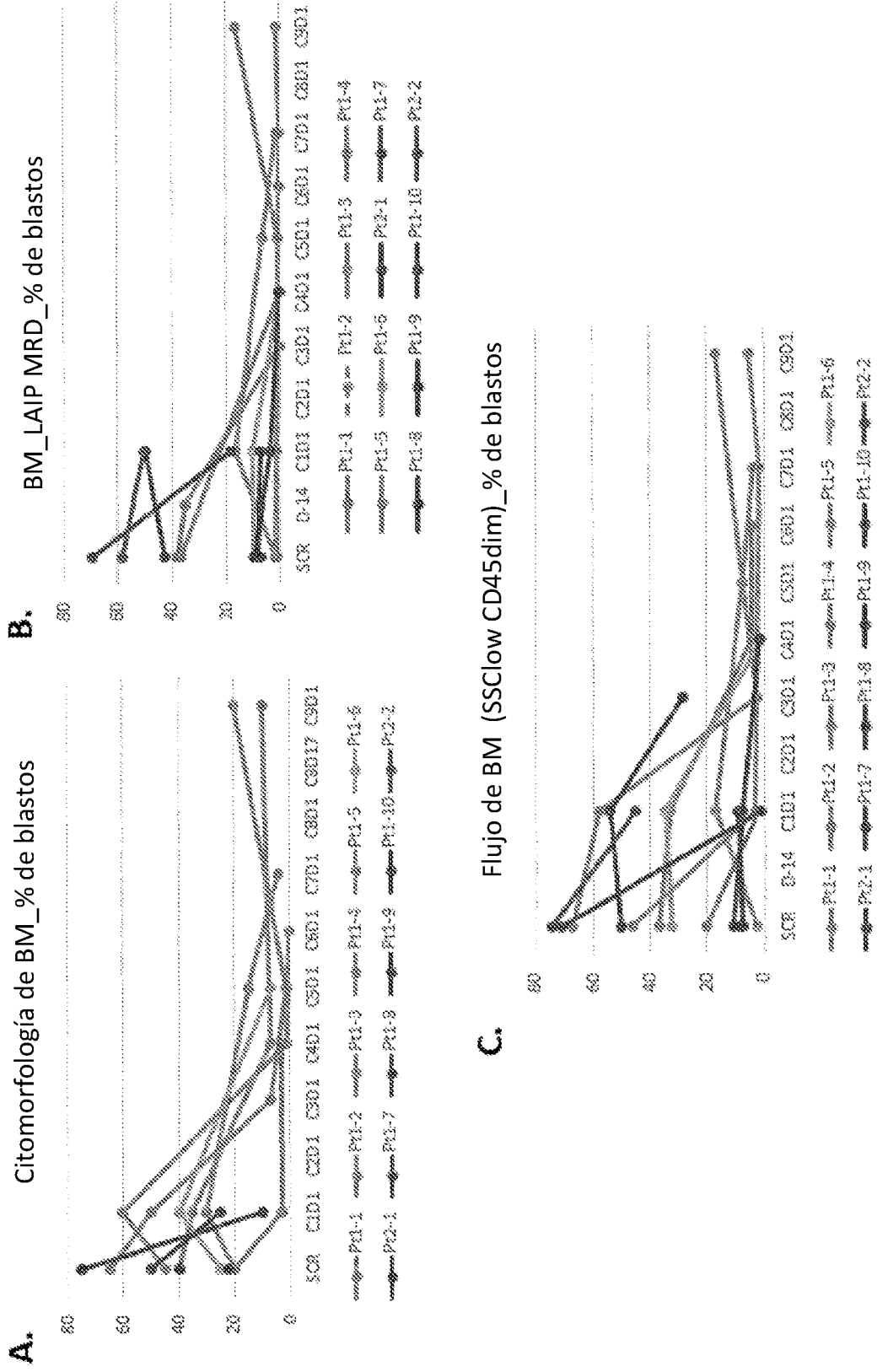


Figura 7

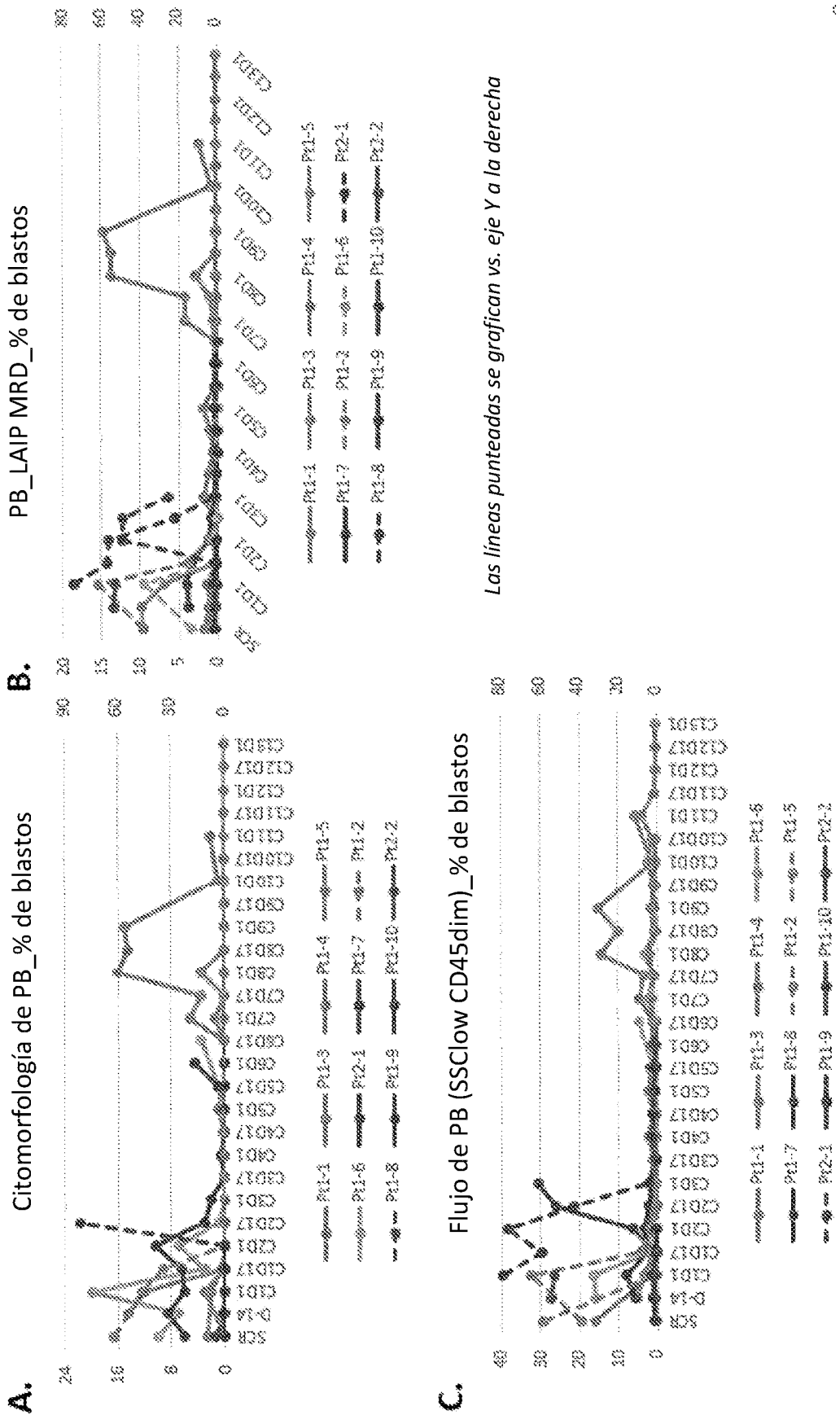
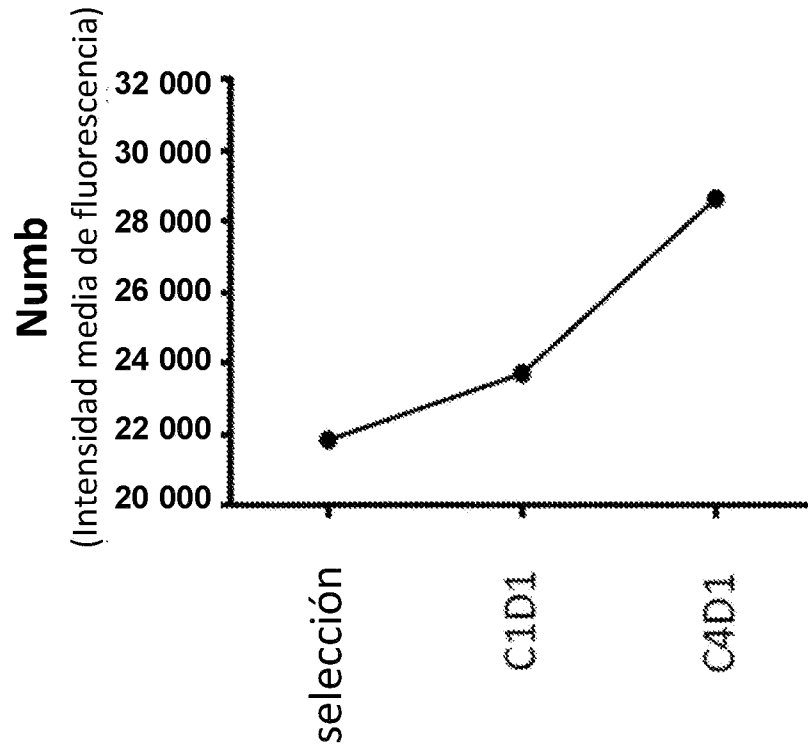
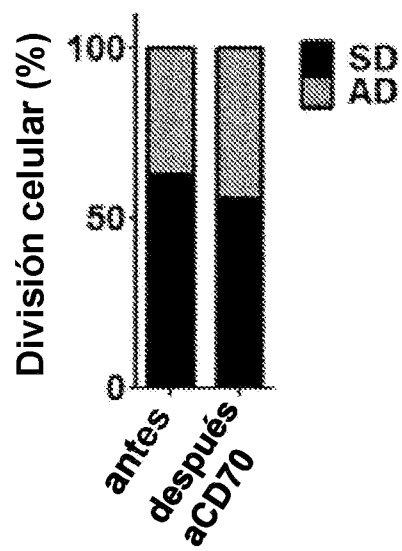


Figura 8

A



B



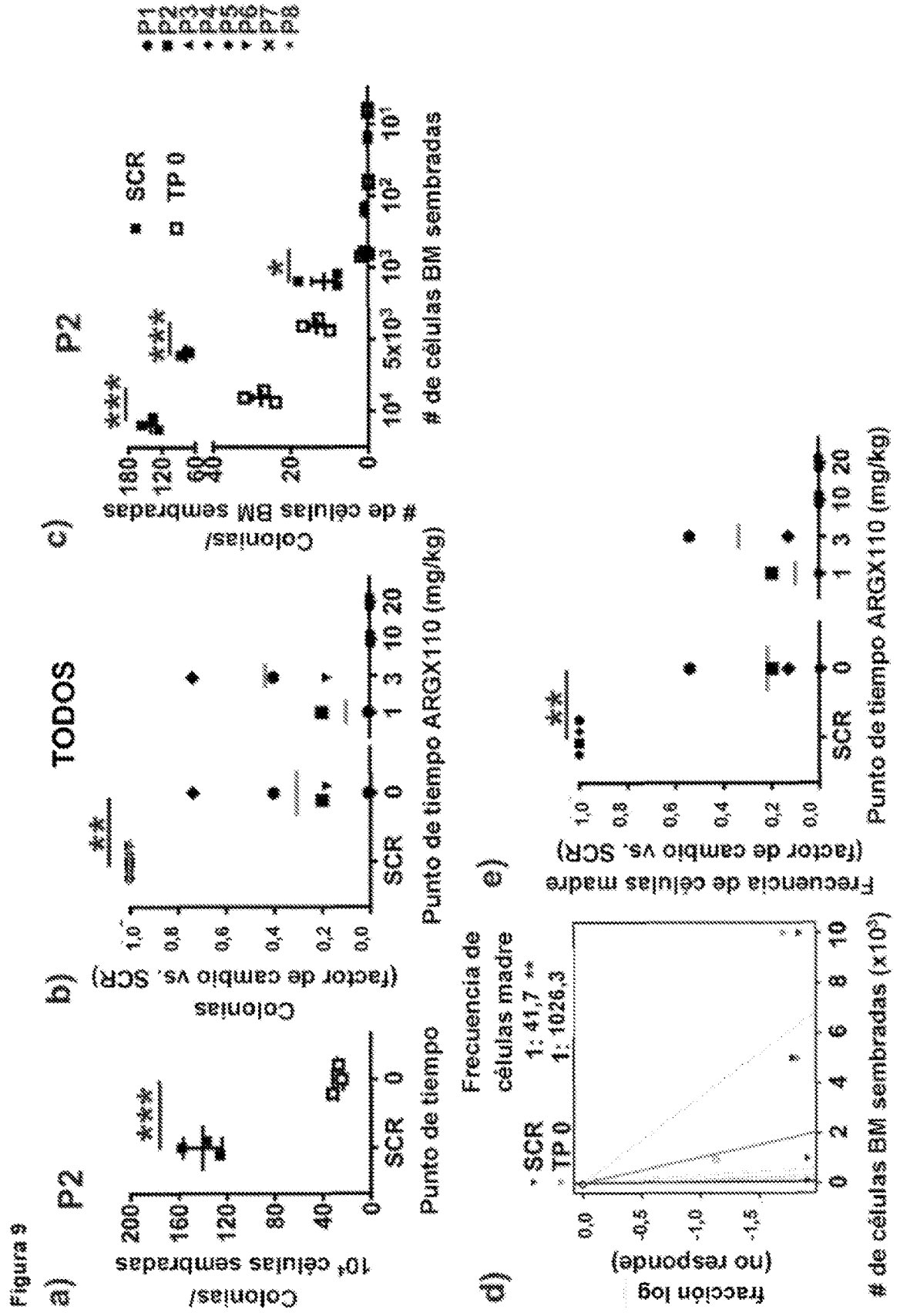


Figura 9 (cont.)

f)

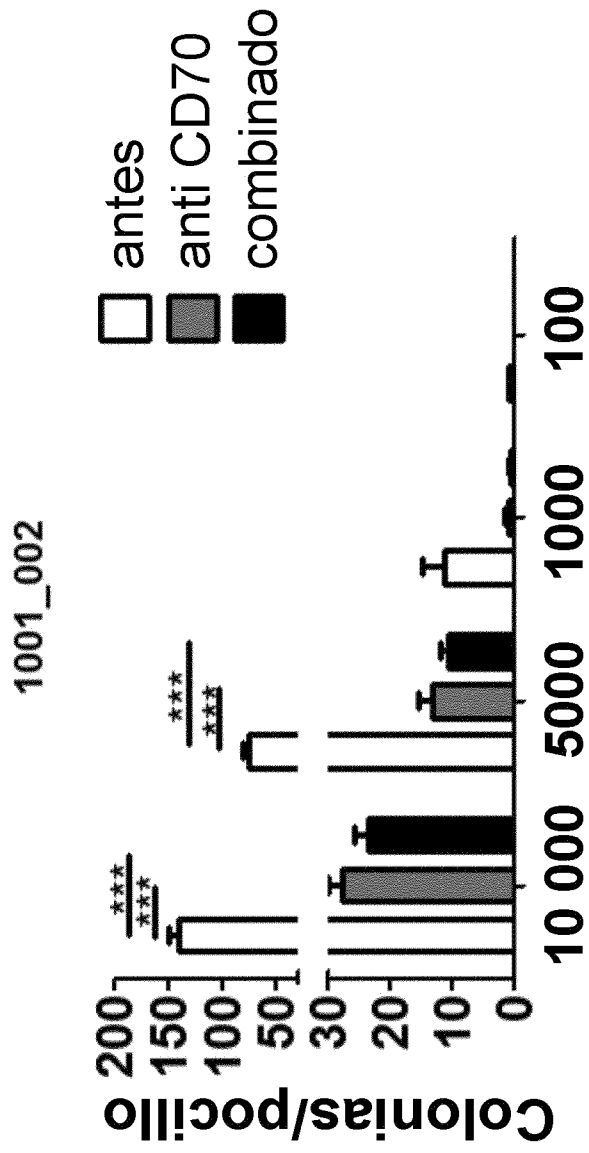


Figura 10

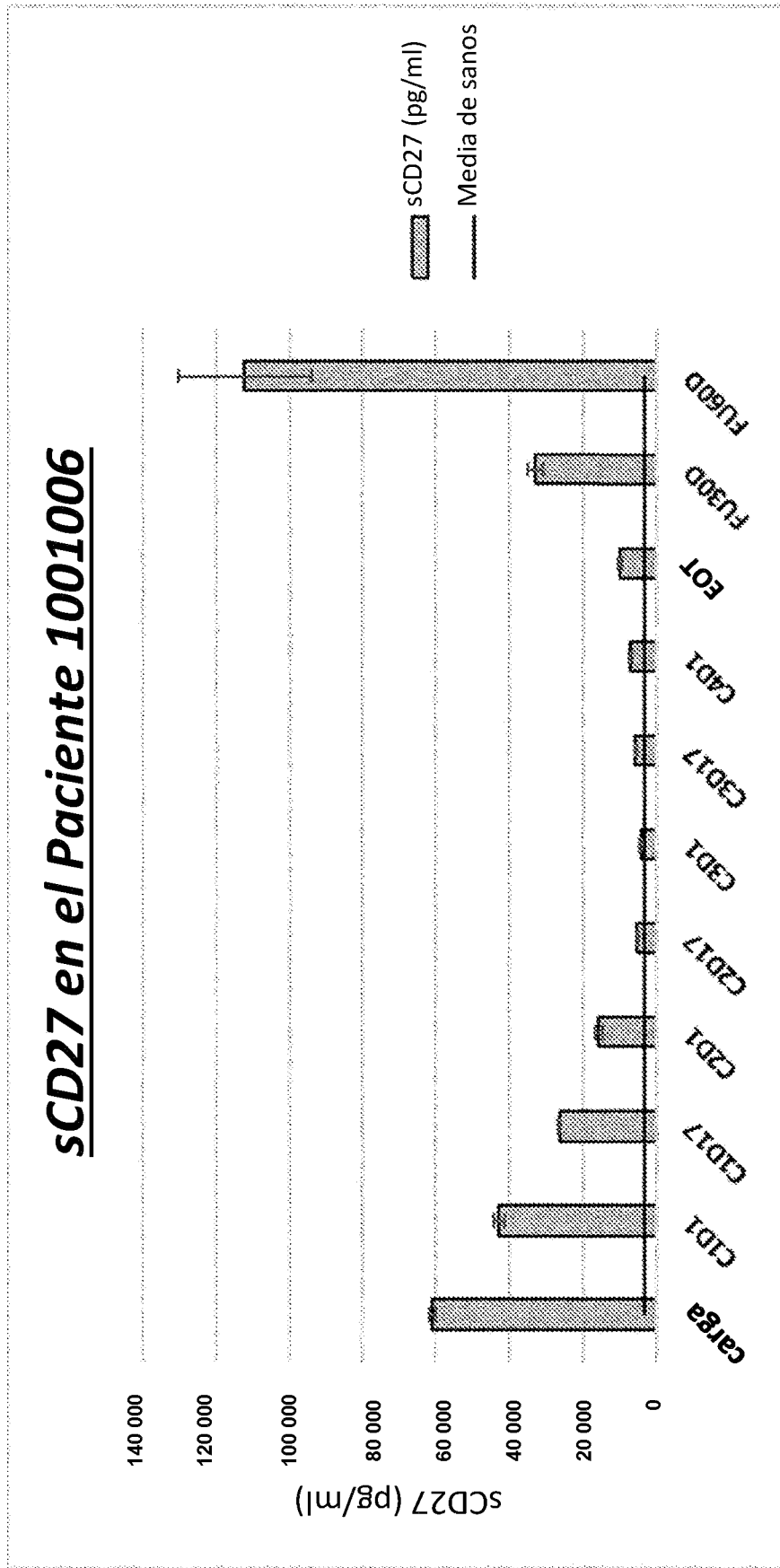


Figura 11

