

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 802 982**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.04.2015 PCT/EP2015/059095**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.08.2016 WO16119909**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.04.2015 E 15719675 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.05.2020 EP 3250600**

54 Título: **Tratamiento de trastornos autoinmunitarios con anticuerpos contra CD154**

30 Prioridad:

30.01.2015 GB 201501613

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

22.01.2021

73 Titular/es:

UCB BIOPHARMA SRL (50.0%)

Allée de la Recherche 60

1070 Brussels, BE y

BIOGEN MA INC. (50.0%)

72 Inventor/es:

OLIVER, RUTH y

ZAMACONA, MIREN

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 802 982 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

Tratamiento de trastornos autoinmunitarios con anticuerpos contra CD154

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere al tratamiento de enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias, en particular el tratamiento de lupus eritematoso sistémico con un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154.

10

Antecedentes de la invención

Las enfermedades autoinmunitarias clásicamente comprenden más de 80 enfermedades crónicas que afectan a aproximadamente el 5%-8% de la población general. Se ha hecho progreso considerable en entender el sistema inmunitario durante las últimas décadas, produciendo una mejor apreciación del papel de moléculas coestimuladoras tal como CD40 y su ligando CD145. Además, también está surgiendo un papel para tales moléculas en la patogénesis de enfermedades mucho más comunes tal como aterosclerosis, que podría expandir mucho la aplicabilidad de terapias dirigidas a esta molécula.

15

20

CD154 se expresa en linfocitos T activados y, mediante interacciones con su receptor CD40, desempeña un papel central en regular la interacción entre células T y otros tipos celulares. Se sabe que el par CD154/CD40 media la ayuda de células T análogas para células B, produciendo proliferación y diferenciación aumentada de células B, producción de anticuerpos y cambio de clase de isotipo. CD154 también fomenta la formación de centros germinales en ganglios linfáticos y la supervivencia de células B. Por tanto, CD154 contribuye a la potenciación de enfermedades autoinmunitarias y mantiene una promesa significativa como una diana terapéutica en enfermedades autoinmunitarias tal como lupus eritematoso sistémico (LES), artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, nefritis lúpica, enfermedad de Goodpasture, síndrome de Sjögren, polimiositis, dermatomiositis, psoriasis, arteritis temporal, síndrome de Churg-Strauss, esclerosis múltiple, síndrome de Guillain-Barré, mielitis transversa, miastenia grave, enfermedad de Addison, tiroiditis, enfermedad celíaca, colitis ulcerosa, sarcoidosis, anemia hemolítica, púrpura trombocitopénica idiopática, enfermedad de Behçet, cirrosis biliar primaria y diabetes autoinmunitaria, y se ha mostrado que el bloqueo de CD154 es muy eficaz en varios sistemas modelo inflamatorios y autoinmunitarios. También se ha sugerido que CD154 desempeña un papel en aspectos inflamatorios de aterosclerosis y trastornos neurodegenerativos.

25

30

35

CD154, también conocido como ligando de CD40 (CD40L), previamente denominado gp39, TRAP, o TBAM, es una glucoproteína de membrana de tipo II de 39 kDa de la familia del TNF. El polipéptido CD154 de 261 aminoácidos, consiste en un dominio extracelular de 215 aminoácidos, una región transmembrana de 24 aminoácidos, y una cola citoplásmica de 22 aminoácidos. Como otros miembros de la familia del TNF, CD154 forma una estructura trimérica y fomenta como tal la trimerización del receptor, es decir, CD40. La interacción CD154/CD40 se estabiliza por residuos cargados, es decir, las cadenas básicas en CD154 y las ácidas en CD40.

40

45

50

Hu5c8 (también conocido como BG-9588, o *replizumab*), un anticuerpo IgG₁ monoclonal humanizado contra CD154 humana, se evaluó en ensayos clínicos para una gama de enfermedades autoinmunitarias. Los resultados de un estudio de fase 2 en pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES) fueron alentadores, con reducciones significativas en biomarcadores de enfermedad, incluyendo niveles circulantes de autoanticuerpos, así como aumentos marcados en los niveles de C3. Sin embargo, a pesar de esta prometedora evidencia de efecto clínico, el desarrollo adicional de hu5c8 se interrumpió debido a una incidencia aumentada de sucesos trombóticos cardiovasculares emergentes con el tratamiento. Se administró hu5c8 por vía intravenosa a una dosis de 20 mg/kg dada cada 2 semanas durante tres dosis, y después cada 4 semanas durante cuatro dosis adicionales (siete dosis totales) (Boumpas *et al*, *Arthritis Rheum*. Mar 2003;48(3):719-27) El mecanismo por el que hu5c8 induce efectos trombóticos en seres humanos permanece poco claro, aunque se ha demostrado activación aumentada de plaquetas después de la exposición a hu5c8 *in vitro* (Meyer *et al.*, *Blood* (ASH Annual Meeting Abstracts) 2006 108: Abstract 1516).

55

60

65

El lupus eritematoso sistémico (LES) se ha clasificado como una enfermedad autoinmunitaria que puede implicar muchos sistemas orgánicos, como un trastorno reumático multisistema inflamatorio, o como una enfermedad vascular de colágeno. En Europa y los Estados Unidos de América, las estimaciones del número de individuos afectados varían de 24 a 65 casos por 100.000 habitantes en algunos estudios. Los factores de predisposición para lupus incluyen raza asiática o africana, y sexo femenino. El 90% de los pacientes con lupus son mujeres y el inicio de los síntomas habitualmente se produce entre las edades de 15 y 50 años. El lupus eritematoso sistémico parece no ser una enfermedad homogénea, sino un grupo de síndromes relacionados, con presentaciones, grados de implicación de sistemas corporales y curso clínico muy variables. Las características clónicas comúnmente vistas en LES son trastornos sanguíneos y linfáticos (linfadenopatía), trastornos cardiacos (por ejemplo, cardiomiopatía, derrame pericárdico, pericarditis), trastornos oculares (por ejemplo, queratoconjuntivitis seca), trastornos gastrointestinales (por ejemplo, úlceras en la boca, pancreatitis, peritonitis, faringitis), trastornos generales (por ejemplo, malestar, fatiga, piroxia, disminución de peso), trastornos del sistema nervioso (por ejemplo, accidente cerebrovascular, trastorno cognitivo, migraña, cefalea, neuropatía periférica), trastornos muscoesqueléticos y de tejido conjuntivo (por ejemplo,

5 artralgia, artritis (no erosiva o destructiva), fibromialgia, fractura, miositis, osteonecrosis, osteoporosis, osteopenia), trastornos psiquiátricos (por ejemplo, trastorno afectivo, ansiedad, depresión, psicosis, neurosis, trastorno mental debido a una afección médica general, trastorno psicótico), trastornos renales y urinarios (por ejemplo, nefritis lúpica, síndrome nefrótico), trastornos respiratorios, torácicos y mediastinales (por ejemplo, pleuritis, neumonitis, hipertensión pulmonar), trastornos de la piel y tejido subcutáneo (por ejemplo, alopecia, lupus eritematoso cutáneo, dermatitis, eritema generalizado, livedo reticular, paniculitis, exantema maculopapuloso, eritema de lupus eritematoso sistémico, urticaria) y trastornos vasculares (por ejemplo, hipertensión, fenómeno de Raynaud, telangiectasia, trombocitopenia, tromboflebitis, vasculitis). Además, la mayoría de los pacientes de LES presentan patrones de anticuerpos anómalos, incluyendo la presencia de anticuerpos anti-nucleares (ANA) y anti-ADN bicatenario (anti-ADNbc).

10 El curso clínico del LES es episódico, con exacerbaciones recurrentes tras aumentar la discapacidad subyacente y daño a órganos. Los corticosteroides son la piedra angular del tratamiento, pero están asociados con un número extenso de efectos secundarios con la mayor frecuencia vistos durante el uso a largo plazo. Otros fármacos usados en el marco de actividad de menor nivel incluyen analgésicos, fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), esteroides locales, y fármacos antipalúdicos (por ejemplo, cloroquina o hidroxicloroquina), con medicaciones soporte comunes que incluyen vasodilatadores (bloqueantes de canales de calcio, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina [ACE]) para hipertensión renal o síndrome de Raynaud, tratamientos locales para sarpullidos o síndromes secos, transfusiones, globulina intravenosa (i.v.) para citopenias, anticonvulsivos, medicaciones antimigraña, anticoagulantes para trombosis recurrentes, y antidepressivos. Se usan corticosteroides a altas dosis, por ejemplo, de 20 0,5 a 1,0 mg/kg/día de prednisona oral (o equivalente) o de 500 mg a 1 g al día de metilprednisolona i.v. en pulso, para tratar exacerbaciones agudas de LES, con inmunosupresores (por ejemplo, azatioprina, ciclofosfamida, metotrexato, micofenolato mofetilo, leflunimoda) usados en general en casos de moderados a graves cuando otros tratamientos son ineficaces o para limitar o prevenir daño orgánico principal a largo plazo de la enfermedad o el uso de corticoesteroides ('ahorrador de esteroides'). Este arsenal terapéutico presente es inadecuado debido a la eficacia limitada y/o perfil de efectos secundarios. A pesar de la gran necesidad médica para nuevas terapias eficaces de LES con un buen perfil de seguridad el desarrollo de tales terapias ha demostrado ser particularmente difícil y muchos candidatos terapéuticos han fracasado (Eisenberg, 2009).

30 La ruta coestimuladora CD40/CD154 también se ha implicado en la patogénesis de trastornos neurodegenerativos y neuromusculares y el tratamiento con compuestos que interfieren con la ruta parece ser útil para el tratamiento de trastornos neurodegenerativos y neuromusculares (documento WO 2010/065819, cuyo contenido se incorpora en el presente documento en su totalidad).

35 Los trastornos neurodegenerativos y neuromusculares incluyen enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, miastenia grave, neuropatía motora multifocal, esclerosis lateral primaria, atrofia muscular raquídea, enfermedad de Kennedy, y ataxia espinocerebelosa.

40 La esclerosis lateral amiotrófica (ELA), algunas veces llamada enfermedad de Lou Gehrig, es un trastorno neurológico progresivo letal caracterizado por atrofia de fibras musculares resultante de la degeneración de neuronas motoras en la columna vertebral y el cerebro. La ELA afecta aproximadamente a 30.00 ciudadanos estadounidenses con solo aproximadamente el 10% de los casos clasificados como la forma familiar de ELA. Aunque la ELA se caracteriza por la pérdida de neuronas motoras en la médula espinal que produce atrofia muscular, la enfermedad también se manifiesta a sí misma con cambios en el transporte axónico, agregación de proteínas, excitotoxicidad, astrocitosis, disfunción mitocondrial, activación de microglía, y remodelación sináptica. La activación de microglía, astrocitosis y la presencia de células inflamatorias infiltrantes de la periferia se han descrito bien. Hay acumulación de depósitos inmunorreactivos de IgG en la médula espinal de pacientes de ELA, infiltración de linfocitos, células dendríticas, monocitos, y macrófagos en la médula espinal en ELA. Aunque el papel de células inmunitarias infiltrantes se entiende mal, trabajos recientes sugerirían que las poblaciones de células T infiltrantes son neuroprotectoras y no citotóxicas. Aunque ELA tiene un componente inmunitario mediado por la activación de la microglía y astrocitos no se considera que sea un trastorno autoinmunitario. A diferencia de enfermedades tales como artritis reumatoide o lupus eritematoso sistémico en las que se ha descrito la implicación de rutas inmunomoduladoras específicas (por ejemplo, la ruta coestimuladora), la implicación de tales rutas no se ha descrito para ELA.

55 Hay una necesidad en la técnica para nuevos tratamientos eficaces de trastornos autoinmunitarios, inflamatorios, neurodegenerativos y neuromusculares. Se ha demostrado que la ruta de interacción CD40-CD40L(CD154) es relevante para los trastornos de patofisiología autoinmunitaria, inflamatoria, neurodegenerativa y neuromuscular con anticuerpos o fragmentos de anticuerpos que se unen específicamente a CD154 administrados a una dosis segura y eficaz.

60 **Compendio de la invención**

65 No se pretende que el siguiente compendio defina cada aspecto de la invención, y los aspectos adicionales se describen en otras secciones, tal como la descripción detallada. Se pretende que el documento entero se entienda como una divulgación unificada, y se debe entender que se contemplan todas las combinaciones de características descritas en el presente documento, incluso si la combinación de características no se encuentran juntas en la misma frase, o párrafo, o sección de este documento. Con respecto a aspectos de la invención descritos o reivindicados con

“un” o “una”, se debe entender que estos términos significan “uno o más” a menos que el contexto de forma no ambigua requiera un significado más estricto. Se debe entender que el término “o” abarca puntos en la alternativa o juntos, a menos que el contexto requiera de forma no ambigua otra cosa. Si aspectos de la invención se describen como que “comprende” una característica, también se contemplan formas de realización que “consisten en” o “consisten esencialmente en” la característica. Donde se usa el término “aproximadamente” en la solicitud también divulga emplear el valor exacto especificado. Donde se hace referencia a valores puntuales, la solicitud también divulga sobre tales valores que se emplean, siendo igual el caso para puntos finales de intervalos.

Se realizaron estudios clínicos de fase I, aleatorizados, con doble enmascaramiento, controlados por placebo de la seguridad y tolerabilidad de un Fab' PEGilado monovalente que se une específicamente a CD154 (CDP7657) en pacientes serológicamente positivos afectados con lupus eritematoso sistémico (LES). El Fab' PEGilado monovalente que se une específicamente a CD154 se toleró bien, y no se observaron efectos secundarios tromboembólicos.

Como resultado del estudio se ha encontrado ahora una nueva pauta de dosis para un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 en el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias, tal como LES, o una enfermedad neurodegenerativa o neuromuscular.

La invención se refiere a las formas de realización como se presentan en las reivindicaciones.

En particular, la invención se refiere a un fragmento de anticuerpo Fab' monovalente que se une específicamente a CD154 para uso en un método para tratar un trastorno autoinmunitario, inflamatorio, neurodegenerativo o neuromuscular en un sujeto humano, método que comprende:

- a) administrar una dosis de carga inicial de 20-60 mg/kg de dicho fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 a un sujeto humano en necesidad de tal tratamiento; y
- b) 2 semanas después de la dosis de carga inicial administrar una o más dosis adicional(es) de la mitad de la dosis de carga inicial con una frecuencia de semanas alternas de dicho fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 al sujeto en necesidad de tal tratamiento,

en donde dicho fragmento de anticuerpo tiene la secuencia de cadena ligera mostrada en SEQ ID NO: 9 y las secuencias de cadena pesada mostradas en SEQ ID NO: 10, y

en donde dicho fragmento de anticuerpo tiene

- i) un grupo maleimida covalentemente unido a un grupo tiol único en la región bisagra modificada; un residuo de lisina está covalentemente unido al grupo maleimida; y
- ii) un polímero de metoxipoli(etilenglicol) que tiene un peso molecular de aproximadamente 20 kDa está unido a cada uno de los grupos amina en el residuo de lisina.

Breve descripción de las figuras

La figura 1 muestra la incidencia de anticuerpos anti-fármaco en sujetos con LES. Se observaron respuestas de anticuerpo anti-fármaco muy débiles (es decir, muy cerca al valor de corte) a través de todas las dosis para sujetos con LES. La mayor respuesta en el grupo de dosis de 60 mg/kg donde el ADA medido aumentó según se depuró el fármaco. El valor de corte del ensayo es 0,0063 unidades/ml (donde 1 unidad/ml equivale a 1 µg/ml de calibrador). Se encontró que los anticuerpos anti-fármaco totales que se desarrollaron a un nivel bajo en pacientes con LES no tuvo impacto en la farmacocinética del Fab' PEGilado monovalente que se une específicamente a CD154.

La figura 2 muestra la pauta de dosis seguida durante el estudio clínico de prueba de concepto inicial con CDP7657 (estudio SL0014), en donde se estableció el principio de usar una dosis de carga mayor seguido por dosis de mantenimiento regulares, iguales.

La figura 3 muestra los resultados principales del estudio SL0014, en los que los dos desenlaces de eficacia clave

- una mejora mínima de 4 puntos en el Índice de Responder SLEDAI-2K (SRI-4) y
- respuesta según la Evaluación de Lupus Compuesto (BICLA) basado en el Grupo de Evaluación de Lupus de las Islas Británicas (BILAG)

ambos demostraron tasas de respuesta consistentes y sustancialmente mayores para sujetos que recibieron CDP7657 en la pauta de dosis descrita que para los que recibieron tratamiento con placebo.

La figura 4 muestra la respuesta clínica sustancial a CDP7657 que se vio en un mes del inicio del tratamiento, que siguió creciendo hasta el final del tratamiento a los 3 meses, y se mantuvo durante 3 meses adicionales después de ello.

La figura 5 muestra los diferentes perfiles de exposición de plasma para sujetos a lo que se administró una única dosis de 60 mg de CDP7657, en comparación con la pauta de dosis usada en el estudio SL0014. El último produce obtención rápida y después mantenimiento consistente de niveles en plasma por encima del objetivo indicado de 100 µg/ml, mientras sigue la dosificación.

5 La figura 6 muestra los datos farmacocinéticos de las dos pautas de dosis ilustradas en la figura 5, y confirma el éxito de la pauta del estudio SL0014 en mantener niveles de exposición por encima de 100 µg/ml durante al menos el 90% del tiempo.

10 La figura 7 muestra las características demográficas basales de los sujetos aleatorizados a los grupos de tratamiento activo y placebo, y demuestra que se logró una aleatorización bien equilibrada.

La figura 8 muestra la incidencia y carácter de los efectos adversos vistos durante el estudio SL0014, que indica poca diferencia sustancial entre los grupos de tratamiento activo y placebo. No hubo efectos de, o sugestivos de, tromboembolia.

Descripción detallada de la invención

20 En el presente documento se divulgan métodos de tratar una enfermedad autoinmunitaria o inflamatoria o una enfermedad neurodegenerativa en los que la administración de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une selectivamente a CD154 es beneficiosa. Varios aspectos de la divulgación se refieren al tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria o inflamatoria o una enfermedad neurodegenerativa con un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154, en particular CDP7657.

25 Con el fin de que la presente invención se pueda entender más fácilmente, ciertos términos se definen primero.

El término “anticuerpo” o “anticuerpos” como se usa en el presente documento, se refiere a moléculas de inmunoglobulina compuestas de cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro. Cada cadena pesada está compuesta de una región variable de la cadena pesada (abreviada en el presente documento como HCVR o VH) y una región constante de la cadena pesada. La región constante de la cadena pesada está compuesta de tres dominios CH1, CH2 y CH3. Una región constante de la cadena pesada también puede tener un cuarto dominio constante, CH4. Cada cadena ligera está compuesta de una región variable de la cadena ligera (abreviada en el presente documento como LCVR o VL) y una región constante de la cadena ligera. La región constante de la cadena ligera está compuesta de un dominio, CL. Las regiones VH y VL se pueden subdividir adicionalmente en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), entremezcladas con regiones que están más conservadas, llamadas regiones marco (FR). Cada VH y VL está compuesta de tres CDR y cuatro FR, organizadas de extremo amino a extremo carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Los límites exactos de estas CDR se han definido diferentemente según diferentes sistemas. El sistema descrito por Kabat no solo proporciona un sistema de numeración de residuos inequívoco aplicable a cualquier región variable de un anticuerpo, sino que también proporciona límites de residuos precisos que definen las tres CDR. Estas CDR se pueden denominar las CDR de Kabat. Clothia y col. encontraron que ciertas subporciones en las CDR de Kabat adoptan conformaciones del esqueleto peptídico casi idénticas, a pesar de tener gran diversidad a nivel de la secuencia de aminoácidos (Chothia et al. (1987) Mol. Biol. 196:901-917; Chothia et al. (1989) Nature 342:877- 883). Estas regiones se pueden denominar las CDR de Chothia, que tienen límites que solapan con las CDR de Kabat. Otros límites que definen CDR que solapan con las CDR de Kabat han sido descritas por Padlan (1995) FASEB J. 9:133-139 y MacCallum (1996) J. Mol. Biol. 262(5):732-45. Aún otras definiciones de límites de CDR pueden no seguir estrictamente uno de los sistemas descritos en el presente documento, pero no obstante solaparán con las CDR de Kabat, aunque pueden estar acortadas o alargadas a la luz de la predicción o hallazgos experimentales que residuos particulares o grupos de residuos o incluso CDR enteras no tienen impacto significativo en la unión al antígeno. Los métodos usados en el presente documento pueden utilizar las CDR definidas según cualquiera de estos sistemas, aunque ciertas formas de realización usan las CDR definidas por Kabat o Clothia. El término inmunoglobulina o inmunoglobulinas se usa de forma sinónima con “anticuerpo” o “anticuerpos”, respectivamente. El término “anticuerpo” o “anticuerpos” como se usa en el presente documento incluye, pero no está limitado a anticuerpos recombinantes que se generan por tecnologías recombinantes como se sabe en la técnica. Un “anticuerpo” o “anticuerpos” puede ser de cualquier origen incluyendo de especies de mamíferos tal como humano, primate no humano (por ejemplo, humano tal como de chimpancé, babuino, rhesus o macaco cangrejero), roedores (por ejemplo, de ratón, rata, conejo o cobaya), cabra, bovino o especies de caballo; o de especies de aves tal como anticuerpos de pollo o de especies de peces tal como anticuerpos de tiburón. “Anticuerpo” o “anticuerpos” incluye anticuerpos de cualquier isotipo, incluyendo los isotipos humanos IgA₁, IgA₂, IgD, IgG₁, IgG_{2a}, IgG_{2b}, IgG₃, IgG₄, IgE e IgM y variantes modificadas de los mismos. El anticuerpo en el presente documento se dirige contra un “antígeno” de interés. Preferiblemente, el antígeno es un polipéptido biológicamente importante y la administración del anticuerpo a un mamífero que padece una enfermedad o trastorno puede producir un beneficio terapéutico en ese mamífero. Sin embargo, también se contemplan anticuerpos dirigidos contra antígenos no polipeptídicos. Donde el antígeno es un polipéptido, puede ser una molécula transmembrana (por ejemplo, receptor) o ligando tal como un factor de crecimiento o citoquina. Las dianas moleculares preferidas para anticuerpos abarcados por la presente divulgación incluyen polipéptidos CD tal como CD3, CD4, CD8, CD19, CD20, CD22, CD34, CD38,

CD40 y CD154; FcRN; OX40; miembros de la familia de receptores de HER tal como el receptor de EGF, receptor HER2, HER3 o HER4; moléculas de adhesión celular tal como LFA-1, Mac1, p150,95, VLA-4, ICAM-1, VCAM e integrina av/b3 incluyendo subunidades α o β de las mismas (por ejemplo, anticuerpos anti-CD11a, anti-CD18 o anti-CD11b); quimioquinas y citoquinas o sus receptores tal como α y β , IL-2, IL-6, el receptor de IL-6, IL-7, IL-12, IL-13, formas de IL-17, IL-18, IL-21, IL-23, TNF α y TNF β ; factores de crecimiento tal como VEGF; IgE; antígenos de grupo sanguíneo; receptor flk2/flt3; receptor de obesidad (OB); receptor mpl; CTLA-4; polipéptido C; etc.

El término “fragmento de anticuerpo” o “fragmentos de anticuerpos” como se usa en el presente documento se refiere a un anticuerpo natural que carece de uno o más dominios o uno o más aminoácidos. Típicamente, el fragmento de anticuerpo contiene la región de unión al antígeno entera o región variable de la misma de tal anticuerpo natural. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen cualquier anticuerpo que carece de o no tiene la porción Fc. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen también fragmentos Fab; Fab', F(ab')₂, Fv y scFv; diacuerpos; triacuerpos, tetracuerpos, minicuerpos; anticuerpos que consisten esencialmente en un único, dos o tres dominio(s) de inmunoglobulina tal como Domain Antibodies™; anticuerpos monocatenarios; variantes biespecíficas, triespecíficas o multiespecíficas de cualquiera de los anteriores. El término “fragmento de anticuerpo” o “fragmentos de anticuerpo” como se usa en el presente documento también se refiere a anticuerpos de camélidos (por ejemplo, de camellos o llamas tal como Nanobodies™) y derivados de los mismos. Los fragmentos de anticuerpos son bien conocidos en la técnica (Holliger y Hudson, 2005). Se han desarrollado varias técnicas para la producción de fragmentos de anticuerpo y se conocen en la técnica (Glover y Humphreys, 2004). El término “fragmento de anticuerpo” o “fragmentos de anticuerpos” como se usa en el presente documento, comprende fragmentos de anticuerpos humanos, humanizados, primatizados y quiméricos.

El término “puntuación BILAG” o índice “BILAG” como se usa en el presente documento, se refiere a la puntuación e índice del Grupo de Evaluación de Lupus de las Islas Británicas, respetivamente (Symmons DP *et al.* Q J Med. Nov 1988;69(259):927-37). El índice BILAG se usó para evaluar la eficacia del tratamiento en pacientes con LES en el estudio SL0007. Es un índice exhaustivo para medir la actividad de la enfermedad LES. La versión de 2004 del índice BILAG se usó para los estudios. Esta versión consiste en 86 preguntas en 8 sistemas corporales (general, mucocutáneo, neurológico, musculoesquelético, cardiovascular y respiratorio, vasculitis, renal y hematológico). Algunas de las preguntas se basaron en los antecedentes del paciente, algunos en hallazgos del examen, y otros en resultados de laboratorio. Cada puntuación del sistema corporal varía de E a A, siendo A la actividad de la enfermedad más grave. La interpretación de las puntuaciones de los sistemas corporales es como sigue: A (“activa”) = enfermedad gravemente activa (suficiente para requerir tratamiento modificador de la enfermedad, por ejemplo, más de 20 mg/día de prednisona, inmunosupresores, citotóxicos); B (“cuidado”) = enfermedad moderadamente activa (requiere solo terapia sintomática, por ejemplo, menos de o igual a 20 mg/día de prednisona o fármacos antipalúdicos); C (“satisfacción”) = enfermedad estable leve (sin indicación para cambios en el tratamiento); D = enfermedad previamente activa -pero ninguna actualmente; E = sin actividad de enfermedad anterior. Cuando las puntuaciones de los sistemas corporales orgánicos alfabéticos BILAG se convierten a valores numéricos y se suman (usando la regla donde cada BILAG A=9, cada BILAG B=3, cada BILAG C=1, y cada BILAG D o E vale 0), se denomina una puntuación BILAG total.

El término “CDP7657” como se usa en el presente documento, se refiere a un Fab' PEGilado monovalente que se une específicamente a CD154 que se divulga en el documento WO 2008/118356 (incorporado en el presente documento en su totalidad). CDP7657 tiene una región variable de la cadena ligera (LCVR) con las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, 2 y 3, respectivamente, y una región variable de la cadena pesada (HCVR) con las CDR1, CDR2 y CDR3 que tienen las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, 5 y 6, respectivamente. CDP7657 tiene la secuencia de la cadena VL mostrada en SEQ ID NO: 7 y la secuencia de la cadena VH mostrada en SEQ ID NO: 8. CDP7657 tiene la secuencia de la cadena ligera mostrada en SEQ ID NO:9 y las secuencias de la cadena pesada mostradas en SEQ ID NO: 10. CDP7657 está PEGilado en una cisteína en la región bisagra modificada como se describe en el documento WO 2008/118356.

El término “terapia de combinación”, como se usa en el presente documento, se refiere a la administración de dos o más sustancias terapéuticas, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 y cortisol. El cortisol se puede administrar al mismo tiempo que, antes de, o después de la administración de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154.

El término “en semanas alternas”, como se usa en el presente documento, en relación con tratamiento con, administración de o dosificación de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según la divulgación, o una composición que comprende el mismo, se refiere a la administración del anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según la divulgación o dicha composición cada 9-19 días, más preferiblemente, cada 11-17 días, incluso más preferiblemente, cada 13-15 días, y lo más preferiblemente cada 14 días.

El término “K_D”, como se usa en el presente documento, se pretende que se refiera a la constante de disociación de una interacción anticuerpo-antígeno particular. La constante de disociación se puede referir a la unión monovalente o la unión bivalente. Preferiblemente, la constante de disociación se determina por resonancia de plasmón de superficie.

- El término “anticuerpo neutralizante”, como se usa en el presente documento (o un “anticuerpo que neutraliza la actividad de CD154”), se pretende que se refiera a un anticuerpo cuya unión de CD154 produce la inhibición de la actividad biológica de CD154. Esta inhibición de la actividad biológica de CD154 se puede evaluar midiendo uno o más indicadores de la actividad biológica de CD154. Estos indicadores de la actividad biológica de CD154 se pueden evaluar por uno o más de varios ensayos *in vitro* o *in vivo* estándar conocidos en la técnica. Por ejemplo, los ensayos *in vitro* podrían medir la capacidad de anticuerpos para inhibir la unión de una proteína CD40 purificada de unirse a células o líneas celulares que expresan CD40L o un ensayo de activación de células B dependiente de células T, que implica el cocultivo de células T o línea de células T que expresan CD40L con células B o una líneas de células B y seguir la expresión de la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) en las últimas células. Los ensayos *in vivo* podrían incluir investigar la respuesta inmunitaria a un antígeno tal como toxoide tetánico o hemocianina de lapa californiana en una especie adecuada tal como el primate no humano si el anticuerpo reconoce esta especie o en ratones si el anticuerpo reconoce esta especie. Si el anticuerpo reconoce CD40L de ratón, entonces se podría evaluar en un modelo de ratón de LES tal como los ratones NZB/W o MRL/lpr.
- El término “PEGilación”, “polietilenglicol” o “PEG”, como se usa en el presente documento, se refiere a la unión, por ejemplo, mediante enlace covalente, de un compuesto de polialquilenglicol o un derivado del mismo, con o sin agentes de acoplamiento o derivación con fracciones de acoplamiento o activación (por ejemplo, con tiol, triflato, tresilato, azirdina, oxirano, o preferiblemente con una fracción maleimida, por ejemplo, PEG-maleimida). Otros compuestos de polialquilenglicol apropiados incluyen, pero no están limitados a, maleimido monometoxi PEG, PEG polipropilenglicol activado, pero también polímeros neutros o cargados de los siguientes tipos: dextrano, ácidos colomínicos, u otros polímeros basados en hidratos de carbono, polímeros de aminoácidos, y biotina y otros derivados de reactivos de afinidad.
- El término “puntuación SLEDAI” o índice “SLEDAI” se refiere a la puntuación/índice de Actividad de la Enfermedad de Lupus Eritematoso Sistémico, respectivamente (Hawker et al., J Rheumatol. 1993).
- El término “puntuación SRI” o índice “SRI” se refiere a la puntuación/índice del Índice Respondedor de Lupus Eritematoso Sistémico (Furie RA et al., Arthritis Rheum. 2009).
- El término “resonancia de plasmón de superficie”, como se usa en el presente documento, se refiere a un fenómeno óptico que permite el análisis de interacciones bioespecíficas en tiempo real mediante la detección de alteraciones en las concentraciones de proteínas en una matriz biosensora, por ejemplo, usando un sistema BIAcore (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Suecia y Piscataway, NJ). Para descripciones adicionales, véase el ejemplo 1 y Jönsson, U., et al. (1993) Ann. Biol. Clin. 51:19-26; Jönsson, U., et al. (1991) Biotechniques 11:620-627; Johnsson, B., et al. (1995) J. Mol. Recognit. 8:125-131; y Johnson, B., et al. (1991) Anal. Biochem. 198:268-277.
- En un primer aspecto la divulgación proporciona un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 para uso en un método para tratar un trastorno autoinmunitario, inflamatorio, neurodegenerativo o neuromuscular en un sujeto mamífero, método que comprende:
- administrar una dosis de carga inicial de aproximadamente 20-60 mg/kg de anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 a un sujeto en necesidad de tal tratamiento; y
 - aproximadamente 2 semanas después de la dosis de carga inicial administrar una o más dosis adicional(es) de aproximadamente la mitad de la dosis de carga inicial con una frecuencia de aproximadamente una vez en semanas alternas de anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 al sujeto en necesidad de tal tratamiento. La dosis de carga inicial puede ser aproximadamente 20 mg/kg, 25 mg/kg, 30 mg/kg, 35 mg/kg, 40 mg/kg, 45 mg/kg, 50 mg/kg, 55 mg/kg o 60 mg/kg. La dosis adicional puede ser aproximadamente 10 mg/kg, 12,5 mg/kg, 15 mg/kg, 17,5 mg/kg, 20 mg/kg, 22,5 mg/kg, 25 mg/kg, 27,5 mg/kg o 30 mg/kg.
- En el segundo aspecto de la divulgación el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según el primer aspecto de la divulgación se administra al paciente en necesidad del mismo al menos durante 12 semanas.
- En el tercer aspecto de la divulgación el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según el primer o segundo aspecto de la divulgación es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo neutralizante.
- En el cuarto aspecto de la divulgación el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según el primer, segundo o tercer aspecto de la divulgación tiene una constante de disociación para unión monovalente a CD40 de $K_D \leq 4,55$ pM determinado por resonancia de plasmón de superficie.
- En el quinto aspecto de la divulgación el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según el primer, segundo, tercer o cuarto aspecto de la divulgación contiene una región variable de la cadena ligera (LCVR) que tiene una CDR1, una CDR2 y una CDR3 que comprenden la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, 2 y 3, respectivamente, y una región variable de la cadena pesada (HCVR) que tiene una CDR1, una CDR2 y una CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, 5 y 6, respectivamente.

En el sexto aspecto de la divulgación el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según el primer, segundo, tercer, cuarto o quinto aspecto de la divulgación contiene regiones marco para la cadena ligera variable (VL) preferiblemente son de la familia de la línea germinal humana Vk1, más preferiblemente de la región V Vk1 2-1-(1) O12 y lo más preferiblemente de las secuencias marco de la cadena VL mostradas en SEQ ID NO: 7. Las regiones marco para la cadena pesada variable (VH) son preferiblemente de la familia de la línea germinal humana de cadena VH4, más preferiblemente de la secuencia VH4 1-1 4-59 y lo más preferiblemente de las secuencias marco VH mostradas en SEQ ID NO: 8.

En el séptimo aspecto de la divulgación el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según el primer, segundo, tercer, cuarto, quinto o sexto aspecto de la divulgación muestra unión monovalente a CD40, y preferiblemente tiene solo un sitio de unión que se une específicamente a CD154. Preferiblemente, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 es un dominio VH o anticuerpo dominio (dAc), Fab, Fab', Fv, Fab-Fv, Fab-dsFv, Fab-Fv-Fv, Fd, HL, dsHL, LH, dsLH, un anticuerpo monocatenario (por ejemplo, scFv, scFab, y scFabΔC) u otro fragmento monovalente o derivado de anticuerpo, o un anticuerpo biespecífico o multiespecífico que muestra unión específica y monovalente a CD154, tal como un DVD-Ig, Triomab™, F(ab)₂, F(ab')₂, F(ab')₃, (Fab-Fv)₂-Fc o tricuerpo.

En el octavo aspecto de la divulgación el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según el primer, segundo, tercer, cuarto, quinto, sexto o séptimo aspecto de la divulgación es un conjugado que comprende cualquier anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 conjugado de forma covalente o no covalente, o directa o indirecta, a una fracción funcional tal como una proteína soporte, una toxina u otra molécula efectora, o PEG, por ejemplo. El anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 puede estar PEGilado, por ejemplo, en uno o más residuos de cisteína o lisina. En ciertos aspectos, el fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 es un fragmento Fab o Fab' PEGilado a través de un enlazador maleimida. En aspectos adicionales de la divulgación el fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 está conjugado a una fracción funcional que es una fracción bloqueante, una fracción detectable (por ejemplo, fracción fluorescente, fracción radioisotópica, fracción radiopaca, etc., incluyendo una fracción diagnóstica), y/o una fracción terapéutica (por ejemplo, un agente citotóxico, agente antiinflamatorio, agente inmunomodulador, agente antiinfeccioso, agente anticáncer, agente antineurodegenerativo, un radionúclido, etc.).

En el noveno aspecto de la divulgación el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según el primer, segundo, tercer, cuarto, quinto, sexto, séptimo u octavo aspecto de la divulgación el anticuerpo contiene la secuencia de la cadena VL mostrada en SEQ ID NO: 7 y la secuencia de la cadena VH mostrada en SEQ ID NO: 8.

En el décimo aspecto de la divulgación el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según el primer, segundo, tercer, cuarto, quinto, sexto, séptimo, octavo o noveno aspecto de la divulgación el anticuerpo tiene la secuencia de la cadena ligera mostrada en SEQ ID NO: 9 y las secuencias de la cadena pesada mostradas en SEQ ID NO: 10.

En el undécimo aspecto de la divulgación el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 para uso en un método para tratar un trastorno autoinmunitario, inflamatorio, neurodegenerativo o neuromuscular en un sujeto mamífero según el primer, segundo, tercer, cuarto, quinto, sexto, séptimo, octavo, noveno o décimo aspecto de la divulgación el fragmento de anticuerpo es un Fab' monovalente que tiene la secuencia de la cadena ligera mostrada en SEQ ID NO: 9 y las secuencias de la cadena pesada mostradas en SEQ ID NO: 10.

En el duodécimo aspecto de la divulgación el Fab' monovalente que tiene la secuencia de la cadena ligera mostrada en SEQ ID NO: 9 y las secuencias de la cadena pesada mostradas en SEQ ID NO: 10 según el undécimo aspecto de la divulgación está PEGilado en una cisteína en una región bisagra modificada. Preferiblemente, el Fab' monovalente que tiene la secuencia de la cadena ligera mostrada en SEQ ID NO: 9 y las secuencias de la cadena pesada mostradas en SEQ ID NO: 10 según el undécimo aspecto de la divulgación tiene un grupo maleimida unido covalentemente a un único grupo tiol en la región bisagra modificada; un residuo de lisina está covalentemente unido al grupo maleimida; y un polímero metoxipoli(etilenglicol) que tiene un peso molecular de aproximadamente 20 kDa está unido a cada uno de los grupos amino en el residuo de lisina. El peso molecular total del PEG entero unido covalentemente al Fab' monovalente es, por tanto, aproximadamente 40 kDa.

En aspectos adicionales el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 para uso en un método para tratar un trastorno autoinmunitario, inflamatorio, neurodegenerativo o neuromuscular en un sujeto mamífero según cualquiera de los aspectos de la divulgación son anticuerpos, fragmentos o derivados de anticuerpo descritos en los documentos WO 2008/118356 y WO 2006/030220.

El decimotercer aspecto de la divulgación es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 para uso en un método para tratar un trastorno autoinmunitario, inflamatorio, neurodegenerativo o neuromuscular en un sujeto mamífero según el primer, segundo, tercer, cuarto, quinto, sexto, séptimo, octavo, noveno, décimo, undécimo o duodécimo aspecto de los métodos de la divulgación para tratar una enfermedad autoinmunitaria, inflamatoria, neurodegenerativa o neuromuscular en donde la enfermedad autoinmunitaria, inflamatoria,

neurodegenerativa o neuromuscular es lupus eritematoso sistémico (LES), nefritis lúpica, artritis reumatoide, espondiloartropatías seronegativas, psoriasis, artritis psoriásica, esclerodermia, síndrome de Sjögren, esclerosis múltiple, diabetes de tipo I, uveítis autoinmunitaria y síndrome nefrótico o vasculitis.

5 En otro aspecto el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según cualquiera de los aspectos de la divulgación es para uso en un método para tratar lupus eritematosos sistémico (LES) en donde el sujeto tratado con el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 alcanza una mejora desde el nivel basal de uno o más índices seleccionados de SLEDAI, BILAG y evaluación Médica Global. Por tanto, en un aspecto, la divulgación se refiere a métodos de tratar un sujeto que tiene LES usando los métodos descritos en el presente documento en donde el sujeto logra una mejora en uno de estos índices.

15 En otro aspecto el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según cualquiera de los aspectos de la divulgación es para uso en un método para tratar lupus eritematosos sistémico (LES) en donde el sujeto tratado con el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 alcanza un Índice Responder SLEDAI 4 (SRI-4). Por tanto, en un aspecto, la divulgación se refiere a métodos de tratar un sujeto que tiene LES usando los métodos descritos en el presente documento en donde el sujeto logra un Índice Responder SLEDAI 4.

20 En otro aspecto el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según cualquiera de los aspectos de la divulgación es para uso en un método para tratar lupus eritematosos sistémico (LES) en donde el sujeto tratado con el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 alcanza una mejora del 50% del nivel basal del índice SRI-50. Por tanto, en un aspecto, la divulgación se refiere a métodos de tratar un sujeto que tiene LES usando los métodos descritos en el presente documento en donde el sujeto logra una mejora del 50% del nivel basal del índice SRI-50.

25 En otro aspecto el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según cualquiera de los aspectos de la divulgación es para uso en un método para tratar lupus eritematosos sistémico (LES) en donde el sujeto tratado con el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 alcanza un aumento del 20%, 30%, 40%, 50%, 75% o 90% del nivel basal o normalización de la concentración del complemento C3 y C4, o una reducción del 20%, 30%, 40%, 50%, 75% o 90% del título de anti-ADN bicatenario en suero. Por tanto, en un aspecto, la divulgación se refiere a métodos de tratar un sujeto que tiene LES usando los métodos descritos en el presente documento en donde el sujeto logra un aumento del 20%, 30%, 40%, 50%, 75% o 90% del nivel basal o normalización de la concentración del complemento C3 y C4, o una reducción del 20%, 30%, 40%, 50%, 75% o 90% del título de anti-ADN bicatenario en suero.

35 En otro aspecto el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según cualquiera de los aspectos de la divulgación es para uso en un método para tratar lupus eritematosos sistémico (LES) en donde el sujeto tratado con el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 revierte de seropositivo o seronegativo para anticuerpos anti-ADN bicatenario. Por tanto, en un aspecto, la divulgación se refiere a métodos de tratar un sujeto que tiene LES usando los métodos descritos en el presente documento en donde el sujeto revierte de seropositivo o seronegativo para anticuerpos anti-ADN bicatenario.

45 En otro aspecto el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según cualquiera de los aspectos de la divulgación está covalentemente unido a PEG a través de un grupo tiol de al menos un residuo de cisteína localizado en un anticuerpo o fragmento de anticuerpo de esta divulgación. Cada molécula de PEG unida al anticuerpo o fragmento de anticuerpo puede estar covalentemente unida al átomo de azufre de un residuo de cisteína localizado en el anticuerpo o fragmento de anticuerpo. La unión covalente en general será un enlace disulfuro o, en particular, un enlace azufre-carbono. Donde se usa un grupo tiol como el punto de unión fracciones funcionales apropiadamente activadas, por ejemplo, derivados selectivos de tiol tal como maleimidas y derivados de cisteína se pueden usar. Se puede usar un PEG activado como el material de partida en la preparación de PEG-fragmentos de anticuerpo modificados como se ha descrito anteriormente. El PEG activado puede ser cualquier PEG que contenga un grupo reactivo tiol tal como un ácido o éster halocarboxílico, por ejemplo, yodoacetamida, una imina, por ejemplo, maleimida, una vinilsulfona o un disulfuro. En otro aspecto el conjugado de fragmento de anticuerpo puede comprender dos moléculas de PEG con moléculas de maleimida. Los materiales de partida se pueden obtener comercialmente (por ejemplo, de Nektar, anteriormente Shearwater Polymers Inc., Huntsville, AL, EE UU) o se puede preparar a partir de materiales de partida comercialmente disponibles usando procedimientos químicos convencionales. Las moléculas particulares de PEG incluyen metoxi-PEG-amina con un peso molecular de 20 kDa (obtenible de Nektar, anteriormente Shearwater; Rapp Polymere; y SunBio) y M-PEG-SPA (obtenible de Nektar, anteriormente Shearwater).

60 En otro aspecto el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 es un fragmento Fab' modificado que está PEGilado, es decir, tiene PEG (poli(etilenglicol)) unido covalentemente al mismo, por ejemplo, según el método divulgado en el documento EP0948544 (véase también "Poly(ethyleneglycol) Chemistry, Biotechnical and Biomedical Applications", 1992, J. Milton Harris (ed), Plenum Press, Nueva York, "Poly(ethyleneglycol) Chemistry and Biological Applications", 1997, J. Milton Harris y S. Zalipsky (eds), American Chemical Society, Washington DC y "Bioconjugation Protein Coupling Techniques for the Biomedical Sciences", 1998, M. Aslam y A. Dent, Grove Publishers, Nueva York; Chapman, A. 2002, Advanced Drug Delivery Reviews 2002, 54:531-545). En un ejemplo PEG

está unido a una cisteína en la región bisagra. En otro ejemplo, un fragmento Fab' modificado con PEG tiene un grupo maleimida covalentemente unido a un único grupo tiol en una región bisagra modificada. Un residuo de lisina puede estar covalentemente unido al grupo maleimida y a cada uno de los grupos amino en el residuo de lisina se puede unir un polímero de metoxipoli(etilenglicol) que tiene un peso molecular de aproximadamente 20 kDa. El peso molecular total del PEG unido al fragmento Fab' puede, por tanto, ser aproximadamente 40 kDa.

En otro aspecto el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según cualquiera de los aspectos de la divulgación la fracción funcional PEG se une usando métodos descritos en el documento WO 98/25971 (cuyo contenido se incorpora al presente documento en su totalidad) y el documento WO 04/72116 (cuyo contenido se incorpora al presente documento en su totalidad), mediante lo cual un grupo lisil-maleimida se une al residuo de cisteína en el extremo C-terminal de la cadena pesada, y cada grupo amino del residuo de lisilo tiene covalentemente unido a él un residuo metoxipoli(etilenglicol) que tiene un peso molecular de aproximadamente 20 kDa. El peso molecular total del PEG unido al anticuerpo es, por tanto, aproximadamente 40 kDa.

Otro aspecto de la divulgación es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente de CD154 para uso en un método para tratar un trastorno autoinmunitario, inflamatorio, neurodegenerativo o neuromuscular en un sujeto mamífero según cualquiera de los aspectos de la divulgación en donde el método comprende la administración intravenosa, subcutánea o intramuscular del anticuerpo o fragmento de anticuerpo al individuo en necesidad de ello. La administración subcutánea es ventajosa porque el paciente se puede autoadministrar una sustancia terapéutica, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154, que es conveniente tanto para el paciente como para el personal médico.

En ciertos aspectos, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 comprende una región constante de cadena pesada, tal como una región constante IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgE, IgM o IgD. Preferiblemente, la región constante de la cadena pesada está manipulada de modo que no esté glucosilada. Además, el anticuerpo puede comprender una región constante de la cadena ligera, ya sea una región constante de la cadena ligera kappa o una región constante de la cadena ligera lambda. Preferiblemente, el anticuerpo comprende una región constante de la cadena ligera kappa.

El anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 de la divulgación se puede incorporar a composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración a un sujeto por vía intravenosa, subcutánea o intramuscular en semanas alternas. Típicamente, la composición farmacéutica comprende el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 de la divulgación y/o un soporte farmacéuticamente aceptable y/u otros principios activos tal como metotrexato o cortisol.

Otro aspecto de la divulgación es una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según cualquiera de los aspectos de la divulgación y un soporte farmacéuticamente aceptable en donde la composición está preparada para la administración intravenosa, subcutánea o intramuscular al individuo en necesidad de ello. En otro aspecto la composición es parte de un kit con instrucciones para uso, incluyendo instrucciones y opcionalmente un dispositivo para la administración intravenosa, subcutánea o intramuscular al individuo en necesidad de ello.

Como se usa en el presente documento, "soporte farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera y todos los solventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y de retraso de la absorción, y similares que son fisiológicamente compatibles y son adecuados para la administración a un sujeto por los métodos descritos en el presente documento. Los ejemplos de soportes farmacéuticamente aceptables incluyen uno o más de agua, solución salina, solución salina tamponada con fosfato, dextrosa, glicerol, etanol y similares, así como combinaciones de los mismos. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tal como manitol, sorbitol, o cloruro de sodio en la composición. Los soportes farmacéuticamente aceptables pueden además comprender cantidades menores de sustancias auxiliares tal como agentes humectantes o emulsionantes, conservantes o tampones, que aumentan el periodo de validez o eficacia del anticuerpo o parte del anticuerpo. Las composiciones de esta invención pueden estar en una variedad de formas. Estas incluyen, por ejemplo, soluciones líquidas (por ejemplo, soluciones inyectables e infusibles), dispersiones o suspensiones, polvos y liposomas.

La forma preferida depende del modo de administración pretendido y la aplicación terapéutica. Las composiciones preferidas típicas están en forma de soluciones inyectables o infusibles, tal como composiciones similares a las usadas para inmunización pasiva de seres humanos con otros anticuerpos.

Las composiciones terapéuticas típicamente deben ser estériles y estables en las condiciones de fabricación y almacenamiento. La composición se puede formular como una solución, microemulsión, dispersión, liposoma u otra estructura ordenada adecuada para alta concentración de fármaco. Las soluciones inyectables estériles se pueden preparar incorporando el compuesto activo (es decir, el anticuerpo o porción de anticuerpo) en la cantidad requerida en un solvente apropiado con uno o una combinación de ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido por esterilización por filtración. En general, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo a un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados

anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos preferidos de preparación con secado al vacío y liofilización que da un polvo del principio activo más cualquier ingrediente deseado adicional de una solución previamente esterilizada por filtración de los mismos. La fluidez apropiada de una solución se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La absorción prolongada de composiciones inyectables se puede lograr incluyendo en la composición un agente que retrase la absorción, por ejemplo, sales monoestearato y gelatina. En ciertos aspectos, el compuesto activo se puede preparar con un soporte que protegerá el compuesto activo contra la liberación rápida, tal como una formulación de liberación controlada. Se pueden usar polímeros biodegradables, biocompatibles, tal como acetato de etilenvinilo, polietilenglicol (PEG), polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres, y ácido poliláctico. Muchos métodos para la preparación de tales formulaciones están patentados o los conocen en general los expertos en la materia. Véase, por ejemplo, Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., Nueva York, 1978.

En un aspecto más se incorporan ingredientes activos adicionales en la composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según la divulgación. En ciertos aspectos, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 se coformula con y/o coadministra con uno o más agentes terapéuticos adicionales. Por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 se puede coformular y/o coadministrar con un corticoesteroide, un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE), o terapias dirigidas a la muchas citoquinas proinflamatorias que se sabe están implicadas en la patogénesis de trastornos inmunitarios, tal como TNF, IL-1, IL-6, CTLA-4, IFN, o las que se dirigen a la actividad de células B, tal como CD19, CD20 (por ejemplo, *rituximab*), CD22 (por ejemplo, *epratuzumab*), BAFF (por ejemplo, *belimumab*) y BLYS/APRIL (por ejemplo, *atacept*), terapias que pueden o no ellas mismas formularse con fracciones de polietilenglicol (PEG).

En un aspecto adicional, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según la divulgación, o una composición que comprende el mismo, se puede usar según los aspectos de la divulgación en combinación con uno o más de los agentes terapéuticos anteriores. Tales terapias de combinación pueden utilizar ventajosamente dosis menores de los agentes terapéuticos administrados, evitando de esta manera posibles toxicidades o complicaciones asociadas con las varias monoterapias.

La(s) enfermedad(es) autoinmunitaria(s) o enfermedad(es) inflamatoria(s) que se pueden tratar con un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según el método o uso de la divulgación incluyen, pero no están limitadas a lupus eritematoso sistémico (LES), artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, nefritis lúpica, síndrome de Sjögren, polimiositis, dermatomiositis, arteritis temporal, vasculitis asociada a ANCA, síndrome de Churg-Strauss, síndrome antifosfolípido, glomerulonefropatía membranosa, enfermedad de Goodpasture, nefropatía de inmunoglobulina A, púrpura de Henoch-Schönlein, rechazo a injerto crónico, dermatitis atópica, pénfigo vulgar, psoriasis, asma, alergia, esclerosis sistémica, esclerosis múltiple, síndrome de Guillain-Barré, mielitis transversa, polineuropatía inmunitaria crónica, miastenia grave, enfermedad de Addison, tiroiditis, gastritis autoinmunitaria, anemia perniciosa, enfermedad celiaca, colitis ulcerosa, sarcoidosis, anemia hemolítica, púrpura trombocitopénica idiopática, enfermedad de Behçet, cirrosis biliar primaria, diabetes autoinmunitaria, neuroborreliosis de Lyme, enfermedad pulmonar intersticial.

Además de las afecciones anteriores -para las que la inflamación autoinmunitaria o inmunitaria reactiva cruzada está establecida como el proceso patológico primario- la inflamación también se ve como uno de una combinación de procesos contribuyentes en muchas enfermedades.

Entre estas están enfermedad(es) neurodegenerativa(s) que se pueden tratar con un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según el método o uso de la divulgación son afecciones hereditarias o esporádicas que se caracterizan por la disfunción del sistema nervioso progresiva. Estos trastornos con frecuencia se asocian con atrofia de las estructuras centrales o periféricas afectadas del sistema nervioso. Por ejemplo, las enfermedades neurodegenerativas incluyen, pero no están limitadas a, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, ataxia de Friedreich, enfermedad de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica, miastenia grave, neuropatía motora multifocal, esclerosis lateral primaria, atrofia muscular raquídea, enfermedad de Kennedy, y ataxia espinocerebelosa.

Similarmente, afecciones tales como aterosclerosis, insuficiencia cardíaca, artrosis, esteatohepatitis no alcohólica, síndrome del intestino irritable, enfermedad de Crohn, complicaciones diabéticas (nefropatía, neuropatía, arteriopatía, retinopatía), asma, fibrosis quística, enfermedad de las vías respiratorias obstructiva crónica, epilepsia, glaucoma, degeneración macular senil, trastornos psiquiátricos (ansiedad, depresión, psicosis), síndrome de fatiga crónica, entesopatías/tendinopatías, prematuridad/infección prenatal, obesidad/síndrome metabólico, afecciones dermatológicas (acné vulgar, acné rosácea, queratosis solar), cicatrización anómala (cicatrices queloides), trastornos urogenitales (prostatismo/prostatitis, síndrome de la vejiga hiperactiva) y desarrollo de cáncer son todos susceptibles al tratamiento con un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según el método o uso de la divulgación.

Un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según la divulgación se puede preparar por expresión recombinante de genes de cadena ligera y pesada de inmunoglobulina en una célula huésped. Para expresar un anticuerpo de forma recombinante, una célula huésped de transfecta con uno o más vectores de expresión que portan fragmentos de ADN que codifican las cadenas ligera y pesada de la inmunoglobulina del anticuerpo de modo que las cadenas ligera y pesada se expresan en la célula huésped y, preferiblemente, se secretan al medio en el que se cultivan las células huéspedes, medio del que se pueden recuperar los anticuerpos. Se usan metodologías de ADN recombinante estándar para obtener genes de las cadenas pesada y ligera de anticuerpos, incorporar estos genes en vectores de expresión recombinantes e introducir los vectores en células huéspedes, tal como las descritas en Sambrook, Fritsch y Maniatis (eds), *Molecular Cloning; A Laboratory Manual*, Segunda Edición, Cold Spring Harbor, N.Y., (1989), Ausubel, F. M. et al. (eds.) *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates, (1989) y en la patente en EE UU No. 4.816.397.

Para expresar un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según la divulgación, los ADN que codifican las cadenas ligera y pesada, obtenidos por técnicas de ADN recombinante conocidas en la materia, se insertan en vectores de expresión de modo que los genes estén operativamente unidos a secuencias de control de transcripción y traducción. En este contexto, el término "operativamente unido" se pretende que signifique que un gen de anticuerpo está ligado en un vector de modo que secuencias de control de transcripción y traducción en el vector sirven su función pretendida de regular la transcripción y traducción de los genes que codifican la cadena pesada y ligera del anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según la divulgación. El vector de expresión y las secuencias de control de expresión se eligen para que sean compatibles con la célula huésped de expresión usada. El gen de la cadena ligera y el gen de la cadena pesada se pueden insertar en vectores separados o, más típicamente, ambos genes se insertan en el mismo vector de expresión. Los de anticuerpos se insertan en el vector de expresión por métodos estándar (por ejemplo, ligación de sitios de restricción complementarios en el fragmento de gen y vector, o ligación de extremos romos si no están presentes sitios de restricción). El vector de expresión recombinante puede codificar un péptido señal que facilita la secreción de la cadena de anticuerpo de una célula huésped. El gen de la cadena de anticuerpo se puede clonar en el vector de modo que el péptido señal esté unido en el mismo marco de lectura al extremo amino del gen de la cadena de anticuerpo. El péptido señal puede ser un péptido señal de inmunoglobulina o un péptido señal heterólogo (es decir, un péptido señal de una proteína no inmunoglobulina).

Además de los genes de cadenas de anticuerpo de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según la divulgación, los vectores de expresión recombinantes de la divulgación portan secuencias reguladoras que controlan la expresión de los genes de cadenas de anticuerpo en una célula huésped. El término "secuencia reguladora" se pretende que incluya promotores, potenciadores y otros elementos de control de la expresión (por ejemplo, señales de poliadenilación) que controlan la transcripción o traducción de los genes de cadenas de anticuerpo. Tales secuencias reguladoras se describen, por ejemplo, en Goeddel; *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185*, Academic Press, San Diego, Calif. (1990). Los expertos en la materia apreciarán que el diseño del vector de expresión, incluyendo la selección de secuencias reguladoras puede depender de tales factores como la elección de la célula huésped que se va a transformar, el nivel de expresión de proteína deseado, etc. Las secuencias reguladoras preferidas para expresión en células huésped de mamífero incluyen elementos víricos que dirigen altos niveles de expresión de proteína en células de mamíferos, tal como promotores y/o potenciadores derivados de citomegalovirus (CMV) (tal como el promotor/potenciador de CMV), virus simio 40 (SV40) (tal como el promotor/potenciador de SV40), adenovirus [por ejemplo, el promotor tardío principal de adenovirus (AdMLP)] y polioma.

Además de los genes de cadenas de anticuerpo y secuencias reguladoras, los vectores de expresión recombinantes pueden portar secuencias adicionales, tal como secuencias que regulan la replicación del vector en células huésped (por ejemplo, orígenes de replicación) y genes marcadores seleccionables. El gen marcador seleccionable facilita la selección de células huésped en las que se ha introducido el vector (véase, por ejemplo, la patente en EE UU No. 5.179.017).

Para la expresión de las cadenas ligera y pesada, el/los vector(es) de expresión que codifica(n) las cadenas pesada y ligera se transfecta en una célula huésped por técnicas estándar. Las varias formas del término "transfección" se pretende que abarquen una amplia variedad de técnicas comúnmente usadas para la introducción de ADN exógeno en una célula huésped procarionta o eucariota, por ejemplo, electroporación, precipitación con fosfato de calcio, transfección con DEAE-dextrano, y similares. Aunque es teóricamente posible expresar los anticuerpos de la divulgación en células huésped procariontas o eucariotas, la expresión de anticuerpos en células eucariotas, y lo más preferiblemente células huésped de mamífero, es la más preferida porque tales células eucariotas, y en particular células de mamífero, es más probable que las células procariontas que ensamblen y secreten un anticuerpo apropiadamente plegado e inmunológicamente activo.

Las células huésped de mamífero preferidas para expresar el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según la invención para uso según los métodos de la divulgación incluyen ovario de hámster chino (células CHO), células de mieloma NSO, células COS y células SP2. Cuando se introducen vectores de expresión recombinantes que codifican genes de anticuerpo en células huésped de mamíferos, los anticuerpos se producen cultivando las células huésped durante un periodo de tiempo suficiente para permitir la expresión del

anticuerpo en las células huésped o, más preferiblemente, secreción del anticuerpo al medio de cultivo en que las células se hacen crecer. Los anticuerpos se pueden recuperar del medio de cultivo usando métodos de purificación de proteínas estándar.

5 En un sistema preferido para la expresión recombinante del anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según la divulgación, un vector de expresión recombinante que codifica tanto la cadena pesada del anticuerpo como la cadena ligera del anticuerpo se introduce en células dhfr-CHO por transfección mediada por fosfato de calcio. En el vector de expresión recombinante, los genes de las cadenas pesada y ligera del anticuerpo están cada uno operativamente unido a elementos reguladores potenciador de CMV/promotor AdMLP para dirigir altos niveles de transcripción de los genes. El vector de expresión recombinante también porta un gen DHFR, que permite la selección de células CHO que se han transfectado con el vector usando selección/amplificación con metotrexato. Las células huésped transformantes seleccionadas se cultivan para permitir la expresión de las cadenas pesada y ligera del anticuerpo y el anticuerpo intacto se recupera del medio de cultivo. Se usan técnicas de biología molecular estándar para preparar el vector de expresión recombinante, transfectar las células huésped, seleccionar transformantes, cultivar las células huésped y recuperar el anticuerpo del medio de cultivo.

Las composiciones preferidas adecuadas para la administración a un sujeto humano para los métodos según los aspectos de la divulgación comprenden el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 según la divulgación y un soporte, excipiente o estabilizante farmacéuticamente aceptable. Como se usa en el presente documento, "soporte farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera y todos los solventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y de retraso de la absorción, y similares que son fisiológicamente compatibles y son adecuados para la administración a un sujeto para los métodos descritos en el presente documento. Los soportes, excipientes o estabilizantes aceptables son no tóxicos para los receptores a las dosis y concentraciones empleadas, e incluyen tampones tal como fosfato, citrato, y otros ácidos orgánicos; antioxidantes incluyendo ácido ascórbico y metionina; conservantes (tal como cloruro de octadecildimetilbencil amonio, cloruro de hexametonio, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio; fenol, alcohol butílico o bencílico; alquilparabenos tal como metil- o propil-parabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (no más de aproximadamente 10 residuos de aminoácidos); proteínas tal como seroalbúmina, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrofílicos tal como polivinilpirrolidona; aminoácidos tal como glicina, glutamina, asparragina, histidina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos, y otros hidratos de carbono incluyendo glucosa, manosa, o dextrinas; agentes quelantes, tal como EDTA; azúcares tal como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sales tal como sodio; complejos metálicos (por ejemplo, complejos Zn-proteína); y/o tensioactivos no iónicos tal como TWEEN, PLURONICS o polietilenglicol.

Las composiciones terapéuticas típicamente deben ser estériles y estables en las condiciones de fabricación y almacenamiento. La composición se puede formular en solución o en forma liofilizada.

Comprender en el contexto de la presente especificación se pretende que signifique incluir.

40 Ejemplos

Ejemplo 1

Determinación de la afinidad de unión

45 Se realizó análisis de interacción biomolecular (BIA) usando un instrumento BIAcore 3000. Se inmovilizó fragmento F(ab')₂ de cabra purificado por afinidad específico para IgG humana, fragmento F(ab')₂ en un chip sensor CM5 a través de química de acoplamiento amino a un nivel de captura de aproximadamente 4000 unidades de respuesta (UR). Se usó tampón HBS-EP (HEPES 10 mM pH 7,4, NaCl 0,15 M, EDTA 3 mM, tensioactivo P20 al 0,005% (v/v)) como el tampón de carrera con una velocidad de flujo de 10 µl/minuto (min). Se usó una inyección de 10 µl de anticuerpo o Fab contra CD154 de prueba a 10 µg/ml para la captura por el F(ab')₂ anti-IgG humana inmovilizado. CD154 humano se tituló sobre el anticuerpo o Fab contra CD154 capturado a varias concentraciones (1 nM o menor) a una velocidad de flujo de 3 µl/min. La superficie se regeneró por inyecciones 2 x 10 µl de HCl 40 mM seguido por una inyección de 5 µl de NaOH 5 mM a una velocidad de flujo de 10 µl/min.

Ejemplo 2

60 **Estudio SL0013:** Un estudio clínico de dos partes en el que, durante la primera parte, se evaluaron dosis intravenosas individuales ascendentes de CDP7657 para seguridad, tolerabilidad y perfiles farmacocinéticos a 0,004 mg/kg, 0,02 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,5 mg/kg y 1,7 mg/kg en 5 grupos, cada uno de 3 voluntarios hombres sanos, seguido por una dosis de 5 mg/kg en dos grupos más de 3 voluntarios hombres sanos y 3 voluntarias mujeres sanas. Después del establecimiento de perfiles aceptables, la segunda parte del estudio evaluó dosis intravenosas únicas a 5 mg/kg, 15 mg/kg, 30 mg/kg y 60 mg/kg en 4 grupos de 3 pacientes voluntarios (que tenían un diagnóstico establecido de lupus eritematosos sistémico; LES). Además de evaluaciones adicionales de seguridad, tolerabilidad y farmacocinética, también se exploraron los efectos farmacodinámicos usando varios marcadores de enfermedad.

Al realizar este estudio, se establecieron las características básicas tanto del anticuerpo/fragmento de anticuerpo anti-CD154 como de su componente PEG.

Ejemplo 3

5 **Estudio SL0014:** Un estudio clínico en el que pacientes con un diagnóstico establecido de LES se aleatorizaron de una manera con doble enmascaramiento para recibir seis dosis intravenosas de CDP7657 (n = 16) o placebo coincidente (n = 8) durante un periodo de 10 semanas. La pauta de dosis en prueba (en los que recibieron fármaco activo) comprendía una única dosis de carga de 30 mg/kg seguida por una dosis de mantenimiento de 15 mg/kg cada 10
10 2 semanas después de ello, durante un total de 6 dosis de CDP7657. Además de evaluar la seguridad, tolerabilidad y perfiles farmacocinéticos de CDP7657 frente al placebo, el estudio exploró la inmunogenicidad (componente tanto anti-CD154 como PEG), efectos sobre varios marcadores de enfermedad y efectos sobre los parámetros de enfermedad clínica durante y por 18 semanas después del tratamiento. De esta manera, se establecieron la seguridad, tolerabilidad y capacidad de la pauta de dosis para administrar efectos modificadores de la enfermedad.

Lista de secuencias

<110> UCB Biopharma, SPRL

20 <120> Tratamiento de trastornos autoinmunitarios con anticuerpos contra CD154

<130> PF0005-WO-PCT

<160> 10

25 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 11

30 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> CDR1 de LC

35 <400> 1
Arg Ala Ser Glu Asp Leu Tyr Tyr Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 2

40 <211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

45 <223> CDR2 de LC

<400> 2

Asp Thr Tyr Arg Leu Ala Asp
1 5

50 <210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

55 <220>

<223> CDR3 de LC

<400> 3

Gln Gln Tyr Tyr Lys Phe Pro Phe Thr
1 5

60 <210> 4

<211> 10

ES 2 802 982 T3

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 5 <223> CDR1 de HC

<400> 4
 Gly Phe Ser Ser Thr Asn Tyr His Val His
 1 5 10

10 <210> 5
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> CDR2 de HC

<400> 5
 Val Ile Trp Gly Asp Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Ser Val Leu Lys Ser
 1 5 10 15

20 <210> 6
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> CDR3 de HC

<400> 6
 Gln Leu Thr His Tyr Tyr Val Leu Ala Ala
 1 5 10

30 <210> 7
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> VLC

40 <400> 7
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Leu Tyr Tyr Asn
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Arg Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Asp Thr Tyr Arg Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

ES 2 802 982 T3

Glu Asp Phe Ala Ser Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Lys Phe Pro Phe
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 8
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> VHC

<400> 8
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

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

His Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Val Ile Trp Gly Asp Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Ser Val Leu Lys
 50 55 60

Ser Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Gln Leu Thr His Tyr Tyr Val Leu Ala Ala Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser
 115

<210> 9
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> LC

<400> 9
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

ES 2 802 982 T3

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Leu Tyr Tyr Asn
 20 25 30

 Leu Ala Trp Tyr Gln Arg Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

 Tyr Asp Thr Tyr Arg Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

 Glu Asp Phe Ala Ser Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Lys Phe Pro Phe
 85 90 95

 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 10
 <211> 229
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Fab' de HC

10 <400> 10

ES 2 802 982 T3

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Ser Thr Asn Tyr
 20 25 30
 His Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Val Ile Trp Gly Asp Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Ser Val Leu Lys
 50 55 60
 Ser Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Gln Leu Thr His Tyr Tyr Val Leu Ala Ala Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 115 120 125
 Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
 130 135 140
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 145 150 155 160
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 165 170 175
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 195 200 205
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 210 215 220
 His Thr Cys Ala Ala
 225

REIVINDICACIONES

1. Un fragmento de anticuerpo Fab' monovalente que se une específicamente a CD154 para uso en un método para tratar un trastorno autoinmunitario, inflamatorio, neurodegenerativo o neuromuscular en un sujeto humano, método que comprende:
- 5
- a) administrar una dosis de carga inicial de 20-60 mg/kg de dicho fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 a un sujeto humano en necesidad de tal tratamiento; y
- 10
- b) 2 semanas después de la dosis de carga inicial administrar una o más dosis adicional(es) de la mitad de la dosis de carga inicial con una frecuencia de una vez en semanas alternas de dicho fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 al sujeto en necesidad de tal tratamiento,
- en donde dicho fragmento de anticuerpo tiene la secuencia de la cadena ligera mostrada en SEQ ID NO: 9 y las secuencias de la cadena pesada mostradas en SEQ ID NO: 10, y
- 15
- en donde dicho fragmento de anticuerpo tiene
- i) un grupo maleimida covalentemente unido a un único grupo tiol en la región bisagra modificada; un residuo de lisina está covalentemente unido al grupo maleimida; y
- 20
- ii) un polímero de metoxipoli(etilenglicol) que tiene un peso molecular de aproximadamente 20 kDa está unido a cada uno de los grupos amino en el residuo de lisina.
2. El fragmento de anticuerpo Fab' monovalente que se une específicamente a CD154 para uso en un método para tratar un trastorno autoinmunitario, inflamatorio, neurodegenerativo o neuromuscular según la reivindicación 1 en donde la dosis de carga inicial es 30 mg/kg y la dosis adicional es 15 mg/kg.
- 25
3. El fragmento de anticuerpo Fab' monovalente que se une específicamente a CD154 para uso en un método para tratar un trastorno autoinmunitario, inflamatorio, neurodegenerativo o neuromuscular según la reivindicación 1 o 2 en donde el fragmento de anticuerpo que se une específicamente a CD154 se administra al paciente en necesidad de ello al menos durante 12 semanas.
- 30
4. El fragmento de anticuerpo Fab' monovalente que se une específicamente a CD154 para uso en un método para tratar un trastorno autoinmunitario, inflamatorio, neurodegenerativo o neuromuscular en un sujeto humano según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la enfermedad es lupus eritematoso sistémico (LES), nefritis lúpica, artritis reumatoide, espondiloartropatías seronegativas, psoriasis, artritis psoriásica, esclerodermia, síndrome de Sjögren, esclerosis múltiple, diabetes de tipo I, uveítis autoinmunitaria y síndrome nefrítico o vasculitis.
- 35
5. El fragmento de anticuerpo Fab' monovalente que se une específicamente a CD154 para uso en un método para tratar un trastorno autoinmunitario, inflamatorio, neurodegenerativo o neuromuscular en un sujeto humano según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho trastorno es lupus eritematoso sistémico (LES) y en donde el sujeto tratado logra una mejora del nivel basal de uno o más índices seleccionados de SLEDAI, BILAG y evaluación médica global.
- 40
6. El fragmento de anticuerpo Fab' monovalente que se une específicamente a CD154 para uso en un método para tratar un trastorno autoinmunitario, inflamatorio, neurodegenerativo o neuromuscular en un sujeto humano según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho trastorno es lupus eritematoso sistémico (LES) y en donde el sujeto tratado logra un Índice Respondedor SLEDAI 4 (SRI-4).
- 45
7. El fragmento de anticuerpo Fab' monovalente que se une específicamente a CD154 para uso en un método para tratar un trastorno autoinmunitario, inflamatorio, neurodegenerativo o neuromuscular en un sujeto humano según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho trastorno es lupus eritematoso sistémico (LES) y en donde el sujeto tratado alcanza una mejora del 50% del nivel basal del índice SRI-50.
- 50
8. El fragmento de anticuerpo Fab' monovalente que se une específicamente a CD154 para uso en un método para tratar un trastorno autoinmunitario, inflamatorio, neurodegenerativo o neuromuscular en un sujeto humano según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho trastorno es lupus eritematoso sistémico (LES) y en donde el sujeto tratado alcanza un aumento del 20%, 30%, 40%, 50%, 75% o 90% del nivel basal o normalización de la concentración de complemento C3 y C4, o una reducción del 20%, 30%, 40%, 50%, 75% o 90% del título anti-ADN bicatenario en suero.
- 55
9. El fragmento de anticuerpo Fab' monovalente que se une específicamente a CD154 para uso en un método para tratar un trastorno autoinmunitario, inflamatorio, neurodegenerativo o neuromuscular en un sujeto humano según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho trastorno es lupus eritematoso sistémico (LES) y en donde el sujeto revierte de seropositivo o seronegativo para anticuerpos anti-ADN bicatenario.
- 60
- 65

Fig. 1
Evaluación de inmunogenicidad - anticuerpos contra CD154 en sujetos con LES

Grupo de dosis	5 mg/kg (n=3)			15 mg/kg (n=3)			30 mg/kg (n=4)			60 mg/kg (n=3)		
	Nobs	Min	Max	Nobs	Min	Max	Nobs	Min	Max	Nobs	Min	Max
Visita	unidades/ml											
Día 7	0			0			0					
Día 14	0			0			0					
Día 28	1	0.0090	0.0090	0			0					
Día 42	2	0.0067	0.0227	0			0					
Día 56	3	0.0162	0.0361	1	0.0082	0.0082	0					
Día 70	3	0.0247	0.0719	0			0					
Día 84	3	0.0328	0.0887	2	0.0086	0.0103	2	0.0073	0.0095	2	0.0131	0.0236
Día 98	3	0.0217	0.0695	2	0.0157	0.0161	3	0.0092	0.0365	3	0.0072	0.1010
Día 119	3	0.0073	0.0436	2	0.0083	0.0144	3	0.0117	0.0294	3	0.0106	0.2400

Nobs = número de valores observados por encima del valor de corte

Nota: no se observaron valores anti-CDP7657 por encima del valor de corte en ninguna visita para todos los placebos (n=7)

Nota: La presencia de fármaco interfiere con la medida de anticuerpos anti-CDP7657 en este ensayo

Fig. 2
Diseño del estudio SL0014

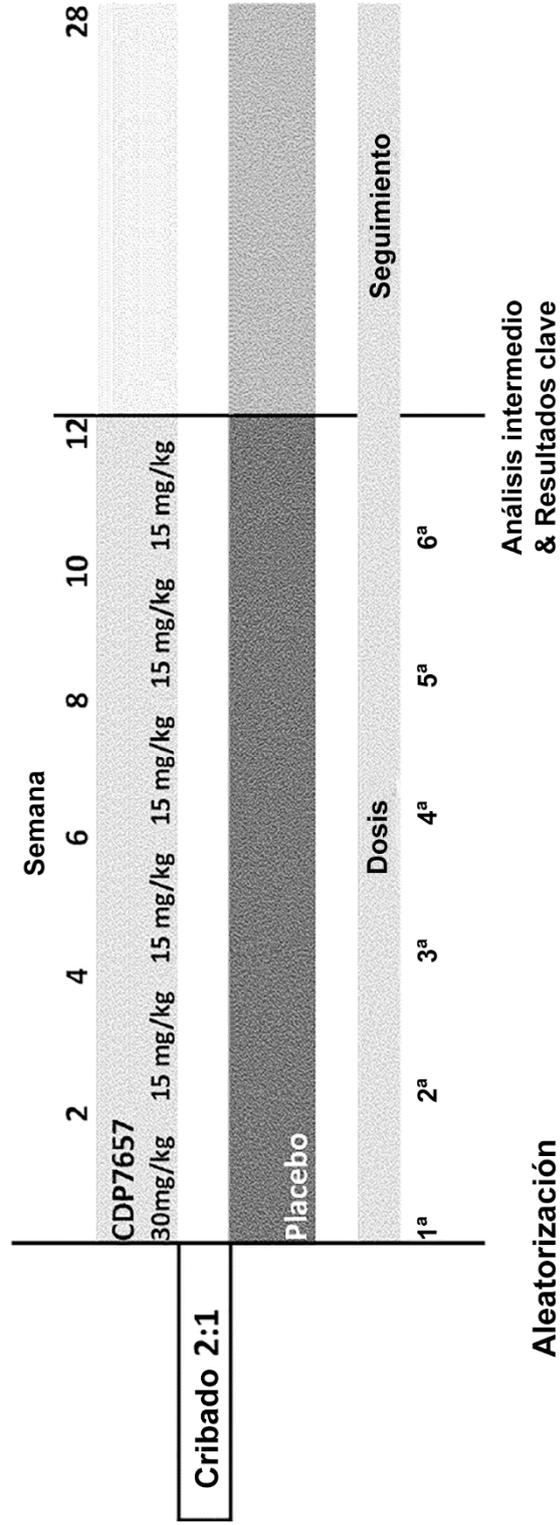


Fig. 3
 Respuesta clínica en el estudio SL0014 medida por los índices SRI4 y BICLA

		SRI4			BICLA		
		Placebo	CDP7657	Total	Placebo	CDP7657	Total
Respondedor	1	5	6	1	5	6	
No Respondedor	6	7	13	6	6	12	
Total	7	12	19	7	12	19	
Tasa de respondedores	14%	42%		14%	45%		

Fig. 4
Respuesta clínica en el estudio SL0014 medida por el Índice de Respuesta SLEDAI 50 (mediana de cambio del basal)

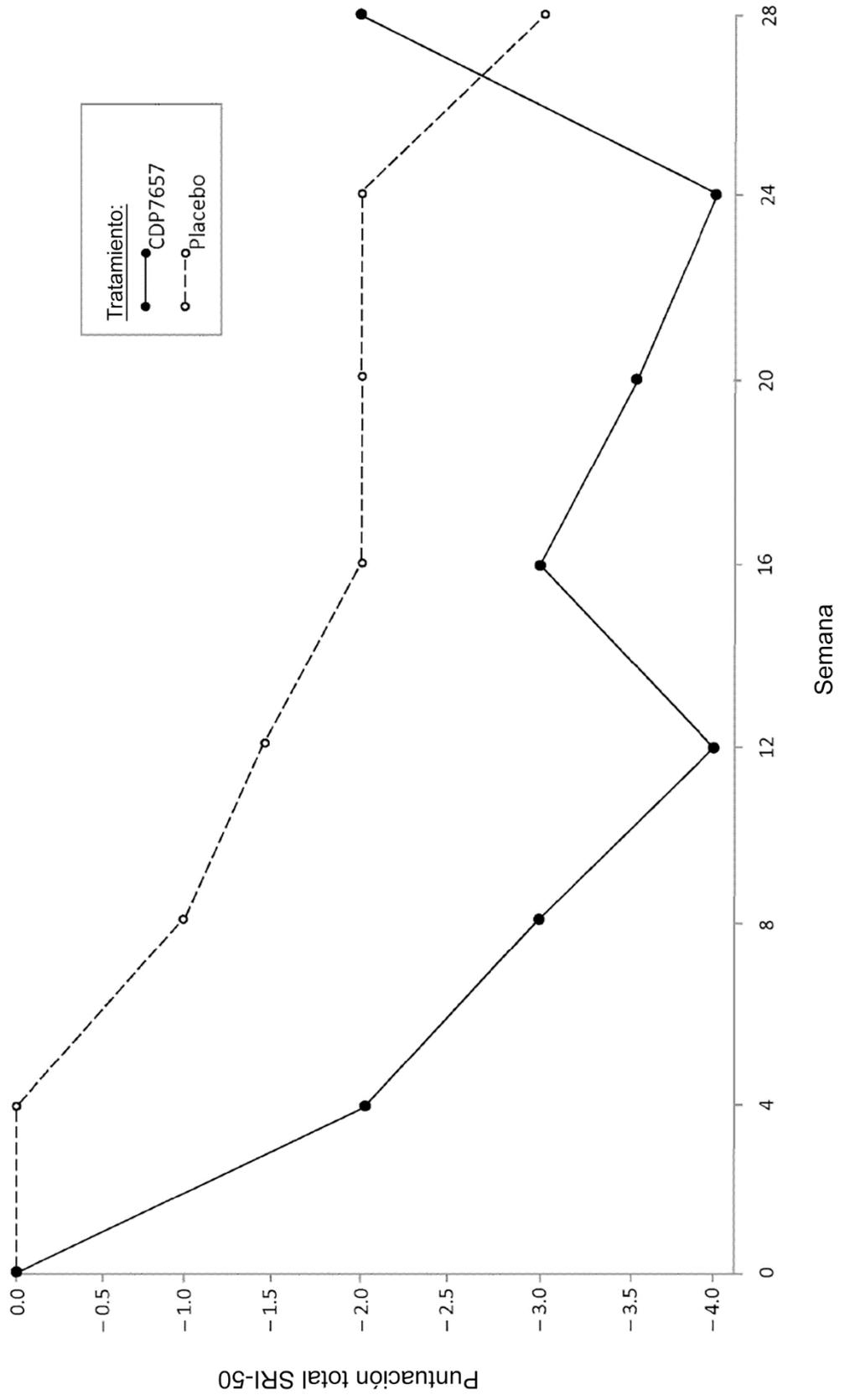


Fig. 5:
La exposición de plasma durante 20 semanas para dosis únicas de 60 mg frente a la pauta de dosis usada en SL0014.

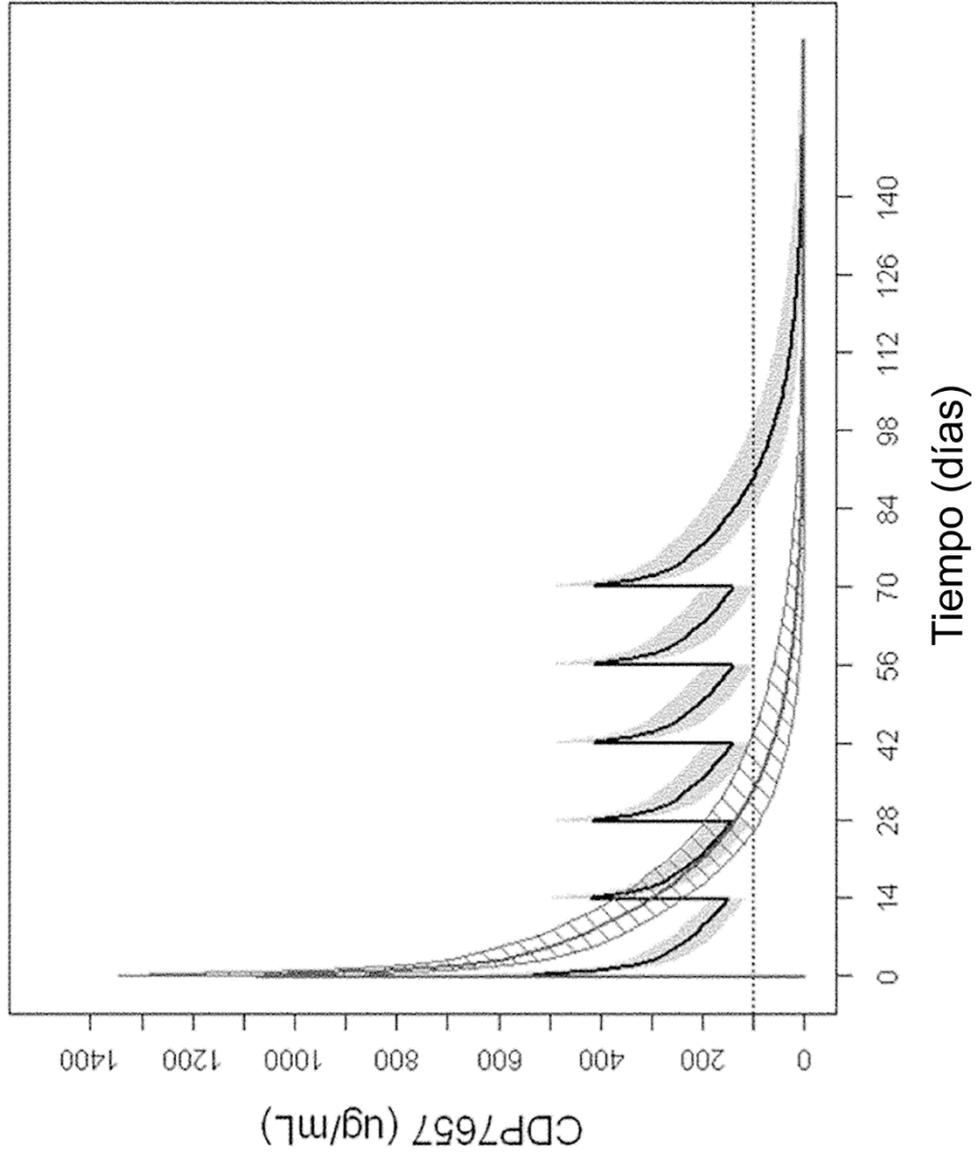


Fig. 6
 Datos farmacocinéticos para las pautas de dosis única y múltiples ilustradas en la figura 5.

	60 mg/kg dosis única	30 mg/kg + 5 x 15 mg/kg cada 2 semanas
Cmax	1077 (880-1344)	541 (435-666)
AUC_(0-28d)	9846 (8276-11673)	6665(5578-7819)
AUC_(0-42d)	11143 (9183-13675)	9790 (8137-11664)
AUC_(0-56d)	11723 (9495-14681)	12905 (10640-15540)
AUC_(0-70d)	12020 (9715-15276)	16011 (13136-19442)
AUC_(0-inf)	12329 (9776-15887)	21694 (17127-27853)
% de tiempo a concen. >100 µg/mL	34 (27-45)	90 (84-101)

Fig. 7
Características basales de los sujetos tratados en el estudio SL0014

Variable	Estadística	Placebo (N=8)	CDP7657 (N=16)	Todos los sujetos (N=24)
Edad (años)	Media (Min, Max)	40.1 (18, 59)	41.8 (29, 61)	41.3 (18, 61)
IMC (kg/m ²)	Media (Min, Max)	25.0 (18.7, 33.2)	23.8 (16.7, 41.8)	14.2 (16.7, 41.8)
Raza	Blanca, n (%)	8 (100)	15 (93.8)	23 (95.8)
Sexo	Mujer / Hombre (n)	8 / 0	13 / 3	21 / 3
SLEDAI	Mediana (Min, Max)	8 (4, 14)	10 (2, 16)	9 (2, 16)
ADN Ads (U/mL)	Mediana (Min, Max)	16 (1, 90)	10 (1, 475)	13 (1, 475)
Complemento C4 (mg/L)	Mediana (Min, Max)	215 (40, 330)	145 (30, 420)	150 (30, 420)
IgG (g/L)	Mediana (Min, Max)	10.8 (4.7, 13.8)	12.9 (5.6, 19.6)	12.2 (4.7, 19.6)
BILAG	Grado A o B (n)	7	11	18
Medicación concomitante				
Corticosteroides	n	7	14	21
Inmunosupresores	n	1	2	3
Antipalúdicos	n	4	3	7

Fig 8

Resumen de efectos adversos, por grupo de tratamiento, en el estudio SL0014

Categoría	Placebo	Fármaco de estudio
	Todos N=8 n (%) E	Todos N=16 n (%) E
Cualquier EADT	5 (62.5) 23	14 (87.5) 56
EADT serios	0	0
Retirada debido a EADT	0	1 (6.3) 1
EADT del fármaco	3 (37.5) 4	4 (25.0) 9
EADT graves	1 (12.5) 2	0
EADT de infección	3 (37.5) 5	9 (62.5) 15

n = número de sujetos, E = número de efectos. Los porcentajes son % de sujetos.