

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 805 094**

51 Int. Cl.:

A61K 38/17 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)
A61P 27/06 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07K 7/06 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 35/17 (2015.01)
C07K 14/47 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.12.2015 PCT/JP2015/084709**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **16.06.2016 WO16093326**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.12.2015 E 15867628 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.06.2020 EP 3231438**

54 Título: **Inmunoterapia WT1 para enfermedad angiogénica intraocular**

30 Prioridad:

11.12.2014 JP 2014251208

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.02.2021

73 Titular/es:

**INTERNATIONAL INSTITUTE OF CANCER
IMMUNOLOGY, INC. (100.0%)
13-9, Enoki-cho
Suita-shi, Osaka 564-0053, JP**

72 Inventor/es:

SUGIYAMA, HARUO

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 805 094 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

Inmunoterapia WT1 para enfermedad angiogénica intraocular

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a inmunoterapia para enfermedades angiogénicas.

10 **Técnica anterior**

Para las enfermedades angiogénicas, tales como varios tipos de cáncer, mieloma múltiple, reumatismo articular, psoriasis, enfermedades angiogénicas intraoculares tales como la degeneración macular relacionada con la edad de tipo húmedo, placa aterosclerótica, malformación vascular, aglutinación vascular, síndrome de hipertrofia ovárica, ovario poliquístico, granuloma, angioma, una cicatriz hipertrófica, queloide, esclerodermia, verruga, los tratamientos se llevan a cabo utilizando protamina, una combinación de esteroides y heparina, una combinación de esteroides y sulfato de hexuronil hexosaminoglicano, mitoxantrona, endostatina, un fragmento de fibronectina que se une a la heparina, un inhibidor de la prostaglandina sintetasa, interferón Y, un compuesto de oro, linfotóxina, D-penicilamina, una combinación de un esteroide y tetradecasulfato de β -ciclodextrina, un inhibidor de proteasa, metotrexato, interferón α -2a y un fármaco anti-VEGF.

Los tipos típicos de enfermedades angiogénicas incluyen enfermedades angiogénicas intraoculares tales como la degeneración macular relacionada con la edad, de tipo húmedo. Un método común de tratamiento para las enfermedades angiogénicas intraoculares utiliza un fármaco anti-VEGF como inyección intraocular. Sin embargo, el método de tratamiento que utiliza un fármaco anti-VEGF requiere mucho dinero, necesita inyecciones repetidas regularmente, proporciona mucho miedo psicológico a los pacientes por la inserción de agujas de inyección en sus ojos. Además, existe un gran riesgo de complicaciones graves, tales como infecciones intraoculares con gran dificultad en el tratamiento, endoftalmitis causada por la estimulación de la inyección e inducción de desprendimiento de retina. Adicionalmente, existe información acerca de que la vista mejora durante un cierto período de tiempo por medio del tratamiento en el que se utiliza un fármaco anti-VEGF en la mayoría de los casos, si bien la vista empeora nuevamente a largo plazo, incluso con un tratamiento continuado. Es decir, aunque el fármaco anti-VEGF utilizado en el presente tratamiento es costoso, presenta riesgo y, por lo tanto, no se logra necesariamente una satisfacción suficiente del tratamiento en vista de sus efectos. Otros tratamientos incluyen métodos quirúrgicos tales como la terapia fotodinámica, la fotocoagulación con láser y la extracción neovascular, sin embargo, estos métodos también tienen problemas en términos de coste y satisfacción del tratamiento, tienen una alta invasividad y a veces requieren hospitalización. En consecuencia, todavía ningún método convencional de tratamiento para enfermedades angiogénicas intraoculares ha sido satisfactorio, y por lo tanto se considera que se deben superar muchos problemas en los tratamientos actuales.

Recientemente, se informó de que una proteína WT1, que es una proteína antigénica cancerosa, también se desarrolla en los vasos sanguíneos de los tejidos cancerosos (Bibliografía Relacionada con Patentes 1: N. Wagner et al. Oncogene (2008) 27, 3662-3672).

Ya ha habido muchos informes sobre experimentos que utilizan un péptido antigénico canceroso como vacuna contra el cáncer, sin embargo, no ha habido informes sobre el tratamiento y la prevención de enfermedades angiogénicas utilizando un péptido antigénico canceroso como vacuna.

En las circunstancias anteriores, se desea una nueva terapia curativa completa para las enfermedades angiogénicas.

50 **Lista referencias**

Bibliografía no Relacionada con Patentes

Bibliografía no Relacionada con Patentes 1: N. Wagner et al. Oncogene (2008) 27, 3662-3672

55 **Compendio de la invención**

Problemas a resolver

60 Un objeto de la presente invención es proporcionar una nueva preparación para el tratamiento y prevención de enfermedades angiogénicas. Adicionalmente, también es un objeto de la presente invención proporcionar una preparación mínimamente invasiva que pueda ser autoadministrada por el paciente con un coste relativamente bajo.

Medios para resolver los problemas

Los autores de la presente invención, después de realizar un estudio diligente para resolver los problemas mencionados anteriormente, han encontrado que las enfermedades angiogénicas se pueden tratar o prevenir mediante el uso de un péptido antigénico específico del cáncer, es decir, un péptido WT1 específico o un péptido WT1 variante, como vacuna. Adicionalmente, los autores de la presente invención también han descubierto que las enfermedades angiogénicas se pueden tratar mediante la administración sistémica de un péptido WT1. Los autores de la presente invención han completado la presente invención basándose en los hallazgos.

Por consiguiente, la presente invención proporciona lo siguiente.

(1) Una composición farmacéutica que comprende un péptido WT1 o péptido WT1 variante para su uso en el tratamiento y/o prevención de una enfermedad angiogénica intraocular seleccionada del grupo que consiste en degeneración macular relacionada con la edad de tipo húmedo, degeneración macular miope, rayas angioides, coriorretinopatía serosa central, varios tipos de epitelio patía pigmentaria retiniana, atrofia coroidea, coroideremia, osteoma coroideo, retinopatía diabética, retinopatía del prematuro, glaucoma rubeótico y neovascularización corneal, en donde el péptido WT1 o el péptido WT1 variante tienen capacidad de unión a una molécula HLA, y el péptido WT1 o el péptido WT1 variante comprenden la siguiente secuencia de aminoácidos:

(a) cualquiera de las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 39, o
(b) una secuencia de aminoácidos, en donde uno o dos aminoácidos se reemplazan, eliminan o añaden a la secuencia de aminoácidos de acuerdo con el apartado (a) descrito anteriormente.

(2) Una composición farmacéutica que comprende células de presentación de antígeno, células T asesinas o células T auxiliares inducidas o activadas con un péptido WT1 o un péptido WT1 variante para su uso en el tratamiento y/o prevención de una enfermedad angiogénica intraocular seleccionada del grupo que consiste en degeneración macular relacionada con la edad de tipo húmedo, degeneración macular miope, rayas angioides, coriorretinopatía serosa central, varios tipos de epitelio patía pigmentaria retiniana, atrofia coroidea, coroideremia, osteoma coroideo, retinopatía diabética, retinopatía del prematuro, glaucoma rubeótico y neovascularización corneal, en donde el péptido WT1 o el péptido WT1 variante tienen capacidad de unión a una molécula de HLA, y el péptido WT1 o el péptido WT1 variante comprenden la siguiente secuencia de aminoácidos:

(a) cualquiera de las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 39, o
(b) una secuencia de aminoácidos, en donde uno o dos aminoácidos se reemplazan, eliminan o añaden a la secuencia de aminoácidos de acuerdo con el apartado (a) descrito anteriormente.

(3) La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con los apartados (1) o (2) en donde el péptido WT1 o el péptido WT1 variante activan las células T asesinas o las células T auxiliares.

(4) La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con cualquiera de los apartados (1) a (3), en donde el péptido WT1 o el péptido WT1 variante comprenden la siguiente secuencia de aminoácidos:

(a) Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (SEQ ID NO: 1),
(b) Cys Tyr Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (SEQ ID NO: 19),
(c) Ala Pro Val Leu Asp Phe Ala Pro Pro Gly Ala Ser Ala Tyr Gly Ser Leu Gly (SEQ ID NO: 27),
(d) Lys Arg Tyr Phe Lys Leu Ser His Leu Gln Met His Ser Arg Lys His (SEQ ID NO: 32), o
(e) una secuencia de aminoácidos, en donde uno o varios aminoácidos se reemplazan, eliminan o añaden a cualquiera de las secuencias de aminoácidos de acuerdo con los apartados (a) a (d).

(5) La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con cualquiera de los apartados (1) a (4), que se administra por medio de administración intracutánea, administración percutánea o administración transmucosa.

(6) La composición farmacéutica de acuerdo con los apartados (1) a (5), que se utiliza combinada con un inhibidor del factor de crecimiento endotelial vascular.

(7) La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con el apartado (6), en donde el inhibidor del factor de crecimiento endotelial vascular se selecciona del grupo que consiste en aflibercept, pegaptanib sódico y ranibizumab.

Efectos de la invención

La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un péptido WT1 o un péptido WT1 variante para su uso en cualquier tratamiento y prevención, o tanto para el tratamiento como para la prevención de una enfermedad angiogénica intraocular como se establece anteriormente. Adicionalmente, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que contiene células de presentación de antígeno, células T asesinas o células T auxiliares inducidas o activadas con un péptido WT1 o péptido WT1 variante para su uso en cualquier tratamiento y prevención, o tanto para el tratamiento como para la prevención de una enfermedad angiogénica como se establece anteriormente. La composición farmacéutica según la presente invención es mínimamente invasiva porque se encuentran disponibles la administración sistémica, tal como la administración intracutánea, la administración subcutánea, la administración percutánea y la administración transmucosa, así como la administración tópica. Adicionalmente, la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención puede ser autoadministrada por el paciente. Además, la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención tiene un alto efecto terapéutico y una alta satisfacción del tratamiento por parte de los pacientes. Por otra parte, cuando una enfermedad angiogénica intraocular se trata con la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención, también se puede esperar un efecto de tratamiento o prevención en el otro ojo.

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 es un esquema que muestra un resumen de observaciones, mediciones, elementos de inspección y similares en experimentos con animales.

La Fig. 2 es una imagen típica del fondo del ojo ocular fluorescente con fluoresceína que muestra el efecto antiangiogénico del fondo del ojo de una vacuna de péptido WT1. Dos imágenes a la izquierda muestran los resultados de la administración intracutánea de PBS (control), y dos imágenes a la derecha muestran los resultados de la administración intracutánea de un péptido WT1 (WT1₁₂₆: Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (SEQ ID NO: 1)).

La Fig. 3 es un gráfico que muestra los cambios de las áreas neovasculares coroideas obtenidas mediante análisis en el curso del tiempo con administración intracutánea a 1 µg/organismo, 10 µg/organismo y 100 µg/organismo de un péptido WT1 (WT1₁₂₆: Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (SEQ ID NO: 1)).

La Fig. 4 es un gráfico que muestra los cambios de las áreas neovasculares coroideas obtenidas mediante análisis en el curso del tiempo con administración intracutánea a 1 µg/organismo, 10 µg/organismo y 100 µg/organismo de un péptido WT1 (WT1₃₅: Ala Pro Val Leu Asp Phe Ala Pro Pro Gly Ala Ser Ala Tyr Gly Ser Leu Gly (SEQ ID NO: 27)).

La Fig. 5 es un gráfico que muestra los cambios de las áreas neovasculares coroideas obtenidas mediante análisis en el curso del tiempo con administración intracutánea a 200 µg/organismo de un péptido WT1 (WT1_{235m}: Cys Tyr Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (SEQ ID NO: 19), y WT1₃₃₂: Lys Arg Tyr Phe Lys Leu Ser His Leu Gln Met His Ser Arg Lys His (SEQ ID NO: 32)).

La Fig. 6 es un gráfico que muestra los cambios de las áreas neovasculares coroideas obtenidas por análisis en el curso del tiempo cuando se utilizan los péptidos WT1 (WT1₁₂₆, WT1_{235m} y WT1₃₃₂) y Aflibercept combinados.

Descripción de las realizaciones

En el aspecto (1), la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que contiene un péptido WT1 o un péptido WT1 variante para su uso en cualquier tratamiento y prevención, o tanto para el tratamiento como para la prevención de una enfermedad angiogénica intraocular como se expuso anteriormente. Se conocen diversas proteínas antigénicas cancerosas, incluyendo WT1. El péptido WT1 o el péptido WT1 variante utilizados en la composición farmacéutica de la presente invención pueden ser una especie, o pueden ser dos o más especies. Si un péptido antígeno canceroso WT1 ejerce un efecto terapéutico sobre enfermedades angiogénicas en un sujeto o no, depende de si el péptido antigénico canceroso corresponde a un tipo de HLA del sujeto o no. Actualmente, con respecto a muchos péptidos antigénicos cancerosos, se sabe qué péptido antigénico canceroso es compatible con un cierto tipo de HLA y, por lo tanto, se puede seleccionar un péptido antigénico canceroso utilizado en la presente invención de acuerdo con el tipo de HLA de un sujeto. Por lo tanto, se pueden utilizar dos o más especies de péptidos antigénicos cancerosos en una composición farmacéutica de la presente invención para adaptarse a rangos más amplios de sujetos. También se conocen diversas enfermedades angiogénicas. Los ejemplos de enfermedades angiogénicas incluyen varios tipos de cáncer, mieloma múltiple, reumatismo articular, psoriasis, enfermedades angiogénicas intraoculares tales como la degeneración macular relacionada con la edad de tipo húmedo, placa aterosclerótica, malformación vascular, aglutinación vascular, síndrome de hipertrofia ovárica, ovario poliquístico, granuloma, angioma, una cicatriz hipertrófica, queloides, esclerodermia y verruga.

Se pueden administrar un péptido WT1 o péptido WT1 variante a un sujeto, o se pueden agregar a una muestra tal como sangre tomada de un sujeto para obtener células de presentación de antígeno que presentan dicho péptido antigénico canceroso. Las células de presentación de antígeno que presentan un antígeno canceroso estimulan los linfocitos para inducir o activar células T asesinas o células T auxiliares. Un efecto del péptido antigénico canceroso

deriva de las células de presentación de antígenos, las células T asesinas o las células T auxiliares inducidas o activadas como se mencionó anteriormente. En el aspecto (2), la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que contiene células de presentación de antígenos, células T asesinas o células T auxiliares inducidas o activadas con un péptido WT1 o péptido WT1 variante para su uso en cualquier tratamiento y prevención, o tanto para el tratamiento como para la prevención de la enfermedad angiogénica como se establece anteriormente.

Como se emplea en la presente memoria, un péptido WT1 se refiere a un péptido parcial de una proteína antigénica cancerosa WT1 codificada por el gen WT1 (gen 1 de tumor de Wilms). Una secuencia de aminoácidos de la proteína antigénica cancerosa WT1 está representada por SEQ ID NO: 40. Por lo tanto, un péptido WT1 es un péptido que consiste en una secuencia de aminoácidos sucesivos incluida en la proteína antigénica cancerosa WT1. El péptido WT1 es bien conocido por un experto en la técnica, y existen muchos informes específicamente relacionados con la inmunoterapia contra el cáncer. Se puede producir un péptido WT1 mediante métodos conocidos públicamente, tales como un procedimiento de ingeniería genética o un método de síntesis química. A menos que se indique lo contrario, el péptido WT1 utilizado en la presente memoria se refiere a un péptido derivado de una proteína antigénica cancerosa humana WT1.

El péptido WT1 utilizado en la presente invención puede ser un péptido WT1 variante que consiste en un aminoácido en el que uno o varios aminoácidos se reemplazan, eliminan o añaden a la secuencia de aminoácidos de un péptido WT1. El péptido WT1 variante puede ser un péptido WT1 que tiene una secuencia de aminoácidos modificada artificialmente (también llamada péptido WT1 modificado), un péptido WT1 obtenido por mutación natural o un péptido WT1 que tiene una diferencia en una secuencia de aminoácidos debida a especies animales que es el origen del péptido WT1. Como se emplea en la presente memoria, el péptido WT1 variante tiene un efecto terapéutico similar sobre las enfermedades angiogénicas intraoculares al de un péptido WT1 de tipo natural. Los métodos para reemplazar, eliminar o añadir una secuencia de aminoácidos conocida por un experto en la técnica incluyen procedimientos de ingeniería genética y métodos químicos, y por lo tanto, un experto en la técnica puede obtener fácilmente una secuencia de aminoácidos deseada. El término uno o varios se refiere, por ejemplo, a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10, preferiblemente 1, 2, 3, 4 o 5, más preferiblemente 1, 2, o 3. Además, preferiblemente, el término uno o varios se refiere a 1 o 2.

Los péptidos WT1 variantes incluyen péptidos que tienen una modificación de un residuo de aminoácido en un péptido WT1. Los expertos en la técnica conocen los tipos de modificación y los métodos para la modificación de un residuo de aminoácido en un péptido. Como ejemplos específicos para la modificación, se pueden unir diversas sustancias tales como un aminoácido, un péptido o sus análogos al extremo N y/o al extremo C de un péptido WT1. Las diversas sustancias mencionadas anteriormente pueden ser sustancias para controlar la solubilidad de un péptido WT1 de la presente invención, aumentar su estabilidad (p. ej., actividad antiproteasa), suministrar un péptido WT1 de la presente invención específicamente a tejidos/órganos predeterminados, o mejorar la eficacia de absorción de las células de presentación de antígenos. Por otro lado, las diversas sustancias mencionadas anteriormente se pueden preparar de manera que las diversas sustancias se puedan eliminar in vivo para proporcionar un péptido WT1.

Como se emplea en la presente memoria, a menos que se indique lo contrario, el término péptido WT1 incluye un péptido WT1 variante.

La longitud de un péptido WT1 utilizado en la presente invención no está específicamente limitada, sin embargo, se prefiere un péptido WT1 que consista en aproximadamente 7 a aproximadamente 30 aminoácidos. Un péptido WT1 preferido tiene la regularidad de secuencia (motivo) de un péptido antigénico, que está unido a y es presentado por, una molécula de HLA, y tiene capacidad de unión a una molécula de HLA. La capacidad de unión a una molécula de HLA se puede analizar mediante métodos conocidos en la técnica. Tales métodos incluyen, por ejemplo, métodos informáticos tales como Rankpep, BIMAS y SYFPEITHI, y un ensayo de unión competitiva con un péptido WT1 conocido que tiene capacidad de unión a una molécula de HLA. Adicionalmente, un péptido WT1 preferido activa las células T asesinas o las células T auxiliares.

Se conocen públicamente muchos péptidos WT1 que activan las células T asesinas (denominados en la presente memoria péptidos WT1 asesinos). Generalmente, un péptido WT1 asesino preferido tiene una secuencia de aminoácidos que consiste en 7 a 12 aminoácidos. Un péptido WT1 asesino más preferido tiene una secuencia de aminoácidos que consiste en 9 aminoácidos. Los ejemplos de péptidos WT1 asesinos que se pueden utilizar en la presente invención incluyen péptidos que comprenden o consisten en las siguientes secuencias de aminoácidos: Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (SEQ ID NO: 1), Arg Tyr Pro Ser Cys Gln Lys Lys Phe (SEQ ID NO: 2), Arg Tyr Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (SEQ ID NO: 3), Ala Tyr Leu Pro Ala Val Pro Ser Leu (SEQ ID NO: 4), Asn Tyr Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu (SEQ ID NO: 5), Asp Gln Leu Lys Arg His Gln Arg Arg (SEQ ID NO: 6), Val Thr Phe Asp Gly Thr Pro Ser Tyr (SEQ ID NO: 7), Gln Gly Ser Leu Gly Glu Gln Gln Tyr (SEQ ID NO: 8), Cys Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (SEQ ID NO: 9), Leu Ser His Leu Gln Met His Ser Arg (SEQ ID NO: 10), Phe Ser Arg Ser Asp Gln Leu Lys Arg (SEQ ID NO: 11), Ser Asp Gln Leu Lys Arg His Gln Arg (SEQ ID NO: 12), Thr Ser Glu Lys Pro Phe Ser Cys Arg (SEQ ID NO: 13), Pro Ile Leu Cys Gly Ala Gln Tyr Arg (SEQ ID NO: 14), Ser Ala Ser Glu Thr Ser Glu Lys Arg (SEQ

ID NO: 15), Ser His Leu Gln Met His Ser Arg Lys (SEQ ID NO: 16), Thr Gly Val Lys Pro Phe Gln Cys Lys (SEQ ID NO: 17), Ser Leu Gly Glu Gln Gln Tyr Ser Val (SEQ ID NO: 18), Cys Tyr Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (SEQ ID NO: 19), Phe Leu Gly Glu Gln Gln Tyr Ser Val (SEQ ID NO: 20), Ser Met Gly Glu Gln Gln Tyr Ser Val (SEQ ID NO: 21), Ser Leu Met Glu Gln Gln Tyr Ser Val (SEQ ID NO: 22), Phe Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (SEQ ID NO: 23), Arg Leu Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (SEQ ID NO: 24), Arg Met Met Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (SEQ ID NO: 25), o Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Val (SEQ ID NO: 26), y péptidos WT1 variantes de los péptidos mencionados anteriormente. Otros ejemplos de péptidos WT1 asesinos incluyen, pero no se limitan a, los descritos en el documento WO 2000/018795.

Se conocen públicamente muchos péptidos WT1 que activan las células T auxiliares (denominados en la presente memoria péptidos WT1 auxiliares). En general, un péptido WT1 auxiliar preferido tiene una secuencia de aminoácidos que consiste en 10 a 25 aminoácidos. Un péptido WT1 auxiliar más preferido tiene una secuencia de aminoácidos que consiste en 13 a 20 aminoácidos. Los ejemplos de péptidos WT1 auxiliares que se pueden utilizar en la presente invención incluyen péptidos que comprenden o consisten en las siguientes secuencias de aminoácidos: Ala Pro Val Leu Asp Phe Ala Pro Pro Gly Ala Ser Ala Tyr Gly Ser Leu Gly (SEQ ID NO: 27), Glu Gln Cys Leu Ser Ala Phe Thr Val His Phe Ser Gly Gln Phe Thr Gly (SEQ ID NO: 28), Pro Asn His Ser Phe Lys His Glu Asp Pro Met Gly Gln Gln Gly (SEQ ID NO: 29), Asn Leu Tyr Gln Met Thr Ser Gln Leu Glu Cys Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (SEQ ID NO: 30), Phe Arg Gly Ile Gln Asp Val Arg Arg Val Pro Gly Val Ala Pro Thr Leu Val Arg (SEQ ID NO: 31), o Lys Arg Tyr Phe Lys Leu Ser His Leu Gln Met His Ser Arg Lys His (SEQ ID NO: 32), y péptidos WT1 variantes de los péptidos mencionados anteriormente.

Un péptido WT1 utilizado en una composición farmacéutica de la presente invención puede ser una especie, o dos o más especies. Adicionalmente, un péptido WT1 utilizado en la composición farmacéutica de la presente invención puede ser un péptido WT1 asesino o un péptido WT1 auxiliar, o se pueden mezclar un péptido WT1 asesino y un péptido WT1 auxiliar para su uso en la composición farmacéutica.

En la presente invención, se puede utilizar un dímero de péptidos WT1. El dímero de péptidos WT1 se puede obtener formando un enlace disulfuro entre dos péptidos WT1 que tienen residuos de cisteína.

Un péptido WT1 utilizado en una composición farmacéutica de la presente invención puede ser una especie, o pueden ser dos o más especies. Si un péptido WT1 ejerce un efecto terapéutico sobre las enfermedades angiogénicas intraoculares en un sujeto o no, depende de si el péptido WT1 corresponde al tipo de HLA del sujeto o no. Actualmente, con respecto a muchos péptidos WT1, se sabe que el péptido WT1 es compatible con un cierto tipo de HLA y, por lo tanto, se puede seleccionar un péptido WT1 utilizado en la presente invención de acuerdo con el tipo de HLA de un sujeto. Adicionalmente, se pueden utilizar dos o más especies de péptidos WT1 en una composición farmacéutica de la presente invención para adaptarse a rangos más amplios de sujetos.

Por ejemplo, cuando un sujeto es positivo para HLA-A*0201, los ejemplos de péptidos WT1 preferidos utilizados en una composición farmacéutica de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, péptidos que comprenden o consisten en las siguientes secuencias de aminoácidos: Asp Leu Asn Ala Leu Leu Pro Ala Val (SEQ ID NO: 33), Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (SEQ ID NO: 1), o Ser Leu Gly Glu Gln Gln Tyr Ser Val (SEQ ID NO: 18), y péptidos que comprenden o consisten en una secuencia de aminoácidos en la que uno o varios aminoácidos se reemplazan, eliminan o añaden a la secuencia de aminoácidos mencionada anteriormente.

Por ejemplo, cuando un sujeto es positivo para HLA-A*2601, los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, péptidos que comprenden o consisten en las siguientes secuencias de aminoácidos: Val Thr Phe Asp Gly Thr Pro Ser Tyr (SEQ ID NO: 7), Gln Gly Ser Leu Gly Glu Gln Gln Tyr (SEQ ID NO: 8), o Asp Gln Leu Lys Arg His Gln Arg Arg (SEQ ID NO: 34), y péptidos que comprenden o consisten en una secuencia de aminoácidos en la cual se reemplazan, eliminan o añaden varios aminoácidos a la secuencia de aminoácidos mencionada anteriormente.

Por ejemplo, cuando un sujeto es positivo para HLA-A*3303, los ejemplos incluyen péptidos que comprenden o consisten en las siguientes secuencias de aminoácidos: Leu Ser His Leu Gln Met His Ser Arg (SEQ ID NO: 10), Phe Ser Arg Ser Asp Gln Leu Lys Arg (SEQ ID NO: 11), Ser Asp Gln Leu Lys Arg His Gln Arg (SEQ ID NO: 12), o Thr Ser Glu Lys Pro Phe Ser Cys Arg (SEQ ID NO: 13), y péptidos que comprenden o que consisten en una secuencia de aminoácidos en la que uno o dos aminoácidos se reemplazan, eliminan o añaden a la secuencia de aminoácidos mencionada anteriormente.

Por ejemplo, cuando un sujeto es positivo para HLA-A*1101, los ejemplos incluyen péptidos que comprenden o consisten en las siguientes secuencias de aminoácidos: Ala Ala Gly Ser Ser Ser Val Lys (SEQ ID NO: 35), Pro Ile Leu Cys Gly Ala Gln Tyr Arg (SEQ ID NO: 14), Arg Ser Ala Ser Glu Thr Ser Glu Lys (SEQ ID NO: 36), Ser Ala Ser Glu Thr Ser Glu Lys Arg (SEQ ID NO: 15), Ser His Leu Gln Met His Ser Arg Lys (SEQ ID NO: 16), Thr Gly Val Lys Pro Phe Gln Cys Lys (SEQ ID NO: 17), Lys Thr Cys Gln Arg Lys Phe Ser Arg (SEQ ID NO: 37), Ser Cys Arg Trp Pro Ser Cys Gln Lys (SEQ ID NO: 38), o Asn Met His Gln Arg Asn Met Thr Lys (SEQ ID NO: 39), y péptidos que comprenden o consisten en una secuencia de aminoácidos en la que uno o dos aminoácidos se reemplazan,

eliminan o añaden a la secuencia de aminoácidos mencionada anteriormente.

Por ejemplo, cuando un sujeto es positivo para HLA-A*2402, los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, péptidos que comprenden o consisten en las siguientes secuencias de aminoácidos: Cys Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (SEQ ID NO: 9), o Cys Tyr Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (SEQ ID NO: 19), un dímero de péptidos que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, una forma de péptido de cistina que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, y péptidos que comprenden o consisten en una secuencia de aminoácidos en la que uno o dos aminoácidos se reemplazan, eliminan o añaden a la secuencia de aminoácidos mencionada anteriormente.

Por ejemplo, cuando un sujeto es HLA-DRB1 positivo, HLA-DRB3 positivo, HLA-DRB4 positivo, HLA-DRB5 positivo, HLA-DPB1 positivo o HLA-DQB1 positivo, los ejemplos incluyen, pero no se limitan a péptidos que comprenden o consisten en las siguientes secuencias de aminoácidos: Ala Pro Val Leu Asp Phe Ala Pro Pro Gly Ala Ser Ala Tyr Gly Ser Leu Gly (SEQ ID NO: 27), Glu Gln Cys Leu Ser Ala Phe Thr Val His Phe Ser Gly Gln Phe Thr Gly (SEQ ID NO: 28), Pro Asn His Ser Phe Lys His Glu Asp Pro Met Gly Gln Gln Gly (SEQ ID NO: 29), Asn Leu Tyr Gln Met Thr Ser Gln Leu Glu Cys Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (SEQ ID NO: 30), Phe Arg Gly Ile Gln Asp Val Arg Arg Val Pro Gly Val Ala Pro Thr Leu Val Arg (SEQ ID NO: 31), o Lys Arg Tyr Phe Lys Leu Ser His Leu Gln Met His Ser Arg Lys His (SEQ ID NO: 32) y péptidos que comprenden o consisten en una secuencia de aminoácidos en la que uno o dos aminoácidos se reemplazan, eliminan o añaden a la secuencia de aminoácidos mencionada anteriormente.

Como ingrediente activo en una composición farmacéutica de la presente invención, se puede utilizar un polinucleótido que codifica un péptido WT1. Se puede determinar una secuencia de bases del polinucleótido basándose en la secuencia de aminoácidos del péptido WT1. El polinucleótido se puede fabricar, por ejemplo, mediante un método de síntesis de ADN conocido públicamente o un método de síntesis de ARN, tal como un método de síntesis química y un método de PCR.

Se pueden utilizar la composición farmacéutica de la presente invención, y un fármaco utilizado para cualquier tratamiento y prevención o tanto para el tratamiento como para la prevención de enfermedades angiogénicas combinados. Los ejemplos del fármaco utilizado para cualquier tratamiento y prevención o tanto para el tratamiento como para la prevención de la enfermedad angiogénica incluyen bevacizumab, cetuximab y panitumumab. Los ejemplos del fármaco utilizado para cualquier tratamiento y prevención o tanto para el tratamiento como para la prevención de enfermedades angiogénicas intraoculares incluyen inhibidores del factor de crecimiento endotelial vascular, tales como aflibercept, pegaptanib sódico y ranibizumab.

Las enfermedades angiogénicas intraoculares que se pueden tratar con una composición farmacéutica de la presente invención incluyen degeneración macular relacionada con la edad de tipo húmedo, degeneración macular miope, rayas angioides, coriorretinopatía serosa central, varios tipos de epitelopatía pigmentaria retiniana, atrofia coroidea, coroideremia, osteoma corioideo, retinopatía diabética, retinopatía del prematuro, glaucoma rubeótico y neovascularización corneal.

Las rutas de administración para una composición farmacéutica de la presente invención no están específicamente limitadas, sin embargo, los ejemplos de la ruta de administración preferida incluyen la administración intracutánea, la administración subcutánea, la administración percutánea y la administración transmucosa, tales como gotas para los ojos, pulverización nasal, y sublingual.

Las formas de dosificación de una composición farmacéutica de la presente invención no están limitadas específicamente, y los ejemplos de las formas de dosificación incluyen un medicamento líquido para inyección, un medicamento líquido para gotas oculares, un medicamento líquido para pulverización nasal, una loción, cremas, un parche, comprimido sublingual y un trocisco. Estas formas de dosificación se pueden fabricar y administrar mediante métodos bien conocidos por un experto en la técnica.

Cuando se usa una composición farmacéutica de la presente invención, la dosis de un péptido WT1 se puede cambiar apropiadamente en función de la consideración de los tipos de péptidos WT1, la ruta de administración, la forma de dosificación, los tipos de enfermedad, la gravedad de las enfermedades y el estado de salud de un paciente. En general, la dosis de un péptido WT1 para adultos es de 0,1 µg/kg a 1 mg/kg diariamente. Adicionalmente, los tipos de péptidos WT1, la ruta de administración y la forma de dosificación se pueden cambiar apropiadamente. La composición farmacéutica de la presente invención puede incluir un coadyuvante adecuado, tal como hidróxido de aluminio, además de un portador y un diluyente farmacéuticamente aceptables. Por otro lado, la composición farmacéutica de la presente invención puede contener un péptido WT1 encapsulado en liposomas.

Los expertos en la técnica conocen métodos para inducir o activar células de presentación de antígenos, células T asesinas o células T auxiliares. In vivo, se puede administrar un péptido WT1 a un sujeto para inducir o activar células T asesinas y células T auxiliares. In vitro, por ejemplo, se puede hacer reaccionar una muestra que contiene linfocitos derivados de un sujeto con un complejo de péptido WT1-molécula HLA para obtener células T asesinas.

Adicionalmente, por ejemplo, se pueden cultivar células mononucleares de sangre periférica derivadas de un sujeto en presencia de un péptido WT1 para inducir CTL específicos de WT1 a partir de dichas células mononucleares de sangre periférica. Por otra parte, por ejemplo, se pueden cultivar células de presentación de antígenos inmaduras derivadas de un sujeto en presencia de un péptido WT1 para inducir células de presentación de antígenos que presentan un péptido WT1 a través de una molécula HLA. Las células de presentación de antígenos inmaduras se refieren a células que pueden madurar a células de presentación de antígenos, y los ejemplos de las células de presentación de antígeno inmaduras incluyen células dendríticas inmaduras. Adicionalmente, por ejemplo, se puede añadir un péptido WT1 a las células de presentación de antígenos para activar las células T auxiliares. Las células de presentación de antígenos, las células T asesinas o las células T auxiliares utilizadas en una composición farmacéutica de la presente invención se pueden inducir o activar con cualquier péptido WT1. Por lo tanto, las células de presentación de antígenos, las células T asesinas o las células T auxiliares inducidas o activadas se pueden administrar a un sujeto, preferiblemente a un sujeto del que se obtuvieron estas células para llevar a cabo el tratamiento y la prevención de enfermedades angiogénicas intraoculares.

La descripción anterior del tratamiento y/o la prevención se refiere principalmente a enfermedades angiogénicas intraoculares, sin embargo, la descripción anterior también se aplica a otras enfermedades angiogénicas.

La presente invención se describe a continuación específicamente y con más detalle con referencia a ejemplos. Los ejemplos no cubiertos por el alcance de las reivindicaciones tienen fines ilustrativos.

EJEMPLO

Ejemplo 1

Demostración de un efecto terapéutico de una vacuna de péptido WT1 utilizando un modelo de ratón de angiogénesis de la capa coroidea inducida por láser

1. Método experimental

1-1. Sustancia de prueba

Se utilizaron dos especies de péptidos WT1: WT1₁₂₆ (Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (SEQ ID NO: 1)) y WT1₃₅ (Ala Pro Val Leu Asp Phe Ala Pro Pro Gly Ala Ser Ala Tyr Gly Ser Leu Gly (SEQ ID NO: 27)), como sustancias de prueba.

1-2. Animal utilizado para el experimento

Se utilizaron ratones macho C57BL/6J (proporcionados por CLEA Japan, Inc.). Al comienzo del experimento, los ratones tenían 8 semanas de edad (peso corporal: aproximadamente 20 a 25 g). Los ratones se alimentaron libremente con comida de laboratorio (fabricada por Oriental Yeast Co., Ltd.) y agua corriente. Se utilizaron seis ratones para cada grupo de administración.

1-3. Dosis y método de administración

Como péptido WT1, se disolvieron WT1₁₂₆ o WT1₃₅ en PBS esterilizado de modo que la concentración de la solución fuera de 22,7 mg/ml. El resultante se diluyó a 0,227 o 2,27 mg/ml con PBS esterilizado. Se mezclaron la solución de WT1 resultante y Montanide ISA51 VG de modo que la razón en volumen fuera 1:1,27 para preparar emulsiones de 0,1 µg/µl, 1 µg/µl y 10 µg/µl. Cada una de las emulsiones se administró por vía intracutánea a 10 µl/organismo. Las dosis administradas fueron de 1 µg/organismo, 10 µg/organismo y 100 µg/organismo. El tiempo de las administraciones fue a los 15, 22, 29 y 36 días después de la fotocoagulación.

Específicamente, con respecto a los ratones de los grupos de administración (grupos 1 a 4) a los que se había administrado la sustancia de prueba (péptido WT1), la administración se realizó mediante el siguiente procedimiento.

(1) El agrupamiento se realizó basándose en el área de fuga de fluorescencia 14 días después de la fotocoagulación.

(2) La medición del peso corporal y la observación general de los síntomas se llevaron a cabo 15, 22, 29 y 36 días después de la fotocoagulación.

(3) Se afeitó el abdomen con una máquina cortapelos y a continuación se realizó la administración intracutánea con una aguja de inyección 30G.

Las constituciones de los grupos experimentales (6 animales/grupo) se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1

Número del grupo	Sustancia de prueba	Ruta de administración
1	PBS	Intracutánea
2	1 µg/organismo WT ₁₂₆ o WT ₃₅	
3	10 µg/organismo WT ₁₂₆ o WT ₃₅	
4	100 µg/organismo WT ₁₂₆ o WT ₃₅	

1-4. Fotocoagulación e imagen del fondo ocular

5 El procedimiento utilizado fue el siguiente.

(1) Se realizaron mediciones del peso corporal y observación general de los síntomas.

10 (2) La dilatación de las pupilas se realizó con Mydrin-P (fabricado por Santen Pharmaceutical Co., Ltd.), y a continuación se realizó anestesia general mediante administración intramuscular a 1 ml/kg de una mezcla de inyección de Ketalar e inyección de Celactal (7:1).

15 (3) La fotocoagulación se llevó a cabo utilizando un Fotocoagulador Láser Multicolor (rojo) (fabricado por NIDEK CO., LTD.) en las siguientes condiciones de coagulación: tamaño de punto de 50 µm, salida de 60 mW y tiempo de coagulación de 0,1 s.

20 (4) Se utilizó un cristal de cobertura para la observación del tejido como lente de contacto, y después se realizaron 4 fotocoagulaciones, siempre que se excluyeran los grandes vasos sanguíneos retinianos esporádicos en el fondo ocular posterior.

(5) La obtención de imágenes del fondo de ojo se llevó a cabo utilizando Micron III (fabricado por Phoenix Research Labs) inmediatamente después de la fotocoagulación.

25 (6) Se aplicaron gotas oculares de solución oftálmica Hyalein en ambos ojos.

1-5. Angiografía de fondo de ojo con fluorescencia

El procedimiento utilizado fue el siguiente.

30 (1) La medición del peso corporal y la observación general de los síntomas se llevaron a cabo 14, 21, 28, 35 y 42 días después de la fotocoagulación.

35 (2) La dilatación de las pupilas se realizó con Mydrin-P, y a continuación se realizó anestesia general mediante administración intramuscular a 1 ml/kg de una mezcla de inyección de Ketalar (fabricada por DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED) e inyección de Celactal (fabricada por Bayer) (7:1).

(3) Se inyectó Fluorescite (fabricada por Alcon, Inc.) a 0,1 ml/kg a través de la vena de la cola, y después se realizó una angiografía del fondo de ojo con fluorescencia utilizando Micron III.

40 (4) Se calculó un área de fuga de fluorescencia utilizando un soporte lógico de análisis de imagen.

1-6. Resumen de observaciones, mediciones, elementos de inspección, etc.

45 La fig. 1 resume la descripción mencionada anteriormente.

1-7. Análisis de los datos

50 Se utilizó Microsoft EXCEL para el análisis de datos, y los resultados obtenidos se muestran como media +/- desviación típica. Se utilizó EXSUS versión 8.0.0 (SAS ver.9.3, CAC EXICARE Corporation) para un análisis estadístico, y se seleccionó la comparación multigrupo tipo Dunnett (grupo 1 vs grupos 2, 3 y 4) para llevar a cabo una prueba de comparación múltiple. Se utilizó un nivel de significancia de <5% para todas las pruebas.

2. Resultados de los experimentos

55 Los resultados de la medición de la angiogénesis por angiografía del fondo de ojo con fluorescencia a las 2 semanas y a las 6 semanas de la fotocoagulación se muestran en la Fig. 2. La angiogénesis del fondo de ojo de los ratones, a

los que se administró un péptido WT1 (WT1₁₂₆), a las 6 semanas de la fotocoagulación se suprimió significativamente en comparación con la de los ratones en el grupo al que se administró PBS.

La angiografía del fondo de ojo con fluorescencia se realizó a las 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas y 6 semanas de la fotocoagulación para analizar el cambio dependiente del tiempo del área neovascular coroidea. La Fig. 3 muestra datos de ratones a los que se había administrado WT1₁₂₆, y la Fig. 4 muestra datos de ratones a los que se había administrado WT1₃₅. Se observó una disminución en el área neovascular coroidea con la administración de un péptido WT1 en ratones con la administración de cualquiera de los péptidos WT1.

En el grupo al que se había administrado WT1₁₂₆, el área neovascular coroidea disminuyó con cualquier dosis aplicada de 1 µg/organismo, 10 µg/organismo y 100 µg/organismo en comparación con la del grupo al que se había administrado PBS. Específicamente, en el grupo al que se habían administrado 100 µg/organismo de WT1₁₂₆, el efecto decreciente fue significativo, es decir, el área neovascular coroidea a las 6 semanas de la fotocoagulación se redujo a aproximadamente 50% del área neovascular coroidea a las 2 semanas de la fotocoagulación. Por otro lado, en el grupo al que se había administrado PBS, el área neovascular coroidea a las 6 semanas de la fotocoagulación se incrementó a aproximadamente 230% del área neovascular coroidea a las 2 semanas de la fotocoagulación.

También en el grupo al que se le había administrado WT1₃₅, también se observó una tendencia decreciente en el área neovascular coroidea con cualquier dosis aplicada de 1 µg/organismo, 10 µg/organismo y 100 µg/organismo. El área neovascular coroidea a las 6 semanas de la fotocoagulación se redujo a aproximadamente 50% del área neovascular coroidea a las 2 semanas de la fotocoagulación.

Ejemplo 2

Se utilizaron dos especies de péptidos WT1: WT1_{235m} (Cys Tyr Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (SEQ ID NO: 19)) y WT1₃₃₂ (Lys Arg Tyr Phe Lys Leu Ser His Leu Gln Met His Ser Arg Lys His (SEQ ID NO: 32)) como sustancias de prueba, y después de establecer los grupos de administración se proporcionaron para realizar un experimento en el mismo método y procedimiento que en Ejemplo 1. El WT1_{235m} fue un péptido en el que la metionina en la posición 2 de WT1₂₃₅ (SEQ ID NO: 9) se reemplazó por tirosina.

Tabla 2

Número de grupo	Sustancia de prueba	Dosis de administración	Volumen de administración	Número de administración	Cepa de ratón Número del experimento
1	PBS	-	10 µl/organismo	1 (por vía intracutánea)	C57BL6 12 ratones
2	WT1 _{235m}	200 µg/organismo	10 µl/organismo	4 (por vía intracutánea)	CBF-1 12 ratones
3	WT1 ₃₃₂	200 µg/organismo	10 µl/organismo	4 (por vía intracutánea)	CBF-1 12 ratones

La angiografía del fondo de ojo con fluorescencia se llevó a cabo a las 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas y 6 semanas de la fotocoagulación para analizar el cambio dependiente del tiempo del área neovascular coroidea. Los resultados se muestran en la Fig. 5. Se observó una disminución en el área neovascular coroidea con la administración de un péptido WT1 en ratones con la administración de cualquiera de los péptidos WT1 de WT1_{235m} o WT1₃₃₂ en comparación con la del grupo al que se había administrado PBS. En el grupo al que se había administrado WT1₃₃₂, el área neovascular coroidea a las 6 semanas de la fotocoagulación se redujo a aproximadamente 70% del área neovascular coroidea a las 2 semanas de la fotocoagulación. En el grupo al que se había administrado WT1_{235m}, se suprimió el aumento del área neovascular coroidea, es decir, el área neovascular coroidea a las 6 semanas de la fotocoagulación fue la misma que a las 2 semanas de la fotocoagulación.

Ejemplo 3

El cambio dependiente del tiempo del área neovascular coroidea se analizó cuando se utilizaron los péptidos WT1 (WT1₁₂₆, WT1_{235m} y WT1₃₃₂) y Aflibercept combinados. La configuración de los grupos de administración se proporcionó de la siguiente manera (grupos de uso combinado: grupo 3, 4 y 5). La administración intravítrea de Aflibercept en el ojo derecho se realizó el mismo día de la aplicación del láser.

Tabla 3

Número de grupo	Sustancia administrada	Dosis de administración	Volumen de administración	Número de administración	Cepa de ratón Número del experimento
1	PBS	-	10 µl/organismo	1	C57BL6 12 ratones
2	Aflibercept	40 µg/ojo	1 µl/ojo	1	C57BL6 12 ratones
3	Aflibercept	40 µg/ojo	1 µl/ojo	1	C57BL6 12 ratones
	WT1 ₁₂₆	100 µg/organismo	10 µl/organismo	4	
4	Aflibercept	40 µg/ojo	1 µl/ojo	1	CBF-1 12 ratones
	WT1 _{235m}	200 µg/organismo	10 µl/organismo	4	
5	Aflibercept	40 µg/ojo	1 µl/ojo	1	CBF-1 12 ratones
	WT1 ₃₃₂	200 µg/organismo	10 µl/organismo	4	

Los resultados se muestran en la Fig. 6. La disminución en el área neovascular coroidea o la supresión del aumento en el área neovascular coroidea se observaron cuando se utilizaron un péptido WT1 y Aflibercept combinados, y por lo tanto se confirmó un efecto combinado.

Según los resultados de los experimentos descritos anteriormente, se confirma que un péptido WT1, que es un péptido antigénico canceroso, es eficaz en el tratamiento de las enfermedades angiogénicas.

Aplicabilidad industrial

La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un péptido WT1 o un péptido WT1 variante para su uso en cualquier tratamiento y prevención, o tanto para el tratamiento como para la prevención de una enfermedad angiogénica intraocular, y por lo tanto se puede utilizar en este campo farmacéutico específico.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Instituto Internacional de Inmunología del Cáncer, Inc.

5 <120> Inmunoterapia de enfermedades de neoangiogénesis

<130> 672588

<150> JP 2014-251208

10 <151> 11-12-2014

<160> 40

<170> PatentIn versión 3.2

15 <210> 1

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20 <400> 1

Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu

1 5

<210> 2

25 <211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Arg Tyr Pro Ser Cys Gln Lys Lys Phe

30 1 5

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

35 <213> Homo sapiens

<400> 3

Arg Tyr Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu

1 5

<210> 4

40 <211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

45 Ala Tyr Leu Pro Ala Val Pro Ser Leu

1 5

<210> 5

<211> 9

50 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Asn Tyr Met Asn Leu Gly Ala Thr Leu

55 1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

60 <213> Homo sapiens

<400> 6
 Asp Gln Leu Lys Arg His Gln Arg Arg
 1 5

 5 <210> 7
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 7
 Val Thr Phe Asp Gly Thr Pro Ser Tyr
 10 1 5

 <210> 8
 <211> 9
 <212> PRT
 15 <213> Homo sapiens

 <400> 8
 Gln Gly Ser Leu Gly Glu Gln Gln Tyr
 1 5
 20 <210> 9
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 25 <400> 9
 Cys Met Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu
 1 5

 <210> 10
 <211> 9
 30 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 10
 Leu Ser His Leu Gln Met His Ser Arg
 1 5
 35 <210> 11
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 40 <400> 11
 Phe Ser Arg Ser Asp Gln Leu Lys Arg
 1 5

 <210> 12
 45 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 12
 Ser Asp Gln Leu Lys Arg His Gln Arg
 50 1 5

 <210> 13
 <211> 9
 <212> PRT
 55 <213> Homo sapiens

 <400> 13

	Thr Ser Glu Lys Pro Phe Ser Cys Arg
	1 5
5	<210> 14 <211> 9 <212> PRT <213> Homo sapiens
10	<400> 14 Pro Ile Leu Cys Gly Ala Gln Tyr Arg 1 5
15	<210> 15 <211> 9 <212> PRT <213> Homo sapiens
20	<400> 15 Ser Ala Ser Glu Thr Ser Glu Lys Arg 1 5
25	<210> 16 <211> 9 <212> PRT <213> Homo sapiens
30	<400> 16 Ser His Leu Gln Met His Ser Arg Lys 1 5
35	<210> 17 <211> 9 <212> PRT <213> Homo sapiens
40	<400> 17 Thr Gly Val Lys Pro Phe Gln Cys Lys 1 5
45	<210> 18 <211> 9 <212> PRT <213> Homo sapiens
50	<400> 18 Ser Leu Gly Glu Gln Gln Tyr Ser Val 1 5
55	<210> 19 <211> 9 <212> PRT <213> Homo sapiens
	<400> 19 Cys Tyr Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu 1 5
	<210> 20 <211> 9 <212> PRT <213> Homo sapiens
	<400> 20 Phe Leu Gly Glu Gln Gln Tyr Ser Val 1 5

5 <210> 21
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 21
 Ser Met Gly Glu Gln Gln Tyr Ser Val
 1 5

10 <210> 22
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 22
 Ser Leu Met Glu Gln Gln Tyr Ser Val
 1 5

15 <210> 23
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 23
 Phe Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu
 1 5

20 <210> 24
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 24
 Arg Leu Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu
 1 5

25 <210> 25
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 25
 Arg Met Met Pro Asn Ala Pro Tyr Leu
 1 5

30 <210> 26
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 26
 Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Val
 1 5

35 <210> 27
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 27
 Ala Pro Val Leu Asp Phe Ala Pro Pro Gly Ala Ser Ala Tyr Gly Ser
 1 5 10 15

40 Leu Gly

ES 2 805 094 T3

<210> 28
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 28
 Glu Gln Cys Leu Ser Ala Phe Thr Val His Phe Ser Gly Gln Phe Thr
 1 5 10 15
 Gly
 10
 <210> 29
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 29
 Pro Asn His Ser Phe Lys His Glu Asp Pro Met Gly Gln Gln Gly
 15 1 5 10 15
 <210> 30
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 20
 <400> 30
 Asn Leu Tyr Gln Met Thr Ser Gln Leu Glu Cys Met Thr Trp Asn Gln
 1 5 10 15
 Met Asn Leu
 25
 <210> 31
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 30
 <400> 31
 Phe Arg Gly Ile Gln Asp Val Arg Arg Val Pro Gly Val Ala Pro Thr
 1 5 10 15
 Leu Val Arg
 35
 <210> 32
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 32
 Lys Arg Tyr Phe Lys Leu Ser His Leu Gln Met His Ser Arg Lys His
 40 1 5 10 15
 <210> 33
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 45
 <400> 33
 Asp Leu Asn Ala Leu Leu Pro Ala Val
 1 5
 50
 <210> 34
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

	<400> 34
	Asp Gln Leu Lys Arg His Gln Arg Arg
	1 5
5	<210> 35
	<211> 9
	<212> PRT
	<213> Homo sapiens
10	<400> 35
	Ala Ala Gly Ser Ser Ser Ser Val Lys
	1 5
15	<210> 36
	<211> 9
	<212> PRT
	<213> Homo sapiens
20	<400> 36
	Arg Ser Ala Ser Glu Thr Ser Glu Lys
	1 5
25	<210> 37
	<211> 9
	<212> PRT
	<213> Homo sapiens
30	<400> 37
	Lys Thr Cys Gln Arg Lys Phe Ser Arg
	1 5
35	<210> 38
	<211> 9
	<212> PRT
	<213> Homo sapiens
40	<400> 38
	Ser Cys Arg Trp Pro Ser Cys Gln Lys
	1 5
45	<210> 39
	<211> 9
	<212> PRT
	<213> Homo sapiens
	<400> 39
	Asn Met His Gln Arg Asn Met Thr Lys
	1 5
	<210> 40
	<211> 449
	<212> PRT
	<213> Homo sapiens
	<400> 40

ES 2 805 094 T3

Met	Gly	Ser	Asp	Val	Arg	Asp	Leu	Asn	Ala	Leu	Leu	Pro	Ala	Val	Pro	1	5	10	15
Ser	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Cys	Ala	Leu	Pro	Val	Ser	Gly	Ala	Ala	20	25	30	
Gln	Trp	Ala	Pro	Val	Leu	Asp	Phe	Ala	Pro	Pro	Gly	Ala	Ser	Ala	Tyr	35	40	45	
Gly	Ser	Leu	Gly	Gly	Pro	Ala	Pro	Pro	Pro	Ala	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	50	55	60	
Pro	Pro	Pro	Pro	His	Ser	Phe	Ile	Lys	Gln	Glu	Pro	Ser	Trp	Gly	Gly	65	70	75	80
Ala	Glu	Pro	His	Glu	Glu	Gln	Cys	Leu	Ser	Ala	Phe	Thr	Val	His	Phe	85	90	95	
Ser	Gly	Gln	Phe	Thr	Gly	Thr	Ala	Gly	Ala	Cys	Arg	Tyr	Gly	Pro	Phe	100	105	110	
Gly	Pro	Pro	Pro	Pro	Ser	Gln	Ala	Ser	Ser	Gly	Gln	Ala	Arg	Met	Phe	115	120	125	
Pro	Asn	Ala	Pro	Tyr	Leu	Pro	Ser	Cys	Leu	Glu	Ser	Gln	Pro	Ala	Ile	130	135	140	
Arg	Asn	Gln	Gly	Tyr	Ser	Thr	Val	Thr	Phe	Asp	Gly	Thr	Pro	Ser	Tyr	145	150	155	160
Gly	His	Thr	Pro	Ser	His	His	Ala	Ala	Gln	Phe	Pro	Asn	His	Ser	Phe	165	170	175	
Lys	His	Glu	Asp	Pro	Met	Gly	Gln	Gln	Gly	Ser	Leu	Gly	Glu	Gln	Gln	180	185	190	
Tyr	Ser	Val	Pro	Pro	Pro	Val	Tyr	Gly	Cys	His	Thr	Pro	Thr	Asp	Ser	195	200	205	
Cys	Thr	Gly	Ser	Gln	Ala	Leu	Leu	Leu	Arg	Thr	Pro	Tyr	Ser	Ser	Asp	210	215	220	
Asn	Leu	Tyr	Gln	Met	Thr	Ser	Gln	Leu	Glu	Cys	Met	Thr	Trp	Asn	Gln	225	230	235	240

ES 2 805 094 T3

Met	Asn	Leu	Gly	Ala	Thr	Leu	Lys	Gly	Val	Ala	Ala	Gly	Ser	Ser	Ser			
				245					250					255				
Ser	Val	Lys	Trp	Thr	Glu	Gly	Gln	Ser	Asn	His	Ser	Thr	Gly	Tyr	Glu			
			260					265					270					
Ser	Asp	Asn	His	Thr	Thr	Pro	Ile	Leu	Cys	Gly	Ala	Gln	Tyr	Arg	Ile			
		275					280					285						
His	Thr	His	Gly	Val	Phe	Arg	Gly	Ile	Gln	Asp	Val	Arg	Arg	Val	Pro			
	290					295					300							
Gly	Val	Ala	Pro	Thr	Leu	Val	Arg	Ser	Ala	Ser	Glu	Thr	Ser	Glu	Lys			
305					310				315						320			
Arg	Pro	Phe	Met	Cys	Ala	Tyr	Pro	Gly	Cys	Asn	Lys	Arg	Tyr	Phe	Lys			
			325						330					335				
Leu	Ser	His	Leu	Gln	Met	His	Ser	Arg	Lys	His	Thr	Gly	Glu	Lys	Pro			
			340					345					350					
Tyr	Gln	Cys	Asp	Phe	Lys	Asp	Cys	Glu	Arg	Arg	Phe	Ser	Arg	Ser	Asp			
		355					360					365						
Gln	Leu	Lys	Arg	His	Gln	Arg	Arg	His	Thr	Gly	Val	Lys	Pro	Phe	Gln			
	370					375					380							
Cys	Lys	Thr	Cys	Gln	Arg	Lys	Phe	Ser	Arg	Ser	Asp	His	Leu	Lys	Thr			
385					390					395					400			
His	Thr	Arg	Thr	His	Thr	Gly	Lys	Thr	Ser	Glu	Lys	Pro	Phe	Ser	Cys			
				405				410						415				
Arg	Trp	Pro	Ser	Cys	Gln	Lys	Lys	Phe	Ala	Arg	Ser	Asp	Glu	Leu	Val			
			420					425					430					
Arg	His	His	Asn	Met	His	Gln	Arg	Asn	Met	Thr	Lys	Leu	Gln	Leu	Ala			
			435				440					445						
Leu																		

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende un péptido WT1 o péptido WT1 variante para su uso en el tratamiento y/o prevención de una enfermedad angiogénica intraocular seleccionada del grupo que consiste en degeneración macular relacionada con la edad de tipo húmedo, degeneración macular miope, rayas angioides, coriorretinopatía serosa central, varios tipos de epitelio patía pigmentaria retiniana, atrofia coroidea, coroideremia, osteoma corioideo, retinopatía diabética, retinopatía del prematuro, glaucoma rubeótico y neovascularización corneal, en donde el péptido WT1 o el péptido WT1 variante tienen capacidad de unión a una molécula HLA, y el péptido WT1 o el péptido WT1 variante comprenden la siguiente secuencia de aminoácidos:
- (a) cualquiera de las secuencias de aminoácidos representadas por SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 39, o
(b) una secuencia de aminoácidos, en donde uno o dos aminoácidos se reemplazan, eliminan o añaden a la secuencia de aminoácidos de acuerdo con el apartado (a) descrito anteriormente.
2. Una composición farmacéutica que comprende células de presentación de antígenos, células T asesinas o células T auxiliares inducidas o activadas con un péptido WT1 o péptido WT1 variante para su uso en el tratamiento y/o prevención de la enfermedad angiogénica intraocular seleccionada del grupo que consiste en degeneración macular relacionada con la edad de tipo húmedo, degeneración macular miope, rayas angioides, coriorretinopatía serosa central, varios tipos de epitelio patía pigmentaria retiniana, atrofia coroidea, coroideremia, osteoma corioideo, retinopatía diabética, retinopatía del prematuro, glaucoma rubeótico y neovascularización corneal en donde el péptido WT1 o el péptido WT1 variante tienen capacidad de unión a una molécula HLA, y el péptido WT1 o el péptido WT1 variante comprenden la siguiente secuencia de aminoácidos:
- (a) cualquiera de las secuencias de aminoácidos representada por SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 39, o
(b) una secuencia de aminoácidos, en donde uno o dos aminoácidos se reemplazan, eliminan o añaden a la secuencia de aminoácidos de acuerdo con el apartado (a) descrito anteriormente.
3. La composición farmacéutica su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en donde el péptido WT1 o el péptido WT1 variante activan las células T asesinas o las células T auxiliares.
4. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el péptido WT1 o el péptido WT1 variante comprenden la siguiente secuencia de aminoácidos:
- (a) Arg Met Phe Pro Asn Ala Pro Tyr Leu (SEQ ID NO: 1),
(b) Cys Tyr Thr Trp Asn Gln Met Asn Leu (SEQ ID NO: 19),
(c) Ala Pro Val Leu Asp Phe Ala Pro Pro Gly Ala Ser Ala Tyr Gly Ser Leu Gly (SEQ ID NO: 27),
(d) Lys Arg Tyr Phe Lys Leu Ser His Leu Gln Met His Ser Arg Lys His (SEQ ID NO: 32), o
(e) una secuencia de aminoácidos, en donde uno o dos aminoácidos se reemplazan, eliminan o añaden a cualquiera de las secuencias de aminoácidos de acuerdo con los apartados (a) a (d).
5. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que se administra por administración intracutánea, administración subcutánea, administración percutánea o administración transmucosa.
6. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que se usa combinada con un inhibidor del factor de crecimiento endotelial vascular.
7. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en donde el inhibidor del factor de crecimiento endotelial vascular se selecciona del grupo que consiste en aflibercept, pegaptanib sódico y ranibizumab.

Fig. 1

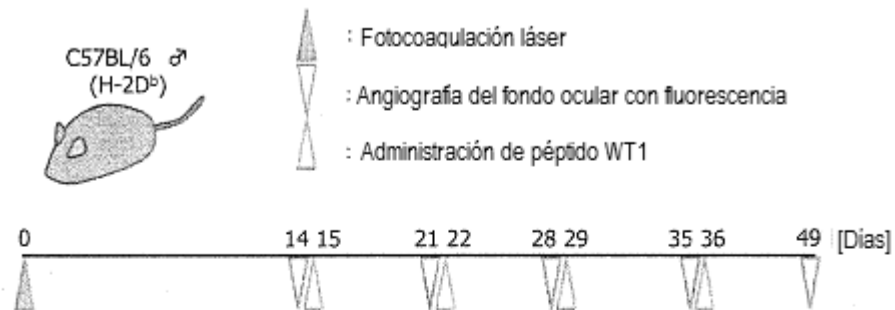


Fig. 2

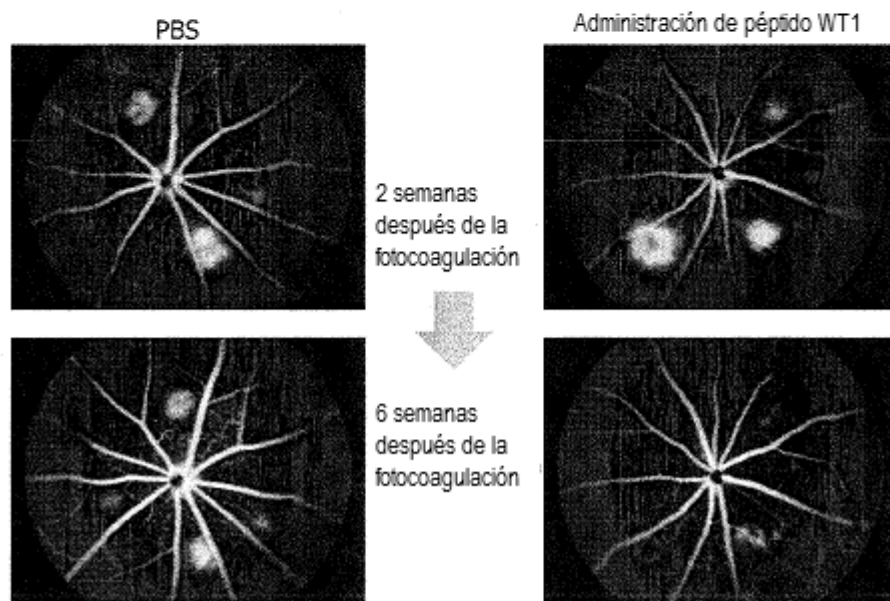


Fig. 3

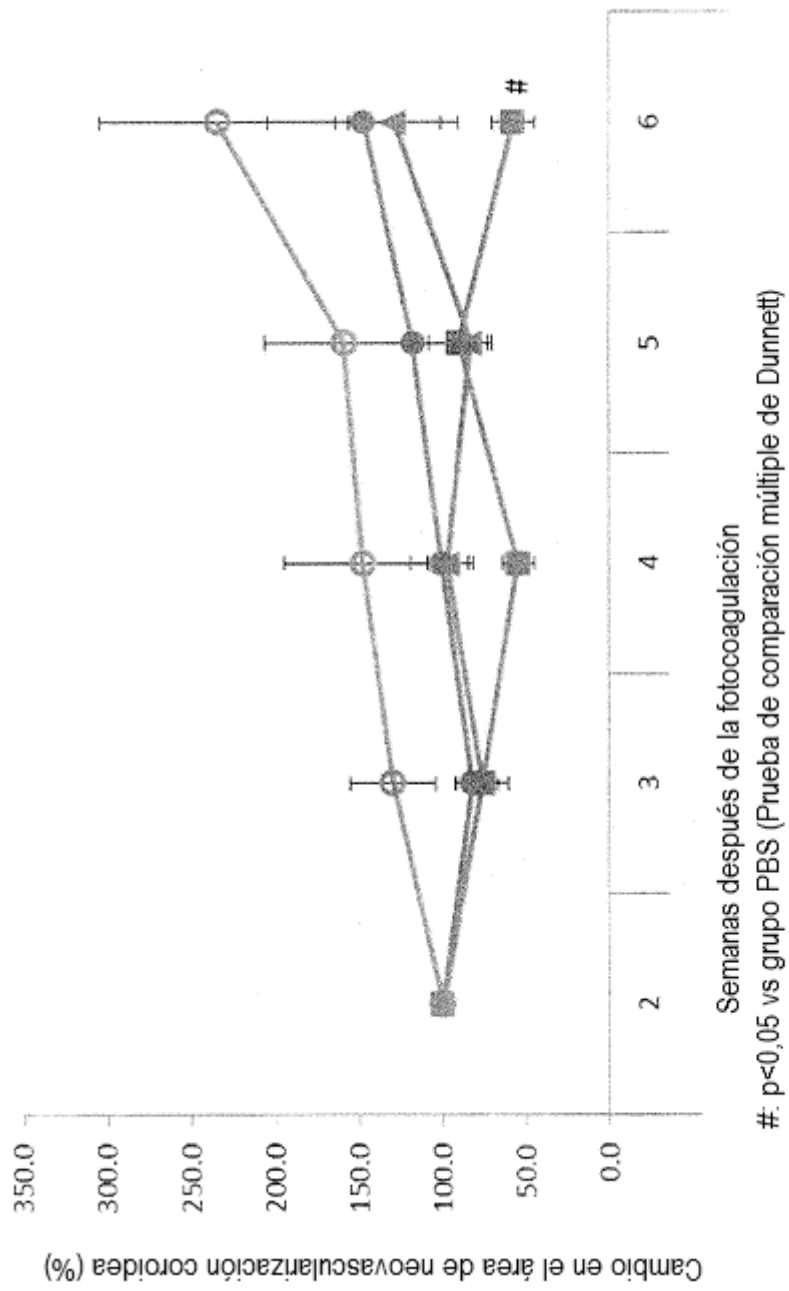


Fig. 4

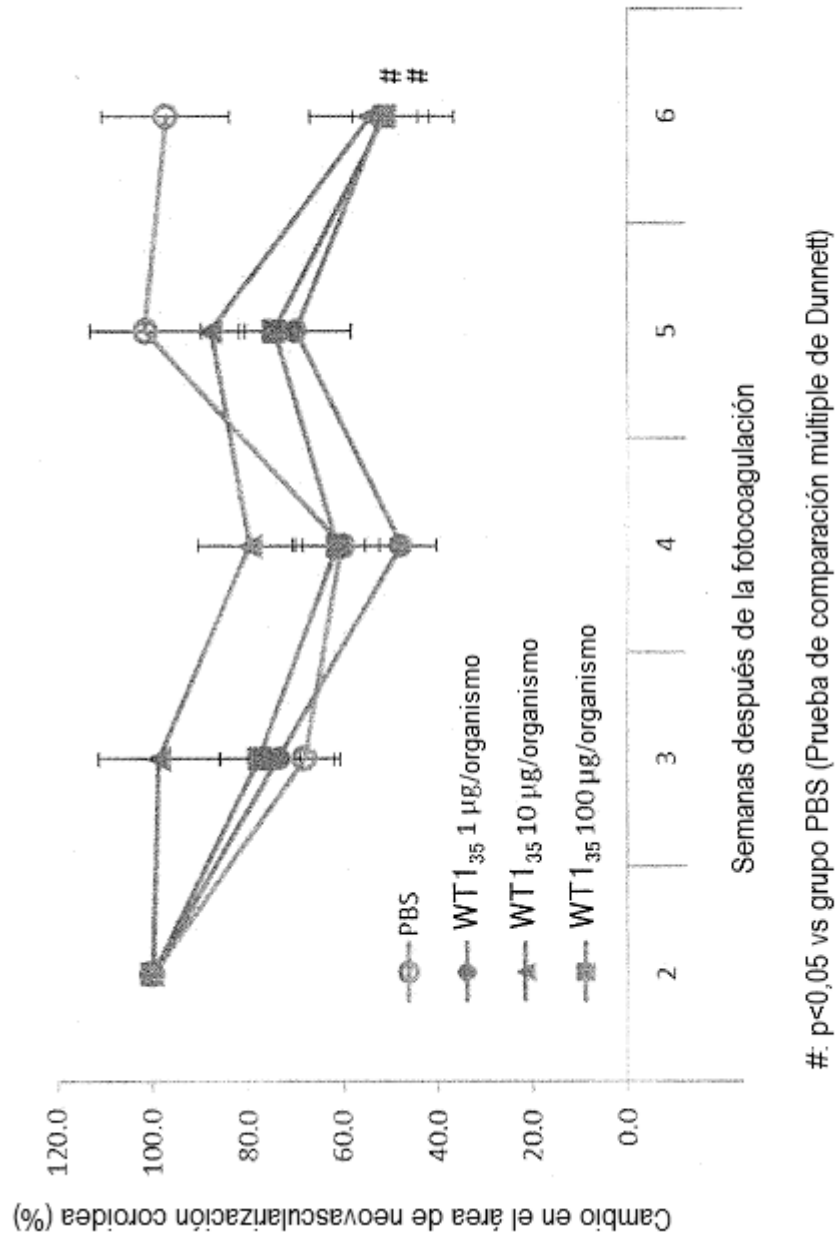


Fig. 5

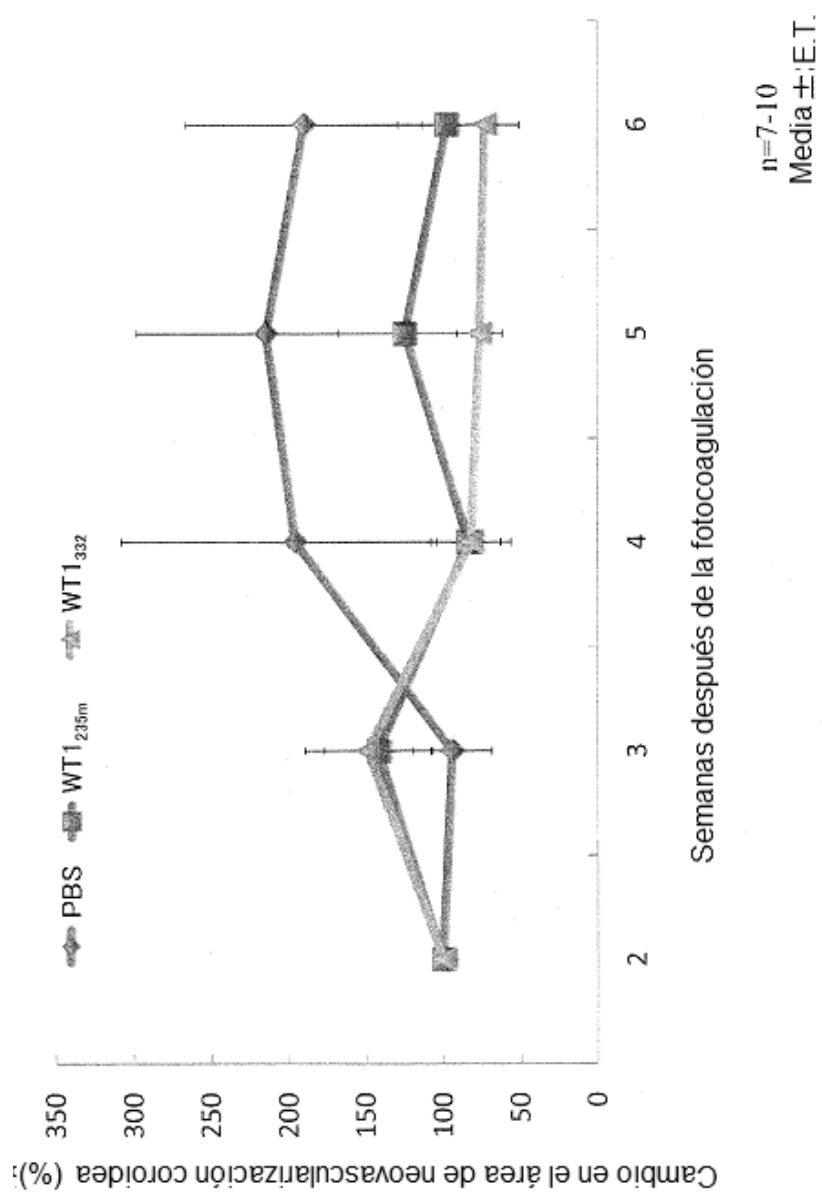


Fig. 6

