



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL
DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-252985-00000-0000

SOLICITUD DE PAT
INVENCIO

Fecha: 2013-10-24 16:36:13 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 3

TITULO: ESTRATIFICACIONES A BASE DE BCMA Y TERAPIA PARA
PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE

SOLICITANTE: BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH

DIRECCIÓN: Binger Strasse. 173, 55216 Ingelheim Am Rhein Alemania

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ 24 de Octubre de 2013

P2013/000185



No. 13-252985- -00000-0000

Fecha: 2013-10-24 16:36:13 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 3PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD
PATENTE PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

P2013/000185

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☒

Capítulo I.

☐

Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)Nombre: **BOEHRINGER INGELHEIM
INTERNATIONAL GMBH**Dirección: Binger Strasse 173, 55216
Ingelheim Am Rhein (DE)Nacionalidad o Domicilio: AlemanaLugar de Constitución: Alemana

Teléfono: _____

Fax: _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

REPRESENTANTE
O APODERADONombre: CARLOS R. OLARTEDirección: Carrera 5 No. 34-03 Bogotá,
ColombiaTeléfono: 601-7700 Fax: 601-7799E-mail: office@olartemoure.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 79.782.747Bta
TP 74.295INVENTOR (ES)
(72)Nombre: (1) Eric BORGES (2) Jasmin Barbara HEBEISDirección: (1) y (2) Binger Strasse 173, 52216 Ingelheim Am Rhein
AlemaniaNacionalidad o Domicilio: (1) Australiana (2) Británica

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/EP2012/057248Fecha Abril 20, 2012Publicación Internacional No. WO2012/143498 A1Fecha Octubre 26, 2012

6

Título (54) **ESTRATIFICACIONES A BASE DE BCMA Y TERAPIA PARA PACIENTES
CON MIELOMA MÚLTIPLE**Clasificación Internacional (51) A61K 39/395, C07K 16/28, G01N 33/574

Prioridad

SI

☒

NO

☐

(33) País de Origen

EP

(32) Fecha

Abril 21, 2011

(31) Número de Solicitud

11163558.7

9

Comprobante de pago No. 13-

Fecha _____



ANEXOS



Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.



Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.



Poderes, si fuere el caso. Adjunto copia simple.



Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.



Declaraciones. Declaración bajo la regla 4.17 (ii) del PCT.



Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).



Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).



Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).



Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.



De ser el caso, copia del contrato de acceso.



De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.



De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.



Arte final 12 x 12.



De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.



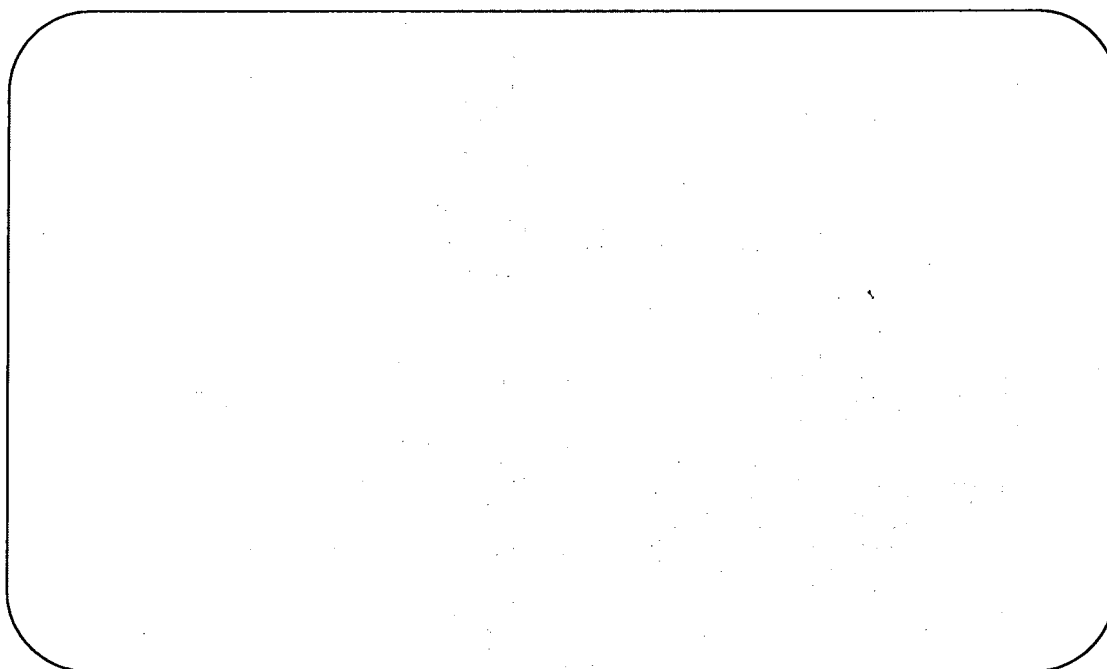
De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.



Otros. Búsqueda Internacional

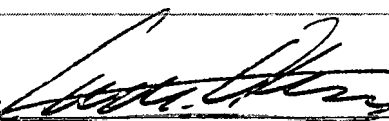


FIGURA CARACTERÍSTICA:



Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA: 

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -



RECIBO DE CAJA

No. 13 - 107420

Bogotá D.C., Octubre 23 de 2013 - 16:31:55

RECIBIDO DE : OLARTE MOURE & ASOCIADOS NI 830.122.870

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	522591171	23/10/2013	8.388.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	500.000.00	500.000.00
				\$500.000.00

SON: **QUINIENTOS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-252985- -00000-0000

Fecha: 2013-10-24 16:36:13 Dep. 2020 DIR. NUEVASCR
Tra. 11 PATENTE IYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 3

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Octubre 23 de 2013 - 16:32:00

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA RELACIÓN DE ANEXOS	
Dependencia: 2020		Fecha: 13 / 10 / 24 / AAAA MM DD	Recorrido: 3
Tipo de Radicación: Entrada: ☒ Salida: ☐ Traslado: ☐ Convenio: ☐			
Radicator:			Planilla:

ID	No. Radicación	Consecutivo	Item
1	13-252985 -	0	7
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

Item	Unidad de Conservación
1	Bolsa
2	Caja
3	Libro
4	Sobre
5	Tomo
6	Otro
Item	Soporte Documental
☒	CD
8	Disquete
9	DVD
10	Folleto
11	Foto
12	Periódico
13	Plano
14	Publicación Periódica
15	USB
16	Otro

Observaciones:

El CD ANEXO CONTIENE UN TOTAL DE 7 ARCHIVOS:
7 EN FORMATO P.DF, LOS CUALES FUERON PROCESADOS

Ce.

PATENTE DE INVENCION ☒

MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

☒	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☐

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☐	Indicación que se solicita una PCT
☐	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-252985-00000-0000

PI02-F08 (2009-11-16)

Fecha: 2013-10-24 16:36:13 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 3



Espacio reservado para el adhesivo de radicación.

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD
PATENTE PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

P2013/000185

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☒

Capítulo I.

☐

Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: BOEHRINGER INGELHEIM
INTERNATIONAL GMBH

Dirección: Binger Strasse 173, 55216
Ingelheim Am Rhein (DE)

Nacionalidad o Domicilio: Alemana

Lugar de Constitución: Alemana

Teléfono: _____

Fax: _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: Carrera 5 No. 34-03 Bogotá,
Colombia

Teléfono: 601-7700 Fax: 601-7799

E-mail: office@olartemoure.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 79.782.747Bta
TP 74.295

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: (1) Eric BORGES (2) Jasmin Barbara HEBEIS

Dirección: (1) y (2) Binger Strasse 173, 52216 Ingelheim Am Rhein
Alemania

Nacionalidad o Domicilio: (1) Australiana (2) Británica

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/EP2012/057248 Fecha Abril 20, 2012

Publicación Internacional No. WO2012/143498 A1 Fecha Octubre 26, 2012

6

Título (54) ESTRATIFICACIONES A BASE DE BCMA Y TERAPIA PARA PACIENTES
CON MIELOMA MÚLTIPLE

Clasificación Internacional (51) A61K 39/395, C07K 16/28, G01N 33/574

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

EP

(32) Fecha

Abril 21, 2011

(31) Número de Solicitud

11163558.7

9

Comprobante de pago No. 13-

Fecha

10

ANEXOS

☒

Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.

☐

Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.

☒

Poderes, si fuere el caso.

☐

Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.

☐

Declaraciones. Declaración bajo la Regla 4.17 (ii) del PCT.

☒

Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

☒

Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

☐

Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).

☐

Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.

☐

De ser el caso, copia del contrato de acceso.

☐

De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.

☐

De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.

☐

Arte final 12 x 12.

☐

De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.

☐

De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.

☒

Otros. Búsqueda Internacional

11

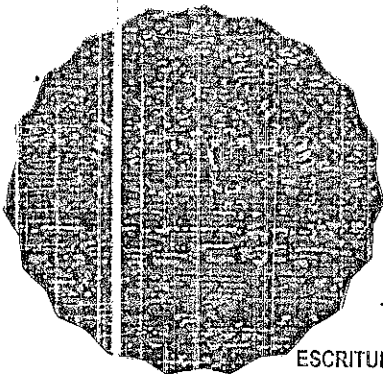
FIGURA CARACTERÍSTICA:

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA: _____
C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295



TESTIMONIO

ESCRITURA: 001416
MINUTA: 000657

K: 007735

DELEGACION DE PODER
QUE OTORGA
BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH
REPRESENTADO POR
JANNE IVETTE LUQUE CARDENAS
A FAVOR DE
CARLOS REINALDO OLARTE

=====

INTRODUCCION

EN LA CIUDAD DE LIMA AL VEINTISEIS DE JULIO DEL DOS MIL DIEZ, ANTE MI, MARIO GINO BENVENUTO MURGUIA, NOTARIO DE ESTA CAPITAL.

COMPARECEN:

JANNE IVETTE LUQUE CARDENAS, QUIEN MANIFIESTA SER DE NACIONALIDAD: PERUANA, DE ESTADO CIVIL CASADA, DE PROFESION U OCUPACION: ABOGADA Y DOMICILIAR EN AVENIDA REPUBLICA DE PANAMA 3531, OFICINA 1203, DISTRITO DE SAN ISIDRO PROVINCIA Y DEPARTAMENTO DE LIMA, DEBIDAMENTE IDENTIFICADA CON DOCUMENTO NACIONAL DE IDENTIDAD NUMERO 29562321, QUIEN PROCEDE EN REPRESENTACION DE BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH, CUYAS FACULTADES CONSTAN EN EL PODER OTORGADO CON FECHA QUINCE DE JULIO DEL DOS MIL DIEZ, DEBIDAMENTE LEGALIZADO POR EL MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES CON FECHA VEINTITRES DE JULIO DEL DOS MIL DIEZ, QUE SE INSERTA, LA COMPARECIENTE ES INTELIGENTE EN EL IDIOMA CASTELLANO, QUIEN SE OBLIGA CON CAPACIDAD, LIBERTAD Y CONOCIMIENTO SUFICIENTE DE CONFORMIDAD CON EL EXAMEN QUE LE HE EFECTUADO DE LO QUE DOY FE; Y ME ENTREGÓ UNA MINUTA QUE ARCHIVO EN SU LEGAJO RESPECTIVO BAJO EL NUMERO DE ORDEN CORRESPONDIENTE Y CUYO TENOR LITERAL ES COMO SIGUE:

MINUTA:

SEÑOR NOTARIO:

SÍRVASE EXTENDER EN SU REGISTRO DE ESCRITURAS PÚBLICAS UNA DE DELEGACION DE PODER QUE OTORGA LA SEÑORA IVETTE LUQUE CARDENAS, IDENTIFICADA CON DNI N° 29562321, DE NACIONALIDAD PERUANA, ESTADO CIVIL CASADA, OCUPACIÓN ABOGADO Y CON DOMICILIO EN AV. REPÚBLICA DE PANAMÁ N° 3531, OFICINA 1203, SAN ISIDRO, QUIEN ACTÚA EN REPRESENTACIÓN DE BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH, UNA EMPRESA CONSTITUIDA Y EXISTENTE BAJO LAS LEYES DE ALEMANIA, CON DOMICILIO EN BINGER STRASSE 173, 55216 INGELHEIM AM RHEIN, ALEMANIA, SEGÚN PODER OTORGADO CON FECHA 13 DE OCTUBRE DE 2009, Y A QUIEN EN ADELANTE SE LE DENOMINARÁ EL PODERDANTE; A FAVOR DEL SEÑOR CARLOS REINALDO OLARTE, IDENTIFICADO CON CÉDULA N° 79.782.747, A QUIEN EN ADELANTE SE LE DENOMINARÁ EL APODERADO; EN LOS SIGUIENTES TÉRMINOS Y CONDICIONES:

PRIMERO: CON FECHA 15 DE JULIO DE 2010, LA EMPRESA BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH, UNA EMPRESA CONSTITUIDA Y EXISTENTE BAJO LAS LEYES DE ALEMANIA, CON DOMICILIO EN BINGER STRASSE 173, 55216 INGELHEIM AM RHEIN, ALEMANIA, OTORGÓ PODER A FAVOR DE EL PODERDANTE, EL CUAL USTED SEÑOR NOTARIO SE SERVIRÁ INSERTAR. ==

SEGUNDO: POR EL PRESENTE DOCUMENTO, EL PODERDANTE DELEGA PODER A FAVOR DE EL APODERADO PARA QUE REPRESENTÉ EN LA REPÚBLICA DE COLOMBIA A LA SOCIEDAD BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH, TAL COMO CONSTA EN EL PODER ADJUNTO, ANTE CUALQUIER AUTORIDAD ADMINISTRATIVA O JUDICIAL, INCLUYENDO LA SECRETARÍA Y TRIBUNAL DE JUSTICIA DE LA COMUNIDAD ANDINA, PARA EL INICIO, TRAMITACIÓN, OBTENCIÓN, DEFENSA Y HACER RESPETAR TODAS Y CUALQUIERA DE LAS PATENTES DE INVENCION, MODELOS DE UTILIDAD, DISEÑOS INDUSTRIALES, MARCAS, LEMAS COMERCIALES, NOMBRES COMERCIALES, PROTECCIÓN DE DATOS DE PRUEBA, PROTECCIÓN DE SECRETOS EMPRESARIALES, DERECHOS DE AUTOR, REGISTRO DE NOMBRES DE DOMINIO, O SEGUIMIENTO DE PROCEDIMIENTOS EN MATERIAS TALES COMO PROPIEDAD INTELECTUAL.

Av. Juan de Arona N° 545 Altura Cdra. 31 de la Av. Arequipa – San Isidro
Central: 719 – 1667 / 719 – 1668 / 719 – 1669 / Telefax.: 717 – 1031
www.notariabenvenuto.com / e-mail: notario@notariabenvenuto.com

Handwritten text, possibly a signature or date, within a rectangular box.

Handwritten text, possibly a signature or date, within a rectangular box.

Handwritten text, possibly a signature or date, within a rectangular box.

TESTIMONIO

EL APODERADO ACTUANDO EN FORMA INDIVIDUAL PODRÁ DEMANDAR, RECONVENIR, CONTESTAR DEMANDAS Y RECONVENIONES, PRESENTAR TODO TIPO DE SOLICITUDES, RECURSOS, RESPUESTAS U OPOSICIONES, PRESENTAR TODO TIPO DE RECURSOS DE IMPUGNACIÓN, PRESENTAR DECLARACIONES, JURADAS O NO, PRESENTAR CUALQUIER OTRO RECURSO O REMEDIO PROCESAL PERMITIDO POR LEY, PAGAR IMPUESTOS Y ANUALIDADES, SOLICITAR TESTIMONIOS, RENUNCIAR A LOS DERECHOS DE REGISTRO SOBRE UN ELEMENTO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL, DESISTIRSE DEL PROCESO Y DE LA PRETENSION, ALLANARSE A LA PRETENSION, CONCILIAR, TRANSIGIR, SOMETER A ARBITRAJE LAS PRETENSIONES CONTROVERTIDAS EN EL PROCESO, SOLICITAR Y EJECUTAR MEDIDAS CAUTELARES ASÍ COMO VISITAS INSPECTIVAS, RATIFICAR LOS ACTOS JURÍDICOS PROCESALES SUSCRITOS CON ANTERIORIDAD AL OTORGAMIENTO Y/O PRESENTACIÓN DEL PRESENTE PODER, SUSTITUIR O DELEGAR LA REPRESENTACIÓN, REVOCAR LOS PODERES OTORGADOS, RECIBIR NOTIFICACIONES EN NOMBRE DE LA COMPAÑÍA Y LOS DEMÁS ACTOS QUE EXPRESE LA LEY. ===== AGREGUE USTED SEÑOR NOTARIO, LAS CLÁUSULAS DE LEY, E INSERTE EL PODER AL QUE SE HA HECHO REFERENCIA. ===== LIMA, 21 DE JULIO DE 2010. =====

FIRMADO.- UNA FIRMA ILEGIBLE.- =====

ABOGADO QUE AUTORIZA.- UN SELLO QUE DICE.- JURGEN STROBACH FLORIAN.- ABOGADO.- C.A.L. 30548.- UNA FIRMA ILEGIBLE.- =====

INSERTO UNO: TRADUCCION OFICIAL =====

MARIO GINO BENVENUTO MURGUIA, ABOGADO NOTARIO DE LIMA, CERTIFICO QUE HE TENIDO A LA VISTA LA TRADUCCION OFICIAL DEL PODER ESPECIAL, DEBIDAMENTE LEGALIZADO POR EL MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES CON FECHA VEINTITRES DE JULIO DEL DOS MIL DIEZ, CUYO TENOR LITERAL ES COMO SIGUE: =====

TRADUCCIÓN OFICIAL

TRA. N° TOI.0077.10

Primera página del documento original:

PODER ESPECIAL de fecha 15 de julio de 2010 redactado en idioma castellano e inglés

Segunda página del documento original:

UR. Nr.: 1446/2010

Por la presente se certifica que las firmas que anteceden de:

- Dr. Michael Kompter, nacido el 11 de mayo de 1955, con domicilio en 55216 Ingelheim am Rhein, Binger Straße 173.
- Dr. Christian Hauke, nacido el 31 de agosto de 1947, con domicilio en 55216 Ingelheim am Rhein, Binger Straße 173.

a quienes he conocido en persona, han sido estampadas en mi presencia

Asimismo, certifico que Boehringer Ingelheim International GmbH es una sociedad debidamente constituida bajo las leyes de la República Federal de

Estados Unidos 688 - Lima 11 - Perú - Tel.: (511) 460-1659 • (511) 463-1167 • Fax: (511) 463-4548
maemim@terra.com.pe

Av. Juan de Arona N° 545 Altura Cdra. 31 de la Av. Arequipa - San Isidro
Central: 719 - 1667 / 719 - 1668 / 719 - 1669 / Telefax.: 717 - 1031
www.notariabenvenuto.com / e-mail: notario@notariabenvenuto.com

TESTIMONIO

TRA. N° TOI.0077.10

Alemania, con domicilio en Binger Strasse 173, 55216
Ingelheim am Rhein, Alemania.

Dicha sociedad se encuentra inscrita en el Registro
Mercantil del Juzgado de Distrito de Bingen, bajo el
número HR B 1063 desde el 14 de mayo de 1968. Dicha
inscripción ha sido transferida por ley al Registro
Mercantil del Juzgado de Distrito de Mainz, donde se
encuentra inscrita bajo el número HR B 21063 desde el 28
de diciembre de 2005.

Asimismo, certifico que los doctores Michael Kompter y
Christian Hauke, han sido autorizados para firmar el
documento que antecede y actualmente se encuentran
debidamente autorizados para firmar a nombre de
Boehringer Ingelheim International GmbH en calidad de
apoderados.

Ingelheim am Rhein, 15 de julio de 2010

(firmado ilegible)

Notario Público

Mary Ann Montecarlo Medina
Traductora Pública Juramentada
Registro IVI N° 106

TESTIMONIO

TRA. N° TOI.0077.10

Reverso de la segunda página del documento original:

(sello en idioma extranjero distinto al inglés, de fecha 16 de julio de 2010)

(sello en idioma castellano del Consulado del Perú, de fecha 20 de julio de 2010)

(sello) MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES
DIRECCIÓN GENERAL DE POLÍTICA CONSULAR

Legalización N° 092720

Se legaliza la firma que antecede del Sr.(a)
Alfredo Arecco-Sablich sin juzgar el contenido
del documento

Lima, 23 de julio de 2010

(fdo.) Maribel del Rosario LUYO JAVIER

Departamento de Legalizaciones

Dirección de Trámites Consulares/sello

La infrascrita, Traductora Pública Juramentada,
certifica que la presente traducción es fiel y
correcta del texto original en idioma Castellano.....
adjunto. Esta traducción no debe interpretarse
como reconocimiento de la autenticidad
del documento traducido.

En fe de lo cual, firmo y sello en.....Lima.....
a los...26...días del mes de...Julio...de...2010..

Mary Aníbal Montenegro Medina
Traductora Pública Juramentada
Registro JVT N° 105

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES
DIRECCIÓN GENERAL DE POLÍTICA CONSULAR
Legalización N°

Se legaliza la firma que antecede del Sr.(a)

SIN JUZGAR EL CONTENIDO DEL DOCUMENTO



Julia F. Celia Moreano de Dueñas
Departamento de Legalizaciones
Dirección de Trámites Consulares
LIMA 27 JUL 2010

Estados Unidos 888 - Lima 11 - Perú - Telfs.: (511) 460-1859 • (511) 463-1167 • Fax: (511) 463-4548
maernm@terra.com.pe

Av. Juan de Arona N° 545 Altura Cdra. 31 de la Av. Arequipa - San Isidro
Central: 719 - 1667 / 719 - 1668 / 719 - 1669 / Telefax: 717 - 1031
www.notariabenvenuto.com / e-mail: notario@notariabenvenuto.com

TESTIMONIO

FERNÁNDEZ - DÁVILA & BUENO
ABOGADOS

PODER ESPECIAL

Consta por el presente documento el Poder Especial que otorga [insertar nombre de poderdante], domiciliada en [insertar domicilio] constituida de acuerdo a las leyes de [insertar país de constitución], representada por su [insertar cargo en la cía.] Sr.(a) [insertar nombre del representante de la cía.], a favor de FERNÁNDEZ DÁVILA ABOGADOS SAC, CARLOS FERNÁNDEZ DÁVILA WINKLER, ROSA BUENO MERA, JULIETA DEL PILAR TIJERO MARTINO, DIEGO CORDOVA FLORES, IVETTE LUQUE CARDENAS y/o CLARISA SILES VASCONES, domiciliados en Av. República de Panamá 3531, Oficina 1203, San Isidro, Lima, Perú, para que la representen en la República de Perú, República de Bolivia, República de Chile, República de Colombia, República de Ecuador y República Bolivariana de Venezuela, ante cualquier autoridad administrativa o judicial, incluyendo la Secretaría y Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina, para el inicio, tramitación, obtención, defensa y hacer respetar todas y cualquiera de las patentes de invención, modelos de utilidad, diseños industriales, marcas, lemas comerciales, nombres comerciales, protección de datos de prueba, protección de secretos empresariales, derechos de autor, registro de nombres de dominio, o seguimiento de procedimientos en materias tales como Propiedad Intelectual.

Los apoderados podrán ejercer el presente poder actuando en forma individual e indistinta, y gozarán de las siguientes facultades, tales como demandar, reconvenir, contestar demandas y reconveniciones, presentar todo tipo de solicitudes, recursos, respuestas u oposiciones, presentar todo tipo de recursos de impugnación, presentar declaraciones, juradas o no, presentar cualquier otro recurso o remedio procesal permitido por ley, pagar impuestos y anualidades, solicitar testimonios, renunciar a los derechos de registro sobre un elemento de la propiedad industrial, desistirse del proceso y de la pretensión, allanarse a la pretensión, conciliar, transigir, someter a arbitraje las pretensiones controvertidas en el proceso, solicitar y ejecutar medidas cautelares así como visitas inspectivas, ratificar los actos jurídicos procesales suscritos con anterioridad al otorgamiento y/o presentación del presente poder, sustituir o delegar la representación procesal, revocar los poderes otorgados, recibir notificaciones en nombre de la compañía y los demás actos que exprese la ley.

Suscrito en el de de 2010

ESTE PODER REQUIERE DE LEGALIZACIÓN NOTARIAL (PRECISANDO QUE EL REPRESENTANTE TIENE LAS FACULTADES PARA OTROGARLO Y QUE ESTUVO PRESENTE AL MOMENTO DE HACERLO) Y DE CONSUL PERUANO (CUANDO ES OTORGADO EN EL EXTRANJERO)

SPECIAL POWER OF ATTORNEY

By means of this Special Power of Attorney Boehringer Ingelheim International GmbH with address in Binger Strasse 173, 55216 Ingelheim am Rhein, Germany and incorporated under the laws of Germany duly represented by its Authorized Signatories Dr. Michael KOMPTER and Dr. Christian HAUKE, grants to FERNÁNDEZ DÁVILA ABOGADOS SAC, CARLOS FERNÁNDEZ DÁVILA WINKLER, ROSA BUENO MERA, JULIETA DEL PILAR TIJERO MARTINO, DIEGO CORDOVA FLORES, IVETTE LUQUE CARDENAS and/or CLARISA SILES VASCONES, with address at Av. República de Panamá 3531, Oficina 1203, San Isidro, Lima, Perú, the powers to represent in the Republic of Perú, the Republic of Bolivia, Republic of Chile, Republic of Colombia, Republic of Ecuador and the Bolivarian Republic of Venezuela before any administrative or judicial authority of any class, including the Andean Secretariat and the Andean Court of Justice to initiate, prosecution, obtain, defend and enforce any and all of the company's Patents for Invention, Utility Models, Industrial Designs, Trademarks, Trade Names, Commercial Emblems, Test Data Protection, Protection of Trade Secrets, Copyrights, Registration of Domain names and handle proceedings related to Intellectual Property.

The empowered representatives will exert this power of attorney acting individually and indistinctly with the following powers, having authority to claim, to counter-claim, to answer complaints and counter-claims, to file petitions, recourses, replies and oppositions, to withdraw the registration of an industrial property element, to abandon the action and the requested relief, to defend a suit, to file standard or sworn declarations, to file all sort of petitions, appeal and motions permitted by law, pay taxes and annuities, request testimonies, to accept in total or part the demanded pretensions, conciliate, settle, submit to arbitration the contradicted pretensions in the process, to require and execute precautionary measures and inspections among others, to ratify all the acts in regular procedures and proceedings entered into before the granting and/or presentation of this document, substitute or delegate the representation, revoke such substitutions, receive notifications on behalf of the Company and for the rest of the acts which the law provides.

Executed in Ingelheim, on 15th July of 2010

BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH
ppa. ppa.

Dr. Michael KOMPTER
Authorized Signatory

Dr. Christian HAUKE
Authorized Signatory

THIS POWER OF ATTORNEY REQUIRES LEGALIZATION OF A NOTARY (STATING THAT THE REPRESENTATIVE HAS ENOUGH POWERS TO GRANT IT AND APPEARED AND EXECUTED IT PERSONALLY) AND OF A PERUVIAN CONSUL (WHEN GRANTED ABROAD)

Av. Juan de Arona N° 545 Allura Cdra. 31 de la Av. Arequipa - San Isidro
Central: 719 - 1667 / 719 - 1668 / 719 - 1669 / Telefax.: 717 - 1031
www.notariabenvenuto.com / e-mail: notario@notariabenvenuto.com

RECEIVED
NOV 19 1950

TESTIMONIO

UR. Nr. 1446/2010

It is herewith certified that above signatures of:

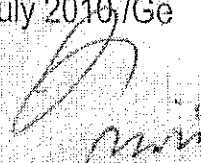
- Dr. Michael **Kompter**, born 11th day of May 1955, with its business address at 55216 Ingelheim am Rhein, Binger Straße 173,
 - Dr. Christian **Hauke**, born 31st day of August 1947, with its business address at 55216 Ingelheim am Rhein, Binger Straße 173,
- personally known,
were duly given in my presence.

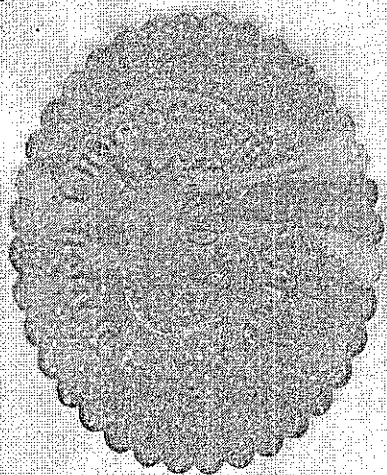
It is herewith certified that **Boehringer Ingelheim International GmbH** is a corporation duly organized and existing under the laws of the Federal Republic of Germany having its principal place of business at Binger Strasse 173, 55216 Ingelheim am Rhein, Germany.

It had been entered into the Commercial Register of the District Court of Bingen under HR B 1063 as of 14th day of May 1968. This registration was transferred by law to the Commercial Register of the District Court of Mainz, where it has been registered under HR B 21063 since 28th day of December 2005.

Furthermore, I certify that Dr. Michael Kompter and Dr. Christian Hauke were authorized to sign the foregoing document and still are duly authorized to sign on behalf as procurists of **Boehringer Ingelheim International GmbH**.

Ingelheim am Rhein, the 15th day of July 2010 /Ge


Notary public



1. *State of the Union*
Address by President
January 1955

100-100000
100-100000

100-100000

TESTIMONIO

AL DORSO: =====

910 E 1

Die Echtheit vorstehender Unterschrift des
Notars Horst Heintskill in Ingelheim am Rhein
und die Echtheit des beigedruckten Dienstsiegels
werden hierdurch bestätigt. Zugleich wird bescheinigt, dass der
Vorgenannte zur Vornahme der Amtshandlung gesetzlich befugt war.



Kostenrechnung:

Gebühr für die Erteilung
der Legalisation:

Wert: 50.000,00 €

JVKostO v. 26.7.1957

i.V.m. § 45 KostO

Gebühr: 33,00 €

Mainz, 16.07.10

Heppes-Schwarz
Heppes-Schwarz
Amtsinspektorin



Mainz, den 16. Juli 2010
Die Präsidentin des Landgerichts
In Vertretung

Dr. Matthias Friedrich
Dr. Matthias Friedrich
Vorsitzender Richter am Landgericht

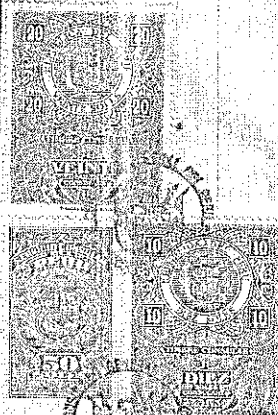
CONSULADO GENERAL DEL PERU
FRANCFORT DEL MENO

Se legaliza la firma de:
DR. MATTHIAS FRIEDRICH

Quién desempeña el cargo de:
**REPRESENTANTE DEL PRESIDENTE
DEL TRIBUNAL REGIONAL
EN MAINZ**

Nº de Orden: 0363
Nº de Actuación: AA7A
Nº de Fianza: 22.4
Derechos percibidos: S/C: 80.000 €
E: 72.000 €

Frankfurt del Meno, 20 de Julio de 2010



Alfredo Arecco-Sablich
ALFREDO ARECCO-SABLICH
Consul General del Perú



MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES
DIRECCION GENERAL DE POLITICA CONSULAR

Legalización Nº 048.720

Se legaliza la firma que antecede del Sr.(a)

Alfredo Arecco-Sablich
SIN JUZGAR EL CONTENIDO DEL DOCUMENTO

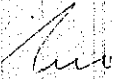
Maribel del Rosal Luyo Joylar
Maribel del Rosal Luyo Joylar
Departamento de Legalización
Dirección de Asesoría Consular



LIMA, 23 JUL 2010

Esta cartilla está en blanco. Cualquier
texto que se consigne carece de valor

DE NOT
a y sellos
en al (la)
P
Nº 1167
ma del N


Ramón Gortázar
Nº 1167

Mario Gino Benvenuto Murguía

ABOGADO NOTARIO DE LIMA

TESTIMONIO

INSERTO. =====

DE CONFORMIDAD CON LA LEY DEL NOTARIADO, ARTICULO 59, INCISO D), TRANSCRIBO: =====

CÓDIGO PROCESAL CIVIL: "ARTÍCULO 74.- FACULTADES GENERALES.- LA REPRESENTACIÓN JUDICIAL CONFIERE AL REPRESENTANTE LAS ATRIBUCIONES Y POTESTADES GENERALES QUE CORRESPONDEN AL REPRESENTADO, SALVO AQUELLAS PARA LAS QUE LA LEY EXIGE FACULTADES EXPRESAS. LA REPRESENTACIÓN SE ENTIENDE OTORGADA PARA TODO EL PROCESO, INCLUSO PARA LA EJECUCIÓN DE LA SENTENCIA Y EL COBRO DE COSTAS Y COSTOS, LEGITIMANDO AL REPRESENTANTE PARA SU INTERVENCIÓN EN EL PROCESO Y REALIZACIÓN DE TODOS LOS ACTOS DEL MISMO, SALVO AQUELLOS QUE REQUIERAN LA INTERVENCIÓN PERSONAL Y DIRECTA DEL REPRESENTADO." =====

CÓDIGO PROCESAL CIVIL: "ARTÍCULO 75.- FACULTADES ESPECIALES.- SE REQUIERE EL OTORGAMIENTO DE FACULTADES ESPECIALES PARA REALIZAR TODOS LOS ACTOS DE DISPOSICIÓN DE DERECHOS SUSTANTIVOS Y PARA DEMANDAR, RECONVENIR, CONTESTAR DEMANDAS Y RECONVENIONES, DESISTIRSE DEL PROCESO Y DE LA PRETENSIÓN, ALLANARSE A LA PRETENSIÓN, CONCILIAR, TRANSIGIR, SOMETER A ARBITRAJE LAS PRETENSIONES CONTROVERTIDAS EN EL PROCESO, SUSTITUIR O DELEGAR LA REPRESENTACIÓN PROCESAL Y PARA LOS DEMÁS ACTOS QUE EXPRESE LA LEY. EL OTORGAMIENTO DE FACULTADES ESPECIALES SE RIGE POR EL PRINCIPIO DE LITERALIDAD. NO SE PRESUME LA EXISTENCIA DE FACULTADES ESPECIALES NO CONFERIDAS EXPLÍCITAMENTE." =====

CONCLUSION: =====

FORMALIZADO EL INSTRUMENTO LA COMPARECIENTE LE DIO LECTURA, DESPUES DE LO CUAL SE AFIRMA Y RATIFICA EN SU CONTENIDO, DECLARANDO QUE SE TRATA DE UN ACTO VALIDO Y NO SIMULADO, MANIFESTANDO IGUALMENTE CONOCER LOS ANTECEDENTES Y/O TITULOS QUE SE ORIGINAN POR EL PRESENTE INSTRUMENTO Y DECLARANDO RECONOCER COMO SUYA LA FIRMA DE LA MINUTA QUE LA ORIGINA. =====

DEJO CONSTANCIA DE HABER ADVERTIDO A LA INTERESADA DE LOS EFECTOS LEGALES DEL PRESENTE INSTRUMENTO NOTARIAL. =====

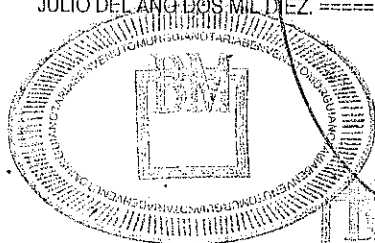
LA PRESENTE ESCRITURA PUBLICA SE INICIA EN LA FOJA DE PAPEL NOTARIAL CON NUMERO DE SERIE B Nº0706090 Y CONCLUYE EN LA FOJA DE PAPEL NOTARIAL CON NUMERO DE SERIE B Nº0706093(VUELTA), DE LO QUE DOY FE. =====

FIRMADO: JANNE IVETTE LUQUE CARDENAS.- UNA HUELLA DIGITAL.- UNA FIRMA ILEGIBLE.- FIRMÓ EL VEINTISEIS DE JULIO DEL AÑO DOS MIL DIEZ. =====

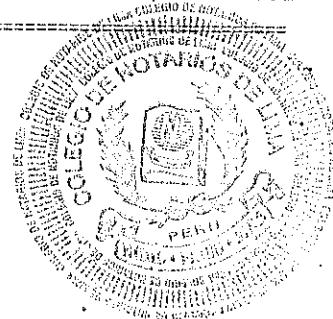
EL PROCESO DE FIRMAS CONCLUYO EL: VEINTISEIS DE JULIO DEL DOS MIL DIEZ. =====

FIRMADO: DR. MARIO GINO BENVENUTO MURGUIA. ABOGADO - NOTARIO DE LIMA. =====

ES TRANSCRIPCION DE LA ESCRITURA PUBLICA QUE CORRE EN EL REGISTRO CON FECHA VEINTISEIS DIAS DEL MES DE JULIO DEL AÑO DOS MIL DIEZ DE FOJAS 004590 A FOJAS 004593(VUELTA), Y A SOLICITUD DE PARTE INTERESADA EXPIDO EL PRESENTE, DE ACUERDO A LA LEY EL QUE RUBRICO EN CADA UNA DE SUS HOJAS, SELLO, SIGNO Y FIRMO EN LIMA, VEINTISEIS DE JULIO DEL AÑO DOS MIL DIEZ. =====



MARIO GINO BENVENUTO MURGUIA
ABOGADO
NOTARIO DE LIMA



COLEGIO DE NOTARIOS DE LIMA CERTIFICA:

la autenticidad y sellos que anteceden en esta foja
en el (la) Notario(a) de Lima,

Benvenuto Murguía

Nº 116766

Fecha:

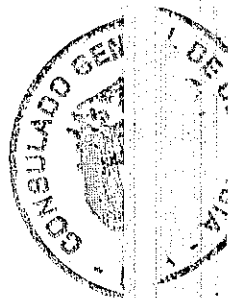
26 JUL 2010

Firma del Notario(a) más no el contenido

Av. Juan de Arona N° 546 - Urb. Cdra. 31 de la Av. Arequipa - San Isidro
Teléfono: 719 - 1667 / 719 - 1668 / 719 - 1669 / Telefax.: 717 - 1031
www.notariabenvenuto.com / e-mail: notario@notariabenvenuto.com

Lina
Lina Gutiérrez Adriaenszén
FISCAL

Este carilla está en blanco. Cualquier
texto que se consigne carece de valor



MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES
DIRECCIÓN GENERAL DE POLÍTICA CONSULAR
Legalización No. 01594197
Se legaliza la firma que antecede del Sr.(a)
Ricardo A. Laverde
SIN JUZGAR EL CONTENIDO DEL DOCUMENTO

[Signature]
Julia Adela Moreano de Dueñas
Departamento de Legalizaciones
Dirección de Trámites Consulares



LIMA 27 JUL 2010



CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA
Lima – Perú

No. 1793

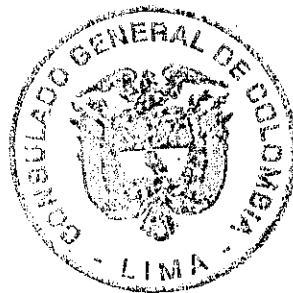
Lima, 02 Agosto 2010

El suscrito Cónsul General Consulares hace constar que el(a) señor (a) JULIA ADELA MOREANO DE DUEÑAS - DIRECION DE TRAMITES CONSULARES. Cuya firma aparece al pie del presente documento desempeñaba las funciones allí indicadas.

El suscrito Cónsul General no asume responsabilidad alguna por el contenido de este documento.

Pago Impuesto de Timbre US\$10.00
Y derechos consulares US\$15.00

Samir
JAIRO MONTES MORENO
Cónsul General



Dirección: Jorge Basadre 1580 TEL. (511) 4410530- 4410954 Fax: 2213661-4416922-4218029
Sitio Web: <http://www.embajadacolombia.org.pe/html/> - consuladogeneral@embajadacolombia.org.pe
Perú no es miembro del convenio de Apostilla.

NO ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO
2010 AUG 11 A 11:51
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

MINISTERIO DE
RELACIONES
EXTERIORES
264875
JAIRO MONTES
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

RECEIVED
JAN 10 1967
U.S. AIR FORCE
344011

U.S. AIR FORCE
RECEIVED

RECEIVED
JAN 10 1967
U.S. AIR FORCE
344011

U.S. AIR FORCE
RECEIVED



- (51) **International Patent Classification:**
A61K 39/395 (2006.01) **G01N 33/574** (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
- (21) **International Application Number:**
PCT/EP2012/057248
- (22) **International Filing Date:**
20 April 2012 (20.04.2012)
- (25) **Filing Language:** English
- (26) **Publication Language:** English
- (30) **Priority Data:**
11163558.7 21 April 2011 (21.04.2011) EP
- (71) **Applicant (for all designated States except US):**
BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH [DE/DE]; Binger Strasse 173, 55216 Ingelheim Am Rhein (DE).
- (72) **Inventors; and**
- (75) **Inventors/Applicants (for US only):** **BORGES, Eric** [DE/AT]; Boehringer Ingelheim Gmbh, Corporate Patents, Binger Strasse 173, 55216 Ingelheim Am Rhein (DE). **HEBEIS, Jasmin Barbara** [DE/GB]; Boehringer Ingel-

heim Gmbh, Corporate Patents, Binger Strasse 173, 55216 Ingelheim Am Rhein (DE).

- (74) **Agents:** **HAMMANN, Heinz** et al.; c/o Boehringer Ingelheim Gmbh, Corporate Patentes, Binger Strasse 173, 55216 Ingelheim Am Rhein (DE).

- (81) **Designated States** (*unless otherwise indicated, for every kind of national protection available*): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

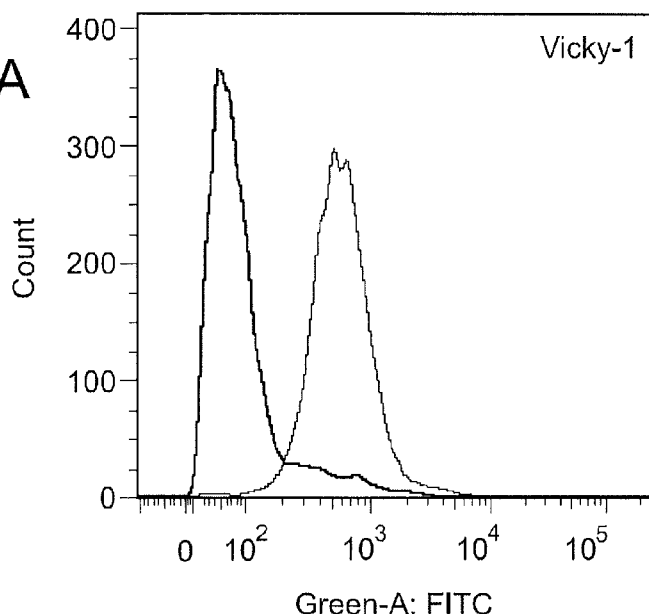
- (84) **Designated States** (*unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available*): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,

[Continued on next page]

- (54) **Title:** BCMA-BASED STRATIFICATION AND THERAPY FOR MULTIPLE MYELOMA PATIENTS

Binding of anti-BCMA antibodies to OPM-2 cells

Fig.1A



- (57) **Abstract:** The present invention relates to methods for the stratification of a multiple myeloma (MM) patient comprising determining whether or not B-cells, preferably malignant B-cells of said patient express BCMA protein on their surface. Also, methods for selecting an antibody-based multiple myeloma (MM) therapy is based on whether or not BCMA is expressed on the cell surface of B-cells, preferably malignant B-cells of a patient. Furthermore, antibody-based therapies for patients who have BCMA positive malignant B-cells are provided.



SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, — *with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))*
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— *with international search report (Art. 21(3))*

BCMA-based stratification and therapy for multiple myeloma patients

5

ABSTRACT

[0001] The present invention relates to methods for the stratification of a multiple myeloma (MM) patient comprising determining whether or not B-cells, preferably malignant B-cells of said patient express BCMA protein on their surface. Also, methods for selecting an antibody-based multiple myeloma (MM) therapy is based on whether or not BCMA is expressed on the cell surface of B-cells, preferably malignant B-cells of a patient. Furthermore, antibody-based therapies for patients who have BCMA positive malignant B-cells are provided.

15 **BACKGROUND OF THE INVENTION**

[0002] Multiple myeloma (MM), an incurable malignancy of the plasma B-cells, accounts for an estimated 14% of all newly diagnosed hematologic malignancies (Colson et al., (2004) Clin J Oncol Nurs 8 (5): 473-480). MM is a heterogenous disease and caused by mostly by chromosome translocations *inter alia* t(11;14), t(4;14), t(8;14), del(13), del(17) (Drach et al., (1998) Blood 92(3):802-809; Gertz et al., (2005) Blood 106(8):2837-2840; Facon et al., (2001) Blood 97(6):1566-1571). MM- affected patients may experience a variety of disease-related symptoms due to bony destruction, bone marrow infiltration, renal failure, immunodeficiency, and the psychosocial burden of a cancer diagnosis. Exciting new therapies such as chemotherapy and stem cell transplantation approaches are becoming available and have improved survival rates but often bring unwanted side effects, and thus MM remains still incurable (Lee et al., (2004) J Natl Compr Canc Netw 8 (4): 379-383).

[0003] MM is caused by malignancy of the plasma B-cells. In order to finally identify said malignant plasma B-cells, it was found that several proteins reside on the surface of plasma B-cells (Harada et al., (1993) Blood 81(10): 2658-2663; Robillard N et al., Blood (2003) 102(3): 1070-1071). For instance, CD38 was found to express strongly on the surface of myeloma cells (malignant plasma B-cells), i.e. CD38⁺⁺ and therefore to distinguishing plasma B-cells from other hematopoietic cells in the bone marrow. In

addition, Harada et al also found that normal plasma B-cells were VLA-4⁺ VLA-5⁺ MPC-1⁺ CD44⁺ CD19⁺ CD56⁻ in the bone marrows from 7 healthy donors, on the other hand, mature myeloma cells (12 of 20 cases) were VLA-4⁺ VLA-5⁺ MPC-1⁺ CD19⁻ CD56⁺ and no myeloma cells were CD19⁺Cd56⁻. In addition, it was reported that

5 expression of CD20 is associated with small mature plasma B-cell morphology and MM patients with t(11;14).

[0004] BLyS (B Lymphocyte stimulator), also referred to as BAFF, TALL-1, or THANK, is a tumor necrosis factors (TNF) superfamily member. It is a type II transmembrane protein and plays a significant role in maintaining the development and homeostasis of

10 normal B-cell and promotes the survival of malignant B cells. Three receptors for BLyS were identified, i.e. BCMA (B cell maturation antigen), BAFF receptor (BAFF-R), and TACI (transmembrane activator and calcium modulator cyclophilin ligand interactor). These three receptors are type I single membrane receptors and belong to the TNF

15 receptors family. BCMA and BAFF-R are predominantly expressed on B lymphocytes, while TACI can be found on B cells and activates T cells. In addition, BCMA and TACI are capable of binding to APRIL (a proliferation-inducing ligand) which is the closest structural homologue of BLyS.

Novak et al found that three receptors for BLyS (BAFF) are expressed on the cell

20 surface of B-cells of MM patients (Novak et al., (2004) Blood 103(2):689-694).

[0005] One of receptors for BLyS, BCMA, is known to be preferentially expressed in mature B cells (Gras et al., (1995) Int Immunol 7:1093-1106; Thompson et al., (2000) J Exp Med 192:129-135). Further, it was found that the expression of *BCMA* as BCMA

25 mRNA was up-regulated during the late stages of normal B-cell differentiation and was highly expressed in MM cells (Tarte et al., (2002) Blood 100:1113-1122; Tarte et al., (2003) Blood 102:592-600; Claudio et al., (2002) Blood 100:2175-2186). Moreover, Bellucci et al confirmed that expression of *BCMA*, i.e. BCMA mRNA showed selective expression in late stages of B-cell maturation (Belluci et al., (2005) Blood 105:3945-

30 3950). However, Li et al found that expression of *BCMA*, i.e. BCMA mRNA was not always detectable in MM cells from patients (Li et al., (2010) Med Oncol 27:439-445). To this end, even though it has been reported that BCMA expression is limited only in the plasma cells and germinal center B cells, a BCMA⁺ population was also observed in naïve and memory B cells from peripheral blood (US2009/0325196). Average of BCMA⁺

B cells are 24% in naïve B cells and 20.8% in memory B cells, which is lower than that of plasmoblasts (37.9%). However, it seems that BCMA is mainly expressed in plasmablasts.

- 5 **[0006]** It has been reported that t(4;16)(q26;p13.1) chromosome translocation was found in tumor cells from a patient with a T cell lymphoma, resulting in the fusion of BCMA gene and interleukin 2 gene, and t(16;18)(p13;q21.3) chromosome translocation was found in a male patient with follicular lymphoma, resulting in the fusion of BCMA gene, HLA-D gene and several hematopoietic neoplasm-related genes such as MHC2TA with
- 10 BCL2 gene (Laabi et al., (1992) J EMBO 11(11):3897-3904; Mahmoodi et al., (2004) Can Genet Cytogenet 154(2):160-162). Although these chromosomal translocations were not reported to cause MM, one of translocation is related to follicular lymphoma which is defined as a lymphoma of follicle center B cells.
- 15 **[0007]** Furthermore, Novak et al found that MM cell lines and freshly isolated MM cells express BCMA protein and TACI protein on their cell surfaces and have variable expression of BAFF-R protein on their cell surface (Novak et al., (2004) Blood 103(2):689-694).
- 20 **[0008]** It was also reported that BCMA protein is expressed on the cell surface of MM cells/cell lines although BCMA protein is originally reported as an integral membrane protein in the Golgi apparatus of human mature B lymphocytes, i.e. as an intracellular protein (Gras et al., (1995) International Immunol 7(7):1093-1105), which shows that BCMA seems to have an important role during B-cell development and homeostasis.
- 25 The finding of Gras et al. might be associated with the fact that the BCMA protein that was described in Gras et al. is, because of a chromosomal translocation, a fusion protein between BCMA and IL-2. However, BCMA is meanwhile established to be a B-cell marker that is essential for B-cell development and homeostasis (Schliemann et al., (2001) Science 293 (5537):2111-2114) due to its presumably essential interaction with
- 30 BAFF and APRIL.

[0009] Thus far, the two most promising treatment options for patients with multiple myeloma are tandem high-dose chemotherapy followed by autologous stem cell infusion or allogeneic hematopoietic stem cell transplantation after myelo-ablative therapy or

reduced-intensity conditioning. However, cure is rarely achieved due to persistence of minimal residual disease. Thus, there is an urgent need for innovative treatment modalities to stabilize or even eradicate residual tumor cells.

With the discovery and molecular characterization of cancer target antigens, more
5 focused approaches may become available to steer the patient's immune system to recognize and eliminate residual cancer cells after conventional ablative therapies. Antibody-based therapies are thus an attractive option for the treatment of MM. Since MM cells have been B-cells prior to their "conversion", commonly known and specific B-cell surface proteins are used as targets for antibodies such as CD20. Though normal
10 B-cells will also be targeted by an anti-CD20 antibody, an anti-CD20 antibody therapy is applied to patients, since it was observed that normal B-cells will recover, while it is assumed (and has been observed) that malignant B-cells will not recover. Thus far, those of skill in the art, start from the assumption that once malignant B-cells express the target of interest on mRNA level such as BCMA, PIM2, MUM1/IRF4 or XBP1 (Claudio et
15 al. (2002), Blood 100:2175-2186), such cells can be subject to an antibody-based therapy.

[0010] However, thus far it has not yet been reported as to whether or not there is a correlation of BCMA mRNA and BCMA protein in MM patients as well as in MM cell lines
20 to evaluate a possible therapy for MM using, in particular, an anti-BCMA antibody. Rather, in accordance with the commonly accepted concept that DNA makes RNA makes protein, it was rightly assumed that once BCMA mRNA is detectable in MM cells, BCMA protein is present on the cell surface of said cells to act as receptor. This would be in line with various reports that assign BCMA an important role in the development of
25 B-cell immunity and B-cell homeostasis (Mackay and Browning (2002) Nat Rev Immunol. (2):465-475) as well as in proliferation of MM cells (Novak et al., cited above; Bellucci et al., (2005) Blood 105:3945-3950).

[0011] Several recent studies have also documented the expression of BCMA in
30 malignant as well as normal plasma cells and have shown that BAFF signaling through BCMA results in myeloma cell proliferation (Shu et al., (2000) Proc Natl Acad Sci USA 97:9156-9161; O'Connor et al., (2004) J Exp Med. 199:91-98; Novak et al., cited above; Avery et al., (2003) J Clin Invest. 112:286-297). Taken together, these studies suggested that BCMA is commonly expressed in myeloma and signaling through BCMA

may also contribute to the expansion of myeloma cells in vivo (Bellucci et al., cited above).

[0012] Accordingly, based on the commonly accepted concept DNA makes RNA makes protein and given the fact that BCMA is assigned an important role in MM proliferation, thus implying its presence on the cell surface of MM B-cells, multiple myeloma treatment would automatically have been initiated (Ryan et al., (2007) Mol Cancer Ther 6: 3009-3018).

Consequently, no one has thus far questioned as to whether or not BCMA is indeed present on the cell surface, if its mRNA is detectable, and therefore an antibody-based therapy would have been initiated, though it would not necessarily be beneficial for patients suffering from multiple myeloma, if BCMA is not present on the cell surface.

[0013] The present inventors, despite the knowledge that BCMA seems to be important both in normal B-cell development and malignant B-cell proliferation (in multiple myeloma), have nevertheless asked themselves the question as to whether or not and despite the important role of BCMA, also in MM, the dogma DNA makes RNA makes protein which is then presumably present on the cell surface would hold true, if the dogma is only based on BCMA mRNA data. Put it differently, it was not recognized in the art that BCMA, despite detectable mRNA, might not be present on the cell surface of MM cells, thus being not available as target for an antibody-based therapy (Ryan et al., cited above). Accordingly, no one in the art has thought of personalizing an anti-BCMA antibody based therapy for treating or ameliorating MM, since it was thought DNA makes RNA makes protein which is present on the surface of MM cells, bearing in mind the important role of BCMA in malignant B-cell development and proliferation. Therefore, a need exists for personalizing an anti-BCMA antibody therapy.

[0014] Hence, the technical problem underlying the present invention is to comply with the needs described above.

DESCRIPTION OF THE FIGURES

[0015] **Figure 1:** Binding of anti-BCMA antibodies to OPM-2 cells by FACS in OPM-2 cells

[0016] **Figure 2:** BCMA Protein (A) and BCMA mRNA (B) expression levels of
5 10 different MM cell lines.

[0017] **Figure 3:** Expression analysis of primary MM cells – exemplary results of positive and negative BCMA expressing patient samples

SUMMARY OF THE INVENTION

10 [0018] The present invention addresses these needs by providing a therapy using anti-BCMA antibodies, preferably in combination with other antibodies or compounds used for the treatment or amelioration of MM, said therapy is based on the present inventors' recognition that the assumption that if BCMA mRNA is detectable BCMA protein is, so to say, automatically present on the surface of MM cells not necessarily correct for each
15 and every patient. Indeed, the present inventors have found that it is of utmost importance to screen MM patient for the presence or absence, respectively, of the expression of BCMA on the protein level, i.e., for its presence or absence, respectively, on the cell surface of MM cells.

20 [0019] Accordingly, the present invention provides a method for the stratification of a multiple myeloma (MM) patient disposed to respond favorably to an anti-BCMA antibody therapy, comprising determining whether B-cells of said patient, preferably malignant B-cells (MM cells or MM B-cells) expresses BCMA protein on the surface of said B-cells, wherein said patient is disposed to respond favorably to said anti-BCMA antibody
25 therapy, if said B-cells express BCMA protein on their surface.

[0020] Furthermore, the present invention provides a method for diagnosing a BCMA negative multiple myeloma (MM) patient, comprising determining whether B-cells, preferably malignant B-cells, of said patient express BCMA protein on their surface,
30 wherein said patient suffers from BCMA negative MM, if no BCMA protein is detectable on the surface of said B-cells.

[0021] Also, the present invention provides a method for selecting an antibody-based multiple myeloma (MM) therapy, comprising determining whether B-cells of a patient, preferably malignant B-cells, express BCMA protein on the surface of said B-cells, wherein, if said B-cells are BCMA positive, the patient may be subject to an anti-CD20 antibody therapy and/or an anti-CD38 antibody therapy and/or an anti-BCMA antibody therapy and/or an anti-CS1 antibody therapy, or, if said B-cells are BCMA-negative, the patient is subject to an anti-CD20 antibody therapy and/or an anti-CD38 antibody therapy and/or an anti-CS1 antibody therapy.

[0022] Further aspects of the present invention relate to an anti-BCMA antibody therapy for use in the treatment or amelioration of a multiple myeloma (MM) patient whose B-cells are disposed to be BCMA positive, an anti-BCMA antibody for use in the treatment or amelioration of a multiple myeloma (MM) patient diagnosed in accordance with the method(s) of the present invention, and an anti-CD20 antibody and/or an anti-CD38 antibody and/or an anti-CS1 antibody therapy for use in the treatment or amelioration of a multiple myeloma (MM) patient whose B-cells are BCMA negative.

[0023] It must be noted that as used herein, the singular forms "a", "an", and "the", include plural references unless the context clearly indicates otherwise. Thus, for example, reference to "an expression cassette" includes one or more of the expression cassettes disclosed herein and reference to "the method" includes reference to equivalent steps and methods known to those of ordinary skill in the art that could be modified or substituted for the methods described herein.

[0024] All publications and patents cited in this disclosure are incorporated by reference in their entirety. To the extent the material incorporated by reference contradicts or is inconsistent with this specification, the specification will supersede any such material. Unless otherwise indicated, the term "at least" preceding a series of elements is to be understood to refer to every element in the series. Those skilled in the art will recognize, or be able to ascertain using no more than routine experimentation, many equivalents to

the specific embodiments of the invention described herein. Such equivalents are intended to be encompassed by the present invention.

[0025] Throughout this specification and the claims which follow, unless the context requires otherwise, the word “comprise”, and variations such as “comprises” and “comprising”, will be understood to imply the inclusion of a stated integer or step or group of integers or steps but not the exclusion of any other integer or step or group of integer or step. When used herein the term “comprising” can be substituted with the term “containing” or sometimes when used herein with the term “having”.

When used herein “consisting of” excludes any element, step, or ingredient not specified in the claim element. When used herein, “consisting essentially of” does not exclude materials or steps that do not materially affect the basic and novel characteristics of the claim. In each instance herein any of the terms “comprising”, “consisting essentially of” and “consisting of” may be replaced with either of the other two terms.

[0026] As used herein, the conjunctive term “and/or” between multiple recited elements is understood as encompassing both individual and combined options. For instance, where two elements are conjoined by “and/or”, a first option refers to the applicability of the first element without the second. A second option refers to the applicability of the second element without the first. A third option refers to the applicability of the first and second elements together. Any one of these options is understood to fall within the meaning, and therefore satisfy the requirement of the term “and/or” as used herein. Concurrent applicability of more than one of the options is also understood to fall within the meaning, and therefore satisfy the requirement of the term “and/or” as used herein.

[0027] Several documents are cited throughout the text of this specification. Each of the documents cited herein (including all patents, patent applications, scientific publications, manufacturer’s specifications, instructions, etc.), whether supra or infra, are hereby incorporated by reference in their entirety. Nothing herein is to be construed as an admission that the invention is not entitled to antedate such disclosure by virtue of prior invention.

DETAILED DESCRIPTION

[0028] An object of the present invention is to provide a method for stratification of MM patients based on BCMA expression on the surface of the patients' B-cells, preferably malignant B-cells and new therapy for MM patients using an anti-BCMA antibody, preferably combined with other antibodies such as anti-CD38, anti-CD20 and/or anti-CS1 antibodies based on the correlation of expression of *BCMA* gene, i.e. BCMA mRNA and BCMA protein on the surface of B-cells, preferably malignant B-cells of MM patients.

Given the fact that BCMA is not or essentially not expressed on each and every healthy B-cell of a patient, but on malignant B-cell of a patient, if said patient is diagnosed by the methods of the present invention as BCMA positive, an anti-BCMA antibody therapy may be superior in comparison to, for example, an anti-CD20 antibody therapy, since CD20 is believed to be expressed on each and every B-cell. Accordingly, all B-cells would be depleted, while, without being bound by theory, an anti-BCMA antibody therapy may not necessarily deplete all healthy B-cells of a patient, since BCMA is not or essentially not expressed on each and every healthy B-cell during development and/or homeostasis.

[0029] Thus, in a first aspect the present invention provides a method for the stratification of a multiple myeloma (MM) patient disposed to respond favorably to an anti-BCMA antibody therapy, comprising determining whether B-cells, preferably malignant B-cells of said patient expresses BCMA protein on the surface of said B-cells, wherein said patient is disposed to respond favorably to said anti-BCMA antibody therapy, if said B-cells express BCMA protein on their surface.

[0030] In addition or in the alternative to the above described aspect, the present invention provides a method for diagnosing a BCMA negative multiple myeloma (MM) patient, comprising determining whether B-cells, preferably malignant B-cells of said patient express BCMA protein on their surface, wherein said patient suffers from BCMA negative MM, if no BCMA protein is detectable on the surface of said B-cells.

[0031] The term "stratification" as used herein includes the statistic division of a population of MM patients into subpopulation of MM patients with BCMA on the basis of expression of transcripts of *BCMA* gene, i.e. mRNA as well as of detection of said translated gene product, i.e. BCMA protein localized on the cell surface, for example, by

an anti-BCMA antibody in order to consider whether or not a therapy using an anti-BCMA antibody for MM patients may be beneficial. Detection of BCMA on the cell surface of B-cells, preferably malignant B-cells is preferred. However, nevertheless, BCMA expression on mRNA level can be additionally tested/determined. Also, said term
5 refers to sorting patients into those who may or may not benefit from an anti-BCMA antibody based therapy for treating or ameliorating multiple myeloma. In particular, stratifying patients involves determining as to whether not BCMA is expressed on the surface of B-cells, preferably malignant B-cells of patients suffering from MM. Those patients whose B cells express BCMA on the cell surface of B cells may benefit from
10 said therapy, while those whose B cells do not express BCMA on the cell surface may not benefit from said anti-BCMA antibody therapy. However, such BCMA negative patients may then benefit from, for example, an anti-CD20, anti-CD38 and/or anti-CS1 antibody therapy or any other antibody therapy applied for the treatment or amelioration of MM as described herein.

15 **[0032]** The term “B-cells” used herein means lymphocytes that play an important role in the humoral immune response (as opposed to the cell-mediated immune response, which is governed by T cells). The principal functions of B cells are to make antibodies against antigens, perform the role of antigen-presenting cells (APCs) and eventually develop into memory B cells after activation by antigen interaction. In that stage
20 (antibody production) B-cells include “plasma cells”, sometimes also called herein “plasma B-cells”. These plasma cells or plasma B-cells are also encompassed by the term “B cells” when used herein. However, also precursor B-cells as well as B-cells in all stages of their development and/or lineage commitment are encompassed by the term “B cells”. B cells are an essential component of the adaptive immune system. While the
25 term “B-cells” also includes normal (i.e., healthy) B-cells, it preferably includes malignant B-cells, in particular malignant B-cells associated with MM (i.e., MM B-cells).

[0033] Thus, in the context of MM patient the term “B cells” include both normal and malignant B-cells; with malignant B-cells being preferred (i.e., MM B-cells). “Malignant” describes lymphocytes (in particular B cells) that contribute to a progressively worsening
30 disease, in particular MM as described herein. The term is most familiar as a description of cancer, here MM. Malignant BCMA positive B cells are not self-limited in their growth, are capable of invading into adjacent tissues, and may be capable of spreading to distant tissues (metastasizing). Malignant when used herein is synonymous with

cancerous. These malignant B-cells are of main interest in the context of the present invention, since they should be targeted by antibodies, in particular by anti-BCMA antibodies, for which purpose these B-cells are analyzed for the expression of BCMA on their cell surface as described herein. MM patients that are subject to the methods and/or antibody-based therapies of the present invention have preferably malignant B-cells; said malignant B-cells are preferably Multiple myeloma cells. Of course, said patients also (or still have) have normal B-cells. Malignant B-cells can preferably be determined, detected and/or isolated by the means and methods described herein below. Briefly, malignant B-cells of a patient can be determined, detected and/or isolated by one or more of the specific (i.e., characteristic) B-cell surface marker(s) as described herein and, in particular as embodied in the claims (CD38 positive, CD56 positive or negative, CD 45 positive and/or CD19 positive).

[0034] The term, "Multiple Myeloma (MM)", also known as plasma cell myeloma or Kahler's disease (after Otto Kahler), is an incurable clonal B-cell neoplasia characterized by the accumulation of malignant plasma B-cells within the bone marrow, in close contact with stromal cells. MM is a progressive disease *inter alia*, for example, caused by multiple genetic insults, i.e. chromosomal translocations mainly caused by translocations such as t(11;14), t(4;14), t(8;14), or deletions such as del(13), and del(17) to the precursor plasma B-cell that tumor cells proliferate drastically and become apoptosis resistance.

[0035] B lymphocytes start in the bone marrow and move to the lymph nodes. As they progress, they mature and display different proteins on their cell surface. When they are activated to secrete antibodies, they are known as plasma cells. Multiple myeloma develops in B lymphocytes after they have left the part of the lymph node known as the germinal center.

[0036] The immune system keeps the proliferation of B cells and the secretion of antibodies under tight control. When chromosomes and genes are damaged, often through rearrangement, this control is lost. Often, a promoter gene moves (or translocates) to a chromosome where it stimulates an antibody gene to overproduction.

[0037] As mentioned above, a chromosomal translocation between the immunoglobulin heavy chain gene (on the fourteenth chromosome, locus 14q32) and an oncogene (often 11q13, 4p16.3, 6p21, 16q23 and 20q11[10]) is frequently observed in patients with multiple myeloma. This mutation results in dysregulation of the oncogene which is thought to be an important initiating event in the pathogenesis of myeloma. The result is proliferation of a plasma cell clone and genomic instability that leads to further mutations and translocations. The chromosome 14 abnormality is observed in about 50% of all cases of myeloma. Deletion of (parts of) the thirteenth chromosome is also observed in about 50% of cases.

[0038] Accordingly, MM patients that are subject to the methods and/or antibody-based therapies of the present invention have preferably any of the herein mentioned chromosomal translocation(s) and/or deletion(s).

Production of cytokines (especially IL-6) by the plasma cells causes much of their localized damage, such as osteoporosis, and creates a microenvironment in which the malignant cells thrive. Angiogenesis (the attraction of new blood vessels) is increased.

The produced antibodies are deposited in various organs, leading to renal failure, polyneuropathy and various other myeloma-associated symptoms.

In the context of the present invention, MM is preferably staged in accordance with the International Staging System (Greipp et al. (2005), J. Clin. Oncol. 23 (15):3412–3420 and/or in accordance with the Durie-Salmon Staging System (Durie et al. (1975), Cancer 36 (3): 842–854).

[0039] International Staging System:

- Stage I: β_2 -microglobulin (β_2M) < 3.5 mg/L, albumin $\geq$ 3.5 g/dL
- Stage II: β_2M < 3.5 mg/L and albumin < 3.5 g/dL; or β_2M 3.5 mg/L - 5.5 mg/L irrespective of the serum albumin
- Stage III: $\beta_2M \geq$ 5.5 mg/L

[0040] Durie-Salmon staging system:

- stage I: all of
 - Hb > 10g/dL
 - normal calcium
 - Skeletal survey: normal or single plasmacytoma or osteoporosis
 - Serum paraprotein level < 5 g/dL if IgG, < 3 g/dL if IgA
 - Urinary light chain excretion < 4 g/24h

- stage II: fulfilling the criteria of neither I nor III
- stage III: one or more of
 - Hb < 8.5g/dL
 - high calcium > 12 mg/dL
 - Skeletal survey: Three or more lytic bone lesions
 - Serum paraprotein > 7g/dL if IgG, > 5 g/dL if IgA
 - Urinary light chain excretion > 12g/24h

Stages I, II, and III of the Durie-Salmon staging system can be divided into A or B depending on serum creatinine:

- A: serum creatinine < 2 mg/dL (< 177 umol/L)
- B: serum creatinine > 2 mg/dL (> 177 umol/L)

[0041] Accordingly, MM patients that are subject to the methods and/or antibody-based therapies of the present invention are preferably staged in accordance with the International Staging System and/or in accordance with the Durie-Salmon Staging System.

[0042] Also, MM patients that are subject to the methods and/or antibody-based therapies of the present invention may have stage I, II or III MM in accordance with the International Staging System and/or in accordance with the Durie-Salmon Staging System.

[0043] MM patients may experience a variety of disease-related symptoms because of bony destruction, bone marrow infiltration, renal failure, immunodeficiency, and the psychosocial burden of a cancer diagnosis. Exciting new therapies and treatment approaches are becoming available but often bring unwanted side effects.

Most cases of myeloma also feature the production of a paraprotein, an abnormal antibody that can cause kidney problems and interferes with the production of normal antibodies leading to immunodeficiency. Hypercalcemia (high calcium levels) are often encountered. Myeloma is diagnosed with blood tests (such as protein electrophoresis, peripheral blood smear), microscopic examination of the bone marrow (bone marrow biopsy), and X-rays of commonly involved bones

[0044] Because many organs can be affected by myeloma, the symptoms and signs vary greatly. A mnemonic sometimes used to remember the common tetrad of multiple myeloma is CRAB: C = Calcium (elevated), R = Renal failure, A = Anemia, B = Bone

lesions. Myeloma has many possible symptoms, and all symptoms may be due to other causes. They are presented here in decreasing order of incidence. bone pain, infection, renal failure, anemia, neurological symptoms.

5 **[0045]** The term "BCMA" when used herein encompass native sequence BCMA and BCMA variants (which are further defined herein). The BCMA may be isolated from a variety of sources, such as from murine or human tissue types or from another source, or prepared by recombinant or synthetic methods. "BCMA" is the abbreviation of B cell maturation antigen. BCMA was isolated as a receptor for BLyS (B Lymphocyte stimulator; trademark of Human Genome Science Rockville, MD), also referred to as BAFF, THANK, TALL-1, TNFSF13, zTNF4.

[0046] BCMA is type I single transmembrane receptors and belongs to the TNF family receptors, and is predominantly expressed on B lymphocytes. BCMA used herein also
15 encompasses native sequence BCMA and BCMA variants (which are further defined herein), and may be isolated from a variety of sources, such as from murine or human tissue types or from another source, or prepared by recombinant or synthetic method.

[0047] A "native sequence BCMA comprises a polypeptide having the same amino acid
20 sequence as BCMA derived from nature. Such native sequence BCMA can be isolated from nature or can be produce by recombinant or synthetic means. The naturally-occurring truncated or secreted forms of the BCMA (e.g. soluble forms containing for instance, an extracellular domain sequence), naturally-occurring variant forms (e.g., alternatively spliced forms) and naturally occurring allelic variants of the BCMA. In one
25 embodiment of the invention, the native sequence BCMA is a mature or full-length native sequence BCMA polypeptide comprising amino acids 1 to 184 of SEQ ID NO:1 or fragment thereof. Such fragments are preferably biologically active.

30 Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser
1 5 10 15
Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr
20 25 30
Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser
35 40 45

Val Lys Gly Thr Asn Ala Ile Leu Trp Thr Cys Leu Gly Leu Ser Leu
 50 55 60
 Ile Ile Ser Leu Ala Val Phe Val Leu Met Phe Leu Leu Arg Lys Ile
 65 70 75 80
 5 Ser Ser Glu Pro Leu Lys Asp Glu Phe Lys Asn Thr Gly Ser Gly Leu
 85 90 95

 Leu Gly Met Ala Asn Ile Asp Leu Glu Lys Ser Arg Thr Gly Asp Glu
 100 105 110
 10 Ile Ile Leu Pro Arg Gly Leu Glu Tyr Thr Val Glu Glu Cys Thr Cys
 115 120 125
 Glu Asp Cys Ile Lys Ser Lys Pro Lys Val Asp Ser Asp His Cys Phe
 130 135 140
 Pro Leu Pro Ala Met Glu Glu Gly Ala Thr Ile Leu Val Thr Thr Lys
 15 145 150 155 160
 Thr Asn Asp Tyr Cys Lys Ser Leu Pro Ala Ala Leu Ser Ala Thr Glu
 165 170 175
 Ile Glu Lys Ser Ile Ser Ala Arg (SEQ ID NO:1)
 180

20

[0048] "Biologically active" as used herein, means having an in vivo or in vitro activity which may be performed directly or indirectly. Biologically active fragments of BCMA may have, for example, 70% amino acid homology with the active site of the receptor, more preferably at least 80%, and most preferably, at least 90% homology. Identity or
 25 homology with respect to the receptor is defined herein as the percentage of amino acid residues in the candidate sequence which are identical to the BCMA residues in SEQ ID NO:1, or which are identical to a defined portion of the amino acid residues in SEQ ID NO:1. Biological activity can be tested by way of interaction with APRIL and/or BAFF.

30

[0049] The "BCMA extracellular domain" or "BCMA ECD" refers to a form of BCMA which is essentially free of transmembrane and cytoplasmic domains of BCMA. Ordinarily, BCMA extracellular domain will have less than 1% of such transmembrane and cytoplasmic domains and will preferably have less than 0.5% of such domains. Optionally, BCMA ECD will comprise amino acid residues 8 to 41 of SEQ ID NO:1, or
 35 amino acid residues 4 to 51 of SEQ ID NO: 1, or amino acid residues 1 to 53 of SEQ ID NO:1. In a preferred embodiment of the present invention, the BCMA ECD comprises

amino acid residues 1 to 51 of SEQ ID NO:1. It will be understood by the skilled artisan that the transmembrane domain identified for the BCMA polypeptide of the present invention is identified pursuant to criteria routinely employed in the art for identifying that type of hydrophobic domain. The exact boundaries of a transmembrane domain may
5 vary but most likely by no more than about 5 amino acids at either end of the domain specifically mentioned herein. Accordingly, the BCMA ECD may optionally comprise amino acids 8-41 (SEQ ID NO: 1).

[0050] "BCMA-variant" means an active BCMA as defined below having at least about
10 80% amino acid sequence identity with the BCMA having the deduced amino acid sequence shown in SEQ ID NO:1 for a full-length native sequence BCMA or with a BCMA sequence. Such BCMA variants include, for instance, BCMA polypeptides wherein one or more amino acid residues are added, or deleted, at the end or C-terminus of the sequence of SEQ ID NO:1. Ordinarily, a BCMA variant will have at
15 least about 80% or 85% amino acid sequence identity, more preferably at least about 90% amino acid sequence identity, and even more preferably at least about 95% amino acid sequence identity with the amino acid sequence of SEQ ID NO:1.

[0051] "Percent (%) amino acid sequence identity" with respect BCMA sequences
20 identified herein is defined as the percentage of amino acid residues in a candidate sequence that are identical with the amino acid residues in the BCMA sequence, after aligning the sequences and introducing gaps, if necessary, to achieve the maximum percent sequence identity, and not considering any conservative substitutions as part of the sequence identity. Alignment for purposes of determining percent amino acid
25 sequence identity can be achieved in various ways that are within the skill in the art, for instance, using publically available computer software such as BLAST, ALIGN, or Megalign (DNASTAR) software. Those skilled in the art can determine appropriate parameters for measuring alignment, including any algorithms needed to achieve maximum alignment over the full length of the sequences being compared.

30
[0052] The term "disposed to respond favorably" when used in the context of the present invention means that MM B-cells from a patient who is administered an antibody-based therapy, in particular an anti-BCMA antibody therapy are more likely to be susceptible to said antibody. The likelihood that MM B-cell (preferably obtained from a patient) may

respond favorably is dependent on the expression of BCMA on the cell surface of a MM B-cell as described herein. More specifically, the MM B-cell may respond favorably to said antibody if expression level of BCMA on the cell surface of a MM B-cell is higher than that of (a) reference cell(s) as described herein. The expression level of BCMA on the cell surface of a MM B-cell is determined as described herein.

[0053] Surface expression of BCMA can, for example, be done by Fluorescence Activated Cell Sorting (FACS) using an appropriate anti-BCMA antibody. Anti-BCMA antibody can either be generated by means and methods commonly known in the art or are commercially available.

[0054] In particular, the invention also includes antibodies specifically reactive with BCMA. Antiprotein/anti-peptide antisera or monoclonal antibodies can be made by standard protocols (See, for example, Antibodies: A Laboratory Manual ed. by Harlow and Lane (Cold Spring Harbor Press: 1988)). A mammal such as a mouse, a hamster or rabbit can be immunized with an immunogenic form of the peptide. Techniques for conferring immunogenicity on a protein or peptide include conjugation to carriers, or other techniques, well known in the art. An immunogenic portion of BCMA can be administered in the presence of an adjuvant. The progress of immunization can be monitored by detection of antibody titers in plasma or serum. Standard ELISA or other immunoassays can be used with the immunogen as antigen to assess the levels of antibodies.

[0055] In a preferred embodiment, the antibodies are immunospecific for antigenic determinants of BCMA or its co-receptors, e.g. antigenic determinants of a polypeptide of SEQ ID NO: 1, or a closely related human or non-human mammalian homolog (e.g. 70, 80 or 90 percent homologous, more preferably at least 95 percent homologous). In yet a further preferred embodiment of the present invention, the anti-BCMA antibodies do not substantially cross react (i.e. react specifically) with a protein which is e.g., less than 80 percent homologous to SEQ ID NO:1; preferably less than 90 percent homologous with SEQ ID NO: 1; and, most preferably less than 95 percent homologous with SEQ ID NO:1. By "not substantially cross react", it is meant that the antibody has a binding affinity for a non-homologous protein which is less than 10 percent, more preferably less than 5 percent, and even more preferably less than 1 percent, of the binding affinity for a protein of SEQ ID NO:1.

[0056] As mentioned above, BCMA contains an extracellular domain. Said extracellular domain is preferably targeted by an antibody applied in the methods and antibody-based therapies of the present invention. A preferred anti-BCMA antibody is an anti-human BCMA antibody such as a rat anti-human BCMA antibody, a mouse anti-human BCMA antibody, a camelid anti-human BCMA antibody, a sheep anti-human BCMA antibody. Of course, if BCMA from a mammal other than human is to be detected on the surface of a patient, for example, a cat or dog, an antibody from a species other than that to be diagnosed is applied. For example, if the patient is a dog or cat, a mouse, rat, sheep, camelid anti-dog or anti-cat BCMA antibody is applied.

[0057] In the alternative to an anti-BCMA antibody also an anticalin, i.e., a lipocalin mutein such as a tear lipocalin mutein, bacterial lipocalin mutein or an hNGAL lipocalin mutein directed against BCMA, preferably human BCMA, can be applied.

[0058] A particularly preferred antibody applied in the methods of the present invention is the anti-human antibody Vicky-1 and/or MAB 193 (clone 335004). Vicky-1 is a rat IgG1 isotype and is available from GeneTex, Catalogue number #GTX17323. MAB193 is a rat IgG2a isotype and is available from R&D Systems, catalogue number #MAB193.

Accordingly, in the methods of the present invention it is preferred that BCMA, preferably BCMA expressed on the surface of MM B-cells is detectable with Vicky-1 or MAB 193. Similarly, it is preferred that patients as described herein that may suffer from MM or are suspected to suffer therefrom have MM B-cells that are detectable with Vicky-1 or MAB 193. Put it differently, it is preferred that said patient (more specifically B-cells, in particular, MM B-cells of said patients) are, so to say, Vicky-1 and/or MAB193 positive.

[0059] Surface expression of BCMA can also be tested by a surface plasmon resonance (SPR) technique such as Biacore.

[0060] In the context of the methods of the present invention, a MM B-cell is deemed to express BCMA on its surface (i.e., it is BCMA positive or has a certain BCMA expression level), if it shows a detectable signal that is above (or exceeds that of) a reference cell, preferably a BCMA negative cell, more preferably a BCMA negative B-cell, even more preferably a BCMA negative MM B-cell. A preferred BCMA negative MM B-cell is U266B1, JJN-3 or LP-1, with U266B1 and JJN-3 being preferred. Notably, such a BCMA

negative cell line may nevertheless have detectable BCMA mRNA. The skilled person is readily in a position to determine whether a detectable signal due to expression of BCMA on a B-cell of interest is above the detectable signal of a reference cell. "Above" in the context of a detectable signal means the detectable signal due to expression of BCMA on the surface of a B-cell of interest such as one or more B-cells from a patient, is 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100% or higher than the signal from a BCMA negative reference cell. As mentioned above, the MAB193 or Vicky-1 antibody is preferably used for detecting/isolating/determining BCMA expression on the surface of B-cells, preferably malignant B-cells of a patient, preferably MM patient.

[0061] A "signal" or "detectable signal" reflects the result of an antibody-antigen reaction. In the context of the present invention the antibody-antigen reaction is preferably the reaction of an anti-BCMA antibody with BCMA.

[0062] A signal can be determined by way of the signal provided by the signal generating group of an antibody, in particular an antibody against BCMA which is described herein. The signal can be any signal which is detectable by, for example, spectroscopic, photochemical, biochemical, immunochemical, or chemical means as described herein below. A signal can also be determined by way of the signal provided by the signal generating group of an antigen-specific receptor which is described herein below.

[0063] A signal generating group refers to a composition detectable by spectroscopic, photochemical, biochemical, immunochemical, or chemical means. For example, useful labels include radiolabels such as ^{32}P , ^{35}S , or ^{125}I ; fluorescent dyes (for example, Cy-3, Cy-5); chromophores, electron-dense reagents; enzymes that generate a detectable signal (e.g., as commonly used in an ELISA); or spin labels. The label or detectable moiety has or generates a measurable signal, such as a radioactive, chromogenic, or fluorescent signal, that can be used to quantify the amount of bound detectable moiety in a sample.

[0064] The detectable moiety can be incorporated in or attached to signal generating group either covalently, or through ionic, van der Waals or hydrogen bonds, e.g.,

incorporation of radioactive nucleotides, or biotinylated nucleotides that are recognized by streptavidin. The label or detectable moiety may be directly or indirectly detectable. Indirect detection can involve the binding of a second directly or indirectly detectable moiety to the detectable moiety. For example, the detectable moiety can be the ligand of a binding partner, such as biotin, which is a binding partner for streptavidin, or a nucleotide sequence, which is the binding partner for a complementary sequence, to which it can specifically hybridize. The binding partner may itself be directly detectable, for example, an antibody may be itself labelled with a fluorescent molecule. The binding partner also may be indirectly detectable.

[0065] When the antibody-specific receptor is “capable of binding to a signal generating group” this means that it can bind to a signal generating group. For example, the antibody-specific receptor may carry a functional group which is able to bind to a signal generating group. A functional group can be streptavidin/avidin which binds to biotin, an antigen such as a tag, for example, GST or histidine residues which binds to an antibody, a sugar which binds a lectin or the known Dig/Anti-Dig system. The moiety that binds to the functional group carries the signal generating group.

[0066] Any immunoassay known in the art can be used for immunologically detecting the binding of an antibody to an antigen or the binding of an antigen to an antibody. Immunoassays are well known to the skilled artisan. Methods for carrying out such assays as well as practical applications and procedures are summarized in related textbooks. Examples of related textbooks are Tijssen, P., In: Practice and theory of enzyme immunoassays, Burdon, R.H. and v. Knippenberg, P. H. (eds.), Elsevier, Amsterdam (1990), pp. 221-278, and various volumes of Colowick, S. P. and Caplan, N.O. (eds.), Methods in Enzymology, Academic Press, dealing with immunological detection methods, especially volumes 70, 73, 74, 84, 92 and 121.

[0067] Immunoassays, for example, include precipitation (particularly immunoprecipitation), electrochemiluminescence (electro-generated chemiluminescence), RIA (radioimmunoassay), ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), sandwich enzyme immune tests, electrochemiluminescence sandwich immunoassays (ECLIA), dissociation-enhanced lanthanide fluoro immuno assay (DELFA), scintillation proximity assay (SPA), turbidimetry, nephelometry, latex-

enhanced turbidimetry or nephelometry, solid phase immune tests, and mass spectrometry such as SELDI-TOF, MALDI-TOF, or capillary electrophoresis-mass spectrometry (CE-MS).

Furthermore, suitable immunoassays include microplate ELISA-based methods, fully-
5 automated or robotic immunoassays and latex agglutination assays.

[0068] Typically, in the present invention an immunoassay is an assay in which an antibody specifically binds an antigen to provide for the detection and/or quantification of an antibody or an assay in which an antigen binds to an antibody to provide for the
10 detection and/or quantification of said antigen. In the context of the present invention the antigen is preferably BCMA or a fragment thereof, said fragment being preferably immunologically detectable, and the antibody is preferably an anti-BCMA antibody.

“Immunologically detectable” when used herein preferably includes that a signal generated by the binding of an antibody to an antigen or by the binding of an antigen to an antibody as described herein is detectable by means and methods commonly known
15 and applied in the art. In the context of the present, “immunologically detectable” preferably means that a signal generated by the reaction of an anti-BCMA antibody and BCMA or fragment thereof is above (or exceeds that of) a reference cell as described herein, i.e., a MM B-cell of interest is then BCMA positive.

20
[0069] “Is not immunologically detectable” when used herein preferably includes that a signal generated by the binding of an antibody to an antigen or by the binding of an antigen to an antibody as described herein is not detectable by means and methods commonly known and applied in the art. In the context of the present, “not
25 immunologically detectable” preferably means that a signal generated by the reaction of an anti-BCMA antibody and BCMA or fragment thereof is equal to or below that of a reference cell as described herein, i.e., a MM B-cell of interest is then BCMA negative.

[0070] “MM B-cell of interest” means B-cells, preferably malignant B-cells obtained from
30 a patient suffering from MM or who is suspected to suffer from MM. Prior to analyzing said MM B-cell of interest in accordance with the methods of the present invention, it cannot be said as to whether or not said B-cells are BCMA positive or negative, respectively.

[0071] In addition or as an the alternative to a comparison of the expression level of BCMA on the cell surface of a MM B-cell with a BCMA negative cell, also a BCMA positive cell line can serve as a reference cell. Suitable BCMA positive cell lines in the sense of the present invention (i.e., as defined herein) are NCI-H929, MOLP-2, OPM-2, 5 MOLP-8, RPMI8226, KMS-12-BM or L-363. Specifically, a MM B-cell of interest is deemed to be BCMA-positive if it has at least the equal expression level of BCMA as a reference cell line. The expression is preferably determined as described herein (i.e., by way of the signal generated by a cell).

10 **[0072]** Similarly, In the context of the methods of the present invention, a MM B-cell is deemed to not express BCMA on its surface (i.e., it is BCMA negative), if it does essentially not show a detectable signal that is above a reference cell, preferably a BCMA negative cell, more preferably a BCMA negative B-cell, even more preferably a BCMA negative MM B-cell. A preferred BCMA negative MM B-cell is U266B1, JJN-3 or 15 LP-1, with U266B1 and JJN-3 being preferred. Notably, such a BCMA negative cell line may nevertheless have detectable BCMA mRNA. The skilled person is readily in a position to determine whether a detectable signal due to expression of BCMA on a B-cell of interest is not above (i.e., equal to or below) the signal of a reference cell.

“Equal to” in the context of a detectable signal means the detectable signal due to 20 expression of BCMA on the surface of a B-cell of interest such as one or more B-cells from a patient is the same as the signal of a BCMA negative reference cell.

“Below” in the context of a detectable signal means that the B-cell of interest such as one or more B-cells from a patient shows a signal that is 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 or even 100% lower than the signal from a 25 BCMA negative reference cell.

[0073] The findings of the present inventors also provide the skilled person with a method for selecting an antibody-based multiple myeloma (MM) therapy, comprising determining whether B-cells of a patient express BCMA protein on the surface of said 30 plasma B-cells, wherein, if said plasma B-cells are BCMA positive, the patient may be subject to an anti-CD20 antibody therapy and/or an anti-CD38 antibody therapy and/or an anti-BCMA antibody therapy, or, if said B-cells are BCMA-negative, the patient is subject to an anti-CD20 antibody therapy and/or an anti-CD38 antibody therapy.

[0074] Indeed, as described herein, if B-cells of a patient express BCMA protein, said patient will potentially respond favourably to an anti-BCMA antibody therapy. However, even if B-cells of a patient are negative for BCMA (BCMA-negative), said patient can be subject to an antibody-based therapy such as an anti-CD20 antibody-based therapy and/or anti-CD38 antibody based therapy. Thus, the present invention provides methods and means for selecting one or more appropriate antibody-based therapies for the treatment or prevention of MM.

[0075] The term “potentially” when used in the context of a therapeutic effect means that an anti-BCMA antibody— though such an antibody is deemed to have a therapeutic effect based on the outcome of the methods of the present invention – does not necessarily have to be therapeutically effective. This is so because - self-explanatory as it is – the methods of the present invention cannot provide a 100% safe prediction whether or not a patient may be susceptible to such an antibody, since, apart from the expression of BCMA on the surface of a MM B-cell, individual factors such as age, body weight, general health, sex, diet, drug interaction and the like may have an influence as to whether or not a patient will be susceptible to such an antibody.

However, if a MM B-cell from a patient is BCMA positive as described herein, the likelihood that an anti-BCMA antibody has a therapeutic effect is more than 50% in comparison to a patient, whose MM B-cells does not show cell surface expression of BCMA. Preferably the likelihood is more that 60%, 70%, 80% or 90%, more preferably more than 95%.

[0076] Of course, it is advisable to determine as to whether a BCMA-negative MM patient may be CD20 and/or CD38-positive and/or CS1-positive before making him/her subject to an anti-CD20 and/or anti-CD38 and/or CS1 antibody-based therapy.

Further antibody-based therapies (i.e., one or more antibody-based therapies) in addition (i.e., as combination) to an anti-BCMA antibody-based therapy (if a patient is BCMA positive) or as an alternative to an anti-BCMA antibody-based therapy (if a patient is BCMA negative), that are encompassed by the present invention, may be based on the target indicated in the outer left column of the table that follows below. If the antibody directed against the target as indicated in the outer left column is conjugated to a toxin, then such a conjugate is also encompassed by said further antibody-based therapy.

Target	Brand name	Type of mAb (conjugate)	Phase	Remarks
CD138	B-B4-DM1	the maytansinoid immunoconjugate mouse IgG1 mAb B-B4	preclinical	Tassone Blood 2004, 104:3688-96
HM1.24	humanized HM1.24	humanized	preclinical	Ozaki Blood 1999, 93:3922-3930
	humanized HM1.24	Fc-engineered humanized IgG ₁	preclinical	
IL-6	OP-R003-1, 1339 Elsilimomab, Azintrel	human IgG1	preclinical	Fulciniti Clin Cancer Res 2009, 15:7144-52
HLA-DR	1D09C3	human IgG1	preclinical	Carlo-Stella Cancer Res 2007
kininogen	C11C1	mouse	preclinical	Sainz Cancer Immunol Immunother 2006 C11C1 mAb inhibits its own tumor growth <i>in vivo</i> , slows down B38-MM growth rate when both MM are implanted together and when mAb C11C1 is injected intraperitoneally. MAb C11C1-treated-MM showed decreased MVD and kininogen binding <i>in vivo</i> without FGF-2, B1R, or B2R expression changes
HLA class I	2D7-DB	converted from mouse IgG2b, single-chain Fv diabody	preclinical	Sekimoto Cancer Res 2007; 67:1184-92. a recombinant single-chain Fv diabody 2D7-DB specifically induces multiple myeloma cell death in the bone marrow environment
β 2- microglobulin	anti- β 2M mAbs	mouse	preclinical	Yang Blood 2007; 110:3028-35. & Clin Cancer Res 2009; 15:951-9. Strong apoptotic effect on myeloma cells and low toxicity in the mice supports potential use as therapeutic agents

CD32B	MGA321(2B6)	humanized IgG1	preclinical	Zhou Blood 2008; 111:549-557. humanized 2B6 MoAb may target in patients with systemic AL-amyloidosis. It blocks Fc engagement of CD32B and may improve the performance of other cancer Mabs when combined with them during administration
FGFR3	PRO-001	human IgG1	preclinical	Trudel Blood 2006; 2:4908-4915. The inhibitory anti-FGFR3 antibody, PRO-001, is cytotoxic to t(4;14) MM cells and deserves further study for the treatment of FGFR3-expressing myeloma
ICAM-1	cUV3	chimeric IgG1	preclinical	Smallshaw J Immunother 2004; Coleman J Immunother 2006 cUV3 significantly prolongs the survival of SCID/ARH-77 mice
BLyS	BLyS/rGel	Fusion protein of an antibody tethered to a toxin	preclinical	Lyu et al. Mol Cancer Ther 2007; 6:460-70
TACI	Atacicept (TACI-Ig)	fusion protein	preclinical	Yaccoby Leukemia 2008 22, 406-413
CD70	SGN-70	humanized IgG1	preclinical	McEarchern Clin Cancer Res 2008 14, 7763-72
TRAIL-R2(DR5)	lexatumumab	human	preclinical	Menoret et al. Blood 2006;132: 1356-62
IL-6R	NRI (engineered Tocilizumab)	a single-chain fragment format dimerized by fusing to the Fc portion of human immunoglobulin G1	preclinical	Yoshio-Hoshino Cancer Res 2007; 67:871-5. the NRI gene introduction combined with adenovirus gene delivery inhibited the <i>in vivo</i> S6B45 cell growth significantly
BCMA	SG1	Auristatin-BCMA mAb	preclinical	Ryan et al. Mol Cancer Ther 2007; 6:3009-18
matriptase	M24-DOX	immunoconjugate with doxorubicin	preclinical	Bertino et al. 2010 AACR abstract no. 2596. M24-DOX is as potent as free doxorubicin to inhibit the growth of MM cells. But target delivery of doxorubicin by the matriptase antibody significantly reduced the toxicity toward cardiomyocytes that lack matriptase expression

IL-1beta	XOMA 052	Human Engineered IgG2	preclinical	Lust 2010 AACR abstract no. 2449. XOMA 052 is highly effective at inhibiting IL-1 induced IL-6 production in myeloma patients <i>in vitro</i>
CD20	Rituxan	chimeric with a human IgG1 Fc	II (ongoing)	NCT00258206 (with cyclophosphamide): NCT00505895. High-dose cyclophosphamide in combination with rituximab in patients with primary refractory, high-risk, or relapsed myeloma, also being studied for the treatment of peripheral neuropathy in patients with MGUS
CD20	Zevalin (yttrium Y 90 ibritumomab tiuxetan)	mouse IgG1	I (ongoing)	NCT00477815: Zevalin radioimmunotherapy with high-dose melphalan and stem cell transplant for MM
CD40	SGN-40 (Dacetuzumab)	humanized IgG1	I b (ongoing)	NCT00664898: safety and pharmacology of SGN-40 administered in combination with Bortezomib (Velcade, PS-341) in patients with relapsed or refractory MM. NCT00525447 is the study of SGN40, lenalidomide, and dex in MM patients
CD40	HCD122 (Lucatumumab)	human IgG1	I (ongoing)	NCT00231166 Dose-finding trial of HCD122 in MM patients that is relapsed or has not responded to prior therapy
CD20	Bexxar (131-tositumomab)	radioactive iodine 131 attaching to anti-CD20; muIgG2a (131)	II (ongoing)	NCT00135200: to see whether the treatment with Bexxar will decrease and possibly eliminate residual myeloma cells resistant to chemotherapy
CD56	BB-10901 (IMGN901)	humanized (maytansine DM1 conjugation)	I (ongoing)	NCT00346255: given as an intravenous infusion weekly for two consecutive weeks every three weeks to relapsed and relapsed refractory CD56-positive MM; NCT00991562: IMGN901 in combination with lenalidomide and dexamethasone

RANKL	Denosumab	human IgG2	II/III (ongoing)	NCT00259740: to determine if denosumab is effective in the treatment of relapsed or plateau-phase MM; NCT00104650: to determine the effectiveness of AMG 162 in reducing urinary N-telopeptide in advanced cancer subjects with bone metastases; NCT00330759: Phase III Study of Denosumab Compared With Zoledronic Acid (Zometa) in the Treatment of Bone Metastases in Subjects With Advanced Cancer (Excluding Breast and Prostate Cancer) or MM NCT00428545 (in combination with bortezomib); NCT00410605 (added with lenalidomide and dexamethasone)
VEGF	Avastin bevacizumab	humanized	II (ongoing)	NCT00625144: studying the side effects of giving fludarabine and busulfan together with alemtuzumab followed by donor stem cell transplant and to see how well it works in treating patients with hematological cancer or other disease
CD52	Campath-1H (alemtuzumab)	humanized	II (ongoing)	NCT00401843 (in combination with bortezomib); NCT00911859 (added with Velcade-Melphalan-Prednisone); NCT00402181 (in combination with dexamethasone)
IL-6	CNTO 328	chimerized IgG1	I/II (ongoing)	Preliminary efficacy was seen but there is a limitation for the clinical use of a murine monoclonal antibody since it frequently induces human anti-mouse antibodies (HAMA)
IL-6R	B-E8 (Elsilimomab)	murine	II	
IL-6R	MRA (Tocilizumab)	humanized	II	
TRAIL-R1(DR4)	Mapatumumab(TRM-1)	human	II (ongoing)	NCT00315757 (in combination with bortezomib)

EGFR	Erbix(EMMA-1)	chimerized	II (ongoing)	NCT00368121 (in combination with dexamethasone)
CS1	elotuzumab/HuLuc63	humanized	I/II (ongoing)	NCT00742560 & NCT00726869 (in combination with bortezomib)
DKK	BHQ880	human IgG1	I/II (ongoing)	NCT00741377: in combination with Zoledronic Acid in relapsed/refractory myeloma
CD138	BT062	chimeric (B-B4-maytansinoid DM4)	I (ongoing)	NCT00723359
the activin receptor type IIA (ActRIIA)	ACE-011	human IgG1	I/IIa (ongoing)	NCT00747123 (in patients with osteolytic lesions with MM)
IGF-1R	AVE1642	humanized	I/II (ongoing)	Descamps et al. (B J Cancer 2009; 100:366) Anti-IGF-1R Monoclonal Antibody combined with bortezomib for patients with rel/ref MM
Ganglioside GM2	BIW-8962	humanized	I/II (ongoing)	Dosing study of anti-GM-2 ganglioside (expressed at high levels on the surface of MM cells) followed by efficacy study
CD74 (variant MHC II)	milatuzumab (hLL1, IMMU-110)	humanized IgG1 or humanized IgG1 doxorubicin conjugate	I/II (ongoing)	NCT00421525: in patients with recurrent or refractory multiple myeloma who have failed at least two prior standard systemic treatments. Its isotope, drug, and toxin conjugates have high antitumor activity in non-Hodgkin's lymphoma and multiple myeloma <i>in vitro</i> and in tumor xenograft models. Stein et al. 2007 & 2009
Alpha-4 integrin	natalizumab (Tysabri)	humanized IgG4	I/II (ongoing)	NCT00675428: patients with relapsed or refractory multiple myeloma

MHC II (HLA-DR)	1D09C3	human IgG4	I	Carlo-Stella et al. 2007 showed that IFN-gamma-induced up-regulation of HLA-DR results in a potent enhancement of the <i>in vivo</i> antimyeloma activity of 1D09C3 in mice. Initial clinical testing with 1D09C3 has not raised any unexpected or unacceptable safety concerns and the maximum tolerated dose has not yet been reached. GPC Biotech has decided to not put further internal resources into developing 1D09C3 due to potential swapping of IgG4 antibody one half of its Y-shaped structure with the half of a different antibody, thus resulting in a new molecule whose properties are unknown. However, the Company will seek a partner for the intellectual property relating to this program
	CP-751,871/figitumumab	human IgG2	I	Lacy et al. (J. Clin Oncol 26:3196) reported that CP-751,871 is well tolerated and may constitute a novel agent in the treatment of multiple myeloma
IGF-1R				NCT00552396 (ASCO May 30 2009 abstract 09-AB-3032) safety and tolerability study for patients with relapsed/refractory MM. Preclinical characterization of 1-7F9, a novel human anti-KIR therapeutic antibody that augments NK-mediated killing of tumor cells (Romagne et al. 2009)
KIR	IPH 2101	human IgG4	I/IIa (ongoing)	

[0077] B-cells can be selected and/or identified by way of a B-cell surface marker. A "B cell surface marker" or "B cell surface antigen" herein is an antigen expressed on the surface of a B cell which can be targeted with an antagonist which binds thereto. Exemplary B cell surface markers include, but are not limited to CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD37, CD40, CD52, D53, CD72, CD73, CD74, CDw75, CDw76, CD77, CDw78, CD79a, CD79b, CD80, CD81, CD82, CD83, CDw84, CD85, CD86, CD80 (RP105), FcRH2 (IRTA4), CD79A, C79B, CR2, CCR6, CD72, P2X5, HLA-DOB, CXCR5 (BLRI), FCER2, BR3 (aka BAFF-R), TACI, BTLA, NAG14 (aka LRRC4), SLGC16270 (aka LOC283663), FcRHI (IRTA5), FcRH5 (IRTA2), ATWD578 (aka MGC15619), FcRH3 (IRTA3), FcRH4 (IRTAI), FcRH6 (aka LOC343413) and, in particular BCMA.

[0078] MM B-cells may be detected, selected and/or identified by way of a B-cell surface marker as described above. However, preferably MM B-cells are selected and/or identified by way of the following markers: CD19, CD56, CD117, CD20, CD28, CD27, CD81 and/or CD200 (see also Table 2 of Rawston et al. (2008), *Haematologica* 93(3):431-438.

MM B-cells of the present invention are preferably characterized to be at least CD38 positive, CD56 positive or negative, CD45 positive, and CD19 positive.

[0079] B-cells, preferably malignant B-cells that are subject to the methods of the present invention are preferably obtained from a patient. A patient according to this invention is a mammal, preferably said patient or mammal suffers from MM or is suspected to suffer from MM. "Mammal" for purposes of treatment refers to any animal classified as a mammal, including human, domestic and farm animals, nonhuman primates, and any other animal that has mammary tissue. A mammal includes human, rodents such as mouse, rat or rabbit, dog, cat, chimpanzee, horse, pig, etc., with human being preferred. A patient also includes human and veterinary patients, with human patients being preferred. In each one of the above methods, the mammal may be one that suffers from multiple myeloma.

A mammal "in need" of treatment can include, but are not limited to, mammals that have multiple myeloma or are suspected to have multiple myeloma.

[0080] A “subject” when used herein includes mammalian and non-mammalian subjects.

[0081] B-cells obtained from a patient are preferably contained in a sample. In accordance with the present invention by the term “sample” is intended any biological sample obtained from a subject, cell line, tissue culture, or other source containing at least B-cells. Biological samples include body fluids (such as blood, serum, plasma, urine, saliva, synovial fluid and spinal fluid) and tissue sources found to contain B-cells. Methods for obtaining tissue biopsies and body fluids from subjects are well known in the art. Generally, a biological sample which includes peripheral blood mononuclear cells (PBMCs), in particular B cells and T cells is preferred as a source. A sample which includes peripheral blood mononuclear cells (PBMCs), in particular B cells and T cells is preferably taken from peripheral blood of a human patient. Other preferred samples are whole blood, serum, plasma or synovial fluid, with plasma or serum being most preferred. However, a sample from peripheral blood of a human patient is particularly preferred.

[0082] It is a preferred embodiment of the methods of the present invention that a patient is to be treated with an anti-BCMA antibody. The antibody applied for the treatment of a patient as well as the antibody applied in the methods for stratification, diagnosis or selecting an antibody-based MM therapy is preferably a monoclonal antibody, polyclonal antibody, chimeric antibody, humanized antibody, bispecific antibody, domain antibody (dAb) or nanobody.

[0083] The term “antibody” also includes but is not limited to polyclonal, monoclonal, monospecific, polyspecific such as bispecific, non-specific, humanized, human, single-chain, chimeric, synthetic, recombinant, hybrid, mutated, grafted, domain (VHH) and in vitro generated antibodies as well as nanobodies including camelid antibodies and humanized camelid antibodies. Accordingly, the term “antibody” also relates to a purified serum, i.e., a purified polyclonal serum. Accordingly, said term preferably relates to a serum, more preferably a polyclonal serum and most preferably to a purified (polyclonal) serum.

Furthermore, the term “antibody” as employed in the invention also relates to derivatives or variants of the antibodies described herein which display the same specificity as the described antibodies. Examples of “antibody variants” include humanized variants of

non-human antibodies, "affinity matured" antibodies (see, e.g. Hawkins et al. J. Mol. Biol. 254, 889-896 (1992) and Lowman et al., Biochemistry 30, 10832- 10837 (1991)) and antibody mutants with altered effector function (s) (see, e.g., US Patent 5, 648, 260). The terms "antigen-binding domain", "antigen-binding fragment" and "antibody binding region" when used herein refer to a part of an antibody molecule that comprises amino acids responsible for the specific binding between antibody and antigen. The part of the antigen that is specifically recognized and bound by the antibody is referred to as the "epitope" as described herein above. As mentioned above, an antigen-binding domain may typically comprise an antibody light chain variable region (VL) and an antibody heavy chain variable region (VH); however, it does not have to comprise both. Fd fragments, for example, have two VH regions and often retain some antigen-binding function of the intact antigen-binding domain. Examples of antigen-binding fragments of an antibody include (1) a Fab fragment, a monovalent fragment having the VL, VH, CL and CH1 domains; (2) a F(ab')₂ fragment, a bivalent fragment having two Fab fragments linked by a disulfide bridge at the hinge region; (3) a Fd fragment having the two VH and CH1 domains; (4) a Fv fragment having the VL and VH domains of a single arm of an antibody, (5) a dAb fragment (Ward et al., (1989) Nature 341 :544-546), which has a VH or VL domain; (6) an isolated complementarity determining region (CDR), and (7) a single chain Fv (scFv). Although the two domains of the Fv fragment, VL and VH, are coded for by separate genes, they can be joined, using recombinant methods, by a synthetic linker that enables them to be made as a single protein chain in which the VL and VH regions pair to form monovalent molecules (known as single chain Fv (scFv); see e.g., Bird et al. (1988) Science 242:423-426; and Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci USA 85:5879-5883). These antibody fragments are obtained using conventional techniques known to those with skill in the art, and the fragments are evaluated for function in the same manner as are intact antibodies.

The term "immunoglobulin" (Ig) is used interchangeably with "antibody" herein.

[0084] A further aspect of the present invention is an anti-BCMA antibody therapy for use in the treatment of a multiple myeloma (MM) patient whose plasma B-cells are disposed to be BCMA positive.

[0085] A still further aspect of the present invention is an anti-BCMA antibody for use in the treatment of a multiple myeloma (MM) patient diagnosed with a method of the present invention.

[0086] Also another aspect of the present is an anti-CD20 antibody and/or an anti-CD38 antibody for use in the treatment of a multiple myeloma (MM) patient whose B-cells are BCMA negative.

[0087] In one embodiment of the present invention, an anti-BCMA antibody is conjugated to a toxin including chemotherapeutic agent that is toxic against malignant plasma B-cells in MM patients. Suitable chemotherapeutic agents are disclosed in WO 2010/121093 such as Bortezomib (Velcade), Thalidomide (Thalomid), Lenalidomide (Revlimid).

[0088] The terms "treat" or "treatment" refer to both therapeutic treatment and prophylactic or preventative measures, wherein the object is to prevent or slow down (lessen) an undesired physiological change or disorder, such as the development or spread of cancer, in particular MM. For purposes of this invention, beneficial or desired clinical results include, but are not limited to, alleviation of symptoms, diminishment of extent of disease, stabilized (i. e., not worsening) state of disease, delay or slowing of disease progression, amelioration or palliation of the disease state, and remission (whether partial or total), whether detectable or undetectable. "Treatment" can also mean prolonging survival as compared to expected survival if not receiving treatment. Those in need of treatment include those already with the condition or disorder as well as those prone to have the condition or disorder or those in which the condition or disorder is to be prevented.

[0089] The anti-BCMA antibody, anti-CD20 antibody, anti-CD38 antibody and/or anti-CS1 antibody is preferably administered in an "effective amount". An "effective amount" is an amount sufficient to carry out a specifically stated purpose. An "effective amount" can be determined empirically and by known methods relating to the stated purpose. The term "therapeutically effective amount" refers to an amount of a therapeutic agent of this invention effective to "treat" or "ameliorate" MM in a mammal (aka patient). In one instance, the therapeutically effective amount may be a growth inhibitory amount or a

cytotoxic amount In the case of MM, the therapeutically effective amount of the drug active for any one of the following: reducing the number of cancer cells; reducing the number of malignant MM B-cells, tumor size; inhibiting (i.e., slow to some extent and preferably stop) cancer cell infiltration into peripheral organs; inhibiting (i.e., slow to some extent and preferably stop) tumor metastasis; inhibiting, to some extent, tumor growth; and/or relieve to some extent one or more of the symptoms associated with the cancer. To the extent the drug can prevent growth and/or kill existing cancer cells, it can be cytostatic and/or cytotoxic. A "treatment" or a "therapeutically effective amount" refers to a course of administration of the therapeutic agent, which course may include several dosings spread over a period of time to achieve a desired effect.

[0090] The B cell depleting agents (i.e., the anti-BCMA antibody, anti-CD20 antibody, anti-CD38 antibody or any other antibody directed against a target expressed on the surface of a B cell such as CS1) can be administered to a patient by a variety of methods, such as by intravenous administration, e.g., as a bolus or by continuous infusion over a period of time, by subcutaneous, intramuscular, intraperitoneal, intracerebrospinal, intra-articular, intrasynovial, intrathecal, or inhalation routes.

[0091] These antibodies are preferably administered in the form of a pharmaceutical compositions. The dosage regimen will be determined by the attending physician and clinical factors. As is well known in the medical arts, dosages for any one patient depends upon many factors, including the patient's size, body surface area, age, the particular compound to be administered, sex, time and route of administration, general health, and other drugs being administered concurrently. Preparations for parenteral administration include sterile aqueous or non-aqueous solutions, suspensions, and emulsions. Examples of non-aqueous solvents are propylene glycol, polyethylene glycol, vegetable oils such as olive oil, and injectable organic esters such as ethyl oleate. Aqueous carriers include water, alcoholic/aqueous solutions, emulsions or suspensions, including saline and buffered media. Parenteral vehicles include sodium chloride solution, Ringer's dextrose, dextrose and sodium chloride, lactated Ringer's, or fixed oils. Intravenous vehicles include fluid and nutrient replenishers, electrolyte replenishers (such as those based on Ringer's dextrose), and the like. Preservatives and other additives may also be present such as, for example, antimicrobials, anti-oxidants, chelating agents, and inert gases and the like. Furthermore, the pharmaceutical

composition of the invention may comprise further agents such as additional anti-tumor agents as exemplified herein elsewhere.

[0092] Another embodiment of the invention is a kit comprising an anti-BCMA antibody and instructions for use, in particular instructions as how to perform the methods of the present invention.

The kit comprises at least one container and a label or package insert on or associated with the container. Suitable containers include, for example, bottles, vials, syringes, etc. The containers may be formed from a variety of materials such as glass or plastic. The container can have a sterile access port for extracting a therapeutic agent (for example the container may be an intravenous solution bag or a vial having a stopper pierceable by a hypodermic injection needle). The label or package insert can indicate that the composition is used for treating MM.

[0093] Additionally, the kit may further comprise a second container comprising a pharmaceutically-acceptable buffer, such as bacteriostatic water for injection (BWFJ), phosphate-buffered saline, Ringer's solution and dextrose solution. It may further include other materials desirable from a commercial and user standpoint, including other buffers, diluents, filters, needles, and syringes

EXAMPLES

[0094] *ALEXA Fluor® 488 Labeling of antibodies*

Anti-BCMA IgGs and appropriate isotype control IgGs were labeled with ALEXA Fluor® 488 using ALEXA Fluor® 488 Monoclonal Antibody Labeling Kit (Invitrogen, #A20181). Labeling and calculation of the degree of labeling was performed according to manufacturers' instructions.

IgG	Clone	Isotype	Cat. No.
Anti-BCMA	Vicky-1	Rat IgG1	GeneTex, #GTX17323
Anti-BCMA	335004	Rat IgG2a	R&D Systems, #MAB193
Rat IgG1 isotype ctrl.	43414	Rat IgG1	R&D Systems, #MAB005
Rat IgG2a isotype ctrl.	54447	Rat IgG2a	R&D Systems, #MAB006

Table 1: anti-BCMA monoclonal antibodies used for ALEXA Fluor® 488 labeling

[0095] *Staining primary malignant plasma B-cells from bone marrow aspirates*

Bone marrow aspirates from MM patients were filtered through a 70 µm cell strainer (BD, 352350). Plasma cell numbers have previously been determined and based on that, aspirate volumes for staining were calculated:

1-10% plasma cells in the CD45 negative population 180 µl;

11-20% plasma cells in the CD45 negative population 120 µl;

21-31% plasma cells in the CD45 negative population 60 µl;

An appropriate volume of the aspirates was incubated with 1.5 µl of each of the following antibodies: CD38-APC (BD, clone: HIT2, #555462), CD56-PE-Cy-7 (BD, clone: NCAM16.2, #335791), CD45-APC-Cy7 (BD, clone: 2D1; #557833) and 6µl of CD19-PerCP-Cy5.5 (BD, clone: HIB19, #561295). For diagnostic staining cells were fixed and permeabilised using Fixation and Permeabilisation kit (Invitrogen, #GAS-003) followed by 6 µl each of anti-Ig kappa-FITC (BD, clone: G20-193, # 555791) and anti-Ig lambda-PE (BD, clone: JDC-12, #555797). For detection of BCMA, 10 µg/ml Vicky-1-Alexa488 or MAB193-Alexa488 and of the isotype controls rat IgG1-Alexa488 and rat IgG2a-Alexa488 were used and samples were incubated for 15 min at 4 °C. Cells were washed and red blood cells lysed using a FACS Lyse/Wash Assistant, LWA (BD). Signals were analyzed using a FACSCanto flow cytometer (BD).

Plasma cells were identified by gating on the CD45 low, CD38 high, CD19 low population and, in case the patients expressed CD56 on their plasma cells, on CD56 high. As reference non plasma cells were gated on for CD45 high, CD38 low, CD56 low. The fluorescence intensities of the Alexa488 were measured for both populations, e.g. for Vicky-1 and rat IgG1. Histogrammes derived from specific antibody and isotype control fluorescent signals were overlaid and the difference noted. Patients are considered BCMA positive if their non-plasma cells show no difference in fluorescence intensity for Vicky-1 and Mab193 and isotype controls as well as a clear increase in fluorescence on plasma cells for Vicky-1 and MAB193 as compared to the fluorescence measured for rat IgG1 or IgG2a respectively.

Raw data was analyzed using Flow Jo. Patients were given consecutive numbers for identification in addition to their sample number assigned on the date of data collection.

[0096] *FACS staining of OPM-2 cells with different anti-BCMA antibodies*

In order to examine whether or not BCMA protein is expressed on cell surface of OPM-2 cell line which is a human, peripheral blood derived from multiple myeloma cells, Vicky-1 as well as MAB193 were used for FACS analysis (Fig. 1). As a result, both showed sufficient staining efficacy for BCMA protein expressing in a surface of OPM-2 cells. However, it was found that Vicky-1 showed a stronger FACS shift compared to MAB193 (Fig. 1), which mean fluorescence signals of Vicky-1 and MAB193 also proved (Table 2). Therefore, Vicky-1 as anti-BCMA antibody was used for further experiments conducted herein.

mAb	Mean Fluorescence Signal
Vicky-1	609
MAB193	371

Table 2: Mean fluorescence signals

[0097] *Correlation of protein and mRNA expression levels in MM cell lines*

As a next step, the inventors examined the level of BCMA protein as well as BCMA mRNA by FACS and human exon gene chip (Affymetrix), respectively in 10 different MM cell lines (Fig. 2).

mRNA expression levels were analyzed in RT-PCR using Primers described in Li et al (Med Oncol (2010) 27:439-445). In detail, total cellular RNA was isolated from MM cell as is commonly done in the art. The isolated RNA was applied as a template for the first strand cDNA synthesis by reverse transcription (RT), and cDNA used as a template for polymerase chain reaction (PCR). The following primers were used: BCMA 5'-TTA CTTGTCCTTCCAGGCTGTTCT-3' (sense) (SEQ ID NO: 2) and 5'-CATAGAAACCAAGGAAGTTTCTACC-3' (antisense) (SEQ ID NO:3).

Fig. 2(A) shows the result of BCMA protein level by FACS using Vicky-1 in 10 MM cell lines. Intriguingly, BCMA protein level on the cell surface was varied in each cell line.

Especially, it was found that NCI-H929 (very strong indicated as +++ in Table 3), MOLP-2, OPM-2 as well as KMS-12-BM (strong indicated as ++ in Table 3) showed very strong or strong expression on the cell surface of said cell lines. On the other hand, U226B1, JJN-3 and LP-1 showed no BCMA protein expression on the cell surface of said cell lines.

Fig 2(B) indicates BCMA mRNA level of 10 different MM cell lines. The relative expression levels were resulted from the normalization by GAPDH mRNA level.

It was found that BCMA mRNA level was very high for example, in NCI-H929 cell line as it also showed high protein level. Although it was found that no expression of BCMA protein on the cell surface of U266B1, JJN-3 as well as LP-1 was detectable, BCMA mRNA in said cell lines were detectable, and it is noted that BCMA mRNA level of JJN-3 and LP-1 cell lines rather showed higher. Thus, the inventor concluded that there is no solid correlation between BCMA protein in the cell surface and BCMA mRNA in MM cell lines.

	mRNA levels	Protein levels
NCI-H929	+++	+++
MOLP-2	++	++
OPM-2	++	++
MOLP-8	++	+
RPMI8226	+	+
KMS-12-BM	+	++
L-363	++	+
U266B1	+	-
JJN-3	++	-
LP-1	++	-

Table 3: Summary of protein and mRNA expression levels in 10 different MM cell lines

[0098] *BCMA protein expression on bone marrow plasma cells of MM patients*

Further, the inventors examined as to whether or not BCMA protein was expressed on the cell surface of MM cells (malignant plasma B-cells) from 23 MM patients and detected by Vicky-1 or MAB193. Bone marrow aspirates of 23 patients were analyzed for BCMA expression in FACS. As a result, it was found that 52% (12/23) of MM patients showed BCMA positive on cell surface of MM cells, however, 48% (11/23) of MM patients showed BCMA negative (Table 4). In Fig. 3, the FACS signal shift was detected in primary plasma cells. On the other hand, no signal shift was observed in non-plasma cells (Fig. 3).

Patient #	Plasma cell BCMA expression
1	+
2	-
3	-
4	+
5	-
6	+
7	+
8	-
9	-
10	+
11	-
12	-
13	+
14	-
15	+
16	-
17	+
18	+
19	+
20	-
21	+
22	+
23	-

Table 4

n.a. not applicable

+positive staining

-negative staining

CLAIMS

1. A method for the stratification of a multiple myeloma (MM) patient disposed to respond favorably to an anti-BCMA antibody therapy, comprising determining whether B-cells, preferably malignant B-cells of said patient express BCMA protein on the surface of said B-cells, wherein said patient is disposed to respond favorably to said anti-BCMA antibody therapy, if said B-cells express BCMA protein on their surface.
2. A method for diagnosing a BCMA negative multiple myeloma (MM) patient, comprising determining whether B-cells, preferably malignant B-cells of said patient express BCMA protein on their surface, wherein said patient suffers from BCMA negative MM, if no BCMA protein is detectable on the surface of said B-cells.
3. A method for selecting an antibody-based multiple myeloma (MM) therapy, comprising determining whether B-cells, preferably malignant B-cells of a patient express BCMA protein on the surface of said B-cells, wherein, if said B-cells are BCMA positive, the patient may be subject to an anti-CD20 antibody therapy and/or an anti-CD38 antibody therapy and/or an anti-BCMA antibody therapy and/or anti-CS1 antibody therapy, or , if said B-cells are BCMA-negative, the patient is subject to an anti-CD20 antibody therapy and/or an anti-CD38 antibody therapy and/or anti-CS1 antibody therapy.
4. The method of any one of the preceding claims, wherein said B-cells are obtained from said patient.
5. The method of any one of claims 1 to 4, wherein said B-cells are characterized to be CD38 positive, CD56 positive or negative, CD45 positive, and CD19 positive.
6. The method of claim 1 or 2, wherein said patient is to be treated with an anti-BCMA antibody therapy.

7. The method of any one of the preceding claims, wherein said anti-BCMA antibody is
a monoclonal antibody,
a chimeric antibody
a humanized antibody, or
a bispecific antibody
8. The method of claim 6, wherein said anti-BCMA antibody is conjugated to a toxin.
9. An anti-BCMA antibody therapy for use in the treatment or amelioration of a multiple myeloma (MM) patient whose B-cells, preferably malignant B-cells are disposed to be BCMA positive.
10. An anti-BCMA antibody for use in the treatment or amelioration of a multiple myeloma (MM) patient diagnosed with the method of any one of the preceding claims.
11. An anti-CD20 antibody and/or an anti-CD38 antibody and/or anti-CS1 antibody for use in the treatment or amelioration of a multiple myeloma (MM) patient whose B-cells, preferably malignant B-cells are BCMA negative.
12. Any of the preceding claims, wherein said BCMA protein is detectable with Vicky-1 or MAB 193.
13. A kit comprising an anti-BCMA antibody and instructions for carrying out the method of any one of claims 1 to 7.

1 / 6

Binding of anti-BCMA antibodies to OPM-2 cells

Fig.1A

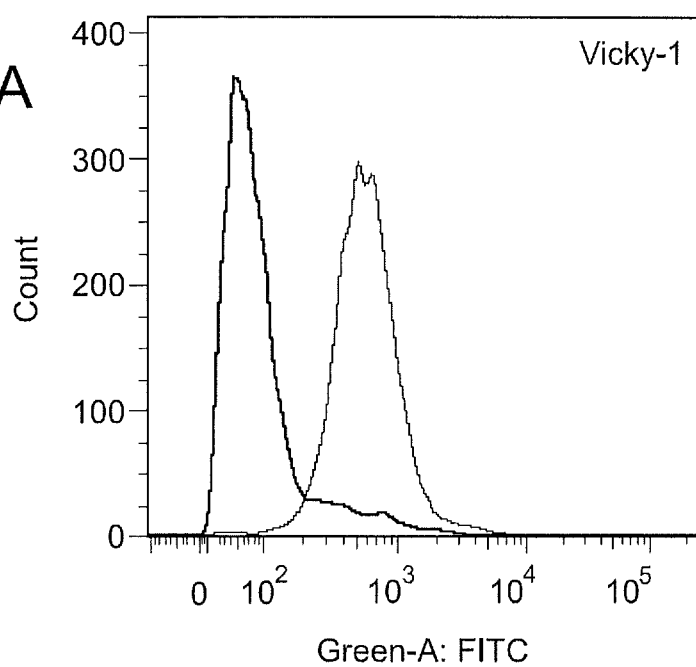


Fig.1B

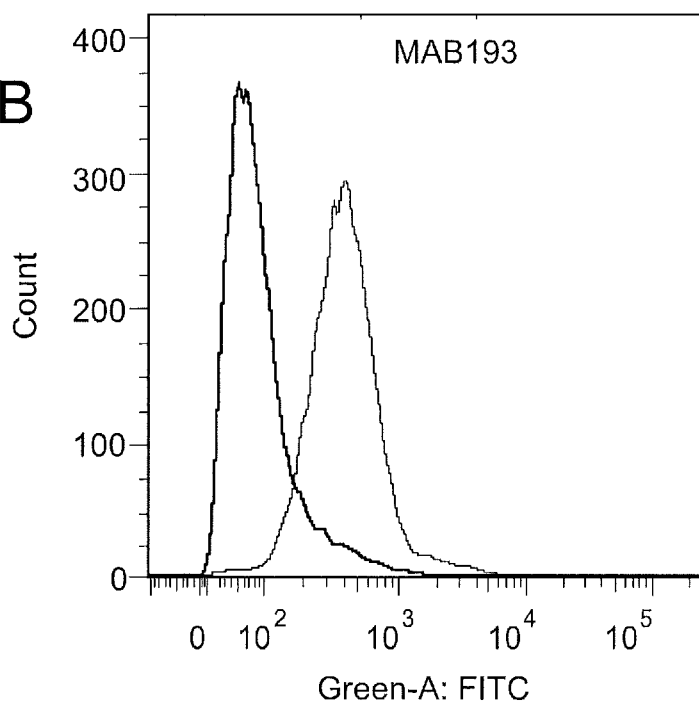
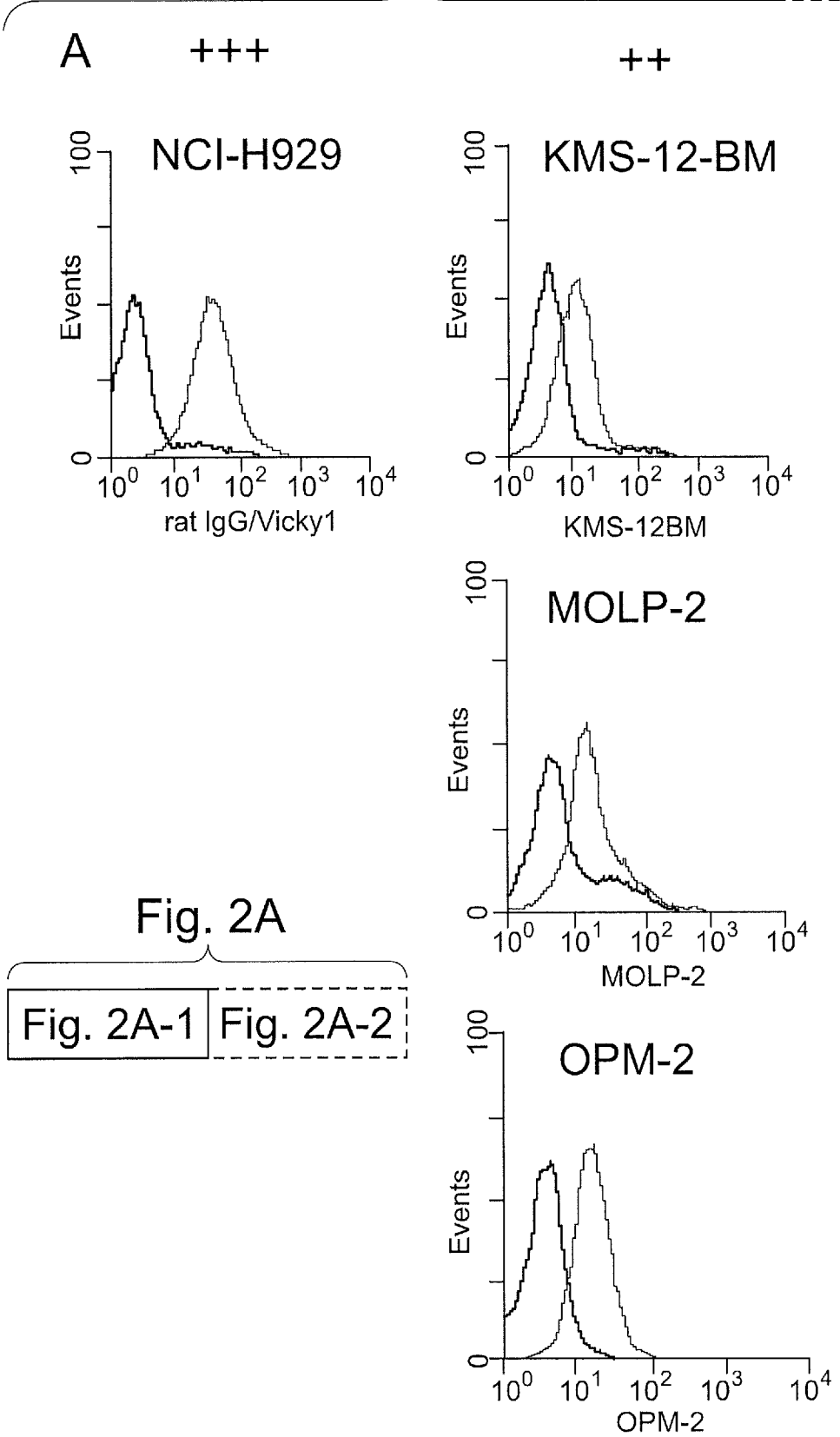


Fig. 1

Fig. 2A-1



3 / 6

Fig. 2A-2

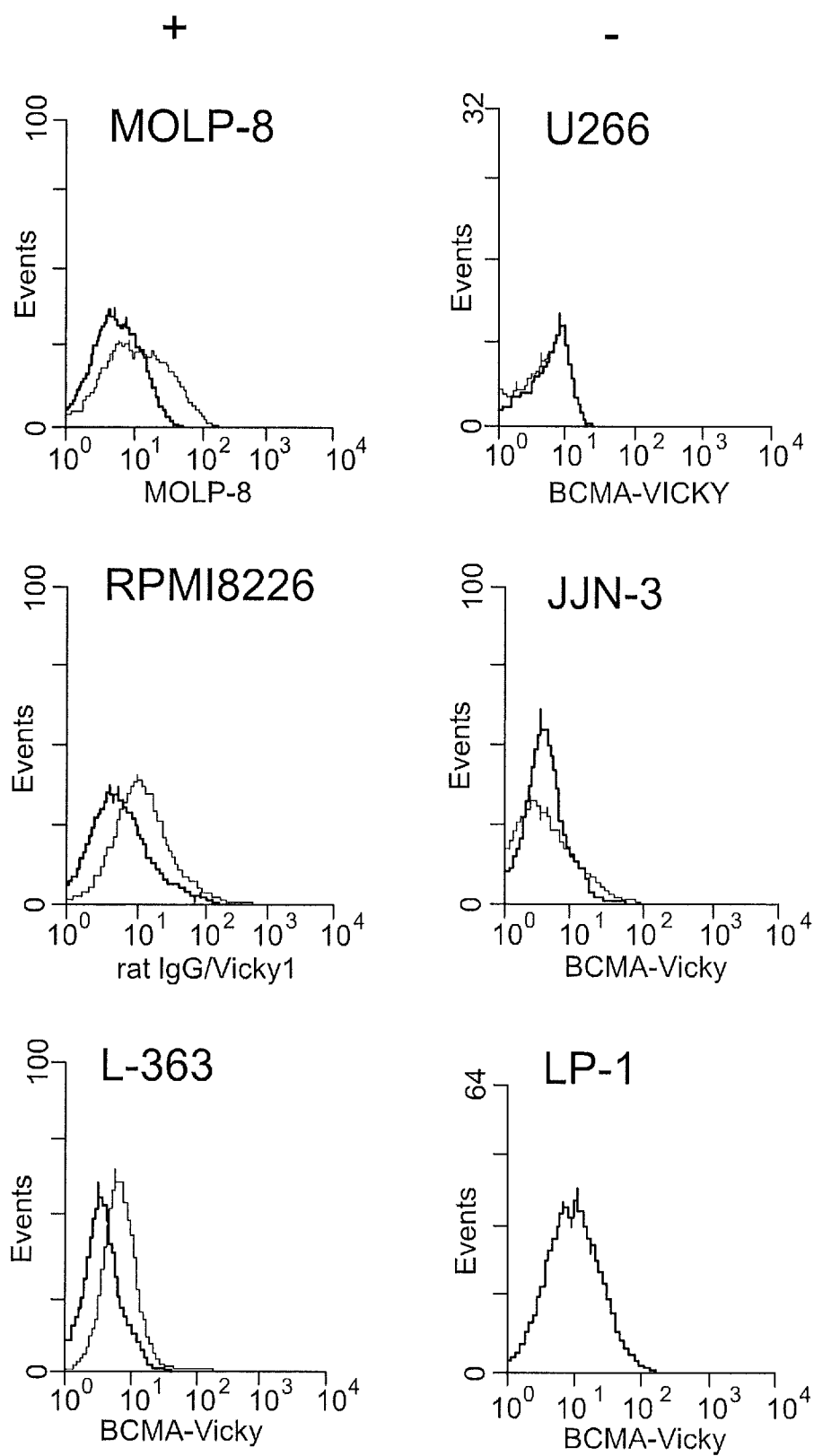
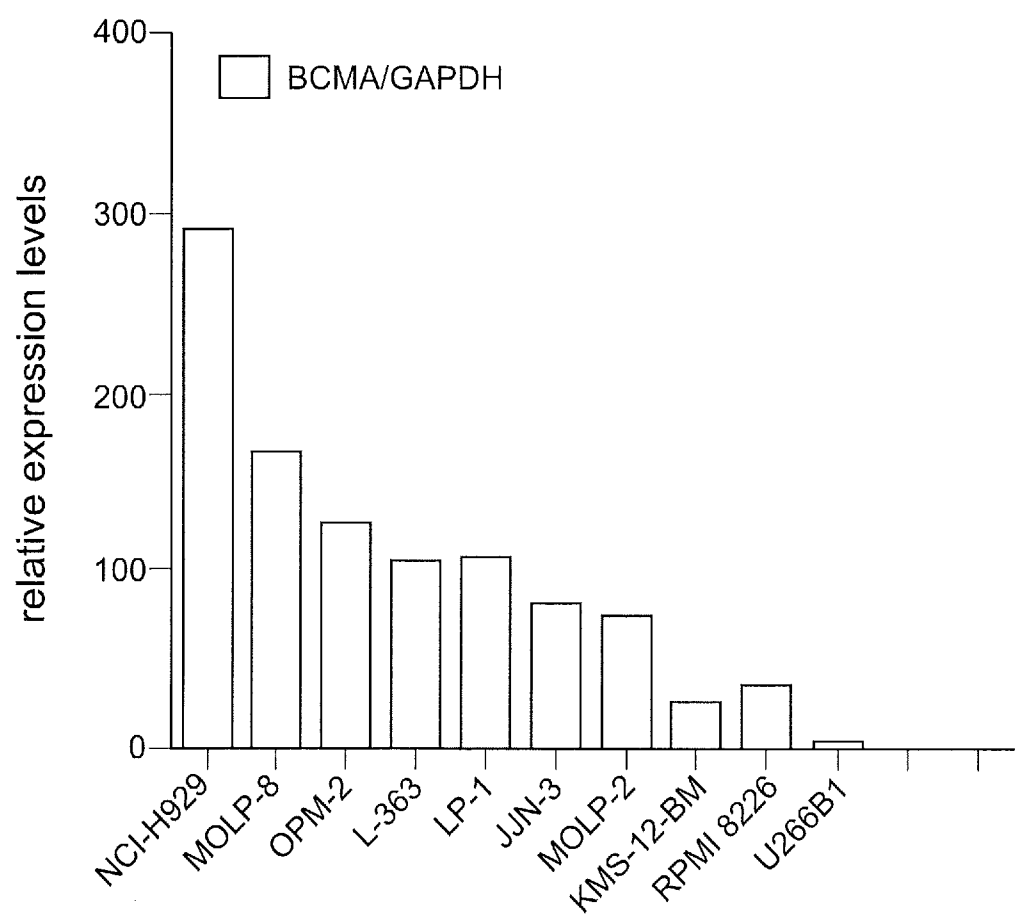


Fig. 2B



5 / 6

Fig. 3A

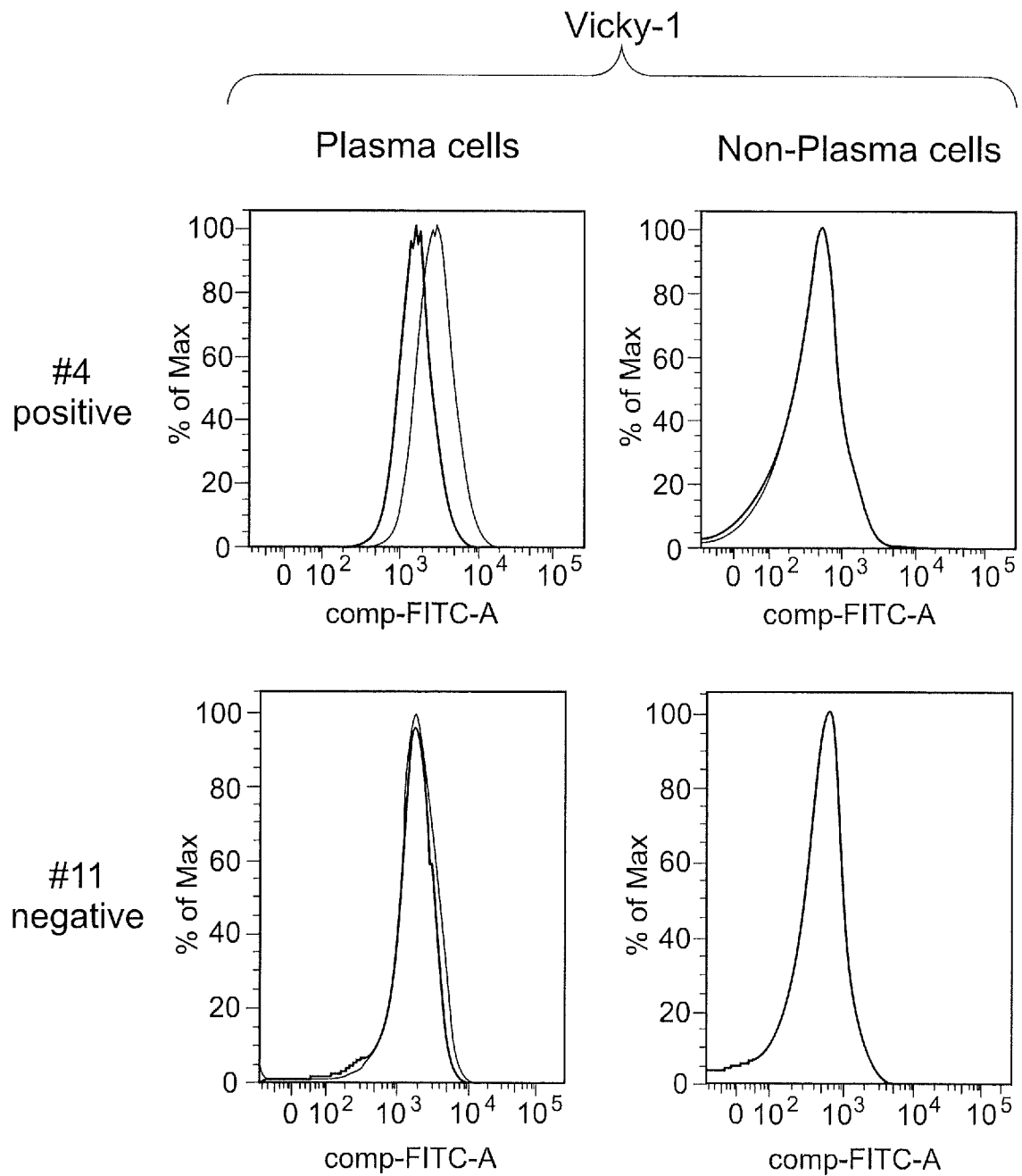


Fig. 3

Fig. 3A	Fig. 3B
---------	---------

6 / 6

Fig. 3B

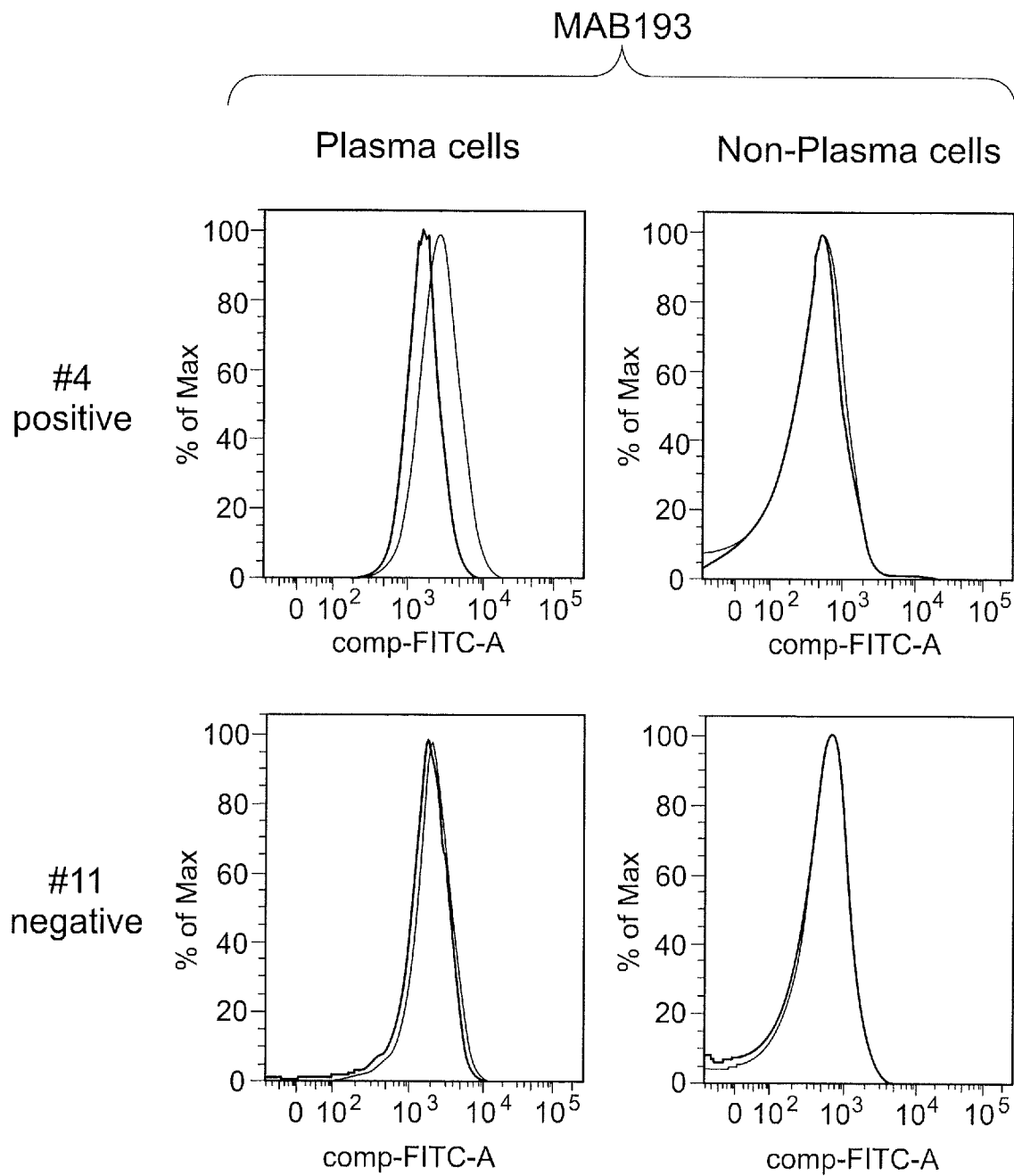


Fig. 3

Fig. 3A

Fig. 3B

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2012/057248

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K39/395 C07K16/28 G01N33/574
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K C07K G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	RYAN MAUREEN C ET AL: "Antibody targeting of B-cell maturation antigen on malignant plasma cells", MOLECULAR CANCER THERAPEUTICS, AMERICAN ASSOCIATION OF CANCER RESEARCH, US, vol. 6, no. 11, 1 November 2007 (2007-11-01), pages 3009-3018, XP002581270, ISSN: 1535-7163 abstract	9,10,12, 13
X	P MOREAU ET AL: "Rituximab in CD20 positive multiple myeloma", LEUKEMIA, 1 February 2007 (2007-02-01), XP055004458, ISSN: 0887-6924, DOI: 10.1038/sj.leu.2404558 the whole document ----- -/--	11



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

15 June 2012

Date of mailing of the international search report

25/06/2012

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Rosin, Oliver

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2012/057248

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	A. J. NOVAK: "Expression of BCMA, TACI, and BAFF-R in multiple myeloma: a mechanism for growth and survival", BLOOD, vol. 103, no. 2, 15 January 2004 (2004-01-15), pages 689-694, XP055004448, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/blood-2003-06-2043 figure 2 -----	2,9,10, 12,13
A	Dispenzieri ET AL: "Treatment of Newly Diagnosed Multiple Myeloma Based on Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART): Consensus Statement", Mayo Clin Proc 82(3), 1 March 2007 (2007-03-01), pages 323-341, XP055004528, Retrieved from the Internet: URL:http://mmfighters.home.comcast.net/~mmfighters/TREATMENTNEWLYDIAGNOSEDMULTIPLEMYELOMA.pdf [retrieved on 2011-08-10] the whole document -----	1

ESTRATIFICACIONES A BASE DE BCMA Y TERAPIA PARA PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE

SÍNTESIS

[0001] La presente invención se refiere a métodos para la estratificación de pacientes con mieloma múltiple (MM) que comprende determinar si las células B, con preferencia las células B malignas, de dicho paciente expresan o no proteína de BCMA sobre su superficie. Además, los métodos para seleccionar una terapia de mieloma múltiple (MM) a base de anticuerpos se basan en si BCMA se expresa o no sobre la superficie celular de células B, con preferencia, células B malignas de un paciente. Por otra parte, se proporcionan terapias a base de anticuerpos para pacientes que tienen células B malignas de BCMA positivo.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] El mieloma múltiple (MM), una malignidad incurable de las células B plasmáticas, se cuenta entre un 14 por ciento estimado de todas las malignidades hematológicas recientemente diagnosticadas (Colson et al., (2004) Clin J Oncol Nurs 8 (5): 473-480). MM es una enfermedad heterogénea y está causada mayormente por translocaciones cromosómicas *inter alia* t(11;14), t(4;14), t(8;14), del(13), del(17) (Drach et al., (1998) Blood 92(3):802-809; Gertz et al., (2005) Blood 106(8):2837-2840; Facon et al., (2001) Blood 97(6):1566-1571). Los pacientes afectados con MM- pueden experimentar una variedad de síntomas relacionados con la enfermedad debido a la destrucción de los huesos, infiltración de la médula ósea, insuficiencia renal, inmunodeficiencia y la carga psicosocial de una diagnosis de cáncer. En la actualidad se están poniendo a disposición de manera creciente nuevas terapias prometedoras tales como enfoques de quimioterapia y trasplante de células germinales, las que han mejorado los coeficientes de supervivencia pero frecuentemente están acompañadas de efectos secundarios indeseados por lo que el MM sigue siendo incurable (Lee et al., (2004) J. Natl. Compr. Canc. Netw. 8 (4): 379-383).

[0003] El MM es causado por el carácter maligno de algunas células B plasmáticas. A efectos de identificar finalmente dichas células B plasmáticas malignas, se ha descubierto que varias proteínas residen sobre las superficies de las células B del plasma (Harada et al., (1993) Blood 81(10): 2658-2663; Robillard N et al., Blood (2003) 102(3): 1070-1071). Por ejemplo, se ha descubierto que el CD38 se expresa

fuertemente sobre la superficie de las células de mieloma (células B malignas del plasma), es decir CD38⁺⁺ y por ello se diferencia de las células B del plasma de otras células hematopoyéticas en la médula ósea. Además, Harada et al. también han descubierto que las células B de plasma normales eran VLA-4⁺ VLA-5⁺ MPC-1⁺ CD44⁺ CD19⁺ CD56⁻ en las medulas óseas de 7 donantes sanos, por otra parte, células de mieloma maduras (12 de 20 casos) eran VLA-4⁺ VLA-5⁺ MPC-1⁺ CD19⁻ CD56⁺ y no había células de mieloma CD19⁺CD56⁻. Además, se informó que la expresión de CD20 está asociada con la morfología de las células B maduras pequeñas del plasma y con pacientes de MM con (11;14).

[0004] El BLiS (estimulador de los Linfocitos B), que también recibe la denominación de BAFF, TALL-1 o THANK, es un miembro de la superfamilia de los factores de necrosis de los tumores (TNF, tumor necrosis factor). Es una proteína de transmembrana del tipo II y desempeña un papel significativo en el mantenimiento del desarrollo y homeostasis de las células B normales y promueve la supervivencia de las células B malignas. Se han identificado tres receptores para el BLiS, es decir BCMA (B cell maturation antigen, antígeno de maduración de las células B), (BAFF-R) y TACI (activador de transmembrana y receptor de ciclofilina modulador del calcio). Estos tres receptores son receptores de membrana única de tipo I y forman parte de la familia de receptores de TNF. BCMA y BAFF-R se expresan de manera predominante en los linfocitos B, mientras que TACI pueden hallarse en las células B y activa las células B. Además, BCMA y TACI son capaces de ligarse a APRIL (proliferation-inducing ligand, ligando que induce la proliferación) que es el homólogo estructural más cercano de BLiS.

Novak et al han descubierto que tres receptores para BLiS (BAFF) están expresados sobre la superficie celular de las células B de pacientes de MM (Novak et al., (2004) Blood 103(2):689-694).

[0005] Uno de los receptores para BLiS, BCMA, es conocido por el hecho de expresarse de manera preferencial en las células B maduras (Gras et al., (1995) Int. Immunol. 7:1093-1106; Thompson et al., (2000) J. Exp. Med. 192:129-135). Además, se ha descubierto que la expresión de *BCMA* como ARNm de BCMA tiene una regulación ascendente durante las etapas tardías de la diferenciación de las células B normales y tiene una elevada expresión en las células de MM (Tarte et al., (2002) Blood 100:1113-1122; Tarte et al., (2003) Blood 102:592-600; Claudio et al., (2002) Blood 100:2175-2186). Por otra parte, Bellucci et al confirmaron que la expresión de *BCMA*, es decir el ARNm de BCMA mostraba una expresión selectiva en las etapas

tardías de la maduración de las células B (Belluci et al., (2005) Blood 105:3945-3950). Sin embargo, Li et al han descubierto que la expresión de *BCMA*, es decir de ARNm de *BCMA* no siempre era detectable en las células MM de los pacientes (Li et al., (2010) Med Oncol 27:439-445). A tal efecto, si bien se había informado que la expresión de *BCMA* se limita a solamente en las células del plasma y en las células B de los centros germinales, se observó una población *BCMA*⁺ en células N nativas y de memoria de sangre periférica (US2009/0325196). Los promedios de células *BCMA*⁺ B son de 24 por ciento en las células B nativas y de 20,8 por ciento en las células B de memoria, lo que es inferior a la de los plasmoblastos (37,9 por ciento). Sin embargo, parece que el *BCMA* se expresa principalmente en los plasmablastos.

[0006] Se ha informado que se halló una translocación de cromosomas t(4;16)(q26;p13.1) en células de tumor de un paciente con un linfoma de células T, resultando la fusión de gen de *BCMA* y de gen de interleuquina 2 y se halló una translocación de cromosomas t(16;18)(p13;q21.3) en un paciente varón con un linfoma folicular, resultando la fusión del gen de *BCMA* de HLA-D y varios genes relacionados con neoplasma hematopoyético tales como MHC2TA con gen de *BCL2* (Laabi et al., (1992) J EMBO 11(11):3897-3904; Mahmoodi et al., (2004) Can Genet Cytogenet 154(2):160-162). Si bien no se informó que estas translocaciones cromosómicas causan MM, una de las translocaciones está relacionada con linfoma folicular que por definición es un linfoma de las células B de centro folicular.

[0007] Por otra parte, Novak et al han descubierto que cepas de células de MM y células de MM recién aisladas expresan proteína de *BCMA* y proteína de *TACI* sobre la superficie de sus células y tienen una expresión variable de la proteína *BAFF-R* sobre la superficie de sus células (Novak et al., (2004) Blood 103(2):689-694).

[0008] También se ha informado que la proteína de *BCMA* se expresa sobre la superficie celular de células/cepas de células de MM si bien se informó originalmente que la proteína es una proteína de membrana integral en el aparato de Golgi de los linfocitos B humanos maduros, es decir como una proteína intracelular (Gras et al., (1995) International Immunol 7(7):1093-1105), demuestra que el *BCMA* parece tener un papel importante durante el desarrollo y homeostasis de las células B. El descubrimiento de Gras et al. podría estar asociado con el hecho que debido a una translocación cromosómica, la proteína de *BCMA* que se halla descrito en Gras et. al. es una proteína de fusión entre *BCMA* e IL-2. Sin embargo, entretanto se ha establecido que el *BCMA* es un marcador de las células B que es esencial para el desarrollo y homeostasis de las células B (Schliemann et al., (2001) Science 293

(5537):2111-2114) debido a su interacción, presumiblemente esencial, con BAFF y APRIL.

[0009] Hasta ahora, las dos opciones de tratamiento más prometedoras para pacientes con mieloma múltiple son la quimioterapia tándem de elevada dosis seguido por infusión de células germinales autólogas o trasplantes de células germinales alogénas hematopoyéticas después de terapia mielo-ablativa o acondicionamiento de intensidad reducida. Sin embargo, raramente se logra una curación, debido a la persistencia de enfermedad residual mínima. Por lo tanto, existe una necesidad urgente de modalidades de tratamiento innovadoras para estabilizar o aún erradicar las células tumorales residuales

Con el descubrimiento y caracterización molecular de antígenos objetivos cáncer, es posible que se pongan a disposición enfoques más centrados para dirigir el inmunosistema de los pacientes para que reconozcan y eliminen células cancerosas residuales después de las terapias ablativas convencionales. Por lo tanto, las terapias basadas en anticuerpos son una opción atractiva para el tratamiento del MM. Ya que las células de MM han sido células B antes de su “conversión”, se utilizan proteínas de superficie de células B específicas conocidas como objetivos para anticuerpos tales como CD20. Si bien también células B normales serán apuntadas por un anticuerpo anti-CD20, se aplica una terapia con anticuerpos anti-CD20 a los pacientes, ya que se observó que las células B normales se recuperarán, y al mismo se supone (y se ha observado) que las células B malignas no se recuperarán. Por lo tanto, las personas expertas en el arte parten de la suposición que una vez que las células B malignas expresan el objetivo de interés a niveles de ARNm tales como BCMA, PIM2, MUM1/IRF4 o XBP1 (Claudio et al. (2002), Blood 100:2175-2186), dichas células pueden ser sometidas a una terapia basada en anticuerpo.

[0010] Sin embargo, hasta no se ha informado acerca de si existe o no una correlación entre el ARNm de BCMA y la proteína de BCMA en pacientes de MM como también en cepas de células de MM para evaluar una posible terapia para el MM mediante el uso, en particular, de un anticuerpo anti-BCMA. En cambio, de acuerdo con el concepto comúnmente aceptado que el ARN fabrica proteína, se supuso correctamente que una vez que el ARNm de BCMA es detectable en las células de MM; hay proteína de BCMA presente sobre la superficie celular de dichas células para que actúe como un receptor. Esto estaría de acuerdo con diversos informes que asignan al BCMA un importante rol en el desarrollo de la inmunidad de las células B y en la homeostasis de las células B (Mackay and Browning (2002) Nat Rev Immunol.

(2):465-475) como también en la proliferación de las células MM (Novak et al., anteriormente mencionado; Bellucci et al., (2005) Blood 105:3945-3950).

[0011] Varios estudios recientes también ha documentado la expresión de BCMA en células de plasma tanto malignas como normales y demostrado que resulta una señalización de BAFF por intermedio de BCMA resultando la proliferación de células de mieloma (Shu et al., (2000) Proc Natl Acad Sci USA 97:9156-9161; O'Connor et al., (2004) J Exp Med. 199:91-98; Novak et al., arriba mencionados; Avery et al., (2003) J Clin Invest. 112:286-297). Tomados en su conjunto, estos estudios sugieren que el BCMA se expresó comúnmente en el mieloma y que la señalización por intermedio de BCMA también podría contribuir a la expansión de las células de mieloma in vivo (Bellucci et al., anteriormente mencionado).

[0012] Por lo tanto, en base al concepto habitualmente aceptado que el ADN fabrica ARN que fabrica proteína, y dado el hecho que al BCMA se le asigna un rol importante en la proliferación de MM, lo que implica su presencia sobre la superficie celular de las células B de MM, se habría iniciado automáticamente el tratamiento (Rian et al., (2007) Mol Cancer Ther 6: 3009-3018).

Por lo tanto, hasta la actualidad nadie ha planteado la cuestión acerca de si hay o no BCMA presente sobre la superficie celular, acerca de si su ARNm puede detectarse, y decir por lo tanto se ha iniciado un terapia basada en anticuerpos, si bien no sería necesariamente beneficioso para los pacientes que sufren de mieloma múltiple, si no hay BCMA presente sobre la superficie celular.

[0013] Los inventores de la presente, a pesar del conocimiento de que el BCMA parece desempeñar un rol importante tanto en el desarrollo de las células B normales como también en la proliferación de las células B malignas (en el mieloma múltiple), se han planteado la cuestión acerca de si y a pesar del papel importante del BCMA, y por lo tanto en el MM, el dogma ADN produce ARN que produce proteína, la que seguidamente se halla presumiblemente presente sobre la superficie celular, mantendría su validez si el dogma se basara solamente en los datos suministrados por el ARNm de BCMA. Dicho con otras palabras, en la técnica no se reconocía la posibilidad de que el BCMA, a pesar del ARNm detectable podría estar no presente sobre la superficie celular de las células de MM, y por lo tanto no estaría disponible para una terapia basada en anticuerpos (Rian et al., anteriormente mencionado). Por lo tanto, nadie en el estado de la técnica ha pensado en presentar una terapia basada en anticuerpos anti-BCMA para tratar o para obtener una mejoría en el MM, ya que se pensaba que el concepto ADN produce ARN que produce proteína que se halla

presente sobre la superficie de las células de MM, teniendo presente el papel importante del BCMA en el desarrollo y proliferación de las células B malignas. Por lo tanto, existe la necesidad de presentar una terapia basada en anticuerpos anti-BCMA.

[0014] Por ello, el objetivo técnico base de la presente invención es el de satisfacer las necesidades descritas en lo que precede.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[0015] Figura 1: Ligación de anticuerpos anti-BCMA a células OPM-2 mediante FACS en células OPM-2

[0016] Figura 2: Niveles de expresión de proteína de BCMA (A) y ARNm de BCMA (B) de 10 cepas de células de MM diferentes.

[0017] Figura 3: Análisis de expresión de células de MM primaria - resultados ejemplares de muestras de pacientes de que expresan BCMA positivo y negativo.

SÍNTESIS DE LA INVENCION

[0018] La presente invención está orientada a dichas necesidades por el hecho de proveer una terapia en la que se utilizan anticuerpos anti-BCMA, con preferencia en combinación con otros anticuerpos o compuestos utilizados para el tratamiento o mejoría del MM; dicha terapia se basa en el reconocimiento de los inventores de la presente de que si el ARNm de BCMA es detectable, la proteína de BCMA, para así decirlo, se halla automáticamente presente sobre la superficie de las células de MM no se corrige de manera automática para todos y cada uno de los pacientes. De hecho, los inventores de la presente han descubierto que es de suma importancia clasificar o seleccionar los pacientes de MM para establecer la presencia o ausencia, respectivamente, de la expresión de BCMA al nivel de la proteína, es decir, en cuanto a la presencia o ausencia, respectivamente, sobre la superficie celular de las células de MM.

[0019] Por lo tanto, la presente invención provee un método para la estratificación de un paciente de mieloma múltiple (MM) predispuesto a responder de manera favorable a una terapia con anticuerpos anti-BCMA, que comprende determinar si las células B de dicho paciente, con preferencia, las células B malignas (células de MM o células B de MM) expresan la proteína de BCMA sobre la superficie de dichas células B, en donde dicho paciente está predispuesto a responder de manera favorable a dicha terapia con anticuerpos anti-BCMA, si dichas células B expresan la proteína BCMA sobre su superficie.

[0020] Por otra parte, la presente invención provee un método para diagnosticar un paciente de mieloma múltiple (MM) BCMA negativo, que comprende determinar si las células B, con preferencia, las células B malignas, de dicho paciente expresan la proteína de BCMA sobre su superficie, en donde dicho paciente sufre de MM BCMA negativo, si no hay proteína de BCMA detectable sobre la superficie de dichas células B.

[0021] Además, la presente invención provee un método para seleccionar una terapia para mieloma múltiples (MM) basada en anticuerpos, que comprende determinar si las células B de un paciente, con preferencia, las células B malignas, expresan proteína de BCMA sobre la superficie de dichas células B, en donde, si dichas células B son BCMA positivas, el paciente puede ser sometido a una terapia de anticuerpo anti-CD20 y/o a una terapia de anticuerpo anti-CD38 y/o a una terapia de anticuerpo anti-BCMA y/o a una terapia de anticuerpo anti-CS1 o, si dichas células B son BCMA-negativas, se somete el paciente a una terapia de anticuerpo anti-CD20 y/o a una terapia de anticuerpo anti-CD38 y/o a una terapia de anticuerpo anti-CS1.

[0022] Otros aspectos de la presente invención se refieren a:

una terapia con anticuerpo anti-BCMA para su uso en el tratamiento o mejoría de un paciente de mieloma múltiple (MM) cuyas células B están predispuestas a ser BCMA positivas,

un anticuerpo anti-BCMA para su uso en el tratamiento o mejoría de un paciente con mieloma múltiple (MM) diagnosticado de acuerdo con uno o más métodos de la presente invención; y

un terapia con un anticuerpo anti-CD20 y/o un anticuerpo anti-CD38 y/o un anticuerpo anti-CS1 para su uso en el tratamiento o mejoría de un paciente con mieloma múltiple (MM) cuyas células B son BCMA negativas.

[0023] Cabe observar que en la presente y tal como se las utiliza en la presente las formas en singular “un”, “una”, “el”, “la” incluyen las referencias en plural a menos que el contexto indique claramente otra cosa. Así, por ejemplo, la referencia a un “casete de expresión” incluye uno o más de los casetes de expresión revelados en la presente, y una referencia “al método” incluye referencias a cualesquiera etapas y métodos equivalentes conocidos de los expertos que podrían ser modificados o reemplazados por los métodos descritos en la presente.

[0024] Todas las publicaciones y patentes mencionadas en esta revelación se incorporan en su totalidad en el presente a título de referencia. En la medida en que el material incorporado a título de referencia se contradiga o no sea compatible con esta memoria descriptiva, la memoria descriptiva tendrá prioridad sobre cualquier otro material de este tipo. A menos que se indique otra cosa, la expresión “por lo menos” con anterioridad a una serie de elementos debe entenderse que se refiere a todo elemento incluido en la serie. Los expertos reconocerán o serán capaces de determinar mediante la utilización de un simple experimentación rutinaria, muchos equivalentes a las formas de realización específicas de la invención descrita en la presente. La finalidad es que dichos equivalentes sean abarcados por la presente invención.

[0025] A lo largo de esta memoria descriptiva y de las reivindicaciones que siguen, y a menos que el contexto requiere otra cosa, las expresiones “comprende(n)” y variaciones tales como “que comprende(n)”, deberán entenderse que implican la inclusión de una número entero o etapa mencionados o de un grupo de números enteros o etapas pero no la exclusión de ningún otro número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas. Cuando se utiliza en la presente, la expresión “comprende” puede ser reemplazada por la expresión “que comprende” o a veces en la presente se utiliza la expresión “que tiene”.

Cuando se la utiliza la presente, la expresión “consistente” excluye cualquier otro elemento, etapa o ingrediente no especificados en el elemento reivindicado. Cuando se la utiliza en la presente, “que consiste esencialmente” no incluye materiales o etapas que no afecten materialmente las características básicas y novedosas de la reivindicación. En cada caso en la presente cualquiera de las expresiones “que comprende”, “consistente esencialmente en” y “que consiste” puede ser intercambiada con cualquiera de las otras dos expresiones.

[0026] Tal como se la utiliza en el presente, se entiende que la expresión conjuntiva “y/o” entre múltiples elementos mencionados abarca tanto opciones individuales como combinadas. Por ejemplo, cuando dos elementos están unidos mediante “y/o”, una primera opción se refiere a la aplicabilidad del primer elemento sin el segundo. Una segunda opción se refiere a la aplicabilidad del segundo elemento sin el primero. Una tercera opción se refiere la aplicabilidad de los elementos primero y segundo conjuntamente. Se entiende que cualquiera de estas opciones recae dentro del significado y por lo tanto satisface los requerimientos de la expresión “y/o” tal como se utiliza en la presente. Debe entenderse que la aplicabilidad conjunta de más de una de

las opciones recae dentro los significados y que por lo tanto satisface los requerimientos de la expresión “y/o” tal como se la utiliza en la presente.

[0027] A lo largo del texto de esta memoria descriptiva se mencionan diversos documentos. Cada uno de los documentos mencionados en el presente (lo que incluye la totalidad de las patentes, solicitudes de patente, publicaciones científicas, especificaciones de fabricantes, instrucciones, etc.), tanto supra como infra, se incorporan en la presente a título de referencia en su totalidad. Ninguna parte de la misma ha de interpretarse como una admisión de que la invención no tiene derecho a antedatar dicha revelación en virtud de invención anterior.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0028] Un objetivo de la presente invención es el de proveer un método para la estratificación de pacientes de MM en base a la expresión de BCMA sobre la superficie de las células B del paciente, con preferencia, las células B malignas, y una nueva terapia para pacientes de MM mediante un anticuerpo anti-BCMA, con preferencia, combinado con otros anticuerpos tal como anticuerpos anti-CD38, anti-CD20 y/o anti-CS1 en base a la correlación de la expresión del gen de *BCMA*, es decir de ARNm de BCMA y de la proteína de BCMA sobre la superficie de las células B, con preferencia, de las células B malignas de pacientes de MM.

Dado el hecho de que el BCMA no se expresa, o esencialmente no se expresa, en todas y cada una de las células B saludables de un paciente, pero si en las células B malignas de un paciente, si a dicho paciente se le diagnostica mediante los métodos de la presente invención como BCMA positivo, una terapia con anticuerpos anti-BCMA puede ser superior en comparación con, por ejemplo, una terapia con anticuerpos anti-CD20, ya que se cree que el CD20 se expresa en todas y cada una de las células B. Por lo tanto, se eliminarían todas las células B, en donde, sin limitarnos a ninguna teoría, una terapia con anticuerpos anti-BCMA no eliminaría necesariamente todas las células B saludables de un paciente, ya que el BCMA no se expresa, o no se expresa esencialmente, en todas y cada una de las células B durante el desarrollo y/o homeostasis.

[0029] Por lo tanto, en un primer aspecto de la presente invención se provee un método para la estratificación del paciente de mieloma múltiple (MM) predispuesto a responder favorablemente a una terapia con anticuerpos anti-BCMA, que comprende

determinar si las células B, con preferencia, las células B malignas de dicho paciente expresan proteína de BCMA sobre la superficie de dichas células B, en donde dicho paciente está predispuesto a reaccionar favorablemente a dicha terapia con anticuerpos anti-BCMA, si dichas células B expresan proteína de BCMA sobre su superficie.

[0030] Además o como alternativa al aspecto anteriormente mencionado, la presente invención provee un método para diagnosticar un paciente con mieloma maligno (MM) BCMA negativo, que comprende determinar si las células B, con preferencia, las células B malignas de dicho paciente expresan proteína de BCMA sobre su superficie, en donde dicho paciente sufre de MM BCMA negativo, si no se detecta proteína de BCMA sobre la superficie de dichas células B.

[0031] La expresión “estratificación” tal como se la utiliza en la presente incluye la división estadística de pacientes de MM en una subpoblación de pacientes de MM con BCMA sobre la base de la expresión de transcritos de genes de BCMA, es decir ARNm como también la detección de dicho producto gen traducido, es decir de proteína de BCMA localizado sobre la superficie celular, por ejemplo, por un anticuerpo anti-BCMA a efectos de considerar si una terapia con un anticuerpo anti-BCMA en pacientes de MM podría ser beneficioso. Se prefiere la detección de BCMA sobre la superficie celular de las células B, con preferencia, de las células B malignas. Sin embargo, la expresión de BCMA al nivel de ARNm puede ser adicionalmente ensayada/determinada. Además, dicho término se refiere a clasificar pacientes que pueden o no beneficiarse de una terapia basada en anticuerpo anti-BCMA para tratar o lograr una mejoría en el mieloma múltiple. En particular, la estratificación de pacientes implica determinar si el BCMA se expresa o no sobre la superficie de las células B, con preferencia, las células B malignas de pacientes que sufren de MM. Aquellos pacientes cuyas células B expresan BCMA sobre la superficie celular de las células B podrían beneficiarse mediante dicha terapia, mientras que aquellos pacientes cuyas células B no expresan BCMA sobre la superficie celular podrían no beneficiarse de dicha terapia con anticuerpos anti-BCMA. Sin embargo, dichos pacientes BCMA negativos podrían entonces beneficiarse mediante una terapia de por ejemplo, anticuerpos anti-CD20, anti-CD38 y/o anti-CS1 o mediante otra terapia aplicada para el tratamiento o mejoría del MM como se describe en la presente.

[0032] La expresión “células B” utilizada en la presente se refiere a linfocitos que desempeñan un rol importante en la inmunorrespuesta humoral (a diferencia con la inmunorrespuesta mediada por las células, que es gobernada por las células T). Las

principales funciones de las células B consisten en producir anticuerpos contra antígenos, de células que presentan antígenos (APCs) y finalmente se desarrollan en forma de células de memoria B después de activación por interacción entre antígenos. En dicha etapa (producción de anticuerpos) las células B incluyen “células de plasma”, que en la presente reciben también la denominación de “células B de plasma”. Estas células de plasma o células B de plasma también están abarcadas por la expresión “células B” cuando se la utiliza en la presente. Sin embargo, también las células B precursoras como también las células B en todas las etapas de su desarrollado y/o de formación de cepas están incluidas en la expresión “células B”. Las células B son un componente esencial del inmunosistema adaptativo. La expresión “células B” también incluye células B normales (es decir, saludables), con preferencia, incluye células B malignas, en particular células B malignas asociadas con MM (es decir, células B MM).

[0033] Por lo tanto, en este contexto de pacientes de MM el término “células B” incluye células B tanto normales como malignas (es decir, células B MM). El término “maligno” describe linfocitos (en particular células B) que contribuyen a un empeoramiento progresivo de la enfermedad, en particular MM como se describe en la presente. La expresión es usual como una descripción de cáncer, en este caso MM. Las células B BCMA positivas malignas no están autolimitadas en su desarrollo; son capaces de invadir los tejidos adyacentes y pueden ser capaces de propagarse a tejidos distantes (metástasis). En la presente, “maligno” es sinónimo de “canceroso”. Estas células B malignas son de gran interés en el contexto de la presente invención, ya que deberían ser apuntadas por los anticuerpos, en particular por anticuerpos anti-BCM, por lo cual se analizan estas células B en cuanto a la expresión de BCMA sobre su superficie celular como se describe en la presente. Los pacientes de MM que son sujetos a métodos y/o terapias basados en anticuerpos de la presente invención tienen con preferencia, células B malignas; dichas células B malignas son preferentemente células de mieloma múltiple. Por supuesto, dichos pacientes también tienen (o todavía tienen) células B normales. Las células B malignas pueden ser determinadas, detectadas y/o aisladas preferentemente mediante los medios y métodos descritos en la presente en lo que sigue. En pocas palabras, las células B malignas de un paciente pueden ser determinadas, detectadas y/o aisladas mediante uno o más de los marcadores de superficie de células B específicas (es decir, características) descritos en la presente, en particular como se indica en las reivindicaciones (CD38 positivo, CD56 positivo o negativo, CD 45 positivo y/o CD19 positivo).

[0034] La expresión “mieloma múltiple (MM)”, también conocida como “mieloma de las

células de plasma” o como “enfermedad de Kahler” (por Otto Kahler), es una neoplasia de células B clonales no curable caracterizada por la acumulación de células B de plasma malignas en la médula ósea, en estrecho contacto con las células estromales. El MM es una enfermedad progresiva causada *inter alia*, por ejemplo, por múltiples insultos o anomalías genéticos, es decir traslocaciones cromosómicas principalmente causadas por translocaciones tales como t(11;14), t(4;14), t(8;14) o supresiones tales como del(13) y del(17) en la célula B de plasma precursor que hace que las células tumorales proliferen drásticamente y se transformen en una resistencia a la apoptosis.

[0035] Los linfocitos B empiezan en la médula ósea y se mueven hacia los nodos linfáticos. A medida que avanzan, maduran y presentan diferentes proteínas en su superficie celular. Cuando se activan de manera de secretar anticuerpos, se los conoce como células plasmáticas. El mieloma múltiple se desarrolla en los linfocitos B después de que han dejado la parte del nodo linfático conocida como el centro germinal.

[0036] El sistema inmunológico mantiene la proliferación de células B y la secreción de anticuerpos bajo un estricto control. Cuando los cromosomas y los genes están dañados, a menudo a través de reordenación, se pierde este control. Frecuentemente un gen promotor se mueve (o se transloca) a un cromosoma donde estimula un gen de anticuerpo a la sobreproducción.

[0037] Como se mencionó en lo que precede, frecuentemente se observa una translocación cromosómica entre el gen de cadena pesada de la inmunoglobulina (en el cromosoma número catorce, locus 14q32) y un oncogén (frecuentemente 11q13, 4p16.3, 6p21, 16q23 y 20q11[10]) en pacientes con mieloma múltiple. Esta mutación resulta en la desregulación del oncogén del que se considera es un importante evento de iniciación de la patogénesis del mieloma. El resultado es una proliferación de un clon de células de plasma y una inestabilidad genómica que conduce a mayores mutaciones y translocaciones. La anormalidad del cromosoma 14 se observa en aproximadamente el 50 por ciento de todos los casos de mieloma. La supresión de (partes de) del cromosoma número trece también se observa en aproximadamente el 50 por ciento de los casos.

[0038] Por lo tanto, los pacientes de MM que son sometidos a los métodos y/o terapias a base de anticuerpos de la presente invención tienen con preferencia, cualquiera de la o de las translocaciones cromosómicas y/o supresiones mencionadas en la presente.

La producción de citoquinas (especialmente IL-6) por las células del plasma es causa

de gran parte de su daño localizado, tales como osteoporosis y crea un microentorno en el que prosperan las células malignas. Aumenta la angiogénesis (la atracción de nuevos vasos sanguíneos).

Los anticuerpos producidos se depositan en diversos órganos, lo que ocasiona insuficiencia renal, polineuropatías y diversos otros síntomas asociados con mieloma.

En el contexto de la presente invención, el MM es preferentemente estudiado en un sistema de etapas de acuerdo con the International Staging System (Greipp et al. (2005), J. Clin. Oncol. 23 (15):3412–3420 y/o de acuerdo con el sistema Durie-Salmon Staging System (Durie et al. (1975), Cancer 36 (3): 842–854.

[0039] Sistema de Etapas Internacional

- Etapa I: β_2 -microglobulina (β_2M) < 3,5 mg/L, albúmina $\geq$ 3,5 g/dL
- Etapa II: β_2M < 3,5 mg/L y albúmina < 3,5 g/dL; o β_2M 3,5 mg/L – 5,5 mg/L independientemente de la albúmina de suero
- Etapa III: $\beta_2M \geq$ 5,5 mg/L

[0040] Sistema de etapas de Durie-Salmon

- etapa I: todos los siguientes
 - Hb > 10 g/dL
 - Calcio normal
 - Inspección de esqueleto: normal o plasmacitoma simple u osteoporosis
 - Nivel de paraproteína en el suero < 5 g/dL si IgG, < 3 g/dL si IgA
 - Excreción de cadena liviana urinaria < 4 g/24 h
- etapa II: satisface el criterio de ni I ni III
- etapa III: uno o más de los siguientes
 - Hb < 8,5 g/dL
 - Calcio elevado > 12 mg/dL
 - Inspección de esqueleto: tres o más lesiones óseas líticas
 - Paraproteína en el suero > 7 g/dL si IgG, > 5 g/dL si IgA
 - Excreción de cadena liviana urinaria > 12g/24 h

Las etapas I, II y III del sistema de etapas de Durie-Salmon pueden dividirse en A o B en función de la creatinina en el suero:

- A: creatinina en el suero < 2 mg/dL (< 177 μ mol/L)
- B: creatinina en el suero > 2 mg/dL (> 177 μ mol/L)

[0041] Por lo tanto, los pacientes de MM que son sometidos a los métodos y/o terapias a base de anticuerpos de la presente invención se clasifican preferentemente en etapas de acuerdo con el Sistema de Etapas Internacional (International Staging

System) y/o de acuerdo con el Sistema de Etapas de Durie-Salmon (Durie-Salmon Staging System).

[0042] Además, los pacientes de MM que son sometidos a los métodos y/o terapias a base de anticuerpos de la presente invención pueden estar en la etapa I, II o III de MM de acuerdo con el Sistema de Etapas Internacional y/o de acuerdo con el Sistema de Etapas de Durie-Salmon.

[0043] Los pacientes de MM pueden experimentar una variedad de síntomas relacionados con la enfermedad debido a la destrucción de los huesos, infiltración en la medula ósea, insuficiencia renal, inmunodeficiencia y la carga sicosocial de un diagnóstico de cáncer. Nuevas terapias prometedoras y enfoques de tratamiento se están haciendo disponibles pero frecuentemente presentan efectos secundarios indeseables.

La mayoría de los casos de mieloma también presentan el aspecto de la producción de una paraproteína, que es un anticuerpo anormal que puede ser causa de problemas renales y que interfiere con la producción de anticuerpos normales, lo que conduce a inmunodeficiencia. Frecuentemente se observa hipercalcemia (elevados niveles de calcio). El mieloma se diagnostica con análisis de sangre (tales como electroforesis de proteínas, frotis de sangre periférica), examen microscópico de la medula ósea (biopsia de médula ósea), y rayos X de los huesos comúnmente afectados.

[0044] Dado que muchos órganos pueden ser afectados por el mieloma, los síntomas y signos varían considerablemente. Una regla mnemotécnica utilizada a veces para recordar la tétrada común del mieloma múltiple es CRAB: C = Calcio (elevado), R = insuficiencia renal; A = anemia, B = lesiones en los huesos (Bone lesions). El mieloma tiene muchos síntomas posibles, y todos los síntomas pueden ser debidos a otras causas. En este caso se los presenta en orden decreciente de incidencia: dolor de huesos, infección, insuficiencia renal, anemia, síntomas neurológicos.

[0045] La expresión "BCMA", cuando se la utiliza en la presente, abarca el BCMA de secuencia nativa y las variantes de BCMA (que se describen más adelante en la presente). El BCMA puede ser aislado a partir de una variedad de fuentes, tales como tipos de tejidos murinos o humanos o a partir de otra fuente, o ser preparado mediante métodos recombinantes o sintéticos. "BCMA" es la abreviatura de B cell maturation antigen (antígeno de maduración de las células B). El BCMA ha sido aislado como un receptor para el BLiS (B Lymphocyte stimulator, estimulador de los linfocitos B; marca comercial registrado de Human Genome Science Rockville, MD), también recibe la

denominación de BAFF, THANK, TALL-1, TNFSF13, zTNF4.

[0046] El BCMA es un receptor de transmembrana simple de tipo I y forma parte de la familia de los receptores de TNF y se expresa predominantemente sobre los linfocitos B. El BCMA utilizado en la presente también abarca BCMA de secuencia nativa y variantes de BCMA (que se definen más adelante la presente), y puede ser aislado a partir de una variedad de fuentes, tales como de tipos de tejidos murinos o humanos o a partir de otra fuente preparada mediante un método recombinante o sintético.

[0047] Un “BCMA de secuencia nativa” comprende un polipéptido que tiene la misma secuencia de aminoácidos que el BCMA derivado de la naturaleza. Dicha BCMA de secuencia nativa puede ser aislado de la naturaleza o puede ser producido mediante métodos recombinantes o sintéticos. Las formas de BCMA truncadas o secretadas de presentación natural (por ejemplo, formas solubles que contienen por ejemplo una secuencia de dominio extracelular), formas de presentación natural (por ejemplo, formas alternativamente escindidas) y variantes alélicas de presentación natural del BCMA. En una forma de realización de la invención, el BCMA de secuencia nativa es un polipéptido de BCMA nativo maduro o de longitud completa que comprende los aminoácidos 1 a 184 de la SEQ ID NO:1 o uno de sus fragmentos. Es preferible que dichos fragmentos sean biológicamente activos.

```
Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser
1           5           10           15
Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr
          20           25           30
Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser
          35           40           45

Val Lys Gly Thr Asn Ala Ile Leu Trp Thr Cys Leu Gly Leu Ser Leu
          50           55           60
Ile Ile Ser Leu Ala Val Phe Val Leu Met Phe Leu Leu Arg Lys Ile
65           70           75           80
Ser Ser Glu Pro Leu Lys Asp Glu Phe Lys Asn Thr Gly Ser Gly Leu
          85           90           95

Leu Gly Met Ala Asn Ile Asp Leu Glu Lys Ser Arg Thr Gly Asp Glu
          100          105          110
Ile Ile Leu Pro Arg Gly Leu Glu Tyr Thr Val Glu Glu Cys Thr Cys
          115          120          125
Glu Asp Cys Ile Lys Ser Lys Pro Lys Val Asp Ser Asp His Cys Phe
```

```

      130              135              140
Pro Leu Pro Ala Met Glu Glu Gly Ala Thr Ile Leu Val Thr Thr Lys
145              150              155              160
Thr Asn Asp Tyr Cys Lys Ser Leu Pro Ala Ala Leu Ser Ala Thr Glu
      165              170              175
Ile Glu Lys Ser Ile Ser Ala Arg (SEQ ID NO:1)
      180

```

[0048] La expresión “biológicamente activo”, tal como se utiliza en la presente, significa tener una actividad in vivo o in vitro que puede ser implementada de manera directa o indirecta. Los fragmentos biológicamente activos de BCMA pueden tener, por ejemplo, una homología de aminoácidos del 70 por ciento con el sitio activo del receptor, con mayor preferencia una homología de por lo menos 80 por ciento, y con mayor preferencia aún de por lo menos el 90 por ciento. En la presente, la identidad u homología con respecto al receptor se define como el porcentaje de residuos de aminoácidos en la secuencia candidato que son idénticas con los residuos de BCMA en SEQ ID NO:1 o que son idénticas a una porción definida de los residuos de aminoácidos en la SEQ ID NO:1. La actividad biológica puede ser ensayada por medio de interacción con APRIL y/o BAFF.

[0049] Las expresiones “dominio extracelular de BCMA” o “BCMA ECD” se refieren a una forma de BCMA que se halla esencialmente libre de dominio de transmembrana y citoplásmicos de BCMA. Habitualmente, el dominio extracelular de BCMA tendrá menos del 1 por ciento de dichos dominios de transmembrana y citoplásmicos y preferentemente tendrá menos de 0,5 por ciento de tales dominios. Opcionalmente, el BCMA ECD comprenderá los residuos de aminoácidos 8 a 41 de SEQ ID NO:1 o los residuos de aminoácidos 4 a 51 de SEQ ID NO: 1 o los residuos de aminoácidos 1 a 53 de SEQ ID NO:1. En una forma de realización preferida de la presente invención, el BCMA ECD comprende los residuos de aminoácidos 1 a 51 de SEQ ID NO:1. Las personas expertas en el arte comprenderán que el dominio de transmembrana identificado para el polipéptido BCMA de la presente invención se identifica de acuerdo con los criterios rutinariamente utilizados en la técnica para identificar dicho tipo de dominio hidrófobo. Los límites exactos de un dominio de transmembrana puede variar pero lo más probable es que en no más de aproximadamente 5 aminoácidos en cualquiera de los extremos del dominio específicamente mencionado en la presente. Por lo tanto, el BCMA ECD puede opcionalmente comprender los aminoácidos 8-41 (SEQ ID NO: 1).

[0050] La expresión “variante de BCMA” se refiere a un BCMA activo como se define

en lo que sigue que tiene una identidad de por lo menos el 80 por ciento de secuencias de aminoácidos con el BCMA que tiene la secuencia de aminoácidos deducida mostrada en la SEQ ID NO:1 para un BCMA de secuencia nativa de longitud completa o con una secuencia de BCMA. Dichas variantes de BCMA incluyen por ejemplo, polipéptidos de BCMA en donde se añaden o suprimen uno o más residuos de aminoácidos, en el extremo C de la secuencia de SEQ ID NO:1. Habitualmente, una variante de BCMA tendrá una identidad de secuencia de aminoácidos de por lo menos aproximadamente 80 por ciento de 85 por ciento, con mayor preferencia una identidad de secuencia de aminoácidos de por lo menos aproximadamente 90 por ciento, y más preferentemente aun una identidad de secuencia de aminoácidos de por lo menos aproximadamente 95 por ciento con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:1.

[0051] La expresión “identidad porcentual (por ciento) de secuencias de aminoácidos” con respecto a secuencias de BCMA identificadas en la presente, se define como el porcentaje de residuos de aminoácidos en una secuencia candidato que son idénticos a los residuos de aminoácidos en la secuencia de BCMA, después de alinear las secuencias y de introducir huecos, en caso de ser necesario, para lograr la máxima identidad porcentual de secuencias, sin considerar ninguna sustitución conservadora como parte de la identidad de secuencias. La alineación para fines de determinar el porcentaje de identidad de secuencia de aminoácidos puede lograrse de diversas maneras conocidas en la especialidad, por ejemplo mediante la utilización de software de computadora disponible públicamente tales como software BLAST, ALIGN o Megalign (DNASTAR). Las personas con pericia en la especialidad pueden determinar parámetros adecuados para medir la alineación, lo que incluye cualesquiera algoritmos necesarios para lograr la alineación máxima sobre la longitud total de las secuencias que se están comparando.

[0052] La expresión “predispuesto para responder favorablemente”, utilizada en el contexto de la presente invención significa que las células B de MM de un paciente al que se administra una terapia basada en anticuerpo, en particular una terapia con anticuerpo anti-BCMA tendrá mayor probabilidad de ser sensible al dicho anticuerpo. La probabilidad de que las células B de MM (preferentemente obtenidas de un paciente) pueden responder de manera favorable depende de la expresión del BCMA sobre la superficie celular de una célula B de MM como se describe en la presente. Más específicamente, las células B de MM pueden responder de manera favorable a dicho anticuerpo si el nivel de expresión del BCMA sobre la superficie celular de una

célula B de MM es superior a la de una o más células de referencia descritas en la presente. El nivel de expresión del BCMA sobre la superficie celular de una célula B de MM se determina como se describe en la presente.

[0053] La expresión superficial de BCMA puede efectuarse por ejemplo mediante FACS (Fluorescence Activated Cell Sorting, clasificación de células activadas mediante fluorescencia) para lo cual se utiliza un anticuerpo anti-BCMA adecuado. Un anticuerpo anti-BCMA puede ser generado mediante medios y métodos bien conocidos en la técnica o que se hallan disponibles en el comercio.

[0054] En particular, la invención también incluye anticuerpo específicamente reactivos con el BCMA. Los antisueros antiproteína/antipéptido o los anticuerpos monoclonales pueden prepararse mediante protocolos estándar (Véase, por ejemplo Antibodies: A Laboratory Manual ed. de Harlow y Lane (Cold Spring Harbor Press: 1988)). Un mamífero tal como un ratón, un hámster o conejo, puede ser inmunizado con una forma inmunogénica del péptido. Las técnicas para conferir un carácter inmunogénico sobre una proteína o péptido incluyen la conjugación con portadores u otras técnicas, bien conocidas en la especialidad. Es posible administrar una porción inmunogénica de BCMA en la presencia de un adyuvante. El progreso de la inmunización puede ser supervisado mediante la detección de titulaciones de anticuerpo en el plasma o suero. Es posible utilizar ELISA estándar u otros inmunoensayos con el inmunógeno a efectos de evaluar los niveles de los anticuerpos.

[0055] En una forma de realización preferida, los anticuerpos son inmunoespecíficos para determinantes antigénicos de BCMA o sus correceptores, por ejemplo, determinantes antigénicas de un polipéptido de la secuencia SEQ ID NO: 1 o un homólogo mamífero humano o no humano, estrechamente relacionado (por ejemplo, una homología del 70, 80 ó 90 por ciento, con mayor preferencia de por lo menos el 95 por ciento). En otra forma de realización preferida adicional, el anticuerpo anti-BCMA no tiene una reacción cruzada sustancial (es decir no reacciona de manera específica) con una proteína que tiene una homología de por ejemplo inferior al 80 por ciento con respecto a la SEQ ID NO:1; más preferentemente, de menos del 90 por ciento con respecto a la SEQ ID NO: 1; y, más preferentemente, inferior al 95 por ciento con respecto a la SEQ ID NO:1. Mediante la expresión “no presenta una reacción cruzada sustancial” se da a entender que el anticuerpo tiene una afinidad de ligación para una proteína no homóloga que es inferior al 10 por ciento, mas preferentemente inferior al 5 por ciento y más preferentemente aun, inferior al 1 por ciento, de afinidad de ligación con respecto a una proteína de la SEQ ID NO:1.

[0056] Como se mencionó en lo que precede, el BCMA contiene un dominio extracelular. Dicho dominio extracelular es preferiblemente apuntado por un anticuerpo aplicado en los métodos y terapias basados en anticuerpos de la presente invención. Un anticuerpo anti-BCMA preferido es un anticuerpo anti-BCMA humano tal como un anticuerpo de rata anti-CDMA humano, un anticuerpo de ratón anti-BCMA humano, un anticuerpo de camélido anti-BCMA humano, un anticuerpo de oveja anti-BCMA humano. Por supuesto, si ha de detectarse BCMA de un mamífero distinto de humano sobre la superficie de un paciente, por ejemplo, un gato un perro, se aplica un anticuerpo de una especie distinta de la que debe ser diagnosticado. Por ejemplo, si el paciente es un perro o gato, se aplica un anticuerpo BCMA anti perro o anti gato.

[0057] Como alternativa a un anticuerpo anti-BCMA también puede emplearse una anticalina, es decir, un proteína lipocalina tal como muteína de lipocalina de lagrima, muteína lipocalina bacteriana o muteína lipocalina hNGAL dirigido contra BCMA, preferentemente BCMA humano.

[0058] Un anticuerpo particularmente preferido en los métodos de la presente invención es el anticuerpo anti humano Vicky-1 y/o MAB 193 (clon 335004). Vicky-1 es un isotipo de rata IgG1 y es comercializado por GeneTex, Catalogo número #GTX17323. MAB193 es un isotipo de rata IgG2a y es comercializado por R&D Systems, número de catálogo #MAB193.

Por lo tanto, en los métodos de la presente invención se prefiere que el BCMA, con preferencia el BCMA, expresado sobre la superficie de las células B de MM células sea detectable con Vicky-1 o MAB 193.

De manera similar, se refiere que los pacientes descritos en la presente que pueden estar sufriendo de MM o de los que se sospecha que sufren de MM, tengan células B de MM que sean detectables mediante Vicky-1 o MAB 193. Dicho con otras palabras, se prefiere que dicho paciente (más específicamente las células B, en particular las células B de MM de dicho pacientes), sean para así decirlo, Vicky-1 y/o MAB193 positivos.

[0059] La expresión del BCMA sobre la superficie también puede ser ensayada mediante una técnica de resonancia de plasmón de superficie (SPR, surface plasmon resonance) tal como Biacore.

[0060] En el contexto de los métodos de la presente invención, se considera que una célula B de MM expresa BCMA sobre su superficie (es decir, es BCMA positivo tiene un determinado nivel de expresión de BCMA), si muestra una señal detectable que es superior (o supera a) la de una célula de referencia, con preferencia, una célula BCMA

negativa, más preferentemente, una célula B BCMA negativa, más preferentemente aun una célula B de MM BCMA negativa. Una célula B de MM BCMA negativa preferida es U266B1, JJN-3 o LP-1, prefiriéndose U266B1 y JJN-3. Es notable que una cepa de células BCMA negativas pueda tener sin embargo ARNm de BCMA detectable. La persona experta en el arte puede determinar fácilmente si una señal detectable debida a la expresión de BCMA sobre una célula de interés es superior a la señal detectable de una célula de referencia. El término “superior” en el contexto de una señal detectable significa que la señal detectable debida a la expresión de BCMA sobre la superficie de una célula B de interés tal como una o más células B de un paciente, es 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100 por ciento o superior a la señal procedente de una célula de referencia BCMA negativo. Como se mencionó en lo que precede, se utiliza preferentemente el anticuerpo MAB193 o Vicky-1 para detectar/seleccionar/determinar la expresión de BCMA sobre la superficie de células B, con preferencia, células B malignas de un paciente, con preferencia, de un paciente de MM.

[0061] Una “señal” o “señal detectable” refleja el resultado de una reacción entre anticuerpo y antígeno. En el contexto de la presente invención, la reacción entre anticuerpo y antígeno es preferiblemente la reacción de un anticuerpo anti-BCMA con BCMA.

[0062] Es posible determinar una señal mediante la señal provista por el grupo generador de señales de un anticuerpo, en particular un anticuerpo contra BCMA que se describe la presente. La señal puede ser cualquier señal que sea detectable por ejemplo mediante medios espectroscópicos, fotoquímicos, bioquímicos, inmunoquímicos o químicos como se describe en la presente a continuación. También es posible determinar una señal mediante la señal provista por el grupo generador de señales de un receptor específico para antígeno que se describe más adelante la presente.

[0063] La expresión “grupo generador de señales” se refiere a una composición que sea detectable mediante medios espectroscópicos, fotoquímicos, bioquímicos, inmunoquímicos o químicos. Por ejemplo, las etiquetas útiles incluye radioetiquetas tales como ^{32}P , ^{35}S o ^{125}I ; tintes fluorescentes (por ejemplo, Ci-3, Ci-5); cromóforos, reactivos de densidad de electrones, enzimas y generan una señal detectable (por ejemplo, tal como se utiliza comúnmente en un ELISA); o etiquetas de espín. La etiqueta o parte detectable tiene o genera una señal medible tal como una señal radioactiva, cromógena o fluorescente, que puede ser utilizado para cuantificar la

cantidad de parte detectable ligada en una muestra.

[0064] La parte detectable puede ser incorporada, fijada a un grupo generador de señales, ya sea de manera covalente o por intermedio de enlaces iónicos, de van der Waals o de hidrógeno, por ejemplo mediante la incorporación de nucleótidos radioactivos o de nucleótidos biotinilados que son reconocidos mediante estreptavidina. La etiqueta o parte detectable puede ser detectable de manera directa o indirecta. La detección indirecta puede implicar la liberación de una segunda parte, directa o indirectamente detectable, a la parte detectable. Por ejemplo, la parte detectable puede ser el ligando de compañero de ligación, tal como biotina, que es un ligando de ligación para estreptavidina o una secuencia de nucleótidos, con la que puede hibridarse de manera específica. El compañero de ligación puede ser de por sí detectable de manera directa, por ejemplo, un anticuerpo puede estar etiquetada de3 por si mediante una molécula fluorescente. El compañero de ligación también puede ser detectable de manera indirecta.

[0065] Cuando el receptor específico para anticuerpo tiene la “capacidad de ligarse a un grupo que genera una señal” esto significa que puede ligarse a un grupo generador de señales. Por ejemplo, el receptor específico para anticuerpo puede llevar un grupo funcional que es capaz de ligarse a un grupo generador de señales. Un grupo funcional puede ser estreptavidina/avidina que se liga a biotina, un antígeno tal como un rotulo, por ejemplo, GST o residuos histidina que se ligan a un anticuerpo, un azúcar que se liga a lectina o el conocido sistema Dig/Anti-Dig. La parte que se liga a un grupo funcional lleva el grupo generador de señal.

[0066] Puede utilizarse cualquier inmunoensayo conocido en la técnica para detectar inmunológicamente la ligación de un anticuerpo a un antígeno o la ligación de un antígeno a un anticuerpo. Los métodos para llevar a cabo tales ensayos así como también aplicaciones y procedimientos prácticos han sido resumidos en manuales relacionados. Los ejemplos de manuales relacionados abarcan: Tijssen, P., In: Practice and Theory of enzyme immunoassays, Burdon, R.H. and v. Knippenberg, P. H. (eds.), Elsevier, Ámsterdam (1990), pp. 221-278 y diversos tomos de Colowick, S. P. y Caplan, N.O. (eds.), Methods in Enzymology, Academic Press, que tratan de métodos de detección inmunológicos, especialmente los tomos 70, 73, 74, 84, 92 y 121.

[0067] Los inmunoensayos por ejemplo, incluyen la precipitación (particularmente la inmunoprecipitación), electroquimioluminescencia (quimioluminescencia generada eléctricamente), RIA (radioinmunoensayo), ELISA (enzyme-linked immunosorbent

assay, ensayo inmunosorbente ligado a enzimas), inmunoensayos de enzimas en sándwich, ECLIA (electrochemiluminescence sandwich immunoassays, inmunmoensayos en sándwich de electroquimioluminiscencia), DELFIA (dissociation-enhanced lanthanide fluoroimmuno assay, SPA (scintillation proximity assay, turbidimetria, nefelometria, turbidimetria o nefelometria reforzada con látex, inmunoensayos en fase sólida y espectrometría de masa tal como SELDI-TOF, MALDI-TOF o CE-MS (capillary electrophoresis-mass spectrometry).

Por otra parte, los inmunoensayos adecuados incluyen métodos basados en ELISA de microplacas, inmunoensayos completamente automatizados o robóticos y ensayos de aglutinación con látex.

[0068] Típicamente, en la presente invención un inmunoensayo es un ensayo en el que un anticuerpo liga específicamente un antígeno de manera de proveer la detección y/o cuantificación de un anticuerpo o un ensayo en el que un antígeno se liga a un anticuerpo a efectos de proveer la detección y/o cuantificación de dicho antígeno. En el contexto de la presente invención el antígeno es preferiblemente BCMA o un fragmento del mismo, siendo preferible que dicho fragmento sea detectable inmunológicamente y que el anticuerpo sea un anticuerpo anti-BCMA.

La expresión “detectable inmunológicamente” utilizada preferentemente en la presente, da a entender que una señal generada por la ligación de un anticuerpo a un antígeno o la ligación de un antígeno a un anticuerpo descrito en la presente puede ser detectado mediante medios y métodos comúnmente conocidos y aplicados en la técnica. En el contexto de la presente, la expresión “detectable inmunológicamente” significa que una señal generada por la reacción de un anticuerpo anti-BCMA y BCMA o fragmento del mismo es superior (o supera) la señal de una célula de referencia descrita en la presente, es decir, en tal caso una célula B de MM de interés es BCMA positivo.

[0069] La expresión “no es inmunológicamente detectable”, utilizada preferentemente en la presente, da a entender que una señal generada por la ligación de un anticuerpo o por la ligación de un antígeno a un anticuerpo descrito en la presente, no puede ser detectada mediante medios y métodos comúnmente conocidos y utilizados en la técnica. En el contexto de la presente, la expresión “no inmunológicamente detectable” da preferiblemente a entender que una señal generada por la reacción de un anticuerpo anti-BCMA y BCMA o fragmento del mismo es igual o inferior a la de una célula de referencia descrita en la presente, es decir, una célula B de MM es entonces BCMA negativa.

[0070] La expresión “célula B de MM de interés” se refiere a células B, preferentemente a células B malignas obtenidas de un paciente que sufre de MM o del que se sospecha que sufre de MM. Antes de analizar dicha célula B de MM de interés de acuerdo con los métodos de la presente invención no puede afirmarse si dichas células B son BCMA positivas o negativas, respectivamente.

[0071] Además o como alternativa a la comparación del nivel de expresión de BCMA sobre la superficie celular de una célula B de MM con una célula BCMA negativa, una célula BCMA positiva también puede servir como célula de referencia. Las cepas de células BCMA positivas adecuadas de la presente invención (es decir, definidas en la presente) son NCI-H929, MOLP-2, OPM-2, MOLP-8, RPMI8226, KMS-12-BM o L-363. Específicamente, se considera que una célula B de MM de interés es BCMA-positiva si tiene por lo menos un mismo nivel de expresión de BCMA que una cepa de células de referencia. Es preferible que la expresión se determine como se describe en la presente (es decir, mediante la señal generada por una célula).

[0072] De manera similar, en el contexto de los métodos de la presente invención, se considera que a célula B de MM no expresa BCMA sobre su superficie (es decir, es BCMA negativa), si no muestra de manera esencial una señal detectable que es superior a la de una célula de referencia, con preferencia, una célula BCMA negativa, más preferentemente, una célula B BCMA negativa, y más preferentemente aun, una célula B de MM BCMA negativa. Una célula B de MM BCMA negativa preferida es U266B1, JJN-3 o LP-1, prefiriéndose U266B1 y JJN-3. Lo notable que dicha cepa de células BCMA negativas puede sin embargo tener ARNm de BCMA detectable. La persona experta en el arte puede determinar fácilmente si una señal detectable debida a la expresión de BCMA sobre una célula B de interés no es superior (es decir, igual o inferior) a la señal de una célula de referencia.

En el contexto de una señal detectable, la expresión “igual” significa que la señal detectable debida a la expresión de BCMA sobre la superficie de una célula B de interés tal como una o más células B de un paciente, es igual a la señal de una célula de referencia BCMA negativa.

En el contexto de una señal detectable, la expresión “inferior” significa que la célula B de interés tal como una o más células B de un paciente muestra que una señal que es 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o aun 100 por ciento inferior a la señal procedente de una célula de referencia BCMA negativa.

[0073] Los descubrimientos de los autores de la presente también proveen a la persona experta un método para seleccionar una terapia para mieloma múltiple (MM)

basada en anticuerpo, que comprende determinar si las células B de un paciente expresan proteína de BCMA sobre la superficie de dichas células B del plasma, en donde, si dichas células B del plasma son BCMA positivas, el paciente puede ser sometido a una terapia con anticuerpo anti-CD20 y/o a una terapia con anticuerpo anti-CD38 y/o a una terapia con anticuerpo anti-BCMA, o, si dichas células B son BCMA-negativas, se somete al paciente a una terapia con anticuerpo anti-CD20 y/o a una terapia con anticuerpo anti-CD38.

[0074] De hecho, como se describe en la presente, si las células B de un paciente expresan proteína BCMA, dicho paciente responderá potencialmente de manera favorable a una terapia con anticuerpo anti-BCMA. Sin embargo, aun si las células B de un paciente son negativos para BCMA (BCMA-negativas), dicho paciente puede ser sometido a una terapia basada en anticuerpo tal como una terapia basada en anticuerpo anti-CD20 y/o una terapia basada en anticuerpo anti-CD38. Por lo tanto, la presente invención provee métodos y medios para seleccionar una o más terapias adecuadas basadas en anticuerpos para el tratamiento o prevención de MM.

[0075] La expresión “potencialmente”, cuando se la utiliza en el contexto de un efecto terapéutico, significa que un anticuerpo anti-BCMA— si bien se considera que un anticuerpo de este tipo tiene un efecto terapéutico basado en los métodos de la presente invención - no tiene por qué ser necesariamente efectivo desde el punto de vista terapéutico. Esto se debe a que - por más que sea evidente - los métodos de la presente invención no puedan prever una predicción 100 por ciento segura acerca de si un paciente respondería a un anticuerpo de este tipo, por cuanto, además de la expresión de BCMA sobre la superficie de una célula B de MM, los factores individuales tales como edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, interacción entre los fármacos y similares, pueden influir sobre la posibilidad de un paciente reaccione o no frente a un anticuerpo de este tipo.

Sin embargo, si una célula B de MM de un paciente es BCMA positiva como se describe en la presente, la probabilidad de que un anticuerpo anti-BCMA tenga un efecto terapéutico es superior al 50% en comparación con un paciente cuyas células B de MM no muestren una expresión de BCMA sobre la superficie de las células. Es preferible que dicha probabilidad sea superior al 60%, 70%, 80%, o 90%, y con mayor preferencia, superior al 95%.

[0076] Por supuesto, es aconsejable determinar si un(a) paciente de MM BCMA-negativo puede ser CD20 y/o CD38-positivo y/o CS1-positivo antes de someterlo a un tratamiento basado en anticuerpo anti-CD20 y/o anti-CD38 y/o CS1.

Otras terapias basadas en anticuerpos (es decir, una o más terapias basadas en anticuerpo) además de (es decir, en forma de combinación) a una terapia basada en anticuerpo anti-BCMA (si un paciente es BCMA positivo) o como una alternativa a una terapia basada en anticuerpo anti-BCMA (si un paciente es BCMA negativo), que están abarcados por la presente invención, pueden estar basadas en el objetivo indicado en la columna de la extrema izquierda de la siguiente tabla. Si el anticuerpo contra el objetivo indicado en la columna de la extrema izquierda está conjugada con una toxina, entonces un conjugado tal también está abarcado por dicha terapia basada en anticuerpo.

Objetivo	Nombre comercial	Tipo de mAb (conjugado)	Fase	Observaciones
CD138	B-B4-DM1	el ratón maitansinoide inmunoconjugado IgG1 mAb B-B4	preclínica	Tassone Blood 2004,104:3688–96
HM1.24	HM1.24 humanizado HM1.24 humanizado	humanizado IgG ₁ diseñada Fc- humanizada	preclínica preclínica	Ozaki Blood 1999,93:3922–3930
IL-6	OP-R003-1, 1339 Elsilimomab, Azintrel	IgG1 humana	preclínica	Fulciniti Clin Cancer Res 2009,15:7144–52
HLA-DR	1D09C3	IgG1 humana	preclínica	Carlo-Stella Cancer Res 2007
quininógeno	C11C ₁	Ratón	preclínica	Sainz Cancer Immunol Immunother 2006 C11C1 mAb inhibe su propio crecimiento tumoral <i>in vivo</i> , lentifica la tasa de crecimiento de B38-MM cuando ambos MM se implantan juntos y cuando mAb C11C1 se inyecta intraperitonealmente. MM tratado con MAb C11C1 mostró menor MVD y ligación con quininógeno <i>in vivo</i> sin cambios de expresión de FGF-2, B1R o B2R
HLA clase I	2D7-DB	Convertido a partir de IgG2b de ratón, diacuerpo de cadena simple Fv	preclínica	Sekimoto Cancer Res 2007; 67:1184–92. Un diacuerpo Fv de cadena simple recombinante 2D7-DB induce específicamente muerte celular de mieloma múltiple en el ambiente de la médula ósea
β 2- microglobulina	anti- β 2M mAbs	Ratón	preclínica	Yang Blood 2007; 110:3028–35. & Clin Cancer Res 2009; 15:951–9. Un fuerte efecto apoptótico sobre células de mieloma y baja toxicidad en los ratones sustenta el uso potencial como agentes terapéuticos

CD 2B	MGA321(2B6)	IgG humanizada 1	preclínica	Zhou Blood 2008; 111:549–557. 2B6 MoAb humanizado puede dirigirse a pacientes con AL-amiloidosis sistémica. Bloquea el enganche Fc de CD32B y puede mejorar el rendimiento de otros Mabs cancerosos cuando se combinan durante la administración
FGFR3	PRO-001	IgG1 humana	preclínica	Trudel Blood 2006; 2:4908–4915. El anticuerpo anti-FGFR3 inhibidor, PRO-001, es citotóxico a células MM t(4;14) y merece otro estudio para el tratamiento de mieloma que exprese FGFR3
ICAM-1	cUV3	IgG1 quimérica	preclínica	Smallshaw J Immunother 2004; Coleman J Immunother 2006 cUV3 prolonga significativamente la supervivencia de ratones SCID/ARH-77
BLiS	BLiS/riel	Proteína de fusión de un anticuerpo atado a una toxina	preclínica	Liu et al. Mol Cancer Ther 2007; 6:460–70
TACI	Atacicept (TACI-Ig)	Proteína de fusión	preclínica	Yaccobi Leukemia 2008 22, 406–413
CD70	SGN-70	IgG1 humanizada	preclínica	McEarchern Clin Cancer Res 2008 14, 7763–72
TRAIL-R2(DR5)	lexatumumab	humano	preclínica	Menoret et al. Blood 2006;132: 1356–62
IL-6R	NRI (Tocilizumab manipulado con ingeniería)	un formato de fragmento de cadena simple dimerizado por fusión de la porción de Fc de inmunoglobulina humana G1	preclínica	Yoshio-Hoshino Cancer Res 2007; 67:871–5. La introducción génica NRI combinada con el suministro de genes de adenovirus inhibió el crecimiento de células S6B45 <i>in vivo</i> de modo significativo
BCMA	SG1	Auristatina-BCMA mAb	preclínica	Rian et al. Mol Cancer Ther 2007; 6:3009–18

matriptasa	M24-DOX	Inmunoconjugado con doxorubicina	preclínica	Bertino et al. 2010 AACR resumen N.º 2596. M24-DOX es tan potente como la doxorubicina libre para inhibir el crecimiento de células de MM. Pero el suministro blanco de doxorubicina por el anticuerpo de matriptasa de modo significativo redujo la toxicidad hacia la cardiomiocitis que carece de expresión de matriptasa
IL-1beta	XOMA 052	IgG2 humana manipulada por ingeniería	preclínica	Lust 2010 AACR resumen N.º 2449. XOMA 052 es altamente efectiva en la inhibición de la producción de IL-6 inducida por IL-1 en pacientes con mieloma <i>in vitro</i>
CD20	Rituxano	Quimérico con una IgG1 humana	II (en curso)	NCT00258206 (con ciclofosfamida): NCT00505895. Ciclofosfamida en altas dosis en combinación con rituximab en pacientes con mieloma refractario primario, de alto riesgo o por recaída, también es estudiada para el tratamiento de neuropatía periférica en pacientes con MGUS
CD20	Zevalina (itrio Y 90 ibritumomab tiuxetan)	IgG1 de ratón	I (en curso)	NCT00477815: radioinmunoterapia de Zevalina con melfalano en altas dosis y trasplante de células madre para MM
CD40	SGN-40 (Dacetuzumab)	IgG1 humanizada	I b (en curso)	NCT00664898: seguridad y farmacología de SGN-40 administrada en combinación con Bortezomib (Velcade, PS-341) en pacientes con MM de recaída o refractario. NCT00525447 es el estudio de SGN40, lenalidomida y dex en pacientes de MM

CD40	HCD122 (Lucatumumab)	IgG1 humanizada	I (en curso)	NCT00231166 Ensayo de hallazgo de la dosis de HCD122 en pacientes de MM que tuvieron recaída o no respondieron a una terapia previa
CD20	Bexxar (131- tositumomab)	yodo radiactivo 131 que se une a anti-CD20; mulgG2a (131)	II (en curso)	NCT00135200: para ver si el tratamiento con Bexxar se reducirá y posiblemente eliminará células residuales de mieloma resistentes a quimioterapia
CD56	BB-10901 (IMGN901)	Humanizada (conjugación de maitansina DM1)	I (en curso)	NCT00346255: dado como una infusión intravenosa semanalmente durante dos semanas consecutivas cada tres semanas a MM recaído y refractario recaído CD56-positivo; NCT00991562: IMGN901 en combinación con lenalidomida y dexametasona
RANKL	Denosumab	IgG2 humanizada	II/III (en curso)	NCT00259740: para determinar si denosumab es efectiva en el tratamiento de MM en recaída o en fase de meseta; NCT00104650: para determinar la efectividad de AMG 162 en la reducción de N-telopéptido urinario en sujetos con cáncer avanzado con metástasis ósea; NCT00330759: estudio de fase III de Denosumab en comparación con ácido zoledrónico (Zometa) en el tratamiento de metástasis ósea en sujetos con cáncer avanzado (excluyendo cáncer de mama y de próstata) o MM
VEGF	Avastina bevacizumab	humanizado	II (en curso)	NCT00428545 (en combinación con bortezomib); NCT00410605 (añadido con lenalidomida y dexametasona)

CD52	Campat-1H (alemtuzumab)	humanizado	II (en curso)	NCT00625144: estudio de los efectos colaterales de la administración de fludarabina y busulfano junto con alemtuzumab seguido por trasplante de células madre de donante y para ver qué bien trabaja en el tratamiento de pacientes con cáncer hematológico u otra enfermedad
IL-6	CNTO 328	IgG1 quimerizada	I/II (en curso)	NCT00401843 (en combinación con bortezomib); NCT00911859 (añadido con Velcade-Melfalano-Prednisona); NCT00402181 (en combinación con dexametasona)
IL-6	B-E8 (Elsilimomab)	murino	II	Se vio eficacia preliminar pero hay una limitación para el uso clínico de un anticuerpo monoclonal murino ya que con frecuencia induce anticuerpos humanos antirratón (HAMA)
IL-6R	MRA (Tocilizumab)	Humanizado	II	
TRAIL-R1(DR4)	Mapatumumab(TRM- 1)	Humano	II (en curso)	NCT00315757 (en combinación con bortezomib)
EGFR	Erbitux (EMMA-1)	quimerizado	II (en curso)	NCT00368121 (en combinación con dexametasone)
CS1	elotuzumab/HuLuc63	humanizado	I /II (en curso)	NCT00742560 & NCT00726869 (en combinación con bortezomib)
DKK	BHQ880	IgG1 humana	I/II (en curso)	NCT00741377: en combinación con ácido zoledrónico en mieloma recaído/refractario
CD138	BT062	(B-B4-maitansinoide DM4) quimérico	I (en curso)	NCT00723359
el receptor de activina tipo IIA (ActRIIA)	ACE-011	IgG1 humana	I/IIa (en curso)	NCT00747123 (en pacientes con lesiones osteolíticas con MM)

IGF-1R	AVE1642	humanizado	I/II (en curso)	Descamps et al. (B J Cancer 2009; 100:366) Anticuerpo monoclonal anti-IGF-1R combinado con bortezomib para pacientes con MM de recaída / refractario
Gangliósido GM2	BIW-8962	humanizado	I/II (en curso)	Estudio de dosificación de gangliósido anti-GM-2 (expresado en altos niveles sobre la superficie de las células de MM) seguido por estudio de eficacia
CD74 (variante MHC II)	milatuzumab (hLL1, IMMU-110)	IgG1 humanizada o IgG1 de doxorubicina conjugada humanizada	I/II (en curso)	NCT00421525: en pacientes con mieloma múltiple recurrente o refractario que fallaron al menos en dos tratamientos sistémicos estándar previos. Su isótopo, fármaco y conjugados de toxina tienen alta actividad antitumoral en linfoma no Hodgkin y mieloma múltiple <i>in vitro</i> y en modelos de xenoinjerto tumoral. Stein et al. 2007 & 2009
Alfa-4 integrina	natalizumab (Tisabri)	IgG4 humanizada	I/II (en curso)	NCT00675428: pacientes con mieloma múltiple recurrente o refractario

MHC II (HLA-DR)	1D09C3	IgG4 humana	I	Carlo-Stella et al. 2007 mostraron que la regulación hacia arriba inducida por IFN-gamma de HLA-DR da resultado una potente mejora de la actividad <i>in vivo</i> de antimiéloma de 1D09C3 en ratones. El ensayo clínico inicial con 1D09C3 no produjo ningún problema de seguridad inesperado o inaceptable y la máxima dosis tolerada aún no se ha alcanzado. GPC Biotech decidió no colocar otros recursos internos en el desarrollo de 1D09C3 debido a un potencial intercambio de una mitad de anticuerpo de IgG4 de su estructura en forma de Y con la mitad de un diferente anticuerpo, dando como resultado así una nueva molécula cuyas propiedades son desconocidas. Sin embargo, la compañía buscará un colaborador para la propiedad intelectual relacionada con este programa.
IGF-1R	CP-751,871/figitumumab	IgG2 humana	I	Laci et al. (J. Clin Oncol 26:3196) informaron que CP-751,871 es bien tolerado y puede constituir un nuevo agente en el tratamiento de mieloma múltiple
KIR	IPH 2101	IgG4 humana	I/IIa (en curso)	NCT00552396 (ASCO Mai 30 2009 resumen 09-AB-3032) estudio de seguridad y tolerabilidad para pacientes con MM recurrente / refractaria. Caracterización preclínica de 1-7F9, un nuevo anticuerpo terapéutico anti-KIR humano que aumenta la muerte mediada por NK de células tumorales (Romagne et al. 2009)

[0077] Las células B pueden ser seleccionadas y/o identificadas mediante un marcador de la superficie de las células B. En la presente, las expresiones “marcador de la superficie de las células B” o “antígeno de superficie de las células B” se refieren a un antígeno expresado sobre la superficie de una célula B que puede ser apuntada con un antagonista que se liga a él. Los marcadores de las superficies de las células B dados a título de ejemplo incluyen sin limitación: CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD37, CD40, CD52, D53, CD72, CD73, CD74, CDw75, CDw76, CD77, CDw78, CD79a, CD79b, CD80, CD81, CD82, CD83, CDw84, CD85, CD86, CD180 (RP105), FcRH2 (IRTA4), CD79A, CD79B, CR2, CCR6, CD72, P2X5, HLA-DOB, CXCR5 (BLR1), FCER2, BR3 (también conocido como BAFF-R), TACI, BTLA, NAG14 (también conocido como LRRRC4), SLGC16270 (también conocido como LOC283663), FcRH1 (IRTA5), FcRH5 (IRTA2), ATWD578 (también conocido como MGC15619), FcRH3 (IRTA3), FcRH4 (IRTA1), FcRH6 (también conocido como LOC343413) y en particular, BCMA.

[0078] Las células B de MM pueden ser detectadas, seleccionadas y/o identificadas mediante un marcador de las superficies de las células B arriba descrito. Sin embargo, es preferible que las células B de MM sean seleccionadas y/o identificadas mediante los siguientes marcadores; CD19, CD56, CD117, CD20, CD28, CD27, CD81 y/o CD200 (véase también la Tabla 2 de Rawston et al. (2008), *Haematologica* 93(3):431-438.

Es preferible que las células B de MM se caractericen por ser por lo menos CD38 positivas, CD56 positivas o negativas, CD45 positivas y CD19 positivas.

[0079] Es preferible que las células B, preferentemente células B malignas que son sometidas a los métodos de la presente invención, se obtengan de un paciente. Un paciente de acuerdo con esta invención es un mamífero, con preferencia, dicho paciente o mamífero sufre de MM o se sospecha que sufre de MM. A los fines del tratamiento, el término “mamífero” se refiere a cualquier animal clasificado como mamífero, lo que incluye humanos, animales domésticos y de granja, primates no humanos y cualquier otro animal que tenga tejidos mamarios. El término “mamífero” incluye humanos, roedores tales como ratón, rata o conejo, perro, gato, chimpancé, caballo, cerdo, etc., prefiriéndose seres humanos. El término “paciente” también abarca pacientes humanos y veterinarios, prefiriéndose los pacientes humanos. En cada uno de los métodos arriba mencionados, el mamífero puede ser uno que sufre de mieloma múltiple.

Un mamífero “que necesite” un tratamiento puede incluir, sin limitación, mamíferos que

tengan mieloma múltiple o de los que se sospecha que tienen mieloma múltiple.

[0080] El término “sujeto” utilizado en la presente incluye sujetos tanto mamíferos como no mamíferos.

[0081] Las células B obtenidas de un paciente se hallan preferentemente contenidas en una muestra. De acuerdo con la presente invención, el término “muestra” se refiere a cualquier muestra biológica obtenida de un sujeto, cepa de células, tejido de cultivos u otra fuente que contenga por lo menos células B. Las muestras biológicas incluyen fluidos corporales (tales como sangre, suero, plasma, orina, saliva, fluido sinovial y fluido espinal) y fuentes de tejido de los que se ha descubierto que contienen células B. Los métodos para obtener biopsias de tejidos y fluidos corporales a partir de sujetos son bien conocidos en la técnica. En términos generales, una muestra biológica que incluye PBMCs (periferal blood mononuclear cells, células mononucleares de sangre periférica), en particular células B y células T, es preferida como fuente. Una muestra que incluye células mononucleares de sangre periférica, en particular células B y células T, se toman preferentemente de la sangre periférica de un paciente humano. Otras muestras preferidas son sangre entera, suero, plasma o fluido sinovial, prefiriéndose especialmente plasma o suero. Sin embargo, se prefieren especialmente muestras de sangre periférica de un paciente humano.

[0082] En una forma de realización preferida de los métodos de la presente invención, se trata un paciente con un anticuerpo anti-BCMA. El anticuerpo aplicado para el tratamiento de un paciente, así como también el anticuerpo aplicado en los métodos para estratificación, diagnóstico o selección de una terapia de MM basada en anticuerpo es preferiblemente un anticuerpo monoclonal, anticuerpo policlonal, anticuerpo quimérico, anticuerpo humanizado, anticuerpo biespecífico, anticuerpo de dominio (dAb) o nanocuerpo.

[0083] La expresión “anticuerpo” también incluye sin limitación anticuerpos policlonales, monoclonales, monoespecíficos, poliespecíficos tales como biespecíficos, no específicos, humanizados, humanos, de cadena simple, quiméricos, sintéticos, recombinantes, híbridos, mutados, de injerto, de dominio (VHH) y anticuerpos generados in vitro así como también nanocuerpos que incluyen anticuerpos de camélidos y anticuerpos de camélido humanizados. Por lo tanto, el término “anticuerpo” también se refiere a un suero purificado, es decir a un suero policlonal purificado. Por lo tanto, dicho término se refiere con preferencia a un suero, con mayor preferencia a un suero policlonal, y con mayor preferencia aún a un suero (policlonal) purificado.

Por otra parte, el término “anticuerpo” tal como se lo emplea en la presente invención también se refiere a derivados o variantes de los anticuerpos descritos en la presente que presenten el mismo carácter específico que los anticuerpos descritos. Los ejemplos de “variantes de anticuerpo” incluyen variantes humanizadas de anticuerpos no humanos, anticuerpos “madurados en afinidad” (véase, por ejemplo Hawkins et al. J. Mol. Biol. 254, 889-896 (1992) y Lowman et al., Biochemistry 30, 10832- 10837 (1991)) y mutantes de anticuerpos con una o más funciones efectoras alteradas (véase, por ejemplo, la patente de los EE.UU. 5.648.260).

Las expresiones “dominio de ligación de antígeno”, “fragmento de ligación de antígeno” y “región de ligación de anticuerpo”, cuando se las utiliza en la presente se refieren a una parte de una molécula de anticuerpo que comprende aminoácidos que son responsables de la ligación específica entre anticuerpo y antígeno. La parte del antígeno que se reconoce específicamente y que se liga al anticuerpo recibe la denominación de “epítotope” como se describió en lo que precede. Como se mencionó en lo que precede, un dominio de ligación de antígeno puede típicamente comprender una región variable de cadena liviana (VL) de anticuerpo y una región variable de cadena pesada de anticuerpo (VH), sin embargo, no tiene necesariamente ambas regiones. Los fragmentos Vd., por ejemplo, tienen dos regiones VH y frecuentemente conservan alguna función de ligación a antígeno de la región de ligación de antígeno intacto. Los ejemplos de fragmentos de ligación a antígeno de un anticuerpo incluyen (1) un fragmento Fab, un fragmento monovalente que tiene los dominios VL, VH, CL y CH1; (2) un fragmento F(ab')₂, un fragmento bivalente que tiene dos fragmentos Fab ligados por un puente disulfuro en la región bisagra; (3) un fragmento Fd que tiene los dos dominios VH y CH1; (4) un fragmento Fv que tiene los dominios VL y VH de un único brazo de un anticuerpo; (5) un fragmento dAb (Ward et al., (1989) Nature 341 :544-546), que tiene un dominio VH o VL; (6) una CDR (complementarity determining region, región determinadora de complementariedad) aislada; y (7) un Fv de cadena simple (scFv). Si bien los dos dominios del fragmento Fv, VL y VH son codificados por genes separados, es posible unirlos mediante métodos recombinantes, por medio de un ligador sintético que transforma en una única cadena de proteína en la que las regiones VL y VH se aparean de manera de formar moléculas monovalentes (conocidas como cadena Fv simple (scFv); véase por ejemplo Bird et al. (1988) Science 242:423-426; y Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci USA 85:5879-5883). Estos anticuerpos se obtienen mediante técnicas convencionales conocidas en la técnica y los fragmentos se evalúan en cuanto a su función de la misma manera que

los anticuerpos intactos.

En la presente, la expresión “inmunoglobulina” (Ig) se utiliza de manera intercambiable con “anticuerpo”.

[0084] Otro aspecto de la presente invención se refiere a una terapia con anticuerpos anti-BCMA para su uso en el tratamiento de un paciente de mieloma múltiple (MM) cuyas células B de plasma están predispuestas a ser BCMA-positivas.

[0085] Otro aspecto más de la presente invención se refiere a un anticuerpo anti-BCMA para su uso en el tratamiento de un paciente con mieloma múltiple (MM) al que se ha diagnosticado mediante un método de la presente invención.

[0086] Además, otros aspecto de la presente invención se refiere a un anticuerpo anti-CD20 y/o a un anticuerpo anti-CD38 para su uso en el tratamiento de un paciente con mieloma múltiple (MM) cuyas células B son BCMA negativas.

[0087] En una forma de realización de la presente invención, se conjuga un anticuerpo anti-BCMA a un agente quimioterapéutico que incluye una toxina que es toxica para las células B de plasma malignas en pacientes de MM. En el documento WO 2010/121093 se revelan agentes quimioterapéuticos útiles tales como Bortezomib (Velcade), Thalen enidomide (Thalomid), Lenalidomide (Revlimid).

[0088] Las expresiones “trata” o “tratamiento” se refieren tanto al tratamiento como a medidas profilácticas o preventivas, en donde el objetivo es el de prevenir o ralentizar (disminuir) un cambio o trastorno fisiológico indeseado, tales como el desarrollo o dispersión de cáncer, en particular MM. Para los fines de este invención, los resultados clínicos beneficiosos o útiles incluyen sin limitación: el alivio de los síntomas, la disminución de la amplitud de la enfermedad, estado estabilizado (es decir sin empeoramiento) de la enfermedad, retardo o ralentizado del avance de la enfermedad, mejoría o alivio del estado de la enfermedad y remisión (tanto si es parcial como total), tanto si es detectable como no. El “tratamiento” puede también significar la prolongación de la supervivencia en comparación con una supervivencia prevista si no se recibe tratamiento. Los sujetos que necesitan el tratamiento incluyen aquellos que ya presentan la condición o trastorno como también aquellos sujetos en los cuales debe prevenirse la condición o trastorno.

[0089] El anticuerpo anti-BCMA, anticuerpo anti-CD20, anticuerpo anti-CD38 y/o anticuerpo anti-CS1 se administra preferentemente en una “cantidad efectiva”. Una “cantidad efectiva” es una cantidad suficiente para implementar una finalidad específicamente enunciada. Una “cantidad efectiva” puede determinarse empíricamente y mediante métodos conocidos relacionados con la finalidad prevista.

La expresión “cantidad terapéuticamente efectiva” se refiere a una cantidad de un agente terapéutico de la presente invención que es efectiva para “tratar” o “lograr una mejoría” del MM en un mamífero (también denominado paciente). En un caso, la cantidad terapéuticamente efectiva puede ser una cantidad inhibidora del desarrollo o una cantidad citotóxica en el caso del MM; una cantidad terapéuticamente efectiva del fármaco activo para uno cualquiera de los siguientes: reducir la cantidad de células de cáncer, reducir la cantidad de células B de MM malignas; el tamaño del tumor; inhibir (es decir, frenar en algún grado y con preferencia detener) la infiltración de las células cancerosas en los órganos periféricos; inhibir (es decir, frenar en algún grado y preferentemente detener) la metástasis de los tumores; inhibir en algún grado el desarrollo de los tumores; y/o aliviar en algún grado uno o más de los síntomas asociados con el cáncer. En la medida en que el fármaco pueda impedir el desarrollo y/o matar las células de cáncer existentes, puede ser citostático y/o citotóxico. Las expresiones “tratamiento” o “cantidad terapéuticamente efectiva” se refiere a un transcurso de administración del agente terapéutico, el cual desarrollo puede incluir varias dosis distribuidas a lo largo de un período de tiempo a efectos de lograr un efecto deseado.

[0090] Los agentes que eliminan las células B (es decir el anticuerpo anti-BCMA, anticuerpo anti-CD20, anticuerpo anti-CD38 o cualquier otro anticuerpo dirigido contra un objetivo expresado sobre la superficie de una célula B tal como CS1) pueden ser administrados al paciente mediante una variedad de métodos, tales como mediante administración intravenosa, por ejemplo en forma de un bolo o mediante infusión continua a lo largo de un período de tiempo, por vía subcutánea, intramuscular, intraperitoneal, intracerebroespinal, intraarticular, intrasinovial, intratecal o por inhalación.

[0091] Estos anticuerpos se administran preferentemente en forma de composiciones farmacéuticas. El régimen de dosificación será determinada por el médico a cargo y en base a factores clínicos. Como es bien sabido en el campo de la medicina, la dosificación para cualquier paciente individual depende de muchos factores que incluyen el tamaño del paciente, el área de superficie corporal, edad, compuesto particular a ser administrado, sexo, momento y vía de administración, salud general y otros fármacos que se administren simultáneamente. Los preparados para la administración parenteral incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones estériles, acuosas o no acuosas. Los ejemplos de solventes no acuosos incluyen propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales tales, aceite de oliva y ésteres orgánicos inyectables

tales como oleato de etilo. Los vehículos acuosos incluyen agua, soluciones, emulsiones o suspensiones alcohólicas/acuosas, lo que incluye en solución salina fisiológica y medios tamponados. Los vehículos parenterales incluyen solución de cloruro de sodio, dextrosa de Ringer, dextrosa y cloruro de sodio, Ringer lactado o aceites fijos. Los vehículos intravenosos incluyen agentes de reabastecimiento fluidos y con nutrientes, agentes de reabastecimiento de electrolitos (tales como los que se basan en la dextrosa de Ringer), y similares. También puede haber agentes de conservación y otros aditivos presentes tales como por ejemplo agentes antimicrobianos, antioxidantes, agentes quelantes, gases inertes y similares. Por otra parte, la composición farmacéutica de la invención puede comprender otros agentes tales como agentes antitumorales adicionales como se ejemplifica.

[0092] Otra forma de realización de la invención es un kit que comprende un anticuerpo anti-BCMA e instrucciones para su uso, en particular instrucciones acerca de cómo implementar los métodos de la presente invención.

El kit comprende por lo menos un contenedor y una etiqueta o inserto de envase sobre o asociado con el contenedor. Los contenedores adecuados incluyen por ejemplo botellas, frascos, jeringas, etc. Los contenedores pueden formarse de una variedad de materiales tales como vidrio o material plástico. El contenedor puede tener un portillo de acceso estéril para extraer un agente terapéutico (por ejemplo, el contenedor puede ser una bolsa con solución intravenosa o un frasco que tiene un tapón que puede ser perforado por una aguja de infección hipodérmica). La etiqueta o inserto de envase puede indicar que la composición se utiliza para tratar el MM.

[0093] Además, el kit puede también comprender un segundo contenedor que comprende un tampón farmacéuticamente aceptable tal como agua bacteriostática para inyecciones, solución salina tamponado con fosfato, solución de Ringer y solución de dextrosa. Puede además incluir otros materiales deseables desde el punto de vista comercial y para la conveniencia del usuario, lo que incluye otros tampones, diluyentes, filtros, agujas y jeringas.

EJEMPLOS

[0094] *Etiquetado de anticuerpos con ALEXA Fluor® 488*

Unas IgGs anti-BCMA e IgGs de control de isotipo fueron etiquetados con ALEXA Fluor® 488 para lo cual se utilizó el kit ALEXA Fluor® 488 Monoclonal Antibody Labeling Kit (Invitrogen, #A20181). El etiquetado y el cálculo del grado de etiquetado fueron llevados a cabo en base a las instrucciones de fabricante.

IgG	Clon	Isotipo	Cat. No.
Anti-BCMA	Vicky-1	Rat IgG1	GeneTex, #GTX17323
Anti-BCMA	335004	Rat IgG2a	R&D Systems, #MAB193
Rat IgG1 isotipo ctrl.	43414	Rat IgG1	R&D Systems, #MAB005
Rat IgG2a isotipo ctrl.	54447	Rat IgG2a	R&D Systems, #MAB006

Tabla 1: anticuerpos monoclonales anti-BCMA utilizados para el etiquetado con ALEXA Fluor® 488

[0095] *Tinción de las células B de plasma malignas primarias tomadas de aspirados de médula ósea*

Unos aspirados de medula ósea de pacientes con MM fueron filtrados a través de un depurador de células de 70 µm (BD, 352350). Previamente se habían determinado los números de células del plasma y en base a ello, se calcularon volúmenes aspirados para la tinción.

1-10 por ciento de células de plasma en la población CD45 negativa 180 µl;

11-20 por ciento de células de plasma en la población CD45 negativa 120 µl;

21-31 por ciento de células de plasma en la población CD45 negativa 60 µl;

Un volumen adecuado de los aspirados fue incubado con 1,5 µl de cada uno de los siguientes anticuerpos: CD38-APC (BD, clon: HIT2, #555462), CD56-PE-Ci-7 (BD, clon: NCAM16.2, #335791), CD45-APC-Ci7 (BD, clon: 2D1; #557833) y 6 µl de CD19-PerCP-Ci5.5 (BD, clon: HIB19, #561295). Para el diagnóstico las células de tinción fueron fijadas y permeabilizadas mediante el kit de Fijación y Permeabilización (Invitrogen, #GAS-003) seguido por 6 µl de cada uno de los siguientes: anti-Ig kappa-FITC (BD, clon: G20-193, # 555791) y anti-Ig lambda-PE (BD, clon: JDC-12, #555797). Para la detección de BCMA, se utilizaron 10 µg/ml de Vicky-1-Alexa488 o MAB193-Alexa488 y de los controles de isotipo de rata IgG1-Alexa488 y de rata IgG2a-Alexa488, y las muestras se incubaron durante 15 min a 4 °C. Las células fueron lavadas y las células rojas de la sangre fueron lisadas mediante un aparato FACS Lise/Wash Assistant, LWA (BD). Las señales fueron analizadas mediante un aparato citómetro de flujo FACSCanto flow cytometer (BD).

Las células de plasma fueron identificadas mediante regulación sobre la población CD45 baja, CD38 alta, CD19 baja, y en el caso en que los pacientes expresaban CD56 sobre sus células de plasma, sobre CD56 alto. Como referencia las células no de plasma fueron desviadas para CD45 alto, CD38 bajo, CD56 bajo. Las intensidades de fluorescencia del Alexa488 fueron medidas para ambas poblaciones, por ejemplo para Vicky-1 e IgG1 de rata. Los histogramas derivados a partir de anticuerpos específicos y las señal fluorescentes de control de isotipo fueron superpuestos y se

registró la diferencia. Los pacientes fueron considerados BCMA positiva si sus células no plasma no mostraban ninguna diferencia en intensidad de fluorescencia para Vicky-1 y Mab193 y controles de isotipo así como también un claro incremento en fluorescencia sobre las células de plasma para Vicky-1 y MAB193 en comparación con la fluorescencia medida para IgG1 o IgG2a de rata, respectivamente.

Los datos brutos fueron analizados mediante Flow Jo. Los pacientes recibieron números consecutivos para su identificación además de su número de muestra asignado en la fecha de la recolección de datos.

[0096] *Tinción de células OPM-2 con diferentes anticuerpos anti-BCMA*

A efectos de determinar si la proteína de BCMA se expresa o no sobre la superficie de las células de la cepa de células OPM-2 que es humana, se utilizaron sangre periférica derivada de células de mieloma múltiple, Vicky-1 así como también MAB193 para el análisis por FACS (Fig. 1). Como resultado, ambos mostraron una suficiente eficiencia de tinción para la proteína de BCMA que se expresa en una superficie de las células OPM-2. Sin embargo, se descubrió que Vicky-1 mostró un corrimiento de FACS más fuerte en comparación con MAB193 (Fig. 1), lo que significa que también se probaron las señales de fluorescencia medias (Tabla 2).

Por ello, se utilizó Vicky-1 como anticuerpo anti-BCMA para experimentos subsiguientes llevados a cabo en la presente.

mAb	Señal media de fluorescencia
Vicky-1	609
MAB193	371

Tabla 2- Señales medias de fluorescencia

[0097] *Correlación entre los niveles de expresión de proteína de ARNm en cepas de células de MM*

Como etapa siguiente, los inventores observaron el nivel de proteína de BCMA como también del ARNm de BCMA mediante chip de gen de exón humano (Affymetrix), respectivamente en 10 cepas de células de MM diferentes (Fig. 2).

Los niveles de expresión de ARNm fueron analizados en RT-PCR mediante cebadores descritos en Li et al (Med Oncol (2010) 27:439-445). En detalle, el ARN celular total fue aislado a partir de células de MM como se efectúa comúnmente en la técnica. El ARN aislado fue aplicado como una plantilla para la síntesis de ADNc de primer filamento mediante transcripción inversa (RT, reverse transcripción) y el ADNc fue utilizado como una plantilla para PCR (reacción de cadena de polimerasa). Se

utilizaron los siguientes cebadores: BCMA 5'-TTA CTTGTCCTTCCAGGCTGTTCT-3' (sentido) (SEQ ID NO:2) y 5'-CATAGAAACCAAGGAAGTTTCTACC-3' (antisentido) (SEQ ID NO:3).

La Figura 2(A) muestra el resultado del nivel de proteína de BCMA mediante FACS para lo cual se utiliza Vicky-1 en 10 cepas de células de MM. Es curioso observar que el nivel de proteína de BCMA sobre la superficie celular variaba en cada cepa de células. En especial, se observó que el NCI-H929 (muy fuertemente indicado como +++ en la Tabla 3), MOLP-2, OPM-2 así como también KMS-12-BM (fuerte indicado como ++ en la Tabla 3) mostraba una expresión muy fuerte o fuerte sobre la superficie celular de dichas cepas de células. Por otra parte, U226B1, JJN-3 y LP-1 no mostraron expresión de proteína de BCMA sobre la superficie celular de dichas cepas de células. La Figura 2(B) indica el nivel de ARNm de BCMA de 10 cepas de células diferentes. Los niveles de expansión relativos resultaron de la normalización mediante nivel de ARNm de GAPDH.

Se descubrió que el nivel de ARNm de BCMA era muy elevado, por ejemplo, en la cepa de células NCI-H929 ya que también mostró un elevado nivel de proteínas. Si bien se encontró que no había expresión de proteína de BCMA sobre la superficie celular de U266B1, JJN-3 así como también LP-1 fue detectable. El ARNm de BCMA en dichas cepas de células era detectable y se observa que el nivel de ARNm de BCMA de las cepas de células JJN-3 y LP-1 demostró valores más bien superiores. Por lo tanto, el inventor llegó a la conclusión de que no hay una correlación sólida entre la proteína de BCMA en la superficie de las células y el ARNm de BCMA en las cepas de células de MM.

	Niveles de ARNm	Niveles de proteína
NCI-H929	+++	+++
MOLP-2	++	++
OPM-2	++	++
MOLP-8	++	+
RPMI8226	+	+
KMS-12-BM	+	++
L-363	++	+
U266B1	+	-
JJN-3	++	-
LP-1	++	-

Tabla 3: síntesis de los niveles de proteína y ARNm en 10 cepas de células de MM diferentes

[0098] *Expresión de proteína de BCMA sobre las células de plasma de medula ósea de pacientes de MM*

Además, los inventores estudiaron si se expresaba o no la proteína de BCMA sobre la superficie celular de células de MM (células B malignas del plasma) de 23 pacientes de MM y se detectó mediante Vicky-1 o MAB193. Se analizaron aspirados de medula ósea de 23 pacientes para establecer la expresión de BCMA en FACS. Como resultado de ello, se encontró que el 52 por ciento (12/23) de los pacientes de MM mostraron BCMA positivo sobre las superficie celular de las células de MM; sin embargo, el 48 por ciento (11/23) de los pacientes de MM mostró BCMA negativo (Tabla 4). En la Figura 3, se detectó corrimiento de señal de FACS en las células de plasma primarias. Por otra parte, no se observó ningún corrimiento de señal en las células no plasma (Fig. 3).

Paciente N.º	Expresión de BCMA en células de plasma
1	+
2	-
3	-
4	+
5	-
6	+
7	+
8	-
9	-
10	+
11	-
12	-
13	+
14	-
15	+
16	-
17	+
18	+
19	+
20	-
21	+
22	+
23	-

Tabla 4

n.a. no aplicable

+ tinción positiva

- tinción negativa

REIVINDICACIONES

1. Un método para la estratificación de un paciente con mieloma múltiple (MM) con predisposición a responder favorablemente a una terapia con anticuerpos anti-BCMA, que comprende determinar si células B, con preferencia, células B malignas de dicho paciente expresan proteína de BCMA sobre la superficie de dichas células B, en donde dicho paciente tiene predisposición a reaccionar favorablemente a dicha terapia con anticuerpos anti-BCMA, si dichas células B expresan proteína de BCMA sobre su superficie.
2. Un método para diagnosticar un paciente con mieloma múltiple (MM) BCMA negativo, que comprende determinar si células B, con preferencia, células B malignas de dicho paciente expresan proteína de BCMA sobre su superficie, en donde dicho paciente sufre de MM BCMA negativo, si ninguna proteína de BCMA es detectable sobre la superficie de dichas células B.
3. Un método para seleccionar una terapia de mieloma múltiple (MM) a base de anticuerpos, que comprende determinar si células B, con preferencia, células B malignas de un paciente expresan proteína de BCMA sobre la superficie de dichas células B, en donde, si dichas células B son BCMA positivas, el paciente se puede someter a una terapia con anticuerpos anti-CD20 y/o una terapia con anticuerpos anti-CD38 y/o una terapia con anticuerpos anti-BCMA y/o terapia con anticuerpos anti-CS1 o si dichas células B son BCMA-negativas, el paciente está sujeto a una terapia con anticuerpos anti-CD20 y/o una terapia con anticuerpos anti-CD38 y/o una terapia con anticuerpos anti-CS1.
4. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dichas células B se obtienen de dicho paciente.
5. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde dichas células B se caracterizan por ser CD38 positivas, CD56 positivas o negativas, CD45 positivas y CD19 positivas.
6. El método de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde dicho paciente se ha de tratar con una terapia con anticuerpos anti-BCMA.
7. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho anticuerpo anti-BCMA es
un anticuerpo monoclonal,
un anticuerpo quimérico,
un anticuerpo humanizado o
un anticuerpo biespecífico.

8. El método de acuerdo con la reivindicación 6, en donde dicho anticuerpo anti-BCMA se conjuga con una toxina.
9. Una terapia con anticuerpos anti-BCMA para su uso en el tratamiento o mejora de un paciente con un mieloma múltiple (MM) cuyas células B, con preferencia, células B malignas se predisponen a ser BCMA positivas.
10. Un anticuerpo anti-BCMA para su uso en el tratamiento o mejoría de un paciente con mieloma múltiple (MM) diagnosticado con el método de cualquiera de las reivindicaciones precedentes.
11. Un anticuerpo anti-CD20 y/o un anticuerpo anti-CD38 y/o anticuerpo anti-CS1 para su uso en el tratamiento o mejoría de un paciente con mieloma múltiple (MM) cuyas células B, con preferencia, células B malignas son BCMA negativas.
12. Cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha proteína de BCMA es detectable con Vicky-1 o MAB 193.
13. Un kit que comprende un anticuerpo anti-BCMA e instrucciones para llevar a cabo el método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.

RESUMEN

[0099] La presente invención se refiere a métodos para la estratificación de un paciente con mieloma múltiple (MM) que comprende determinar si las células B, con preferencia las células B malignas, de dicho paciente expresan o no proteína de BCMA sobre su superficie. Además, los métodos para seleccionar una terapia de mieloma múltiple (MM) a base de anticuerpos se basan en si BCMA se expresa o no sobre la superficie celular de células B, con preferencia, células B malignas de un paciente. Por otra parte, se proporcionan terapias a base de anticuerpos para pacientes que tienen células B malignas de BCMA positivo.

Fijación de anticuerpos anti-BCMA a células OPM-2

Fig.1A

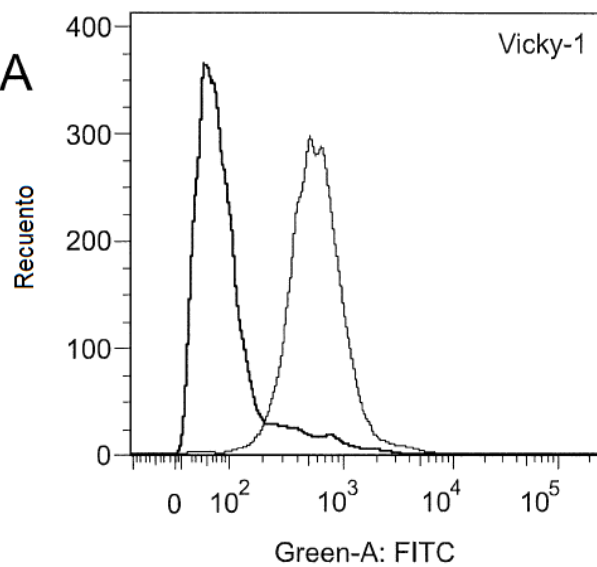


Fig.1B

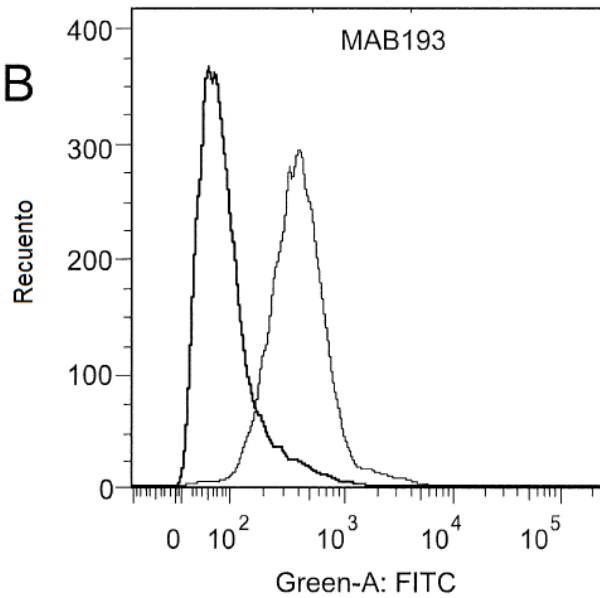
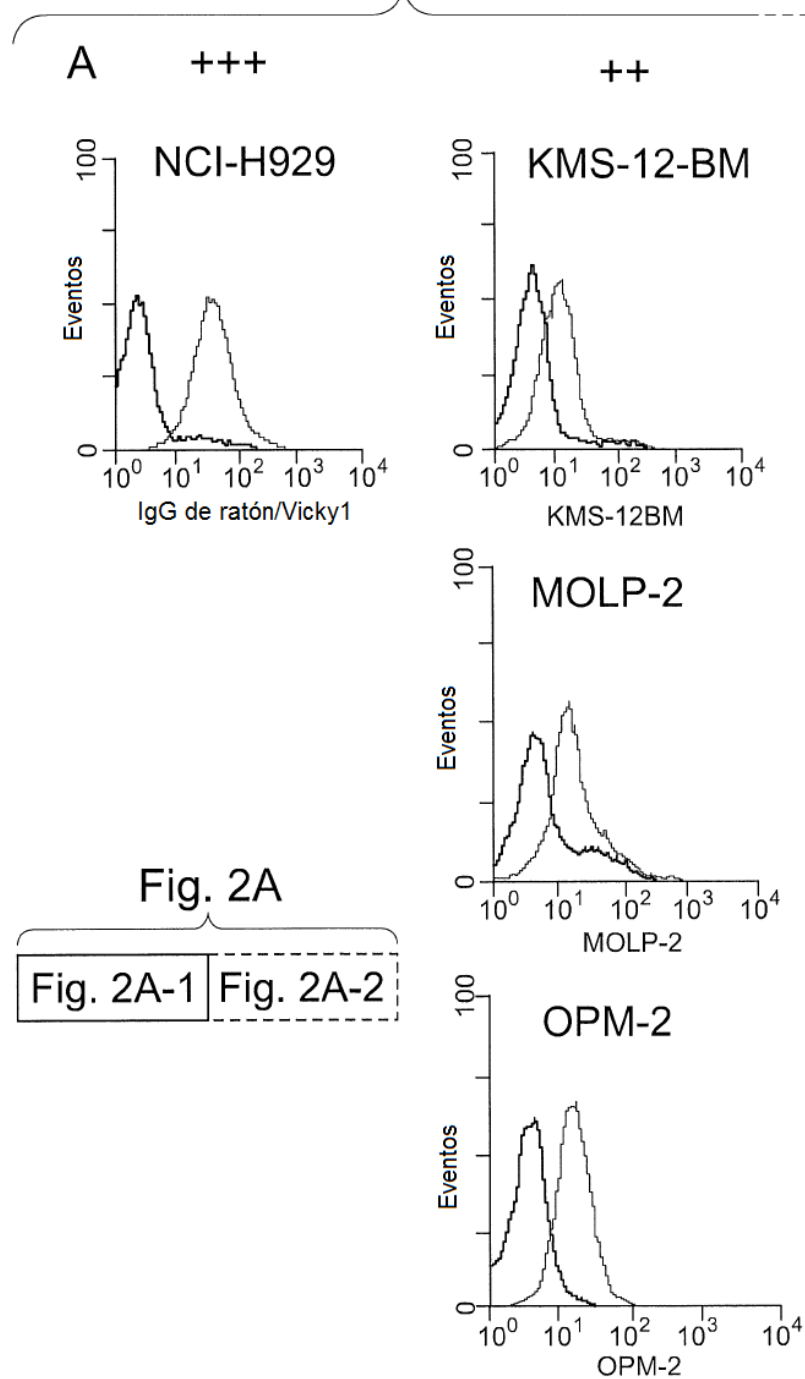


Fig. 1

2 / 6

Fig. 2A-1



3 / 6

Fig. 2A-2

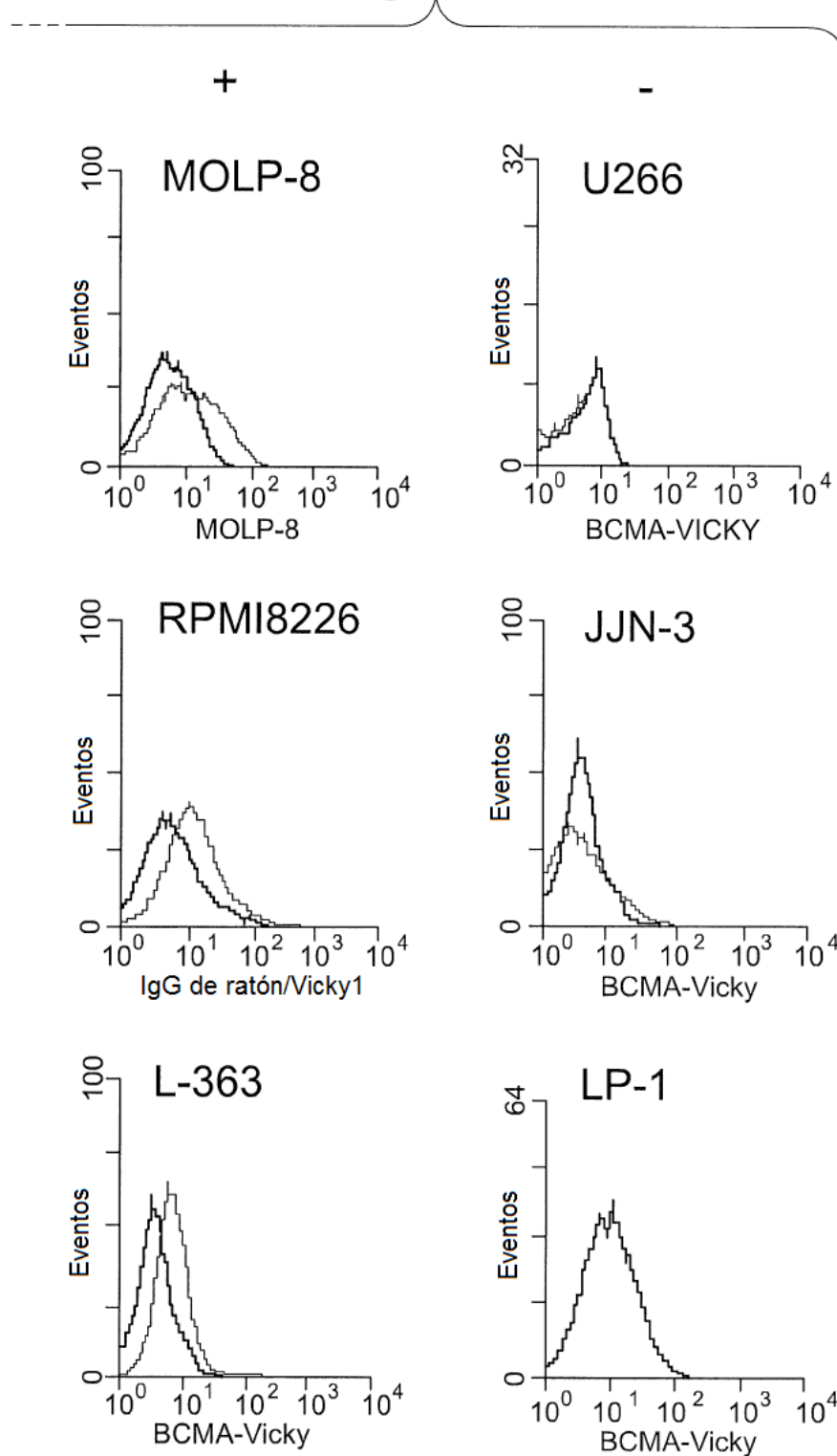


Fig. 2B

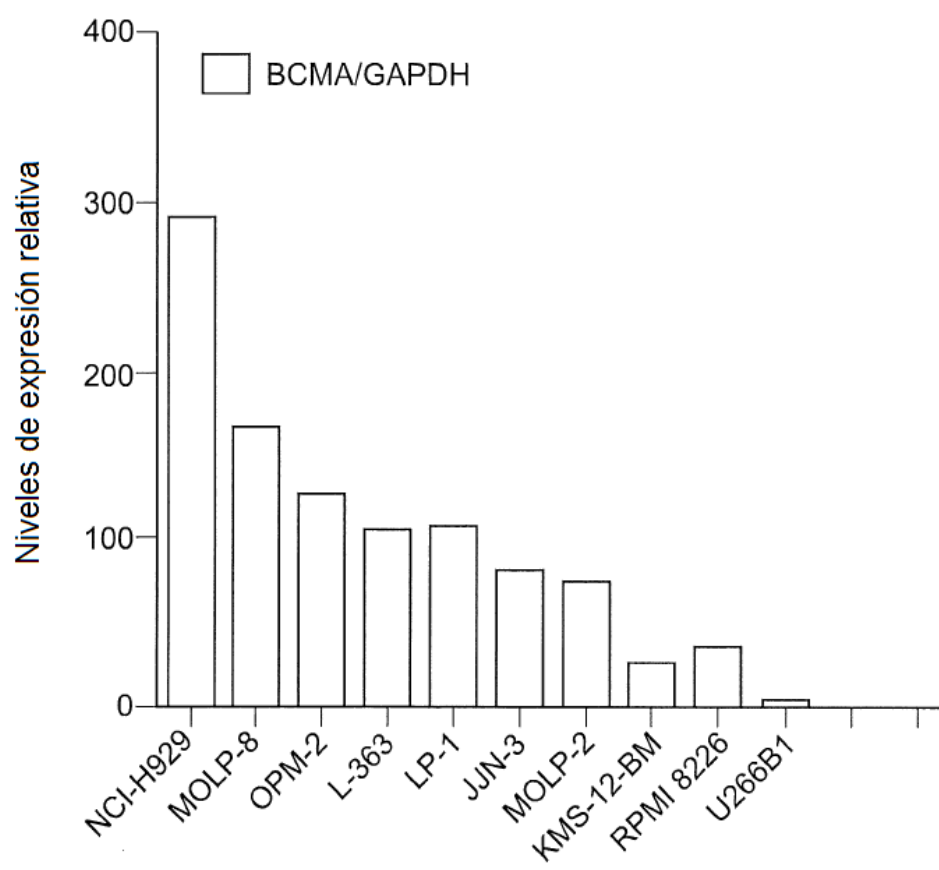


Fig. 3A

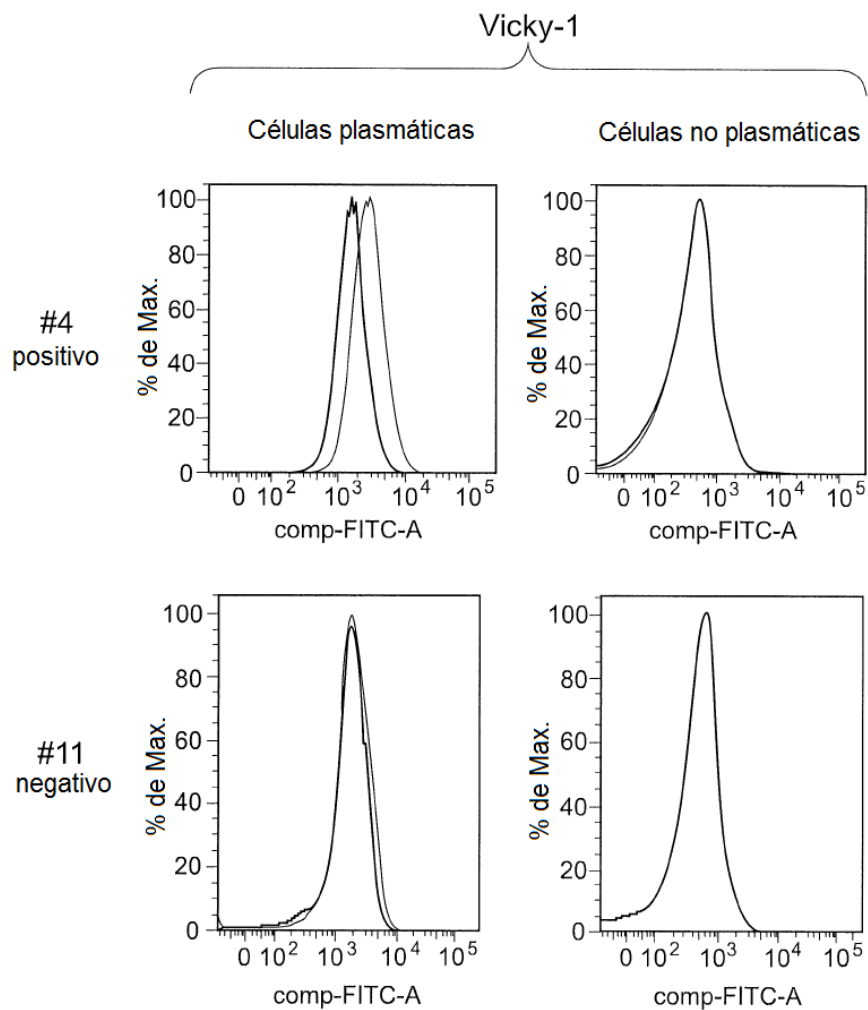


Fig. 3

Fig. 3A

Fig. 3B

6 / 6

Fig. 3B

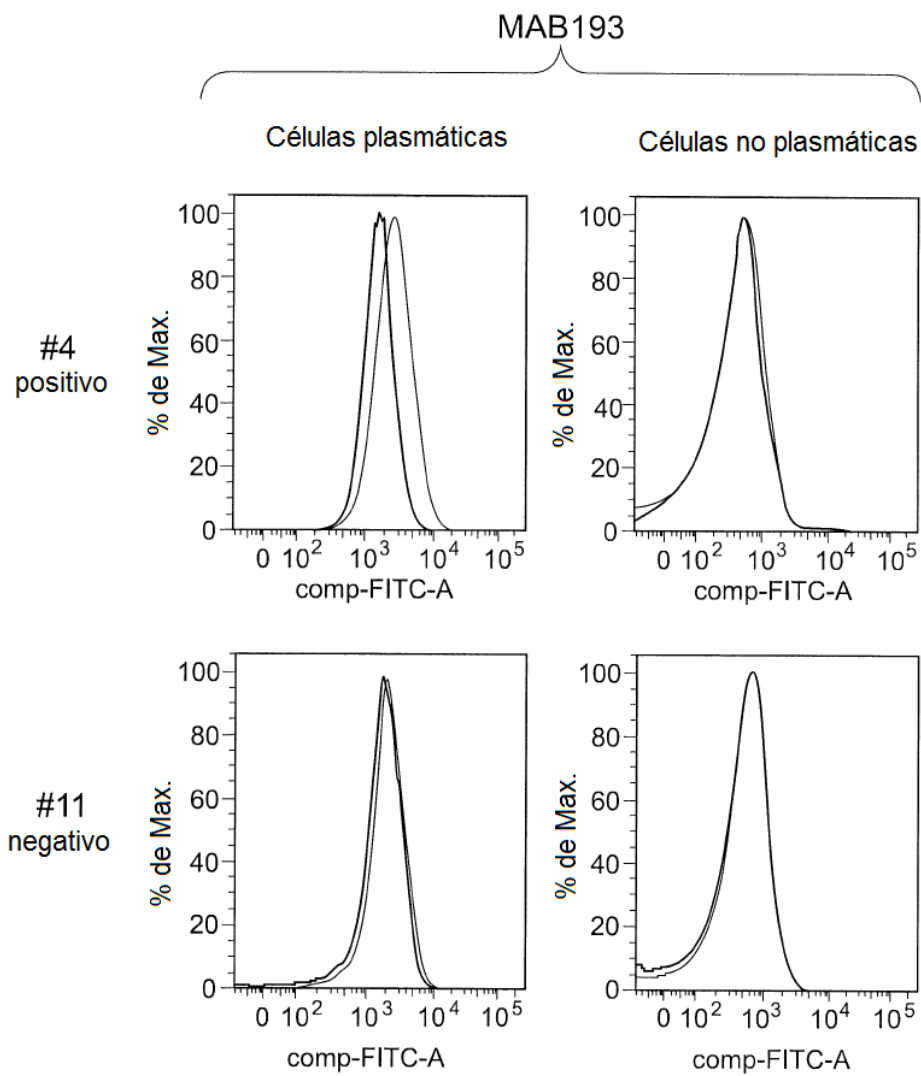


Fig. 3



12-0333-PCT-SequenceListing-Spanish
LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Boehringer Ingelheim International GmbH

<120> Estratificaciones a base de BCMA y terapia para pacientes con mieloma múltiple

<130> 12-0333-pct

<160> 3

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 184

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser
1 5 10 15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr
20 25 30

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser
35 40 45

Val Lys Gly Thr Asn Ala Ile Leu Trp Thr Cys Leu Gly Leu Ser Leu
50 55 60

Ile Ile Ser Leu Ala Val Phe Val Leu Met Phe Leu Leu Arg Lys Ile
65 70 75 80

Ser Ser Glu Pro Leu Lys Asp Glu Phe Lys Asn Thr Gly Ser Gly Leu
85 90 95

Leu Gly Met Ala Asn Ile Asp Leu Glu Lys Ser Arg Thr Gly Asp Glu
100 105 110

Ile Ile Leu Pro Arg Gly Leu Glu Tyr Thr Val Glu Glu Cys Thr Cys
115 120 125

Glu Asp Cys Ile Lys Ser Lys Pro Lys Val Asp Ser Asp His Cys Phe
130 135 140

Pro Leu Pro Ala Met Glu Glu Gly Ala Thr Ile Leu Val Thr Thr Lys
145 150 155 160

Thr Asn Asp Tyr Cys Lys Ser Leu Pro Ala Ala Leu Ser Ala Thr Glu
165 170 175

12-0333-PCT-SequenceListing-Spanish

Ile Glu Lys Ser Ile Ser Ala Arg
180

<210> 2
<211> 24
<212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> oligonucleótido sintético derivado del gen de BCMA humano

<400> 2
ttacttgtcc ttccaggctg ttct 24

<210> 3
<211> 25
<212> ADN
<213> artificial

<220>
<223> oligonucleótido sintético derivado del gen de BCMA humano

<400> 3
catagaaacc aaggaagttt ctacc 25

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 12 - 0333 - PCT	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/EP2012/057248	International filing date (<i>day/month/year</i>) 20/04/2012	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 21/04/2011
Applicant BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 4 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6*bis*(a)).

c. ☒ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No III)

4. With regard to the **title**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. 1A
☐ as suggested by the applicant
☒ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2012/057248

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:
 - a. (means)

☐

 on paper
 - ☒

 in electronic form
 - b. (time)

☒

 in the international application as filed
 - ☐

 together with the international application in electronic form
 - ☐

 subsequently to this Authority for the purpose of search
2.

☐

 In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2012/057248

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K39/395 C07K16/28 G01N33/574
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K C07K G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	RYAN MAUREEN C ET AL: "Antibody targeting of B-cell maturation antigen on malignant plasma cells", MOLECULAR CANCER THERAPEUTICS, AMERICAN ASSOCIATION OF CANCER RESEARCH, US, vol. 6, no. 11, 1 November 2007 (2007-11-01), pages 3009-3018, XP002581270, ISSN: 1535-7163 abstract	9,10,12, 13
X	----- P MOREAU ET AL: "Rituximab in CD20 positive multiple myeloma", LEUKEMIA, 1 February 2007 (2007-02-01), XP055004458, ISSN: 0887-6924, DOI: 10.1038/sj.leu.2404558 the whole document ----- -/-	11



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

15 June 2012

Date of mailing of the international search report

25/06/2012

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Rosin, Oliver

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2012/057248

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	A. J. NOVAK: "Expression of BCMA, TACI, and BAFF-R in multiple myeloma: a mechanism for growth and survival", BLOOD, vol. 103, no. 2, 15 January 2004 (2004-01-15), pages 689-694, XP055004448, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/blood-2003-06-2043 figure 2	2,9,10, 12,13
A	----- Dispenzieri ET AL: "Treatment of Newly Diagnosed Multiple Myeloma Based on Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART): Consensus Statement", Mayo Clin Proc 82(3), 1 March 2007 (2007-03-01), pages 323-341, XP055004528, Retrieved from the Internet: URL: http://mmfighters.home.comcast.net/~mmfighters/TREATMENTNEWLYDIAGNOSEDMULTIPLEMYELOMA.pdf [retrieved on 2011-08-10] the whole document -----	1