

MÉTODOS Y COMPOSICIONES PARA LA REDUCCIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD

1. Campo

Se proporcionan en el presente documento métodos y usos que implican la combinación de un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, con una proteína terapéutica, por ejemplo, un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo que se une específicamente a CD47 humano).

2. Antecedentes

Si bien los productos terapéuticos de proteínas se han utilizado para tratar una serie de enfermedades, pueden provocar una respuesta inmunológica que implica la producción de anticuerpos antifármacos cuando se administran a los sujetos. Esto puede dar como resultado una eficacia reducida de la terapéutica y/o toxicidad. Por consiguiente, existe la necesidad de métodos para reducir esta respuesta inmunológica.

El CD47, también conocido como proteína asociada a la integrina (IAP), antígeno del cáncer de ovario OA3, antígeno relacionado con Rh y MER6, es un receptor transmembrana de múltiples segmentos que pertenece a la superfamilia de inmunoglobulinas. La SIRP α (proteína reguladora de señal α) expresada en macrófagos interactúa con CD47, y esta interacción controla negativamente la función efectora de las células inmunes innatas, tal como la fagocitosis de células huésped. La expresión y/o actividad de CD47 se ha implicado en una serie de enfermedades y trastornos. Por consiguiente, existe la necesidad de terapias dirigidas a CD47.

3. Sumario

En el presente documento se proporcionan métodos y composiciones para reducir la inmunogenicidad en un sujeto, que comprenden administrar a un sujeto un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, en combinación con una proteína terapéutica, donde la inmunogenicidad se reduce en comparación con la inmunogenicidad en un sujeto cuando la proteína terapéutica se administra en solitario. En ciertos aspectos, la proteína terapéutica es un anticuerpo terapéutico. En ciertos aspectos, la proteína terapéutica es una proteína de fusión, por ejemplo, una proteína de fusión que contiene Fc, por ejemplo, una proteína de fusión de receptor soluble. En ciertos aspectos, la proteína terapéutica es una citocina. En ciertos aspectos, la proteína terapéutica es una interleucina. En ciertos aspectos, la proteína terapéutica no es una enzima. En ciertos aspectos, el sujeto es un ser humano.

En ciertos aspectos de los métodos y composiciones que se proporcionan en el presente documento, la proteína terapéutica es un anticuerpo, donde el anticuerpo terapéutico es un anticuerpo que se une a CD47, o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En aspectos específicos, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una VH CDR1 que comprende la SEQ ID NO: 50, una VH CDR2 que comprende la SEQ ID NO: 72, una VH CDR3 que comprende la SEQ ID NO: 52, una VL CDR1 que comprende la SEQ ID NO: 53, una VL CDR2 que comprende la SEQ ID NO: 71, y una VL CDR3 que comprende la SEQ ID NO: 55.

En aspectos específicos, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una VH CDR1 que comprende la SEQ ID NO: 50, una VH CDR2 que comprende la SEQ ID NO: 51, una VH CDR3 que comprende la SEQ ID NO: 52, una VL CDR1 que comprende la SEQ ID NO: 53, una VL CDR2 que comprende la SEQ ID NO: 54, y una VL CDR3 que comprende la SEQ ID NO: 55.

En ciertos aspectos, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una VH que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOS: 5-30. En ciertos aspectos, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una VL que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOS: 31-47. En ciertos aspectos, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una VH que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOS: 5-30, y una VL que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOS: 31-47.

En ciertos aspectos, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, es un isotipo de IgG seleccionado del grupo que consiste en el isotipo IgG1, isotipo IgG2, isotipo IgG3, y el isotipo IgG4. En ciertos aspectos, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, es un isotipo de IgG seleccionado de IgG4P e IgG4PE.

En ciertos aspectos, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, es un componente de una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo que se une a CD47, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En ciertos aspectos, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, es un anticuerpo quimérico, humanizado o completamente humano.

En ciertos aspectos, los métodos proporcionados en el presente documento comprenden adicionalmente administrar un segundo producto terapéutico, por ejemplo, una molécula terapéutica pequeña, tal como un producto terapéutico de quimioterapia. En aspectos específicos, dicha quimioterapia es radioterapia.

En ciertos aspectos, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 0.3, 1, 2, 4, 8, 15, o 20 mg/kg. En ciertos aspectos, el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra al sujeto a una dosis de 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, o 500 mg/m². En ciertos aspectos, el anticuerpo anti-CD20 es rituximab. En ciertos aspectos, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 0.3, 1, 2, 4, 8, 15, o 20 mg/kg, y el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra al sujeto a una dosis de 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, o 500 mg/m². En ciertos aspectos, el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra antes de la proteína terapéutica. En ciertos aspectos, el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra 1, 2, 3, 4, 5, o 6 semanas antes de la proteína terapéutica. En ciertos aspectos, el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra 1, 2, 3, 4, 5, o 6 días antes de la proteína terapéutica. En ciertos aspectos, el rituximab se administra antes del anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo. En

ciertos aspectos, el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra 1, 2, 3, 4, 5, o 6 semanas antes del anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo. En ciertos aspectos, el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra 1, 2, 3, 4, 5, o 6 días antes del anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo.

5 En ciertos aspectos, los métodos proporcionados en el presente documento no comprenden la administración de un inhibidor de proteasoma al sujeto. En ciertos aspectos, los métodos proporcionados en el presente documento no comprenden la administración de bortezomib al sujeto. En ciertos aspectos, los métodos proporcionados en el presente documento no comprenden la administración de metotrexato al sujeto.

10 En el presente documento se proporcionan métodos para tratar el cáncer, comprendiendo el método administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo que se une a CD47, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, donde el método comprende adicionalmente administrar un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, al sujeto. En ciertos aspectos, el anticuerpo anti-CD20 es rituximab. En ciertos aspectos, el sujeto es un ser humano. En ciertos
15 aspectos, los métodos proporcionados en el presente documento comprenden además administrar radiación o quimioterapia. En ciertos aspectos, los métodos proporcionados en el presente documento comprenden además administrar otro agente anticanceroso. En ciertos aspectos, el cáncer es un cáncer hematológico. En ciertos aspectos, el cáncer es un cáncer sólido. En ciertos aspectos, el cáncer es mieloma múltiple, linfoma no Hodgkin, leucemia mieloide aguda (AML), cáncer de mama (por ejemplo, cáncer de mama triple negativo), cáncer de vejiga, cáncer/carcinoma de pulmón de células no pequeñas, carcinoma hepatocelular (HCC), sarcoma, o cáncer de cabeza y cuello. En ciertos aspectos, el cáncer es
20 mieloma múltiple. En ciertos aspectos, el cáncer es linfoma no Hodgkin. En aspectos específicos, el linfoma no Hodgkin es positivo a CD20. En aspectos específicos, el linfoma no Hodgkin es recidivante o refractario. En aspectos específicos, el sujeto ha recibido previamente un régimen terapéutico que incluye anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab.

25 En el presente documento se proporcionan métodos para tratar el cáncer, comprendiendo el método administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo que se une a CD47, o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En ciertos aspectos, el sujeto es un ser humano. En ciertos aspectos, los métodos proporcionados en el presente documento comprenden
30 además administrar radiación o quimioterapia. En ciertos aspectos, los métodos proporcionados en el presente documento comprenden además administrar otro agente anticanceroso. En ciertos aspectos, el cáncer es un cáncer hematológico. En ciertos aspectos, el cáncer es un cáncer sólido. En ciertos aspectos, el cáncer es mieloma múltiple, linfoma no Hodgkin, leucemia mieloide aguda (AML), cáncer de mama (por ejemplo, cáncer de mama triple negativo), cáncer de vejiga, cáncer/carcinoma de pulmón de células no pequeñas, carcinoma hepatocelular (HCC), sarcoma, o cáncer de cabeza y cuello. En ciertos
35 aspectos, el cáncer es mieloma múltiple. En ciertos aspectos, el cáncer es linfoma no Hodgkin. En aspectos específicos, el linfoma no Hodgkin es positivo a CD20. En aspectos específicos, el linfoma no

Hodgkin es recidivante o refractario. En aspectos específicos, el sujeto ha recibido previamente un régimen terapéutico que incluye anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab.

En ciertos aspectos, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 0.3, 1, 2, 4, 8, 15, o 20 mg/kg. En ciertos aspectos, el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra al sujeto a una dosis de 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, o 500 mg/m². En ciertos aspectos, el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra antes del anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo.

En ciertos aspectos, el método no comprende la administración de un inhibidor de proteasoma al sujeto. En ciertos aspectos, el método no comprende la administración de bortezomib al sujeto. En ciertos aspectos, el método no comprende la administración de metotrexato al sujeto.

En ciertos aspectos de los métodos para tratar cáncer que se proporcionan en el presente documento, la proteína terapéutica es un anticuerpo, donde el anticuerpo terapéutico es un anticuerpo que se une a CD47, o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En aspectos específicos, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una VH CDR1 que comprende la SEQ ID NO: 50, una VH CDR2 que comprende la SEQ ID NO: 72, una VH CDR3 que comprende la SEQ ID NO: 52, una VL CDR1 que comprende la SEQ ID NO: 53, una VL CDR2 que comprende la SEQ ID NO: 71, y una VL CDR3 que comprende la SEQ ID NO: 55.

En aspectos específicos, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una VH CDR1 que comprende la SEQ ID NO: 50, una VH CDR2 que comprende la SEQ ID NO: 51, una VH CDR3 que comprende la SEQ ID NO: 52, una VL CDR1 que comprende la SEQ ID NO: 53, una VL CDR2 que comprende la SEQ ID NO: 54, y una VL CDR3 que comprende la SEQ ID NO: 55.

En ciertos aspectos, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una VH que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOS: 5-30. En ciertos aspectos, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una VL que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOS: 31-47. En ciertos aspectos, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una VH que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOS: 5-30, y una VL que comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOS: 31-47.

En ciertos aspectos, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, es un isotipo de IgG seleccionado del grupo que consiste en el isotipo IgG1, isotipo IgG2, isotipo IgG3, y el isotipo IgG4. En ciertos aspectos, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, es un isotipo de IgG seleccionado de IgG4P e IgG4PE. En ciertos aspectos, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, es quimérico, humanizado o completamente humano.

4. Descripción Detallada

4.1 Métodos

4.1.1 Métodos para reducir la inmunogenicidad

En el presente documento se proporcionan métodos para reducir la inmunogenicidad en un sujeto, que comprenden administrar a un sujeto un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, en combinación con una proteína terapéutica, donde la inmunogenicidad se reduce en comparación con la inmunogenicidad en el sujeto cuando la proteína terapéutica se administra en solitario. En ciertas realizaciones, la proteína terapéutica es un anticuerpo terapéutico. En ciertas realizaciones, la proteína terapéutica es una citocina. En ciertas realizaciones, la citocina es proteína morfogenética ósea (BMP), eritropoyetina (EPO), factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), interferón alfa (IFN- α), interferón beta (IFN- β), interleucina 2 (IL-2), interleucina 11 (IL-11) o interferón gamma (IFN- γ). En ciertas realizaciones, la proteína terapéutica es una interleucina. En ciertas realizaciones, la proteína terapéutica no es una enzima.

En ciertas realizaciones de los métodos proporcionados en el presente documento, la proteína terapéutica es un anticuerpo terapéutico, donde el anticuerpo terapéutico es un anticuerpo que se une a CD47, o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, es un componente de una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo que se une a CD47, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En ciertas realizaciones, los métodos proporcionados en el presente documento comprenden administrar quimioterapia. En realizaciones específicas, dicha quimioterapia es radioterapia.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra antes y/o simultáneamente con la proteína terapéutica. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra antes de la proteína terapéutica. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra simultáneamente con la proteína terapéutica.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra antes de y/o simultáneamente con el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra antes del anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra simultáneamente con el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo.

En ciertas realizaciones, los métodos proporcionados en el presente documento no comprenden la administración de un inhibidor de proteasoma al sujeto. En ciertas realizaciones, los métodos proporcionados en el presente documento no comprenden la administración de bortezomib al sujeto. En ciertas realizaciones, los métodos proporcionados en el presente documento no comprenden la administración de metotrexato al sujeto.

La inmunogenicidad se puede medir por cualquier método conocido por un experto en la técnica.

En ciertas realizaciones, la inmunogenicidad se mide determinando el número y/o concentración de anticuerpos antifármaco presentes en el suero. En ciertas realizaciones, la inmunogenicidad se mide determinando el título de los anticuerpos antifármaco presentes en el suero. En ciertas realizaciones, la inmunogenicidad se mide determinando la cantidad de proteína terapéutica neutralizada por volumen de suero. En ciertas realizaciones, la presencia de inmunogenicidad está indicada por la aparición de anafilaxia, síndrome de liberación de citocinas, reacciones a la infusión, hipersensibilidad retardada y/o reactividad cruzada a proteínas endógenas. En ciertas realizaciones, la inmunogenicidad se mide mediante un ensayo de detección. En realizaciones específicas, el ensayo de detección es un ensayo inmunosorbente ligado a enzimas de unión directa (ELISA), un ELISA de puente, un ensayo de radioinmunoprecipitación (RIPA), un ensayo de resonancia de plasmón superficial (SPR), un ensayo Bethesda, o un ensayo de electroquimioluminiscencia de puente. En ciertas realizaciones, la inmunogenicidad se mide mediante un ensayo de neutralización. En realizaciones específicas, el ensayo de neutralización es un ensayo biológico basado en células o un ensayo de unión a ligando competitivo no basado en células. En ciertas realizaciones, los anticuerpos antifármaco se unen a la proteína terapéutica. En ciertas realizaciones, los anticuerpos antifármaco neutralizan la proteína terapéutica. En ciertas realizaciones, los anticuerpos antifármaco se unen y neutralizan la proteína terapéutica.

En ciertos aspectos, la inmunogenicidad se mide una semana después de la primera dosis de la proteína terapéutica. En ciertos aspectos, la inmunogenicidad se mide dos semanas después de la primera dosis de la proteína terapéutica. En ciertos aspectos, la inmunogenicidad se mide tres semanas después de la primera dosis de la proteína terapéutica. En ciertos aspectos, la inmunogenicidad se mide cuatro semanas después de la primera dosis de la proteína terapéutica. En ciertos aspectos, la inmunogenicidad se mide cinco semanas después de la primera dosis de la proteína terapéutica. En ciertos aspectos, la inmunogenicidad se mide seis semanas después de la primera dosis de la proteína terapéutica.

En ciertos aspectos, la inmunogenicidad se mide semanalmente después de la primera dosis de la proteína terapéutica. En ciertos aspectos, la inmunogenicidad se mide una semana después de la primera dosis de la proteína terapéutica y semanalmente a partir de entonces. En ciertos aspectos, la inmunogenicidad se mide dos semanas después de la primera dosis de la proteína terapéutica y semanalmente a partir de entonces. En ciertos aspectos, la inmunogenicidad se mide tres semanas después de la primera dosis de la proteína terapéutica y semanalmente a partir de entonces. En ciertos aspectos, la inmunogenicidad se mide cuatro semanas después de la primera dosis de la proteína terapéutica y semanalmente a partir de entonces. En ciertos aspectos, la inmunogenicidad se mide cinco semanas después de la primera dosis de la proteína terapéutica y semanalmente a partir de entonces. En ciertos aspectos, la inmunogenicidad se mide seis semanas después de la primera dosis de la proteína terapéutica y semanalmente a partir de entonces. En ciertos aspectos, la inmunogenicidad se mide cada dos semanas después de la primera dosis de la proteína terapéutica.

seis semanas después de la primera dosis de rituximab y semanalmente a partir de entonces. En ciertos aspectos, el recuento de linfocitos B se mide cada dos semanas después de la primera dosis de rituximab.

4.1.2 Métodos para tratar el cáncer

En el presente documento se proporcionan métodos para tratar el cáncer, comprendiendo el método administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo que se une a CD47, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, donde el método comprende adicionalmente administrar un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, al sujeto. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20 es rituximab. También se proporcionan en el presente documento métodos para tratar el cáncer, comprendiendo el método administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo que se une a CD47, o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En ciertas realizaciones, los métodos para tratar el cáncer proporcionados en el presente documento comprenden además administrar radiación o quimioterapia. En ciertas realizaciones, los métodos proporcionados en el presente documento comprenden además administrar otro agente anticanceroso. En ciertas realizaciones, el cáncer es un cáncer hematológico. En ciertas realizaciones, el cáncer es un cáncer sólido. En ciertas realizaciones, el cáncer es mieloma múltiple, linfoma no Hodgkin, leucemia mieloide aguda (AML), cáncer de mama (por ejemplo, cáncer de mama triple negativo), cáncer de vejiga, cáncer/carcinoma de pulmón de células no pequeñas, carcinoma hepatocelular (HCC), sarcoma, o cáncer de cabeza y cuello. En realizaciones específicas, el cáncer es linfoma no Hodgkin. En realizaciones específicas, el linfoma no Hodgkin es positivo a CD20. En realizaciones específicas, el linfoma no Hodgkin es recurrente o refractario. En realizaciones específicas, el sujeto se ha tratado previamente con un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra antes de y/o simultáneamente con el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20 es rituximab. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra antes del anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra simultáneamente con el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo.

En ciertas realizaciones, el método no comprende la administración de un inhibidor de proteasoma al sujeto. En ciertas realizaciones, el método no comprende la administración de bortezomib al sujeto. En ciertas realizaciones, el método no comprende la administración de metotrexato al sujeto. En ciertas realizaciones, el método comprende adicionalmente administrar metotrexato al sujeto.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, es un componente de una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo que se une a CD47, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En ciertas realizaciones, se proporcionan en el presente documento métodos de protección contra una afección o trastorno, tal como cáncer, usando un anticuerpo anti-CD47 descrito en el presente documento en solitario o en combinación con un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab.

En realizaciones particulares, se proporcionan en el presente documento métodos para gestionar, tratar, prevenir o proteger contra el cáncer, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno descrito en el presente documento que se une específicamente a CD47 (por ejemplo, CD47 humano) en solitario o en combinación con un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab. En ciertas realizaciones, en el presente documento se proporciona un método para aliviar, inhibir o reducir la progresión o gravedad de uno o más síntomas asociados con el cáncer.

Como se usa en el presente documento, "administrar" o "administración" se refiere al acto de inyectar o administrar físicamente de otro modo una sustancia (por ejemplo, anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, o un anticuerpo anti-CD47 proporcionado en el presente documento, o un fragmento de unión a antígeno del mismo) a un sujeto o paciente (por ejemplo, un ser humano), tal como por administración mucosa, tópica, intradérmica, parenteral, intravenosa, subcutánea, intramuscular y/o cualquier otro método de administración física descrito en el presente documento o conocido en la técnica. En ciertas realizaciones, la administración del anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se realiza por vía intravenosa. En ciertas realizaciones, la administración de un anticuerpo anti-CD47 proporcionado en el presente documento se realiza por vía intravenosa. En ciertas realizaciones, la administración de rituximab y un anticuerpo anti-CD47 proporcionado en el presente documento se realiza por vía intravenosa.

Como se usa en el presente documento, el término "cantidad eficaz" se refiere a una cantidad de una composición (por ejemplo, un anticuerpo o composición farmacéutica proporcionada en el presente documento, o un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, o una composición farmacéutica proporcionada en el presente documento) que es suficiente para lograr un resultado específico, por ejemplo, reducir y/o mejorar la gravedad y/o duración de una afección, trastorno o enfermedad dada (por ejemplo, cáncer, metástasis o angiogénesis) y/o un síntoma relacionado con los mismos. Tal término también abarca una cantidad necesaria para la reducción, ralentización o mejora del avance o la progresión de una enfermedad determinada, reducción, ralentización o mejora de la recidiva, desarrollo o aparición de una enfermedad determinada, y/o para mejorar o potenciar el efecto o efectos profilácticos o terapéuticos de otra terapia (por ejemplo, una terapia diferente de un anticuerpo anti-CD47 proporcionado en el presente documento). En algunas realizaciones, "cantidad eficaz", como se usa en el presente documento, se refiere a la cantidad del anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, asociado con una reducción en la inmunogenicidad de una proteína terapéutica, como se describe en el presente documento.

Las dosis de anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, por ejemplo, a administrar en combinación con una proteína terapéutica, tal como un anticuerpo anti-CD47, pueden incluir de aproximadamente 0.1 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal. Las dosis

de rituximab, por ejemplo, a administrar en combinación con una proteína terapéutica, tal como un anticuerpo anti-CD47, pueden incluir de aproximadamente 25 mg/m² a aproximadamente 1500 mg/m². En algunas realizaciones, rituximab se administra a un sujeto a una dosis de 0.1 mg/kg, 0.5 mg/kg, 1 mg/kg, 2 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg, 20 mg/kg, 25 mg/kg, 30 mg/kg, 50 mg/kg, 75 mg/kg, 100 mg/kg, o más. En ciertas realizaciones, rituximab se administra al sujeto a una dosis de 0.1, 0.3, 0.5, 1, 2, 4, 5, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 50, 75 o 100 mg/kg. En ciertas realizaciones, rituximab se administra al sujeto a una dosis de 0.3, 1, 2, 4, 8, 15, o 20 mg/kg. En algunas realizaciones, rituximab se administra a un sujeto a una dosis de 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 750, 1000, 1250, 1500 mg/m², o más. En ciertas realizaciones, rituximab se administra al sujeto a una dosis de 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, o 500 mg/m². En ciertas realizaciones, rituximab se administra al sujeto a una dosis de 375 mg/m².

Las frecuencias de dosificación del anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, pueden variar, por ejemplo, de dos veces al día a una vez al mes. En ciertas realizaciones, rituximab se administra al sujeto a una dosis de 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, o 500 mg/m² una vez a la semana. En ciertas realizaciones, el rituximab se administra al sujeto a una dosis de 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, o 500 mg/m² cada dos semanas. En ciertas realizaciones, el rituximab se administra al sujeto a una dosis de 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, o 500 mg/m² cada cuatro semanas. En ciertas realizaciones, rituximab se administra al sujeto a una dosis de 375 mg/m² una vez a la semana. En ciertas realizaciones, rituximab se administra al sujeto a una dosis de 375 mg/m² cada dos semanas. En ciertas realizaciones, rituximab se administra al sujeto a una dosis de 375 mg/m² cada cuatro semanas.

Las dosis del anticuerpo anti-CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, por ejemplo, a administrar en combinación con el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, pueden incluir de aproximadamente 0.1 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-CD47 se administra a un sujeto a una dosis de 0.1 mg/kg, 0.5 mg/kg, 1 mg/kg, 2 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg, 20 mg/kg, 25 mg/kg, 30 mg/kg, 50 mg/kg, 75 mg/kg, 100 mg/kg, o más. En ciertas realizaciones, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 0.1, 0.3, 0.5, 1, 2, 4, 5, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 50, 75 o 100 mg/kg. En ciertas realizaciones, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 0.3, 1, 2, 4, 8, 15, o 20 mg/kg.

Las frecuencias de dosificación del anticuerpo anti-CD47, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, pueden variar, por ejemplo, de dos veces al día a una vez a la semana. En ciertas realizaciones, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 0.3, 1, 2, 4, 8, 15, o 20 mg/kg una vez a la semana. En ciertas realizaciones, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 0.3, 1, 2, 4, 8, 15, o 20 mg/kg dos veces a la semana. En ciertas realizaciones, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 8 mg/kg dos veces a la semana. En ciertas realizaciones, el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 20 mg/kg una vez a la semana.

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra a un sujeto a una dosis de 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 750, 1000, 1250, 1500 mg/m², y el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 0.1, 0.3, 0.5, 1, 2, 4, 5, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 50, 75 o 100 mg/kg. En ciertas realizaciones, rituximab se administra al sujeto a una dosis de 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, o 500 mg/m² y el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 0.3, 1, 2, 4, 8, 15, o 20 mg/kg. En ciertas realizaciones, rituximab se administra al sujeto a una dosis de 375 mg/m² y el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 0.3, 1, 2, 4, 8, 15, o 20 mg/kg. En ciertas realizaciones, rituximab se administra al sujeto a una dosis de 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, o 500 mg/m² una vez a la semana y el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 0.3, 1, 2, 4, 8, 15, o 20 mg/kg una vez a la semana.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra al sujeto a una dosis de 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, o 500 mg/m² cada dos semanas y el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 0.3, 1, 2, 4, 8, 15, o 20 mg/kg dos veces a la semana. En ciertas realizaciones, el rituximab se administra al sujeto a una dosis de 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, o 500 mg/m² cada dos semanas y el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 8 mg/kg dos veces a la semana. En ciertas realizaciones, el rituximab se administra al sujeto a una dosis de 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, o 500 mg/m² cada dos semanas y el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 8 mg/kg dos veces a la semana. En ciertas realizaciones, el rituximab se administra al sujeto a una dosis de 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, o 500 mg/m² cada dos semanas y el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 20 mg/kg una vez a la semana.

En ciertas realizaciones, el rituximab, el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra al sujeto a una dosis de 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, o 500 mg/m² cada cuatro semanas y el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 0.3, 1, 2, 4, 8, 15, o 20 mg/kg dos veces a la semana. En ciertas realizaciones, el rituximab se administra al sujeto a una dosis de 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, o 500 mg/m² cada cuatro semanas y el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 8 mg/kg dos veces a la semana. En ciertas realizaciones, el rituximab se administra al sujeto a una dosis de 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, o 500 mg/m² cada cuatro semanas y el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 8 mg/kg dos veces a la semana. En ciertas realizaciones, el rituximab se administra al sujeto a una dosis de 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, o 500 mg/m² cada cuatro

semanas y el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 20 mg/kg una vez a la semana.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra al sujeto a una dosis de 375 mg/m² una vez a la semana y el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 0.3, 1, 2, 4, 8, 15, o 20 mg/kg dos veces a la semana. En ciertas realizaciones, rituximab se administra al sujeto a una dosis de 375 mg/m² una vez a la semana y el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 8 mg/kg dos veces a la semana. En ciertas realizaciones, rituximab se administra al sujeto a una dosis de 375 mg/m² una vez a la semana y el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 8 mg/kg dos veces a la semana. En ciertas realizaciones, rituximab se administra al sujeto a una dosis de 375 mg/m² una vez a la semana y el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 20 mg/kg una vez a la semana.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra al sujeto a una dosis de 375 mg/m² cada dos semanas y el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 0.3, 1, 2, 4, 8, 15, o 20 mg/kg dos veces a la semana. En ciertas realizaciones, rituximab se administra al sujeto a una dosis de 375 mg/m² cada dos semanas y el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 8 mg/kg dos veces a la semana. En ciertas realizaciones, rituximab se administra al sujeto a una dosis de 375 mg/m² cada dos semanas y el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 8 mg/kg dos veces a la semana. En ciertas realizaciones, rituximab se administra al sujeto a una dosis de 375 mg/m² cada dos semanas y el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 20 mg/kg una vez a la semana.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra al sujeto a una dosis de 375 mg/m² cada cuatro semanas y el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 0.3, 1, 2, 4, 8, 15, o 20 mg/kg dos veces a la semana. En ciertas realizaciones, rituximab se administra al sujeto a una dosis de 375 mg/m² cada cuatro semanas y el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 8 mg/kg dos veces a la semana. En ciertas realizaciones, rituximab se administra al sujeto a una dosis de 375 mg/m² cada cuatro semanas y el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 8 mg/kg dos veces a la semana. En ciertas realizaciones, rituximab se administra al sujeto a una dosis de 375 mg/m² cada cuatro semanas y el anticuerpo que se une a CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra al sujeto a una dosis de 20 mg/kg una vez a la semana.

Como se usa en el presente documento, el término "en combinación" en el contexto de la administración de otras terapias se refiere al uso de más de una terapia. El uso del término "en

combinación" no restringe el orden en que se administran las terapias. Las terapias pueden administrarse, por ejemplo, en serie, secuencial, simultánea o concomitantemente.

En ciertas realizaciones de los métodos proporcionados en el presente documento, un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra antes de una proteína terapéutica, por ejemplo, un anticuerpo anti-CD47. En ciertas realizaciones de los métodos proporcionados en el presente documento, un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra simultáneamente con una proteína terapéutica, por ejemplo, un anticuerpo anti-CD47. En ciertas realizaciones de los métodos proporcionados en el presente documento, un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra después de una proteína terapéutica, por ejemplo, un anticuerpo anti-CD47. En ciertas realizaciones de los métodos proporcionados en el presente documento, un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, se administra antes de y simultáneamente con una proteína terapéutica, por ejemplo, un anticuerpo anti-CD47.

Como se usa en el presente documento, los términos "sujeto" y "paciente" se usan indistintamente. Como se usa en el presente documento, un sujeto es un mamífero tal como un no primate (por ejemplo, vacas, cerdos, caballos, gatos, perros, cabras, conejos, ratas, ratones, etc.) o un primate (por ejemplo, mono y humano), por ejemplo un ser humano. En una realización, el sujeto es un mamífero, por ejemplo, un humano, diagnosticado con una afección o trastorno proporcionado en el presente documento (por ejemplo, cáncer, metástasis o angiogénesis). En otra realización, el sujeto es un mamífero, por ejemplo, un ser humano, en riesgo de desarrollar una afección o trastorno proporcionado en el presente documento (por ejemplo, cáncer, metástasis o angiogénesis). En otra realización, el sujeto es humano.

Como se usa en el presente documento, "cáncer hematológico" se refiere a un cáncer de la sangre, e incluye leucemia, linfoma y mieloma, entre otros. La "leucemia" se refiere a un cáncer de la sangre en el que se producen demasiados glóbulos blancos que no son eficaces para combatir las infecciones, excluyendo de este modo las otras partes que forman la sangre, tales como las plaquetas y los glóbulos rojos. Se entiende que los casos de leucemia se clasifican como agudos o crónicos. Ciertas formas de leucemia incluyen, a modo de ejemplo no limitativo, leucemia linfocítica aguda (ALL); leucemia mieloide aguda (AML); leucemia linfocítica crónica (CLL); leucemia mielógena crónica (CML); trastorno mieloproliferativo/neoplasia (MPDS); y síndrome de mielodisplasia. "Linfoma" puede referirse a un linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin tanto indolente como agresivo, linfoma de Burkitt, y linfoma folicular (células pequeñas y células grandes), entre otros. El mieloma puede referirse a mieloma múltiple (MM), mieloma de células gigantes, mieloma de cadena pesada y mieloma de cadena ligera o de Bence-Jones. En ciertas realizaciones, el cáncer hematológico es mieloma múltiple. En ciertas realizaciones, el cáncer hematológico es linfoma no Hodgkin.

Los ejemplos no limitativos de una afección que se puede tratar o gestionar con un anticuerpo anti-CD47 descrito en el presente documento, en solitario o en combinación con un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, incluyen cáncer hematológico y/o tumores sólidos, así como las enfermedades o trastornos relacionados con la expresión, actividad y/o señalización aberrante de CD47 incluyen, a modo

de ejemplo no limitante, cáncer hematológico y/o tumores sólidos. Los cánceres hematológicos incluyen, por ejemplo, leucemia, linfoma y mieloma. Ciertas formas de leucemia incluyen, a modo de ejemplo no limitativo, leucemia linfocítica aguda (ALL); leucemia mieloide aguda (AML); leucemia linfocítica crónica (CLL); leucemia mielógena crónica (CML); trastorno mieloproliferativo/neoplasia (MPDS); y síndrome de mielodisplasia. Ciertas formas de linfoma incluyen, a modo de ejemplo no limitante, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin tanto indolente como agresivo, linfoma de Burkitt, y linfoma folicular (células pequeñas y células grandes). Ciertas formas de mieloma incluye, a modo de ejemplo no limitante, mieloma múltiple (MM), mieloma de células gigantes, mieloma de cadena pesada y mieloma de cadena ligera o de Bence-Jones. Los tumores sólidos incluyen, por ejemplo, tumores de mama, tumores de ovario, tumores de pulmón, tumores de páncreas, tumores de próstata, tumores de melanoma, tumores colorrectales, tumores de pulmón, tumores de cabeza y cuello, tumores de vejiga, tumores de esófago, tumores de hígado y tumores de riñón.

Los síntomas asociados con cánceres y otros trastornos neoplásicos incluyen, por ejemplo, inflamación, fiebre, malestar general, fiebre, dolor, a menudo localizado en el área inflamada, pérdida de apetito, pérdida de peso, edema, dolor de cabeza, fatiga, erupción cutánea, anemia, debilidad muscular, fatiga muscular y síntomas abdominales tales como, por ejemplo, dolor abdominal, diarrea o estreñimiento.

En aspectos específicos, se proporcionan en el presente documento anticuerpos anti-CD47 útiles, en solitario o en combinación con un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, para tratar, retrasar la progresión, impedir, prevenir la recidiva de o el alivio de un síntoma de un cáncer (por ejemplo, MM, NHL, AML, cáncer de seno (por ejemplo, cáncer de seno triple negativo), cáncer de vejiga, cáncer/carcinoma de pulmón de células no pequeñas, carcinoma hepatocelular (HCC), sarcoma y cáncer de cabeza y cuello). Por ejemplo, los anticuerpos CD47 descritos en el presente documento son útiles, en solitario o en combinación con un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, en el tratamiento de neoplasias y/o tumores hematológicos, por ejemplo, neoplasias y/o tumores hematológicos. Por ejemplo, los anticuerpos CD47 descritos en el presente documento son útiles en el tratamiento de tumores CD47+. A modo de ejemplo no limitante, los anticuerpos CD47 descritos en el presente documento son útiles en el tratamiento del linfoma no Hodgkin (NHL), leucemia linfocítica aguda (ALL), leucemia mieloide aguda (AML), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mielógena crónica (CML), mieloma múltiple (MM), cáncer de mama (por ejemplo, cáncer de mama triple negativo), cáncer de ovario, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de vejiga, melanoma, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón, leiomioma, leiomiosarcoma, glioma, glioblastoma, etc. Los tumores sólidos incluyen, por ejemplo, tumores de mama, tumores de ovario, tumores de pulmón (por ejemplo, NSCLC), tumores de páncreas, tumores de próstata, tumores de melanoma, tumores colorrectales, tumores de pulmón, tumores de cabeza y cuello, tumores de vejiga, tumores de esófago, tumores de hígado (por ejemplo, carcinoma hepatocelular), sarcoma y tumores de riñón.

En una realización específica, en el presente documento se proporciona un método para tratar el cáncer (por ejemplo, un trastorno/cáncer hematológico o cáncer sólido) en un sujeto que comprende

administrar (por ejemplo, administrar concurrente o secuencialmente) a un sujeto que lo necesite (i) un anticuerpo anti-CD47 descrito en el presente documento, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a CD47, tal como CD47 humano, en solitario o en combinación con un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, y (ii) otro agente anticanceroso. En ciertas realizaciones, el agente anticanceroso es un agente quimioterapéutico (por ejemplo, bloqueador de desmontaje de microtúbulos, antimetabolito, inhibidor de topoisomerasa y agente de reticulación o agente de daño al ADN). En ciertas realizaciones, el agente anticanceroso es un inhibidor de tirosina cinasa (por ejemplo, GLEEVEC® (mesilato de imatinib) o SUTENT® (SU11248 o Sunitinib)). Otros ejemplos no limitantes de inhibidores de la tirosina cinasa incluyen 706 y AMNI07 (nilotinib). RAD001, PKC412, gefitinib (IRESSA™), erlotinib (TARCEVA®), sorafenib (NEXAVAR®), pazopanib (VOTRIENT™), axitinib, bosutinib, cediranib (RECENTIN®), SPRYCEL® (dasatinib), lapatinib (TYKERB®), lestaurtinib, neratinib, nilotinib (TASIGNA®), semaxanib, toceranib (PALLADIA™), vandetanib (ZACTIMA™), y vatalanib.

En un aspecto específico, en el presente documento se proporciona un método para tratar el cáncer (por ejemplo, un trastorno/cáncer hematológico o cáncer sólido) en un sujeto que comprende administrar (por ejemplo, administrar concurrente o secuencialmente) a un sujeto que lo necesite (i) un anticuerpo anti-CD47 descrito en el presente documento, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a CD47, tal como CD47 humano, en solitario o en combinación con un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, y (ii) radioterapia.

En un aspecto particular, se proporciona en el presente documento un método para promover (por ejemplo, inducir o aumentar) la fagocitosis, por ejemplo, la destrucción fagocítica mediada por macrófagos de las células tumorales, que comprende poner en contacto una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD47 descrito en el presente documento que se une específicamente a CD47 humano con células tumorales, en solitario o en combinación con un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab. También se proporciona en el presente documento un método para promover (por ejemplo, inducir o aumentar) la fagocitosis, por ejemplo, la destrucción fagocítica mediada por macrófagos de células tumorales, en un sujeto que lo necesite (por ejemplo, un sujeto con células tumorales, tales como células tumorales que expresan CD47), que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD47 descrito en el presente documento que se une específicamente a CD47 humano, en solitario o en combinación con un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab.

En un aspecto particular, se proporciona en el presente documento un método para reducir el volumen tumoral, que comprende poner en contacto una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD47 descrito en el presente documento que se une específicamente a CD47 humano con el tumor, en solitario o en combinación con un anticuerpo anti-CD20 por ejemplo, rituximab. También se proporciona en el presente documento un método para reducir el volumen tumoral en un sujeto que lo necesite (por ejemplo, un sujeto con un tumor, tal como un tumor que expresa CD47), que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD47 descrito en el presente documento que específicamente se une al CD47 humano, en solitario o en combinación con un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab.

En un aspecto particular, se proporciona en el presente documento un método para inhibir el crecimiento o la proliferación de células cancerosas, que comprende poner en contacto una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD47 descrito en el presente documento que se une específicamente al CD47 humano con células cancerosas, en solitario o en combinación con un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab. También se proporciona en el presente documento un método para inhibir el crecimiento o la proliferación de células cancerosas en un sujeto que lo necesita (por ejemplo, un sujeto con células cancerosas, tales como células cancerosas que expresan CD47), que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD47 descrito en el presente documento que se une específicamente a CD47 humano, en solitario o en combinación con un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab.

4.2 Composiciones

4.2.1 Proteínas terapéuticas

Las proteínas terapéuticas utilizadas en los métodos descritos en el presente documento, por ejemplo, en combinación con un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, pueden ser cualquier proteína terapéutica conocida por un experto en la técnica. En ciertas realizaciones, la proteína terapéutica es una citocina. En ciertas realizaciones, la citocina es proteína morfogenética ósea (BMP), eritropoyetina (EPO), factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), interferón alfa (IFN- α), interferón beta (IFN- β), interleucina 2 (IL-2), interleucina 11 (IL-11) o interferón gamma (IFN- γ). En ciertas realizaciones, la proteína terapéutica es una interleucina. En ciertas realizaciones, la proteína terapéutica no es una enzima.

En ciertas realizaciones, la proteína terapéutica es una proteína de fusión, por ejemplo, una proteína de fusión que contiene Fc, por ejemplo, una proteína de fusión de receptor soluble.

4.2.2 Anticuerpos

Las proteínas terapéuticas utilizadas en los métodos descritos en el presente documento, por ejemplo, en combinación con un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, pueden ser proteínas terapéuticas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20 es rituximab. Rituximab (RITUXAN®, Biogen/Genentech) es un anticuerpo kappa IgG₁ monoclonal murino/humano quimérico dirigido contra el antígeno CD20. El rituximab tiene un peso molecular aproximado de 145 kD y una afinidad de unión por el antígeno CD20 de aproximadamente 8.0 nM. El rituximab es producido por un cultivo en suspensión de células de mamífero (ovario de hámster chino) en un medio de nutrientes que contiene el antibiótico gentamicina. La gentamicina no es detectable en el producto final. RITUXAN® es un concentrado líquido estéril, transparente, incoloro, sin conservantes para administración intravenosa. RITUXAN® se suministra a una concentración de 10 mg/ml en viales de un solo uso de 100 mg/10 ml o 500 mg/50 ml. El producto está formulado en polisorbato 80 (0.7 mg/ml), cloruro de sodio (9 mg/ml), citrato de sodio dihidrato (7.35 mg/ml) y agua para inyección. El pH es 6.5. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20 es ocrelizumab. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20 es ofatumumab. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20 es obinutuzumab. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-

CD20 es tositumomab. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20 es ibritumomab. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20 es ocaratuzumab. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20 es veltuzumab.

Como se usa en el presente documento y, a menos que se especifique lo contrario, los términos "alrededor de" o "aproximadamente" significan dentro de más o menos el 10 % de un valor o intervalo dado. En los casos en que se requiere un número entero, los términos significan más o menos un 10 % de un valor o intervalo dado, redondeados hacia arriba o hacia abajo al número entero más cercano.

Como se usa en el presente documento, los términos "anticuerpo" e "inmunoglobulina" e "Ig" son términos de la técnica y pueden usarse indistintamente en el presente documento y se refieren a una molécula con un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a un antígeno.

Los anticuerpos proporcionados en el presente documento pueden incluir, por ejemplo, anticuerpos monoclonales, anticuerpos producidos recombinantemente, anticuerpos monoespecíficos, anticuerpos multiespecíficos (incluidos anticuerpos biespecíficos), anticuerpos humanos, anticuerpos humanizados, anticuerpos murinos (por ejemplo, anticuerpos de ratón o rata), anticuerpos quiméricos, anticuerpos sintéticos y anticuerpos tetraméricos que comprenden dos moléculas de cadena pesada y dos de cadena ligera. En realizaciones específicas, los anticuerpos pueden incluir, pero sin limitación, un monómero de cadena ligera de anticuerpo, un monómero de cadena pesada de anticuerpo, un dímero de cadena ligera de anticuerpo, un dímero de cadena pesada de anticuerpo, un par de cadena ligera de anticuerpo-cadena pesada de anticuerpo, intracuerpos, anticuerpos heteroconjugados, anticuerpos de dominio único y anticuerpos monovalentes. En una realización específica, los anticuerpos pueden incluir fragmentos de unión a antígeno o fragmentos de unión a epítipo tales como, pero sin limitación, anticuerpos monocatenarios o Fv monocatenarios (scFv) (por ejemplo, incluyendo anticuerpos monoespecíficos, biespecíficos, etc.), camelizados, aficuerpos, fragmentos Fab, fragmentos F(ab'), fragmentos F(ab')₂ y Fv unidos a disulfuro (sdFv). En ciertas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento se refieren a poblaciones de anticuerpos policlonales.

Los anticuerpos pueden ser de cualquier tipo (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA o IgY), cualquier clase (por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ o IgA₂), o cualquier subclase (por ejemplo, IgG_{2a} o IgG_{2b}) de la molécula de inmunoglobulina. En ciertas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento son anticuerpos IgG, o una clase (por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃ o IgG₄ humanos) o subclase de los mismos. En ciertas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento son anticuerpos IgG₁ (por ejemplo, IgG₁ humano) o una subclase de los mismos. En ciertas realizaciones, los anticuerpos IgG₁ descritos en el presente documento comprenden una o más sustituciones de aminoácidos y/o eliminaciones en la región constante. En ciertas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento son anticuerpos IgG₄ (por ejemplo, IgG₄ humano) o una subclase de los mismos. En ciertas realizaciones, los anticuerpos IgG₄ descritos en el presente documento comprenden una o más sustituciones de aminoácidos y/o eliminaciones en la región constante.

Como se usa en el presente documento, un "antígeno" es un resto o molécula que contiene un epítipo al que se puede unir específicamente un anticuerpo. Como tal, un antígeno también está unido específicamente por un anticuerpo.

Como se usa en el presente documento, un "epítipo" es un término en la técnica y se refiere a una región localizada de un antígeno al que se puede unir específicamente un anticuerpo. Un epítipo puede ser un epítipo lineal o un epítipo conformacional, no lineal o discontinuo. En el caso de un antígeno polipeptídico, por ejemplo, un epítipo pueden ser aminoácidos contiguos del polipéptido (un epítipo "lineal") o un epítipo puede comprender aminoácidos de dos o más regiones no contiguas del polipéptido (un epítipo "conformacional", "no lineal" o "discontinuo"). Un experto en la técnica apreciará que, en general, un epítipo lineal puede o no depender de una estructura secundaria, terciaria o cuaternaria.

Como se usa en el presente documento, el término "anticuerpo monoclonal" es un término de la técnica bien conocido que se refiere a un anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos homogéneos o sustancialmente homogéneos. El término "monoclonal" no se limita a ningún método particular para fabricar el anticuerpo. Generalmente, una población de anticuerpos monoclonales puede ser generada por células, una población de células, o una línea celular. En realizaciones específicas, un "anticuerpo monoclonal", como se usa en el presente documento, es un anticuerpo producido por una sola célula o línea celular donde el anticuerpo se une inmuno-específicamente a un epítipo CD47 según se determina, por ejemplo, mediante ELISA u otro ensayo de unión a antígeno o de unión competitiva conocido en la técnica o en los Ejemplos proporcionados en el presente documento. En realizaciones particulares, un anticuerpo monoclonal puede ser un anticuerpo quimérico o un anticuerpo humanizado. En ciertas realizaciones, un anticuerpo monoclonal es un anticuerpo monovalente o un anticuerpo multivalente (por ejemplo, bivalente).

Como se usa en el presente documento, el término "aminoácido no natural" se refiere a un aminoácido que no es un aminoácido proteinogénico, o una variante modificada postraduccionalmente del mismo. En particular, el término se refiere a un aminoácido que no es uno de los 20 aminoácidos comunes o pirrolisina o selenocisteína, o variantes modificadas postraduccionalmente de los mismos.

Como se usa en el presente documento, el término "anticuerpos policlonales" se refiere a una población de anticuerpos que incluye una diversidad de anticuerpos diferentes que se unen inmuno-específicamente a los mismos y/o a diferentes epítipos en un antígeno o antígenos.

Como se usa en el presente documento, los términos "región variable" o "dominio variable" se refieren a una porción de un anticuerpo, generalmente, una porción de un anticuerpo de cadena ligera o pesada, típicamente aproximadamente de 110 a 120 aminoácidos amino terminales en una cadena pesada madura y aproximadamente de 90 a 100 aminoácidos amino terminales en una cadena ligera madura. Las regiones variables comprenden regiones determinantes de complementariedad (CDR) flanqueadas por regiones marco (FR). Generalmente, la orientación espacial de CDR y FR es la siguiente, en una dirección N-terminal a C-terminal: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4. Sin desear quedar ligando a ningún mecanismo o teoría particular, se cree que las CDR de las cadenas ligeras y pesadas

son las principales responsables de la interacción del anticuerpo con el antígeno y de la especificidad del anticuerpo con un epítipo. En una realización específica, la numeración de las posiciones de aminoácidos de los anticuerpos descritos en el presente documento es según el Índice EU, como en Kabat *et al.* (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Quinta Edición, U.S. Department of Health and Human Services, Publicación de los NIH N.º 91-3242. En ciertas realizaciones, la región variable es una región variable humana. En ciertas realizaciones, la región variable comprende CDR murinas (por ejemplo, ratón o rata) y regiones marco humanas (FR). En realizaciones particulares, la región variable es una región variable de primate (por ejemplo, primates humanos o no humanos). En ciertas realizaciones, la región variable comprende CDR murinas (por ejemplo, ratón o rata) y regiones marco (FR) de primate (por ejemplo, primates humanos o no humanos). Como ejemplo no limitante, una región variable descrita en el presente documento se obtiene del ensamblaje de dos o más fragmentos de secuencias humanas en una secuencia humana compuesta.

En ciertos aspectos, las CDR de un anticuerpo pueden determinarse según (i) el sistema de numeración de Kabat (Kabat *et al.* (1971) *Ann. NY Acad. Sci.* 190:382-391 y, Kabat *et al.* (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Quinta Edición, U.S. Department of Health and Human Services, Publicación de los NIH N.º 91-3242); o (ii) el esquema de numeración de Chothia, al que se hará referencia en el presente documento como las "CDR de Chothia" (véase, por ejemplo, Chothia y Lesk, 1987, *J. Mol. Biol.*, 196:901-917; Al-Lazikani *et al.*, 1997, *J. Mol. Biol.*, 273:927-948; Chothia *et al.*, 1992, *J. Mol. Biol.*, 227:799-817; Tramontano A *et al.*, 1990, *J. Mol. Biol.* 215(1):175-82; y la Patente de EE.UU. N.º 7,709,226); o (iii) el sistema de numeración ImMunoGeneTics (IMGT), por ejemplo, como se describe en Lefranc, M.-P., 1999, *The Immunologist*, 7:132-136 y Lefranc, M.-P. *et al.*, 1999, *Nucleic Acids Res.*, 27:209-212 ("IMGT CDRs"); o (iv) MacCallum *et al.*, 1996, *J. Mol. Biol.*, 262:732-745. Véanse también, por ejemplo, Martin, A., "Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains", en *Antibody Engineering*, Kontermann and Dübel, eds., Capítulo 31, págs. 422-439, Springer-Verlag, Berlín (2001).

Con respecto al sistema de numeración de Kabat, las CDR dentro de una molécula de cadena pesada de anticuerpo están típicamente presentes en las posiciones de aminoácidos 31 a 35, que opcionalmente pueden incluir uno o dos aminoácidos adicionales, después de 35 (denominados en el esquema de numeración de Kabat como 35A y 35B) (CDR1), las posiciones de aminoácidos 50 a 65 (CDR2) y las posiciones de aminoácidos 95 a 102 (CDR3). El uso del sistema de numeración de Kabat, las CDR dentro de una molécula de cadena ligera de anticuerpos están típicamente presentes en las posiciones de aminoácidos 24 a 34 (CDR1), las posiciones de aminoácidos 50 a 56 (CDR2) y las posiciones de aminoácidos 89 a 97 (CDR3). Como es bien sabido por los expertos en la técnica, al usar el sistema de numeración de Kabat, la secuencia de aminoácidos lineal real del dominio variable de anticuerpo puede contener menos aminoácidos o adicionales debido a un acortamiento o alargamiento de una FR y/o CDR y, como tal, el número de Kabat de un aminoácido no es necesariamente el mismo que su número de aminoácido lineal.

Los anticuerpos proporcionados en el presente documento pueden ser de cualquier tipo (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA o IgY), cualquier clase (por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ o IgA₂), o cualquier subclase (por ejemplo, IgG_{2a} o IgG_{2b}, o una mezcla de los mismos) de la molécula de inmunoglobulina. En ciertas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento son anticuerpos IgG (por ejemplo, IgG humano), o una clase (por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃ o IgG₄ humanos) o subclase de los mismos.

En aspectos específicos, en el presente documento se proporciona un anticuerpo que comprende una cadena ligera y una cadena pesada de anticuerpo, por ejemplo, una cadena ligera y una cadena pesada separadas. Con respecto a la cadena ligera, en una realización específica, la cadena ligera de un anticuerpo descrito en el presente documento es una cadena ligera kappa (κ). En otra realización específica, la cadena ligera de un anticuerpo descrito en el presente documento es una cadena ligera lambda (λ). En otra realización, la cadena ligera es una secuencia mixta, por ejemplo, la porción variable de la cadena ligera comprende secuencias de cadena ligera kappa y la región constante de la cadena ligera comprende secuencias de cadena ligera lambda, o viceversa. En ciertas realizaciones, la cadena ligera de un anticuerpo descrito en el presente documento es una cadena ligera kappa humana o una cadena ligera lambda humana. En la técnica se han descrito ejemplos no limitativos de secuencias de la región constante humana, por ejemplo, véanse la Patente de EE.UU. N.º 5.693.780 y Kabat *et al.* (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Quinta Edición, U.S. Department of Health and Human Services, Publicación de los NIH N.º 91-3242.

En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-CD47 descrito en el presente documento o un fragmento de unión a antígeno del mismo comprende secuencias de aminoácidos con cierto porcentaje de identidad con respecto a un anticuerpo parental.

La determinación del porcentaje de identidad entre dos secuencias (por ejemplo, secuencias de aminoácidos o secuencias de ácido nucleico) se puede lograr usando un algoritmo matemático. Un ejemplo no limitante de un algoritmo matemático utilizado para la comparación de dos secuencias es el algoritmo de Karlin y Altschul, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87:2264 2268, modificado como en Karlin y Altschul, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:5873 5877. Tal algoritmo se incorpora a los programas NBLAST y XBLAST de Altschul *et al.*, 1990, J. Mol. Biol. 215:403. Las búsquedas de nucleótidos BLAST se pueden realizar con el conjunto de parámetros del programa de nucleótidos NBLAST, por ejemplo, para una puntuación = 100, longitud de palabra = 12, para obtener secuencias de nucleótidos homólogas a las moléculas de ácido nucleico descritas en el presente documento. Las búsquedas de proteínas BLAST se pueden realizar con el conjunto de parámetros del programa XBLAST, por ejemplo, para una puntuación 50, longitud de palabra = 3, para obtener secuencias de aminoácidos homólogas a una molécula de proteína descrita en el presente documento. Para obtener alineaciones separadas para propósitos de comparación, Gapped BLAST puede utilizarse como se describe en Altschul *et al.*, 1997, Nucleic Acids Res. 25:3389 3402. Como alternativa, puede usarse PSI BLAST para realizar una búsqueda iterativa que detecta relaciones distantes entre moléculas (*Id.*). Cuando se utilizan los programas BLAST, Gapped BLAST y PSI Blast, se pueden usar los parámetros predeterminados de

los respectivos programas (por ejemplo, de XBLAST y NBLAST) (véase, por ejemplo, National Center for Biotechnology Information (NCBI) on the worldwide web, ncbi.nlm.nih.gov). Otro ejemplo preferido y no limitante de un algoritmo matemático utilizado para la comparación de secuencias es el algoritmo de Myers y Miller, 1988, CABIOS 4:11 17. Tal algoritmo se incorpora en el programa ALIGN (versión 2.0) que es forma parte del paquete de software de alineación de secuencias GCG. Cuando se utiliza el programa ALIGN para comparar secuencias de aminoácidos, se puede usar una tabla de residuos de peso PAM120, una penalización de longitud de hueco de 12 y una penalización de hueco de 4.

El porcentaje de identidad entre dos secuencias se puede determinar usando técnicas similares a las descritas anteriormente, permitiendo o sin permitir huecos. Al calcular el porcentaje de identidad, típicamente solo se cuentan las coincidencias exactas.

Los anticuerpos anti-CD47 descritos en el presente documento también incluyen anticuerpos monoclonales que se unen específicamente a CD47, donde el anticuerpo no promueve (por ejemplo, induce o aumenta), o causa un nivel significativo de aglutinación, por ejemplo, hemaglutinación de glóbulos rojos ("hemaglutinación de RBC").

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención pueden incluir un anticuerpo de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es un isotipo de IgG. En algunas realizaciones, la región constante del anticuerpo es del isotipo IgG1 humano, que tiene una secuencia de aminoácidos:

(SEQ ID NO: 1) ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKEPEYKCKVSNKA
LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP
ENNYKTTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK

En algunas realizaciones, la región constante de IgG1 humana se modifica en el aminoácido Asn297 (recuadro, numeración de Kabat) para evitar la glucosilación del anticuerpo, por ejemplo Asn297Ala (N297A). En algunas realizaciones, la región constante del anticuerpo se modifica en el aminoácido Leu235 (Numeración de Kabat) para alterar las interacciones del receptor Fc, por ejemplo Leu235Glu (L235E) o Leu235Ala (L235A). En algunas realizaciones, la región constante del anticuerpo se modifica en el aminoácido Leu234 (numeración de Kabat) para alterar las interacciones del receptor Fc, por ejemplo, Leu234Ala (L234A). En algunas realizaciones, la región constante del anticuerpo se altera tanto en el aminoácido 234 como en el 235, por ejemplo, Leu234Ala y Leu235Ala (L234A/L235A) (índice EU de Kabat et al 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest).

En algunas realizaciones, la región constante del anticuerpo es del isotipo IgG2 humano, que tiene una secuencia de aminoácidos:

SEQ ID NO: 2) ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVNHDHPS NTKVDKTVR KCCVECPPCP
APPVAGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDPKVSNKGLPAP IEKTISKTKG

QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDISVEW ESNGQPENNY KTTTPMLDSD
GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK

En algunas realizaciones, la región constante de IgG2 humana se modifica en el aminoácido Asn297 (recuadro, numeración de Kabat) para evitar la glucosilación del anticuerpo, por ejemplo, Asn297Ala (N297A).

En algunas realizaciones, la región constante del anticuerpo es del isotipo IgG3 humano, que tiene una secuencia de aminoácidos:

(SEQ ID NO: 3) ASTKGPSVFP LAPCSRSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YTCNVNHKPS NTKVDKRVEL KTPLGDTTHT
CPRCPEPKSC DTPPPCPRCP EPKSCDTPPP CPRCPEPKSC DTPPPCPRCP APELLGGPSV
FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED CKVSNKALPA PIEKTISKTK GQPREPQVYT
LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESSGQPENN YNTTPMLDS DGSFFLYSKL
TVDKSRWQQG

En algunas realizaciones, la región constante de IgG3 humana se modifica en el aminoácido Asn297 (recuadro, numeración de Kabat) para evitar la glucosilación del anticuerpo, por ejemplo, Asn297Ala (N297A). En algunas realizaciones, la región constante de IgG3 humana se modifica en el aminoácido 435 para extender la semivida, por ejemplo, Arg435H es (R435H) (índice UE de Kabat et al 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest).

En algunas realizaciones, la región constante del anticuerpo es del isotipo IgG4 humano, que tiene una secuencia de aminoácidos:

(SEQ ID NO: 4) ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVNHHKPS NTKVDKRVES CKVSNKGLPS
SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN
YKTTTPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLGK

En algunas realizaciones, la región constante de IgG4 humana se modifica dentro de la región bisagra para prevenir o reducir el intercambio de cadena, por ejemplo, Ser228Pro (S228P). En otras realizaciones, la región constante de IgG4 humana se modifica en el aminoácido 235 para alterar las interacciones del receptor Fc, por ejemplo, Leu235Glu (L235E). En algunas realizaciones, la región constante de IgG4 humana se modifica dentro de la bisagra y en el aminoácido 235, por ejemplo, Ser228Pro y Leu235Glu (S228P/L235E). En algunas realizaciones, la región constante de IgG4 humana se modifica en el aminoácido Asn297 (numeración de Kabat) para evitar la glucosilación del anticuerpo, por ejemplo, Asn297Ala (N297A). En algunas realizaciones de la invención, la región constante de IgG4 humana se modifica en las posiciones de aminoácidos Ser228, Leu235 y Asn297 (por ejemplo, S228P/L235E/N297A). (Índice EU de Kabat et al 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest). En otras realizaciones de la invención, el anticuerpo es de la subclase IgG4 humana y carece de glucosilación. En estas realizaciones, la glucosilación puede eliminarse mediante mutación en la posición 297 (numeración de Kabat), por ejemplo N297A. En otras realizaciones, la glucosilación puede eliminarse mediante la producción del anticuerpo en una célula huésped que carece de la capacidad para la

glucosilación postraducciona, por ejemplo, un sistema bacteriano o derivado de levadura o un sistema de expresión de células de mamífero modificado.

En algunas realizaciones, la región constante de IgG humana se modifica para mejorar la unión a FcRn. Ejemplos de mutaciones Fc que mejoran la unión a FcRn son Met252Tyr, Ser254Thr, Thr256Glu (M252Y, S254T, T256E, respectivamente) (numeración de Kabat, Dall'Acqua et al 2006, J. Biol Chem Vol 281 (33) 23514-23524), o Met428Leu y Asn434Ser (M428L, N434S) (Zalevsky et al 2010 Nature Biotech, Vol 28 (2) 157-159). (Índice EU de Kabat et al 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest).

En algunas realizaciones, la región constante de IgG humana se modifica para alterar la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y/o la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), por ejemplo, las modificaciones de aminoácidos descritas en Natsume et al., 2008 Cancer Res, 68(10): 3863-72; Idusogie et al., 2001 J Immunol, 166(4): 2571-5; Moore et al., 2010 mAbs, 2(2): 181-189; Lazar et al., 2006 PNAS, 103(11): 4005-4010, Shields et al., 2001 JBC, 276(9): 6591-6604; Stavenhagen et al., 2007 Cancer Res, 67(18): 8882-8890; Stavenhagen et al., 2008 Advan. Enzyme Regul., 48: 152-164; Alegre et al, 1992 J Immunol, 148: 3461-3468; Revisado en Kaneko y Niwa, 2011 Biodrugs, 25(1):1-11.

En algunas realizaciones, la región constante de IgG humana se modifica para inducir la heterodimerización. Por ejemplo, al tener una modificación de aminoácidos dentro del dominio CH3 en Thr366, que cuando se reemplaza con un aminoácido más voluminoso, por ejemplo, Try (T366W), puede emparejarse preferiblemente con un segundo dominio CH3 que tiene modificaciones de aminoácidos con respecto a aminoácidos menos voluminosos en las posiciones Thr366, Leu368 y Tyr407, por ejemplo, Ser, Ala y Val, respectivamente (T366S/L368A/Y407V). La heterodimerización a través de modificaciones CH3 puede estabilizarse aún más mediante la introducción de un enlace disulfuro, por ejemplo cambiando Ser354 a Cys (S354C) y Y349 a Cys (Y349C) en los dominios CH3 opuestos (Revisado en Carter, 2001 Journal of Immunological Methods, 248: 7-15).

En otras realizaciones de la invención, el anticuerpo carece de glucosilación, pero no se modifica en el aminoácido Asn297 (numeración de Kabat). En estas realizaciones, la glucosilación puede eliminarse mediante la producción del anticuerpo en una célula huésped que carece de una capacidad de glucosilación postraducciona, por ejemplo, un sistema bacteriano o derivado de levadura o un sistema de expresión de células de mamífero modificado.

4.2.2.1 Anticuerpos anti-CD47 para su uso en los métodos proporcionados en el presente documento

En un aspecto específico, para su uso en los métodos proporcionados en el presente documento se encuentran anticuerpos que se unen específicamente a CD47 (por ejemplo, CD47 humano). Dichos anticuerpos anti-CD47 incluyen todos los anticuerpos divulgados en la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos N.º 2014/0140989, que se incorpora por referencia en el presente documento en su totalidad. Dichos anticuerpos anti-CD47 también incluyen todos los anticuerpos divulgados en la Publicación de Solicitud de Patente Internacional N.º WO 2016/109415, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad.

Como se usa en el presente documento, los términos "CD47" o "proteína asociada a integrina" o "IAP" o "antígeno de cáncer de ovario" u "OA3" o "antígeno relacionado con Rh" o "MER6", se pueden usar indistintamente y se refieren a un receptor transmembrana de múltiples capas que pertenece a la superfamilia de inmunoglobulinas. La secuencia de aminoácidos de un CD47 humano ejemplar se proporciona a continuación (N.º de acceso de GenBank Q08722.1 (GI: 1171879), incorporado en el presente documento por referencia). La secuencia señal (aminoácidos 1-18) está subrayada.

1 MWPLVAALLL GSACCGSAQL LFNKTKSVEF TFCNDTVVIP CFVTNMEAQN TTEVYVKWKF
61 KGRDIYTFDG ALNKSTVPTD FSSAKIEVSQ LLKGDSLKM DKSDAVSHTG NYTCEVTELT
121 REGETIIEELK YRVVSWFSPN ENILIVIFPI FAILLFWGQF GIKTLKYRSG GMDEKTIALL
181 VAGLVITVIV IVGAILFVPG EYSLKNATGL GLIVTSTGIL ILLHYYVFST AIGLTSFVIA
241 ILVIQVIAYI LAVVGLSLCI AACIPMHGPL LISGLSILAL AQLLGLVYMK FVASNQKTIQ
301 PPRKAVEEPL NAFKESKGMM NDE (SEQ ID NO: 48)

Para mayor claridad, a continuación se proporciona la secuencia de aminoácidos de un CD47 humano ejemplar que excluye la secuencia señal.

1 QLLFNKTKSV EFTFCNDTVV IPCFVTNMEA QNTTEVYVKW KFKGRDIYTF DGALNKSTVP
61 TDFSSAKIEV SQLLKGDSL KMDKSDAVSH TGNYTCEVTE LTREGETIIE LKYRVVSWFS
121 PNENILIVIF PIFAILLFWG QFGIKTLKYR SGGMDEKTIA LLVAGLVITV IVIVGAILFV
181 PGEYSLKNAT GLGLIVTSTG ILILLHYYVF STAIGLTSFV IAILVIQVIA YILAVVGLSL
241 CIAACIPMHG PLLISGLSIL ALAQLLGLVY MKFVASNQKT IQPPRKAVEE PLNAFKESKG
301 MMNDE (SEQ ID NO: 49)

La invención también proporciona composiciones farmacéuticas que incluyen uno o más anticuerpos monoclonales que se unen a CD47 o un fragmento inmunológicamente activo del mismo, donde el anticuerpo no causa un nivel significativo de hemaglutinación de glóbulos rojos después de la administración.

La hemaglutinación es un ejemplo de interacción homotípica, donde dos células que expresan CD47 se añaden o se aglutinan cuando se tratan con una entidad de unión a CD47 bivalente. La capacidad de los anticuerpos de la presente invención para unirse a CD47 en la superficie celular y no causar un fenómeno de aglutinación celular no se limita a los glóbulos rojos. Se ha observado que los anticuerpos de la presente invención se unen únicamente a CD47 de una manera que no promueve la aglutinación de líneas celulares positivas para CD47, por ejemplo, células Daudi.

En algunos casos, el anticuerpo para su uso en los métodos proporcionados en el presente documento comprende una región de cadena pesada variable (VH) seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 5-30. El anticuerpo comprende opcionalmente una región de cadena ligera variable (VL) seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 31-47. En algunos casos, el anticuerpo comprende una región de cadena VH seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 5-30 y una región de cadena VL seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 31-47. Los anticuerpos de la invención también incluyen anticuerpos que tienen una cadena pesada variable que es al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más idéntica a la secuencia

expuesta en al menos una de las SEQ ID NOs: 5-30, y una cadena ligera variable que es al menos un 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más idéntica a la secuencia expuesta en al menos una de las SEQ ID NOs: 31-47. En otros aspectos, el anticuerpo comprende una región VH proporcionada en una cualquiera de las SEQ ID NOs: 5, 7, 8, 11, 15-17, 20-22, y 27-30 emparejada con una región VL proporcionada en una cualquiera de las SEQ ID NOs: 31-39, 42, 43, 44, y 47. En otra realización, el anticuerpo comprende una región VH proporcionada en una cualquiera de las SEQ ID NOs: 5, 7, 8, 11, 12, 15-17, 20-22, y 27-30 emparejada con una región VL proporcionada en una cualquiera de las SEQ ID NOs: 31, 32, 35, 40, 41, 42, 43, 44, y 47. En aún otro aspecto, el anticuerpo comprende una combinación de una región de cadena VH y una región de cadena VL seleccionada de las combinaciones enumeradas en la Tabla 1.

Tabla 1. Combinaciones de VH/VL del anticuerpo anti-CD47 ejemplares.

Anticuerpo	Cadena pesada variable (VH)	Cadena ligera variable (VL)
	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 31
2A1	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 32
2A1-xi	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 33
AB2.0	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 34
3	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 35
4	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 36
5	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 37
6	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 38
7	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 39
8	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 43
9	SEQ ID NO: 8	SEQ ID NO: 39
3	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 43
9	SEQ ID NO: 8	SEQ ID NO: 39

5	2	AB6.1	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 42
	3	AB6.1	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 43
	4	AB6.1	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 44
	7	AB6.1	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 47
10	13	AB10.	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 43
	14	AB10.	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 44
15	05	AB11.	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 35
	05	AB12.	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 35
	05	AB15.	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 35
20	05	AB16.	SEQ ID NO: 21	SEQ ID NO: 35
	05	AB17.	SEQ ID NO: 22	SEQ ID NO: 35
	05	AB22.	SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 35
25	05	AB23.	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 35
	05	AB24.	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 35
	05	AB25.	SEQ ID NO: 30	SEQ ID NO: 35

En algunas realizaciones, el anticuerpo CD47, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso en los métodos proporcionados en el presente documento comprende una secuencia de región determinante de complementariedad VH 1 (CDR1) expuesta en la SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, o SEQ ID NO: 66, una secuencia VH CDR2 expuesta en la SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, o SEQ ID NO: 76, una secuencia VH CDR3 expuesta en la SEQ ID NO: 52 o SEQ ID NO: 77, una secuencia VL CDR1 expuesta en la SEQ ID NO: 53,

SEQ ID NO: 67, o SEQ ID NO: 68, una secuencia VL CDR2 expuesta en la SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, o SEQ ID NO: 71 y una secuencia VL CDR3 expuesta en la SEQ ID NO: 55. Por ejemplo, el anticuerpo o fragmento inmunológicamente activo del mismo, comprende una secuencia VH CDR1 expuesta en la SEQ ID NO: 50, una secuencia VH CDR2 expuesta en la SEQ ID NO: 51, una secuencia VH CDR3 expuesta en la SEQ ID NO: 52, una secuencia VL CDR1 expuesta en la SEQ ID NO: 53, una secuencia VL CDR2 expuesta en la SEQ ID NO: 54, y una secuencia VL CDR3 expuesta en la SEQ ID NO: 55. En otro ejemplo, el anticuerpo o fragmento inmunológicamente activo del mismo, comprende una secuencia VH CDR1 expuesta en la SEQ ID NO: 50, una secuencia VH CDR2 expuesta en la SEQ ID NO: 72, una secuencia VH CDR3 expuesta en la SEQ ID NO: 52, una VL CDR1 expuesta en la SEQ ID NO: 53, una secuencia VL CDR2 expuesta en la SEQ ID NO: 71, y una secuencia VL CDR3 expuesta en la SEQ ID NO: 55.

En un aspecto específico, se proporciona en el presente documento un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal, que se une específicamente a CD47 humano, donde tal un anticuerpo anti-CD47 es una variante de un anticuerpo anti-CD47 parental, donde el anticuerpo anti-CD47, cuando se produce usando un sistema de expresión acelular (CF), tiene un título o rendimiento de expresión de anticuerpos superior en comparación con el del anticuerpo anti-CD47 parental cuando se expresa en el sistema CF, y donde el anticuerpo anti-CD47 comprende una o más modificaciones de aminoácidos, por ejemplo, 1-15 modificaciones de aminoácidos, con respecto al anticuerpo anti-CD47 parental. En un aspecto particular, la una o más modificaciones de aminoácidos, por ejemplo, 1-15 modificaciones de aminoácidos, están dentro de la cadena pesada o VH (por ejemplo, SEQ ID NO: 6). En un aspecto particular, la una o más modificaciones de aminoácidos, por ejemplo, 1-15 modificaciones de aminoácidos, están dentro de la región marco de una VH (por ejemplo, SEQ ID NO: 6). En un cierto aspecto, el anticuerpo anti-CD47 proporcionado en el presente documento, que es una variante de un anticuerpo anti-CD47 parental que comprende las CDR (por ejemplo, CDR de Kabat) del anticuerpo anti-CD47 parental.

En un aspecto específico, se proporciona en el presente documento un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal, que se une específicamente a CD47 humano, donde tal un anticuerpo anti-CD47 es una variante de un anticuerpo anti-CD47 parental, donde el anticuerpo anti-CD47, cuando se produce usando un sistema de expresión acelular (CF), tiene un título o rendimiento de expresión de anticuerpos superior en comparación con el del anticuerpo anti-CD47 parental cuando se expresa en el sistema CF, y donde el anticuerpo anti-CD47 comprende una o más modificaciones de aminoácidos, por ejemplo, 1-15 modificaciones de aminoácidos, con respecto al anticuerpo anti-CD47 parental. En un aspecto particular, la una o más modificaciones de aminoácidos, por ejemplo, 5 o 14 modificaciones de aminoácidos, están dentro de la cadena pesada o VH (por ejemplo, SEQ ID NO: 6). En un aspecto particular, la una o más modificaciones de aminoácidos, por ejemplo, 5, 10, 13 o 14 modificaciones de aminoácidos, están dentro de la región marco de una VH (por ejemplo, SEQ ID NO: 6). En un aspecto particular, la una o más modificaciones de aminoácidos, por ejemplo, 5, 13 o 14 modificaciones de aminoácidos, están dentro de la región marco de una VH (por ejemplo, SEQ ID NO: 6). En un cierto

aspecto, el anticuerpo anti-CD47 proporcionado en el presente documento, que es una variante de un anticuerpo anti-CD47 parental que comprende las CDR (por ejemplo, CDR de Kabat) del anticuerpo anti-CD47 parental. En ciertos aspectos, dicho anticuerpo anti-CD47 es un anticuerpo de isotipo IgG1, IgG2, IgG3, o IgG4. En ciertos aspectos, dicho anticuerpo anti-CD47 es un anticuerpo de isotipo IgG1. En ciertos aspectos, dicho anticuerpo anti-CD47 es un anticuerpo de isotipo IgG1 de alotipo Z. En ciertos aspectos, dicho anticuerpo anti-CD47 es un anticuerpo de isotipo IgG4, tal como IgG4P o IgG4PE.

En un aspecto específico, se proporciona en el presente documento un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal, que se une específicamente a CD47 humano, donde tal un anticuerpo anti-CD47 es una variante de un anticuerpo anti-CD47 parental, donde el anticuerpo anti-CD47, cuando se produce usando un sistema de expresión acelular (CF), tiene un título o rendimiento de expresión de anticuerpos superior en comparación con el del anticuerpo anti-CD47 parental cuando se expresa en el sistema CF. En realizaciones específicas, el anticuerpo anti-CD47 parental es el anticuerpo AB6.12 (véase, por ejemplo, la Publicación de Solicitud de EE.UU. N.º US 2014/0140989 A1, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad). Las secuencias de aminoácidos de la región variable de cadena pesada (VH) y la región variable de cadena ligera (VL) del anticuerpo AB6.12 se proporcionan a continuación, donde las CDR de Kabat están subrayadas. En cierto aspecto, el anticuerpo anti-CD47 proporcionado en el presente documento es una variante del anticuerpo parental AB6.12, y comprende las CDR (por ejemplo, CDR de Kabat) del anticuerpo parental AB6.12, por ejemplo, las SEQ ID NOs: 50, 72, 52, 53, 71, y 55. En ciertos aspectos, dicho anticuerpo anti-CD47 es un anticuerpo de isotipo IgG1, IgG2, IgG3, o IgG4. En ciertos aspectos, dicho anticuerpo anti-CD47 es un anticuerpo de isotipo IgG1. En ciertos aspectos, dicho anticuerpo anti-CD47 es un anticuerpo de isotipo IgG1 de alotipo Z. En ciertos aspectos, dicho anticuerpo anti-CD47 es un anticuerpo de isotipo IgG4, tal como IgG4P o IgG4PE.

Región variable de cadena pesada (VH) del anticuerpo anti-CD47 AB6.12 (las CDR de Kabat 1-3 están subrayadas, SEQ ID NOs: 50, 72, y 52):

QMQLVQSGAEVKKTGSSVKVSCKASGFNIKDYLLHWVRQAPGQALEWMGWIDPDQGDTEYQAQKFQDRVITITRDRSMSTAYMELSSLRSEDAMYYCNAAYGSSSYPMDYWGQGTTVTV (SEQ ID NO: 6)

Región variable de cadena ligera (VL) del anticuerpo anti-CD47 AB6.12 (las CDR de Kabat 1-3 están subrayadas, SEQ ID NOs: 53, 71, y 55):

NIQMTQSPSAMSASVGDRVITITCKASQDIHRYLSWFFQKPGKVPKHLIYRANRLVSGVPSRFSGS GSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQYDEFPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 42)

En una realización específica, un anti-CD47 descrito en el presente documento comprende una o más modificaciones de aminoácidos (por ejemplo, 1-15 modificaciones de aminoácidos), por ejemplo en la región marco VH, de un anticuerpo parental, por ejemplo, un anticuerpo parental seleccionado de anticuerpos anti-CD47 descritos en el presente documento.

En un aspecto específico, se proporciona en el presente documento un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal, que se une específicamente a CD47 humano, donde tal un anticuerpo anti-CD47 es una variante de un anticuerpo anti-CD47 parental, donde el anticuerpo anti-CD47, cuando se

produce usando un sistema de expresión acelular (CF), tiene un título o rendimiento de expresión de anticuerpos superior en comparación con el del anticuerpo anti-CD47 parental cuando se expresa en el sistema CF, y donde el anticuerpo anti-CD47 comprende una VH que comprende la siguiente secuencia N-terminal a C-terminal:

5 X₁QX₂QLVQSGAEVKKX₃GX₄SVKVSCKASGFNIKDYHLHWVRQAPGQX₅LEWMGWIDPDQGDTEYAQKX₆QX₇RVTX₈TX₉DX₁₀SX₁₁STAYMELX₁₂SLRSX₁₃DTAX₁₄YYCNAAYGSSSYPMDYWGQGTTVTV (SEQ ID NO: 89), donde los residuos de aminoácidos subrayados para X₁-X₁₄ se ordenan del extremo N-terminal al extremo C-terminal, donde X₁ es M o no hay ningún aminoácido en la posición X₁, X₂ es un aminoácido con cadenas laterales hidrófobas tales como M o V, X₃ es T o P, X₄ es S o A, X₅ es un ácido que tiene cadenas laterales alifáticas tales como A o G, X₆ es F o L, X₇ es D o G, X₈ es un aminoácido con cadenas laterales hidrófobas tales como I o M, X₉ es R o T, X₁₀ es R o T, X₁₁ es M o T, X₁₂ es S o R, X₁₃ es un aminoácido cargado negativamente tal como E o D, y X₁₄ es un aminoácido con cadenas laterales hidrófobas tales como M o V.

15 En aspectos particulares, un anticuerpo anti-CD47 descrito en el presente documento comprende una VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 89, donde el aminoácido en la posición X₁ es cualquier aminoácido tal como M, X₂ no es M, X₃ no es T, X₄ no es S, X₅ no es A, X₆ no es F, X₇ no es D, X₈ no es I, X₉ no es R, X₁₀ no es R, X₁₁ no es M, X₁₂ no es S, X₁₃ no es E, y/o X₁₄ no es M. En aspectos particulares, cualesquiera 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, o 14 de X₁ a X₁₄ no son estos aminoácidos. En aspectos particulares, la secuencia de aminoácidos VH no es la secuencia de aminoácidos VH del anticuerpo AB6.12, por ejemplo, la secuencia de aminoácidos VH no es la SEQ ID NO: 6.

25 En aspectos particulares, un anticuerpo anti-CD47 descrito en el presente documento comprende una VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 89, donde el aminoácido en la posición X₇ no es G, X₉ no es A y/o X₁₁ no es S. En aspectos particulares, cualesquiera 1, 2, o 3 de X₇, X₉ y X₁₁ no son estos aminoácidos. En aspectos particulares, cuando el aminoácido en la posición X₇ es G, entonces X₈ es M y/o X₁₀ es T, X₉ no es A y/o X₁₁ no es S.

30 En aspectos particulares, un anticuerpo anti-CD47 descrito en el presente documento comprende una VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 89, donde el aminoácido en la posición X₇ no es G, X₈ no es M, X₉ no es E, X₁₀ no es T, y/o X₁₁ no es T. En aspectos particulares, cualesquiera 1, 2, 3, o 4 de X₇ a X₁₁ no son estos aminoácidos. En aspectos particulares, cuando el aminoácido en la posición X₇ es G, entonces X₈ es M, X₁₀ es T, X₉ no es E, y X₁₁ es T.

35 En un aspecto particular, un anticuerpo anti-CD47 descrito en el presente documento comprende una VH que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 89, donde la VH no comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, o 30, de la Publicación de Solicitud de EE.UU. N.º US2014/0140989 A1, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad. En un aspecto particular, un anticuerpo anti-CD47 descrito en el presente documento comprende una VH que comprende la secuencia consenso de SEQ ID NO: 89, donde la VH no comprende las regiones marco de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:

5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, o 30, de la Publicación de Solicitud de EE.UU. N.º US2014/0140989 A1, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad.

En aspectos particulares, X₁ es M, X₂ es V, X₃ es P, X₄ es A, X₅ es G, X₆ es L, X₇ es G, X₈ es M, X₉ es T, X₁₀ es T, X₁₁ es T, X₁₂ es R, X₁₃ es D, y/o X₁₄ es V. En realizaciones particulares, cualesquiera 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, o 14 de X₁ a X₁₄ son estos aminoácidos.

En aspectos particulares, X₁ es M, X₂ es M, X₃ es P, X₄ es S, X₅ es A, X₆ es F, X₇ es G, X₈ es I, X₉ es R, X₁₀ es R, X₁₁ es T, X₁₂ es R, X₁₃ es E, y/o X₁₄ es V. En realizaciones particulares, cualesquiera 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, o 14 de X₁ a X₁₄ son estos aminoácidos.

En un aspecto particular, un anticuerpo anti-CD47 proporcionado en el presente documento no es el anticuerpo AB6.12. En un aspecto particular, un anticuerpo anti-CD47 proporcionado en el presente documento no comprende una VH (por ejemplo, SEQ ID NO: 6) y/o una VL (por ejemplo, SEQ ID NO: 42) del anticuerpo AB6.12.

En un aspecto específico, un anticuerpo anti-CD47 proporcionado en el presente documento, comprende una de las siguientes secuencias de aminoácidos presentadas en la **Tabla 2**.

Tabla 2: Secuencia de aminoácidos VH

SEQ ID NO:	Descripción	Secuencia de aminoácidos VH
89	Consenso	X ₁ QX ₂ QLVQSGAEVKKX ₃ GX ₄ SVKVSCASGFNIKDYLLHWVRQAPGQX ₅ LEWMGWIDPDQGDTEYAQKX ₆ QX ₇ RVTX ₈ TX ₉ DX ₁₀ SX ₁₁ STAYMELX ₁₂ SLRSX ₁₃ DTAX ₁₄ YYCNAAYGSSSYPM DYWGQGT TVTV
90	13m	MQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGFNIKDYLLHWVRQAPGQGLEWMGWIDPDQGDTEYAQKLQGRVTMTIDISTAYMELRSLRSDDTAVYYCNAAYGSSSYPM DYWGQGT TVTV
91	5m	MQMQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGFNIKDYLLHWVRQAPGQALEWMGWIDPDQGDTEYAQKLQGRVTMTDTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCNAAYGSSSYPM DYWGQGT TVTV

En un aspecto específico, se proporciona en el presente documento un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal, que se une específicamente a CD47 humano, donde tal un anticuerpo anti-CD47 es una variante de un anticuerpo anti-CD47 parental, donde el anticuerpo anti-CD47, cuando se produce usando un sistema de expresión acelular (CF), tiene un título o rendimiento de expresión de anticuerpos superior en comparación con el del anticuerpo anti-CD47 parental cuando se expresa en el sistema CF, y donde el anticuerpo anti-CD47 comprende una VH que comprende la SEQ ID NO: 90. En ciertos aspectos, dicho anticuerpo anti-CD47 es un anticuerpo de isotipo IgG1, IgG2, IgG3, o IgG4. En ciertos aspectos, dicho anticuerpo anti-CD47 es un anticuerpo de isotipo IgG1. En ciertos aspectos, dicho anticuerpo anti-CD47 es un anticuerpo de isotipo IgG1 de alotipo Z. En ciertos aspectos, dicho anticuerpo anti-CD47 es un anticuerpo de isotipo IgG4, tal como IgG4P o IgG4PE.

En un aspecto específico, se proporciona en el presente documento un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal, que se une específicamente a CD47 humano, donde tal un anticuerpo anti-CD47 es una variante de un anticuerpo anti-CD47 parental, donde el anticuerpo anti-CD47, cuando se produce usando un sistema de expresión acelular (CF), tiene un título o rendimiento de expresión de anticuerpos superior en comparación con el del anticuerpo anti-CD47 parental cuando se expresa en el sistema CF, y donde el anticuerpo anti-CD47 comprende una VH que comprende la SEQ ID NO: 91. En ciertos aspectos, dicho anticuerpo anti-CD47 es un anticuerpo de isotipo IgG1, IgG2, IgG3, o IgG4. En ciertos aspectos, dicho anticuerpo anti-CD47 es un anticuerpo de isotipo IgG1. En ciertos aspectos, dicho anticuerpo anti-CD47 es un anticuerpo de isotipo IgG1 de alotipo Z. En ciertos aspectos, dicho anticuerpo anti-CD47 es un anticuerpo de isotipo IgG4, tal como IgG4P o IgG4PE.

En un aspecto particular, un anticuerpo anti-CD47 (IgG1-13m) proporcionado en el presente documento comprende una cadena pesada de IgG1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se expone a continuación:

MQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDYLLHWVRQAPGQGLEWMGWIDPDQGDTEYA
QKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCNAAYGSSSYPM DYWGQGTTVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 81)

En un aspecto particular, un anticuerpo anti-CD47 (IgG1-13mZ) proporcionado en el presente documento comprende una cadena pesada de IgG1-alotipo Z que comprende la secuencia de aminoácidos como se expone a continuación:

MQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDYLLHWVRQAPGQGLEWMGWIDPDQGDTEYA
QKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCNAAYGSSSYPM DYWGQGTTVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ
TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 82)

En un aspecto particular, un anticuerpo anti-CD47 (IgG1-5m) proporcionado en el presente documento comprende una cadena pesada de IgG1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se expone a continuación:

MQMQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFNIKDYLLHWVRQAPGQALEWMGWIDPDQGDTEYA
QKFQGRVTITRDRSTSTAYMELRSLRSED TAVYYCNAAYGSSSYPM DYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFP
LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT
YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH
EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK

AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 83)

En un aspecto particular, un anticuerpo anti-CD47 (IgG4P-13m) proporcionado en el presente documento comprende un anticuerpo IgG4P que comprende la secuencia de aminoácidos como se expone a continuación:

MQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDYLLHWVRQAPGQGLEWMGWIDPDQGDTEY
AQLKQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCNAAYGSSSYPM DYWGQGTTTVTVSSASTKGPSV
FPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS
SLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV
VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFL
YSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 84)

En un aspecto particular, un anticuerpo anti-CD47 (IgG4P-5m) proporcionado en el presente documento comprende una cadena pesada de IgG4P que comprende la secuencia de aminoácidos como se expone a continuación:

MQMQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFNIKDYLLHWVRQAPGQALEWMGWIDPDQGDTEYA
QKFQGRVTITRDRSTSTAYMELRSLRSEDTAVYYCNAAYGSSSYPM DYWGQGTTTVTVSSASTKGPSVFP
LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS
SSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV
VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFL
YSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 85)

En un aspecto particular, un anticuerpo anti-CD47 (IgG4PE-13m) proporcionado en el presente documento comprende una cadena pesada de IgG4PE que comprende la secuencia de aminoácidos como se expone a continuación:

MQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDYLLHWVRQAPGQGLEWMGWIDPDQGDTEYA
QKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCNAAYGSSSYPM DYWGQGTTTVTVSSASTKGPSVFP
LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS
SSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV
VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFL
YSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 86)

En un aspecto particular, un anticuerpo anti-CD47 (IgG4PE-5m) proporcionado en el presente documento comprende una cadena pesada de IgG4PE que comprende la secuencia de aminoácidos como se expone a continuación:

MQMQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFNIKDYLLHWVRQAPGQALEWMGWIDPDQGDTEYA
QKFQGRVTITRDRSTSTAYMELRSLRSEDTAVYYCNAAYGSSSYPM DYWGQGTTTVTVSSASTKGPSVFP
LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS
SSLGKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV
VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFL
YSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 87)

YTCNVDHKPSNTKVKRVERSKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSQED
 PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK
 GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSR
 LTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO: 87)

5 En un aspecto específico, se proporciona en el presente documento un anticuerpo, por ejemplo,
 un anticuerpo monoclonal, que se une específicamente a CD47 humano, donde tal un anticuerpo anti-
 CD47 es una variante de un anticuerpo anti-CD47 parental, donde el anticuerpo anti-CD47, cuando se
 produce usando un sistema de expresión acelular (CF), tiene un título o rendimiento de expresión de
 anticuerpos superior en comparación con el del anticuerpo anti-CD47 parental cuando se expresa en el
 10 sistema CF, y donde el anticuerpo anti-CD47 comprende una cadena ligera que comprende una región
 constante de cadena ligera kappa o lambda (por ejemplo, región constante de cadena ligera kappa o
 lambda humana) por ejemplo, la SEQ ID NO: 88.

En un aspecto específico, se proporciona en el presente documento un anticuerpo, por ejemplo,
 un anticuerpo monoclonal, que se une específicamente a CD47 humano, donde tal un anticuerpo anti-
 15 CD47 es una variante de un anticuerpo anti-CD47 parental, donde el anticuerpo anti-CD47, cuando se
 produce usando un sistema de expresión acelular (CF), tiene un título o rendimiento de expresión de
 anticuerpos superior en comparación con el del anticuerpo anti-CD47 parental cuando se expresa en el
 sistema CF, y donde el anticuerpo anti-CD47 comprende (i) una VH descrita en el presente documento
 (por ejemplo, SEQ ID NO: 89, 90, o 91) o una cadena pesada descrita en el presente documento (por
 20 ejemplo, una cualquiera de las SEQ ID NOs:81-87), y (ii) una cadena ligera que comprende una región
 constante de cadena ligera kappa o lambda (por ejemplo, región constante de cadena ligera kappa o
 lambda humana), por ejemplo, la SEQ ID NO: 88, por ejemplo, como se expone a continuación (cadena
 ligera de anticuerpo anti-CD47 (Igk)), o SEQ ID NO: 88 sin el aminoácido M en el extremo N-terminal:

MNIQMTQSPSAMSASVGDRTITCKASQDIHRYLSWFQKPGKVPKHLIYRANRLVSGVPSRFS
 25 GSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQYDEFPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCL
 LNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP
 VTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 88).

En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en el presente documento, o un fragmento de
 unión a antígeno del mismo, comprende un dominio VL que tiene al menos un 80 %, al menos un 85 %, al
 30 menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de identidad de secuencia
 con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 42, donde el anticuerpo se une específicamente a
 CD47. En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en el presente documento, o un fragmento de
 unión a antígeno del mismo, comprende un dominio VL que tiene al menos un 80 %, al menos un 85 %, al
 menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de identidad de secuencia
 35 con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 42, donde el anticuerpo se une específicamente a
 CD47, y donde el anticuerpo comprende CDR (por ejemplo, VL CDR 1-3) que son idénticas a las CDR
 (por ejemplo, VL CDR 1-3) de SEQ ID NO: 42 (por ejemplo, SEQ ID NO: 53, 71, y 55).

En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en el presente documento, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una cadena ligera que tiene al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 88, donde el anticuerpo se une específicamente a CD47. En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en el presente documento, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende un dominio ligero que tiene al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 88, donde el anticuerpo se une específicamente a CD47, y donde el anticuerpo comprende CDR (por ejemplo, VL CDR 1-3) que son idénticas a las CDR (por ejemplo, VL CDR 1-3) de SEQ ID NO: 88 (por ejemplo, SEQ ID NO: 53, 71, y 55).

En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en el presente documento, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende un dominio VH que tiene al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, donde el anticuerpo se une específicamente a CD47 y donde el anticuerpo anti-CD47, cuando se produce usando un sistema de expresión acelular, tiene un título o rendimiento de expresión de anticuerpos superior en comparación con el anticuerpo parental cuando se produce en el sistema de expresión CF. En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en el presente documento, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende un dominio VH que tiene al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, donde el anticuerpo se une específicamente a CD47, y donde el anticuerpo comprende CDR (por ejemplo, VL CDR 1-3) que son idénticas a las CDR (por ejemplo, VL CDR 1-3) de SEQ ID NO: 6 (por ejemplo, SEQ ID NO: 50, 72, y 52).

En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en el presente documento, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una cadena ligera que tiene al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 78, donde el anticuerpo se une específicamente a CD47 y donde el anticuerpo anti-CD47, cuando se produce usando un sistema de expresión acelular, tiene un título o rendimiento de expresión de anticuerpos superior en comparación con el anticuerpo parental cuando se produce en el sistema de expresión CF. En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en el presente documento, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende un dominio pesado que tiene al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 78, donde el anticuerpo se une específicamente a CD47, y donde el anticuerpo comprende CDR (por ejemplo, VL CDR 1-3) que son idénticas a las CDR (por ejemplo, VL CDR 1-3) de SEQ ID NO: 78 (por ejemplo, SEQ ID NO: 53, 71, y 55).

En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en el presente documento, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una cadena ligera que tiene al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 79, donde el anticuerpo se une específicamente a CD47 y donde el anticuerpo anti-CD47, cuando se produce usando un sistema de expresión acelular, tiene un título o rendimiento de expresión de anticuerpos superior en comparación con el anticuerpo parental cuando se produce en el sistema de expresión CF. En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en el presente documento, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende un dominio pesado que tiene al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 79, donde el anticuerpo se une específicamente a CD47, y donde el anticuerpo comprende CDR (por ejemplo, VL CDR 1-3) que son idénticas a las CDR (por ejemplo, VL CDR 1-3) de SEQ ID NO: 79 (por ejemplo, SEQ ID NO: 53, 71, y 55).

En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en el presente documento, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una cadena ligera que tiene al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 80, donde el anticuerpo se une específicamente a CD47 y donde el anticuerpo anti-CD47, cuando se produce usando un sistema de expresión acelular, tiene un título o rendimiento de expresión de anticuerpos superior en comparación con el anticuerpo parental cuando se produce en el sistema de expresión CF. En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en el presente documento, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende un dominio pesado que tiene al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 80, donde el anticuerpo se une específicamente a CD47, y donde el anticuerpo comprende CDR (por ejemplo, VL CDR 1-3) que son idénticas a las CDR (por ejemplo, VL CDR 1-3) de SEQ ID NO: 80 (por ejemplo, SEQ ID NO: 53, 71, y 55).

La Tabla 3 proporciona una tabla de secuencias de aminoácidos de anticuerpo anti-CD47 descritas en el presente documento. En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en el presente documento comprende cualquier secuencia de región variable de cadena ligera de la Tabla 3 y cualquier secuencia de región variable de cadena pesada de la Tabla 3.

Tabla 3. Secuencias de aminoácidos de anticuerpo anti-CD47.

SEQ ID NO:	DESCRIPCIÓN	Secuencia de aminoácidos
1	IgG1	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSRDE LTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW

			QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
5	2	IgG2	ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTVR KCCVECPPCP APPVAGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP KVSNGKLPAP IEKTISKTKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDISVEW ESNGQPENNY KTTTPMLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK
10	3	IgG3	ASTKGPSVFP LAPCSRSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YTCNVNHKPS NTKVDKRVEL KTPLGDTTHT CPRCPEPKSC DTPPPCPRCP EPKSCDTPPP CPRCPEPKSC DTPPPCPRCP APELLGGPSV FLPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED CKVSNKALPA PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESSGQPENN YNTTPMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG
15	4	IgG4	ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS NTKVDKRVES CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLGK
20			
25	5	Región de cadena pesada variable de un anticuerpo CD47 humanizado	EVQLQQSGAE LVRSGASVKL SCTASGFNIK DYLLHWVKQR PEQGLEWIGW IDPDNGDTEF APKFQ GKATM TADTSSNTAY LQLSSLTSED TAVYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTSVTV
30	6	Región variable de cadena pesada del anticuerpo anti-CD47 AB6.12	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYLLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDQGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
35	7	Región de cadena pesada variable de un anticuerpo CD47 humanizado	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYLLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
	8	Región de cadena pesada variable de un anticuerpo CD47 humanizado	EVQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYLLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV

5	9	Región de cadena pesada variable de un anticuerpo CD47 humanizado	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQGRVTM TADTSSNTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
	10	Región de cadena pesada variable de un anticuerpo CD47 humanizado	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQGRVTM TEDTSTDYAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
10	11	Región de cadena pesada variable de un anticuerpo CD47 humanizado	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDQGDTEY AQKFQDRVIT TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
15	12	Región de cadena pesada variable de un anticuerpo CD47 humanizado	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDYGDTEY AQKFQDRVIT TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
20	13	Región de cadena pesada variable de un anticuerpo CD47 humanizado	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDSGDTEY AQKFQDRVIT TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
25	14	Región de cadena pesada variable de un anticuerpo CD47 humanizado	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNADTEY AQKFQDRVIT TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
30	15	Región de cadena pesada variable de un anticuerpo CD47 humanizado	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNTDTEY AQKFQDRVIT TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
	16	Región de cadena pesada variable de un anticuerpo CD47 humanizado	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVIT TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSPYPMDYW GQGTTVTV*
35	17	Región de cadena pesada variable de un anticuerpo CD47 humanizado	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGYTFT YYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVIT TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTVTV
	18	Región de cadena pesada variable	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFTFT YYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVIT TRDRSMSTAY

5		de un anticuerpo CD47 humanizado	MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTTVTV
	19	Región de cadena pesada variable de un anticuerpo CD47 humanizado	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGYNFT YYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTTVTV
	20	Región de cadena pesada variable de un anticuerpo CD47 humanizado	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGYTIT YYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTTVTV
	21	Región de cadena pesada variable de un anticuerpo CD47 humanizado	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGYTFK YYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTTVTV
	22	Región de cadena pesada variable de un anticuerpo CD47 humanizado	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGYTFT DYLLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTTVTV
20	23	Región de cadena pesada variable de un anticuerpo CD47 humanizado	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFTFT DYLLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTTVTV
	24	Región de cadena pesada variable de un anticuerpo CD47 humanizado	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFTIT DYLLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTTVTV
	25	Región de cadena pesada variable de un anticuerpo CD47 humanizado	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGYTFK DYLLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTTVTV
30	26	Región de cadena pesada variable de un anticuerpo CD47 humanizado	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFTFK DYLLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTTVTV
	27	Región de cadena pesada variable de un anticuerpo CD47 humanizado	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYLLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY LQLSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPMDYW GQGTTTVTV

5	28	Región de cadena pesada variable de un anticuerpo CD47 humanizado	QMQLVQSGAE VKKTGSSVKV SCKASGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLTSED TAVYYCNAAY GSSSYPM DYW GQGTTVTV
	29	Región de cadena pesada variable de un anticuerpo CD47 humanizado	EVQLVQSGAE VKKPGATVKI SCKVSGFNIK DYYLHWVRQA PGQALEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPM DYW GQGTTVTV
	30	Región de cadena pesada variable de un anticuerpo CD47 humanizado	EVQLVQSGAE VKKPGATVKI SCKVSGFNIK DYYLHWVQQA PGKGLEWMGW IDPDNGDTEY AQKFQDRVTI TRDRSMSTAY MELSSLRSED TAMYYCNAAY GSSSYPM DYW GQGTTVTV
	31	Región de cadena ligera variable de un anticuerpo CD47 humanizado	DIKMTQSPSS LYASLGERVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKSPKILIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGQD YSLTISSLEY EDMGIYYCLQ YDEFPYTFGG GTKLEMK
	32	Región de cadena ligera variable de un anticuerpo CD47 humanizado	DIKMTQSPSS LYASLGERVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKSPKILIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGQD YSLTISSLEY EDMGIYYCLQ YDEFPYTFGG GTKLEIK
25	33	Región de cadena ligera variable de un anticuerpo CD47 humanizado	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDIH RYLSWYQQKP GKAPKLLIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTD FTFTISLQ EDIATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
	34	Región de cadena ligera variable de un anticuerpo CD47 humanizado	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKAPKSLIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQ EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
	35	Región de cadena ligera variable de un anticuerpo CD47 humanizado	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKVPKHLIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQ EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
35	36	Región de cadena ligera variable de un anticuerpo CD47 humanizado	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDIH RYLSWYQQKP GKAPKRILIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQ EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
	37	Región de cadena ligera variable de	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIH RYLAWYQQKP GKVPKLLIYR ANRLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQ

5		un anticuerpo CD47 humanizado	EDVATYYCLQ YDEFPYTFGQ GTKVEIK
	38	Región de cadena ligera variable de un anticuerpo CD47 humanizado	EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQDIH RYLAWYQQKP GQAPRLLIYR ANRRATGIPA RFSGSGSGTD FTLTISSLEP EDFAVYYCLQ YDEFPYTFGQ GTRLEIK
10	39	Región de cadena ligera variable de un anticuerpo CD47 humanizado	DIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKVPKHLIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
	40	Región de cadena ligera variable de un anticuerpo CD47 humanizado	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCRARQGIH RYLSWFQQKP GKVPKHLIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
15	41	Región de cadena ligera variable de un anticuerpo CD47 humanizado	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKVPKILIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
	42	Región variable de cadena ligera del anticuerpo anti- CD47 AB6.12	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKVPKHLIYR ANRLVSGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
25	43	Región de cadena ligera variable de un anticuerpo CD47 humanizado	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCRARQGIH RYLSWFQQKP GKVPKILIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
	44	Región de cadena ligera variable de un anticuerpo CD47 humanizado	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCRARQGIH RYLSWFQQKP GKVPKHLIYR ANRLVSGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
35	45	Región de cadena ligera variable de un anticuerpo CD47 humanizado	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKVPKLLIYR ANRLVDGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
	46	Región de cadena ligera variable de un anticuerpo CD47 humanizado	NIQMTQSPSA MSASVGDRVT ITCKASQDIH RYLSWFQQKP GKVPKLLIYR ANRLVSGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK

5

10

15

20

25

30

35

47	Región de cadena ligera variable de un anticuerpo CD47 humanizado	NIQMTQSPSA MSASVGDRV ITCRARQGIH RYLSWFQQKP GKVPKLLIYR ANRLVSGVPS RFSGSGSGTE FTLTISLQ EDFATYYCLQ YDEFPYTFGG GTKVEIK
48	SECUENCIA CD47 HUMANA EJEMPLAR	MWPLVAALLL GSACCGSAQL LFNKTKSVEF TFCNDTVVIP CFVTNMEAQN TTEVYVKWKF KGRDIYTFDG ALNKSTVPTD FSSAKIEVSQ LLKGDASLKM DKSDAVSHTG NYTCEVTELT REGETIIEELK YRVVSWFSPN ENILIVIFPI FAILLFWGQF GIKTLKYRSG GMDEKTIALL VAGLVITVIV IVGAILFVPG EYSLKNATGL GLIVTSTGIL ILLHYYVFST AIGLTSFVIA ILVIQVIAYI LAVVGLSLCI AACIPMHGPL LISGLSILAL AQLLGLVYMK FVASNQKTIQ PPRKAVEEPL NAFKESKGMM NDE
49	SECUENCIA CD47 HUMANA EJEMPLAR SIN SECUENCIA SEÑAL	QLLFNKTCSV EFTFCNDTVV IPCFVTNMEA QNTTEVYVKW KFKGRDIYTF DGALNKSTVP TDFSSAKIEV SLLKGDASL KMDKSDAVSH TGNYTCEVTE LTREGETIIE LKYRVVSWFS PNENILIVIF PIFAILLFWG QFGIKTLKYR SGGMDEKTIA LLVAGLVITV IVIVGAILFV PGEYSLKNAT GLGLIVTSTG ILILLHYYVF STAIGLTSFV IALVIQVIA YILAVVGLSL CIAACIPMHG PLLISGLSIL ALAQLLGLVY MKFVASNQKT IQPPRKAVEE PLNAFKESKG MMNDE
50	Secuencia de aminoácidos de VH CDR1	GFNIKDYHLH
51	secuencia de aminoácidos de VH CDR2	WIDPDNGDTE
52	secuencia de aminoácidos de VH CDR3	NAAYGSSSYPM DY
53	secuencia de aminoácidos de VL CDR1	KASQDIHRYLS
54	secuencia de aminoácidos de VL CDR2	RANRLVD
55	secuencia de	LQYDEFPYT

	aminoácidos de VL CDR3	
56	epítipo CD47	KGRD
57	Secuencia de aminoácidos de VH CDR1	GYTFTYYYYLH
58	Secuencia de aminoácidos de VH CDR1	GFTFTYYYYLH
59	Secuencia de aminoácidos de VH CDR1	GYNFTYYYYLH
60	Secuencia de aminoácidos de VH CDR1	GYTITYYYLH
61	Secuencia de aminoácidos de VH CDR1	GYTFKYYYYLH
62	Secuencia de aminoácidos de VH CDR1	GYTFTDYLLH
63	Secuencia de aminoácidos de VH CDR1	GFTFTDYLLH
64	Secuencia de aminoácidos de VH CDR1	GFTITDYLLH
65	Secuencia de aminoácidos de VH CDR1	GYTFKDYLLH
66	Secuencia de aminoácidos de VH CDR1	GFTFKDYLLH
67	secuencia de aminoácidos de VL CDR1	RASQDIHRYLA
68	secuencia de	RARQGIHRYLS

	aminoácidos de VL CDR1	
5	69	secuencia de aminoácidos de VL CDR2
	70	secuencia de aminoácidos de VL CDR2
10	71	secuencia de aminoácidos de VL CDR2
	72	secuencia de aminoácidos de VH CDR2
15	73	secuencia de aminoácidos de VH CDR2
	74	secuencia de aminoácidos de VH CDR2
20	75	secuencia de aminoácidos de VH CDR2
	76	secuencia de aminoácidos de VH CDR2
25	77	secuencia de aminoácidos de VH CDR3
30	78	Cadena pesada de IgG1 de anticuerpo anti- CD47
35		MQMQLVQSGA EVKKTGSSVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQALEWMG WIDPDQGDTE YAQKFQDRVT ITRDRSMSTA YMELSSLRSE DTAMYYCNAA YGSSSYPM DY WGQGT TVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSV TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDKKVE PKSCDKTHTC PPCPAPELLG GPSVFLFPPK PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY NSTYRVVSVL TVLHQDWLNG

5

10

15

20

25

30

35

		VLDSDGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG K
82	Cadena pesada de IgG1-13mz de anticuerpo anti- CD47	MQVQLVQSGA EVKKPGASVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQGLEWMG WIDPDQGDTE YAQKLQGRVT MTTDTSTSTA YMELRSLRSD DTAIVYYCNAAYGSSSYPMYWGQGTTVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVT SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSV TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDKKVE PKSCDKTHC PPCAPELLG GPSVFLFPPK PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY NSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRE EMTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTTTP VLDSDGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
83	Cadena pesada de IgG1-5m de anticuerpo anti- CD47	MQMQLVQSGA EVKKPGSSVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQALEWMG WIDPDQGDTE YAQKFQGRVT ITRDRSTSTA YMELRSLRSE DTAIVYYCNAAYGSSSYPMYWGQGTTVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVT SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSV TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDKKVE PKSCDKTHC PPCAPELLG GPSVFLFPPK PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY NSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRD ELTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTTTP VLDSDGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG K
84	Cadena pesada de IgG4P-13m de anticuerpo anti- CD47	MQVQLVQSGA EVKKPGASVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQGLEWMG WIDPDQGDTE YAQKLQGRVT MTTDTSTSTA YMELRSLRSD DTAIVYYCNAAYGSSSYPMYWGQGTTVTVS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVT SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSV TVPSSSLGTK TYTCNVDHKP SNTKVDKRVE SKYGPPCPPC PAPEFLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLGK

5

10

15

20

25

30

35

85	Cadena pesada de IgG4P-5m de anticuerpo anti-CD47	MQMQLVQSGA EVKKPGSSVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQALEWMG WIDPDQGDTE YAQKFQGRVT ITRDRSTSTA YMELRSLRSE DTAIVYYCNAAYGSSSYPMDDY WGQGTTVTVS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTK TYTCNVDPKPTL SNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLGK
86	Cadena pesada de IgG4PE-13m de anticuerpo anti-CD47	MQVQLVQSGA EVKKPGASVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQGLEWMG WIDPDQGDTE YAQKLQGRVT MTTDTSTSTA YMELRSLRSD DTAIVYYCNAAYGSSSYPMDDY WGQGTTVTVS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTK TYTCNVDPKPTL SNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLGK
87	Cadena pesada de IgG4PE-5m de anticuerpo anti-CD47	MQMQLVQSGA EVKKPGSSVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQALEWMG WIDPDQGDTE YAQKFQGRVT ITRDRSTSTA YMELRSLRSE DTAIVYYCNAAYGSSSYPMDDY WGQGTTVTVS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTK TYTCNVDPKPTL SNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLGK
88	Cadena ligera (Ig Kappa)	MNIQMTQSPS AMSASVGDRV TITCKASQDI HRYLSWFQQK PGKVPKHLIY RANRLVSGVP SRFSGSGSGT EFTLTISLQ

5			PEDFATYYCL QYDEFPYTFG GGTKVEIKRT VAAPSVFIFP PSDEQLKSGT ASVVCLLNNF YPREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYLSSTL TLSKADYEKH KVVACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC
10	89	secuencia consenso para región variable de cadena pesada de anticuerpo anti- CD47	$X_1QX_2QLVQSGAEVKKX_3GX_4SVKVSCKASGFNIKDYLLHWVRQAPG$ $QX_5LEWMGWIDPDQGDTEYAQKX_6QX_7RVTX_8TX_9DX_{10}SX_{11}STAYME$ $LX_{12}SLRSX_{13}DTAX_{14}YYCNAAYGSSSYPMDDYWGQGTDTV$
	90	VH de anticuerpo anti-CD47 - 13m	MQVQLVQSGAEV KKPASVKVS CKASGFNIKD YYLHWVRQAP GQGLEWMGWI DPDQGDTEYA QKLQGRVTMT TDTSTSTAYM ELRSLRSDDT AVYYCNAAYG SSSYPMDDYWG QGTDTV
15	91	VH de anticuerpo anti-CD47 - 5m	MQMQLVQSGA EVKKPGSSVK VSCKASGFNI KDYYLHWVRQ APGQALEWMG WIDPDQGDTE YAQKLQGRVT MTTDTSTSTA YMELRSLRSD DTAHYCNAAYGSSSYPMDDY WGQGTDTV

En algunas realizaciones, los anticuerpos CD47 descritos en el presente documento se usan
 junto con uno o más agentes adicionales o una combinación de agentes adicionales. Los agentes
 adicionales adecuados incluyen terapias farmacéuticas y/o quirúrgicas actuales para una aplicación
 prevista, tal como, por ejemplo, cáncer. Por ejemplo, los anticuerpos CD47 pueden usarse junto con uno
 o más agentes quimioterapéuticos o antineoplásicos adicionales. Como alternativa, el agente
 quimioterapéutico adicional es la radioterapia. En algunas realizaciones, el agente quimioterapéutico es
 un agente inductor de muerte celular. En algunas realizaciones, el agente quimioterapéutico induce una
 pérdida de asimetría de fosfolípidos a través de la membrana plasmática, por ejemplo, provoca la
 exposición de fosfatidilserina (PS) en la superficie celular. En algunas realizaciones, el agente
 quimioterapéutico induce estrés del retículo endoplásmico (RE). En algunas realizaciones, el agente
 quimioterapéutico es un inhibidor de proteasoma. En algunas realizaciones, el agente quimioterapéutico
 induce la translocación de proteínas ER a la superficie celular. En algunas realizaciones, el agente
 quimioterapéutico induce la translocación y la exposición a la superficie celular de calreticulina.

En algunas realizaciones, el anticuerpo CD47 y el agente adicional se formulan en una única
 composición terapéutica, y el anticuerpo CD47 y el agente adicional se administran simultáneamente.
 Como alternativa, el anticuerpo CD47 y el agente adicional están separados entre sí, por ejemplo, cada
 uno se formula en una composición terapéutica separada, y el anticuerpo CD47 y el agente adicional se
 administran simultáneamente, o el anticuerpo CD47 y el agente adicional se administran en momentos
 diferentes durante un régimen de tratamiento. Por ejemplo, el anticuerpo CD47 se administra antes de la
 administración del agente adicional, el anticuerpo CD47 se administra después de la administración del
 agente adicional, o el anticuerpo CD47 y el agente adicional se administran de manera alterna. Como se

describe en el presente documento, el anticuerpo CD47 y el agente adicional se administran en dosis únicas o en dosis múltiples.

En aspectos particulares, los anticuerpos anti-CD47 proporcionados en el presente documento comprenden uno o más residuos de aminoácidos no naturales en posiciones de sitio específico. Véase, por ejemplo, la Publicación de Solicitud de EE.UU. N.º US 2014/0046030 A1, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad. En aspectos específicos, los residuos de aminoácidos no naturales en posiciones de sitio específico tienen ventajas para el rendimiento de producción de anticuerpos, solubilidad, afinidad de unión y/o actividad. Se han descrito ejemplos no limitantes de aminoácidos no naturales, véase, por ejemplo, la Publicación de Solicitud de EE.UU. N.º US 2014/0066598 A1.

En un aspecto particular, en el presente documento se proporcionan anticuerpos anti-CD47 conjugados con un resto de conjugación o un agente tal como un marcador o toxina. Un resto de conjugación puede ser cualquier resto de conjugación que se considere útil para un experto en la técnica. Por ejemplo, un resto de conjugación puede ser un polímero, tal como polietilenglicol, que puede mejorar la estabilidad del anticuerpo in vitro o in vivo. Un resto de conjugación puede tener actividad terapéutica, produciendo así un conjugado anticuerpo-fármaco. Un resto de conjugación puede ser una carga molecular que sea perjudicial para las células objetivo. Un resto de conjugación puede ser un marcador útil para la detección o el diagnóstico. En ciertos aspectos, un resto de conjugación está unido al anticuerpo a través de un enlace covalente directo. En ciertos aspectos, un resto de conjugación se une al anticuerpo a través de un enlazador. En aspectos particulares, un resto de conjugación, o un enlazador, se une a través de uno de los aminoácidos no naturales de un anticuerpo anti-CD47. Se han descrito ejemplos de restos de conjugación y enlazadores, por ejemplo, véase la Publicación de Solicitud de EE.UU. N.º US2014/0046030 A1, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad.

Los anticuerpos, o fragmentos de unión a antígeno descritos en el presente documento que se unen inmuno-específicamente a CD47 (por ejemplo, ECD de CD47 humano), pueden producirse mediante cualquier método conocido en la técnica.

Los anticuerpos descritos en el presente documento pueden, por ejemplo, incluir anticuerpos quiméricos. Un anticuerpo quimérico es una molécula en la que diferentes porciones del anticuerpo se derivan de diferentes moléculas de inmunoglobulina. Por ejemplo, un anticuerpo quimérico puede contener una región variable de un anticuerpo monoclonal de ratón o rata fusionado a una región constante de un anticuerpo humano. Los métodos para producir anticuerpos quiméricos son conocidos en la técnica. Véanse, por ejemplo, Morrison, 1985, Science 229:1202; Oi *et al.*, 1986, BioTechniques 4:214; Gillies *et al.*, 1989, J. Immunol. Methods 125:191-202; y las Patentes de EE.UU. N.º 5,807,715, 4,816,567, 4,816,397, y 6,331,415.

Los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno producidos usando técnicas tales como las descritas en el presente documento pueden aislarse usando técnicas estándar bien conocidas. Por ejemplo, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno pueden separarse adecuadamente de, por

ejemplo, medio de cultivo, fluido ascítico, suero, lisado celular, material de reacción de síntesis o similares, mediante procedimientos de purificación de inmunoglobulina convencionales tales como, por ejemplo, proteína A-Sepharose, cromatografía de hidroxilapatita, electroforesis en gel, diálisis o cromatografía de afinidad. Como se usa en el presente documento, un anticuerpo "aislado" o "purificado" está

5 sustancialmente libre de material celular u otras proteínas de la fuente celular o tisular de la que se deriva el anticuerpo, o sustancialmente libre de precursores químicos u otros productos químicos cuando se sintetiza químicamente, o de los componentes del sistema de expresión CF utilizado para producir los anticuerpos.

Los anticuerpos descritos en el presente documento incluyen fragmentos de anticuerpos que reconocen antígenos CD47 específicos y pueden generarse mediante cualquier técnica conocida por los expertos en la técnica. Por ejemplo, los fragmentos Fab y F(ab')₂ descritos en el presente documento pueden producirse mediante escisión proteolítica de moléculas de inmunoglobulina, usando enzimas tales como papaína (para producir fragmentos Fab) o pepsina (para producir fragmentos F(ab')₂). Un fragmento Fab corresponde a uno de los dos brazos idénticos de una molécula de anticuerpo y contiene

10 la cadena ligera completa emparejada con los dominios VH y CH1 de la cadena pesada. Un fragmento F(ab')₂ contiene los dos brazos de unión a antígeno de una molécula de anticuerpo unida por enlaces disulfuro en la región bisagra. Como alternativa, los fragmentos de anticuerpos descritos en el presente documento pueden producirse rutinariamente a través de técnicas de expresión recombinante bien conocidas. Véanse, por ejemplo, la publicación PCT N.º WO 92/22324; Mullinax *et al.*, 1992,

15 BioTechniques 12(6):864-869; Sawai *et al.*, 1995, AJRI 34:26-34; y Better *et al.*, 1988, Science 240:1041-1043.

Los anticuerpos descritos en el presente documento pueden incluir, por ejemplo, anticuerpos humanizados, por ejemplo, anticuerpos desimmunizados o humanos compuestos. Un anticuerpo humanizado puede comprender secuencias de región constante humana. En ciertas realizaciones, se puede seleccionar un anticuerpo humanizado de cualquier clase de inmunoglobulinas, incluyendo IgM,

20 IgG, IgD, IgA e IgE, y cualquier isotipo, incluyendo IgG₁, IgG₂, IgG₃ e IgG₄. En ciertas realizaciones, un anticuerpo humanizado puede comprender secuencias constantes de cadena ligera kappa o lambda.

Los anticuerpos humanizados pueden producirse usando una variedad de técnicas conocidas en la técnica, incluyendo, pero sin limitación, injerto de CDR (Patente Europea N.º EP 239,400; Publicación internacional N.º WO 91/09967; y Patentes de EE.UU. N.º 5,225,539, 5,530,101, y 5,585,089), acondicionamiento o remodelado (Patentes Europeas N.º EP 592,106 y EP 519,596; Padlan, 1991, Molecular Immunology 28(4/5):489-498; Studnicka *et al.*, 1994, Protein Engineering 7(6):805-814; y Roguska *et al.*, 1994, PNAS 91:969-973), intercambio de cadenas (Patente de EE.UU. N.º 5,565,332), y técnicas divulgadas, por ejemplo, la Pat. de EE.UU. N.º 6,407,213, la Pat. de EE.UU. N.º 5,766,886,

30 documento WO 9317105, Tan *et al.*, J. Immunol. 169:1119-1125 (2002), Caldas *et al.*, Protein Eng. 13(5):353-60 (2000), Morea *et al.*, Methods 20(3):267-79 (2000), Baca *et al.*, J. Biol. Chem. 272(16):10678-84 (1997), Roguska *et al.*, Protein Eng. 9(10):895-904 (1996), Couto *et al.*, Cancer Res. 55 (23 Supp):5973s-5977s (1995), Couto *et al.*, Cancer Res. 55(8):1717-22 (1995), Sandhu JS, Gene

150(2):409-10 (1994), y Pedersen *et al.*, J. Mol. Biol. 235(3):959-73 (1994). Véase también la Pub. de Patente de EE.UU. N.º US 2005/0042664 A1 (24 de febrero de 2005), cada uno de los cuales se incorpora por referencia en el presente documento en su totalidad.

Los anticuerpos descritos en el presente documento pueden ser, por ejemplo, multiespecíficos, por ejemplo, anticuerpos biespecíficos. Se han descrito métodos para hacer multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos), véanse, por ejemplo, las Patentes de EE.UU. N.º 7951917, 7183076, 8227577, 5837242, 5989830, 5869620, 6132992, y 8586713.

Los anticuerpos de dominio único, por ejemplo, los anticuerpos que carecen de las cadenas ligeras, pueden producirse mediante métodos bien conocidos en la técnica. Véase Riechmann *et al.*, 1999, J. Immunol. 231:25-38; Nuttall *et al.*, 2000, Curr. Pharm. Biotechnol. 1(3):253-263; Muylderman, 2001, J. Biotechnol. 74(4):277302; Patente de EE.UU. N.º 6,005,079; y Publicaciones Internacionales N.º WO 94/04678, WO 94/25591, y WO 01/44301.

Se pueden producir anticuerpos humanos usando cualquier método conocido en la técnica. Por ejemplo, pueden usarse ratones transgénicos bien conocidos que son incapaces de expresar inmunoglobulinas murinas endógenas funcionales, pero que pueden expresar genes de inmunoglobulina humana. Como alternativa, por ejemplo, se pueden utilizar técnicas de visualización de fagos, descritas anteriormente. Además, en algunas realizaciones, los anticuerpos humanos pueden producirse, por ejemplo, usando hibridomas ratón-humano. Por ejemplo, los linfocitos de sangre periférica humana transformados con el virus de Epstein-Barr (VEB) se pueden fusionar con células de mieloma de ratón para producir hibridomas humano-ratón que secretan anticuerpos monoclonales humanos, y estos hibridomas humano-ratón pueden seleccionarse para determinar cuáles secretan anticuerpos monoclonales humano que se unen inmuno-específicamente a un antígeno diana (por ejemplo, ECD de CD47 humano). Dichos métodos son conocidos y se describen en la técnica, véase, por ejemplo, Shinmoto *et al.*, Cytotechnology, 2004, 46:19-23; Naganawa *et al.*, Human Antibodies, 2005, 14:27-31.

Los dominios variables de anticuerpos con las especificidades de unión deseadas (sitios de combinación anticuerpo-antígeno) pueden fusionarse a secuencias de dominio constante de inmunoglobulina. La fusión es preferiblemente con un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina, que comprende al menos parte de las regiones bisagra, CH2 y CH3. Se prefiere tener la primera región constante de cadena pesada (CH1) que contenga el sitio necesario para la unión de la cadena ligera presente en al menos una de las fusiones. Los ADN que codifican las fusiones de cadena pesada de inmunoglobulina y, si se desea, la cadena ligera de inmunoglobulina, se insertan en vectores de expresión separados y se cotransfectan en un organismo huésped adecuado. Para más detalles sobre la generación de anticuerpos biespecíficos, véase, por ejemplo, Suresh *et al.*, Methods in Enzymology, 121:210 (1986).

De acuerdo con otro enfoque descrito en el documento WO 96/27011, la interfaz entre un par de moléculas de anticuerpos se puede diseñar para maximizar el porcentaje de heterodímeros que se recuperan del cultivo de células recombinantes. La interfaz preferida comprende al menos una parte de la región CH3 de un dominio constante de anticuerpo. En este método, una o más cadenas laterales de

aminoácidos pequeñas de la interfaz de la primera molécula de anticuerpo se reemplazan con cadenas laterales más grandes (por ejemplo, tirosina o triptófano). Las "cavidades" compensatorias de tamaño idéntico o similar a la cadena o cadenas laterales grandes se crean en la interfaz de la segunda molécula de anticuerpo reemplazando las cadenas laterales de aminoácidos grandes por otras más pequeñas (por ejemplo, alanina o treonina). Esto proporciona un mecanismo para aumentar el rendimiento del heterodímero sobre otros productos finales no deseados, tales como los homodímeros.

Los anticuerpos biespecíficos se pueden preparar como anticuerpos de longitud completa o fragmentos de anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos $F(ab')_2$). Las técnicas para generar anticuerpos biespecíficos a partir de fragmentos de anticuerpos se han descrito en la bibliografía. Por ejemplo, los anticuerpos biespecíficos pueden prepararse usando enlace químico. Brennan et al., Science 229:81 (1985) describen un procedimiento donde los anticuerpos intactos se escinden proteolíticamente para generar fragmentos $F(ab')_2$. Estos fragmentos se reducen en presencia del agente complejante de ditiol arsenito de sodio para estabilizar los ditioles adyacentes y evitar la formación de disulfuro intermolecular. Los fragmentos Fab' generados se convierten entonces en derivados de tionitrobenzoato (TNB). Después, uno de los derivados de Fab' -TNB se reconvierte en Fab' -tiol por reducción con mercaptoetilamina y se mezcla con una cantidad equimolar del otro derivado de Fab' -TNB para formar el anticuerpo biespecífico. Los anticuerpos biespecíficos producidos pueden usarse como agentes para la inmovilización selectiva de enzimas.

4.2.3 Composiciones farmacéuticas y kits

Se proporcionan en el presente documento composiciones, composiciones farmacéuticas y kits que comprenden una o más proteínas terapéuticas descritas en el presente documento. También se proporcionan en el presente documento composiciones, composiciones farmacéuticas y kits que comprenden un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, en solitario o en combinación con proteínas terapéuticas descritas en el presente documento. En particular, se proporcionan en el presente documento composiciones, composiciones farmacéuticas y kits que comprenden uno o más anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos anti-CD47), descritos en el presente documento, o fragmentos de unión a antígeno, o conjugados de los mismos. En ciertos aspectos, las composiciones (por ejemplo, composiciones farmacéuticas) descritas en el presente documento pueden ser para usos *in vitro*, *in vivo*, o *ex vivo*. Los ejemplos no limitantes de usos incluyen usos para reducir la inmunogenicidad, usos para modular (por ejemplo, inhibir o inducir/potenciar) la actividad de CD47, y usos para controlar o tratar un trastorno, por ejemplo, cáncer. En realizaciones específicas, se proporciona en el presente documento una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo humanizado) descrito en el presente documento (o un fragmento de unión a antígeno del mismo) y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Como se usa en el presente documento, el término "farmacéuticamente aceptable" significa que está aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o que figura en la Farmacopea de Estados Unidos, la Farmacopea Europea u otra Farmacopea generalmente reconocida para su uso en animales, y más particularmente en seres humanos.

Las formulaciones que contienen uno o más anticuerpos proporcionados en el presente documento, o un fragmento de unión a antígeno de los mismos, pueden prepararse para almacenamiento mezclando el anticuerpo que tiene el grado deseado de pureza con vehículos, excipientes o estabilizadores fisiológicamente aceptables opcionales (Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA; Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21^a ed. (2006) Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD). Dichas formulaciones pueden, por ejemplo, estar en forma de, por ejemplo, formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas. Los vehículos farmacéuticos adecuados para la administración de los anticuerpos proporcionados en el presente documento incluyen cualquiera de dichos vehículos conocidos por los expertos en la técnica como adecuados para el modo particular de administración. Los vehículos, excipientes o estabilizadores aceptables no son tóxicos para los receptores a las dosis y concentraciones empleadas, e incluyen tampones tales como fosfato, citrato, y otros ácidos orgánicos; y/o tensioactivos no iónicos tales como TWEEN™, PLURONICS™ o polietilenglicol (PEG).

Las formulaciones a usar para la administración *in vivo* pueden ser estériles. Esto se puede lograr fácilmente, por ejemplo, mediante filtración a través de, por ejemplo, membranas de filtración estériles.

En aspectos específicos, las composiciones farmacéuticas para su uso en los métodos proporcionados en el presente documento contienen cantidades terapéuticamente eficaces de una o más de las proteínas terapéuticas proporcionadas en el presente documento en un vehículo farmacéuticamente aceptable. En aspectos específicos, las composiciones farmacéuticas para su uso en los métodos proporcionados en el presente documento contienen cantidades terapéuticamente eficaces de un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, en solitario o en combinación con una o más proteínas terapéuticas proporcionadas en el presente documento, en un vehículo farmacéuticamente aceptable. En aspectos específicos, las composiciones farmacéuticas para su uso en los métodos proporcionados en el presente documento contienen cantidades terapéuticamente eficaces de uno o más de los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno proporcionados en el presente documento en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Dichas composiciones farmacéuticas son útiles en la prevención, tratamiento, manejo o mejora de una afección o trastorno que se describe en el presente documento o uno o más síntomas de los mismos.

Las composiciones para su uso en los métodos proporcionados en el presente documento pueden contener una o más proteínas terapéuticas proporcionadas en el presente documento. Las composiciones para su uso en los métodos proporcionados en el presente documento pueden contener rituximab, en solitario o en combinación con una o más proteínas terapéuticas proporcionadas en el presente documento. Las composiciones para su uso en los métodos proporcionados en el presente documento pueden contener uno o más anticuerpos proporcionados en el presente documento, o un fragmento de unión a antígeno de los mismos. En una realización, se proporcionan composiciones donde los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno descritos en el presente documento se formulan en preparaciones farmacéuticas adecuadas, tales como soluciones, suspensiones, polvos, formulaciones de

liberación sostenida o elixires en soluciones o suspensiones estériles para administración parenteral, o como preparación de parche transdérmico e inhaladores de polvo seco.

En una realización, las composiciones para su uso en los métodos proporcionados en el presente documento se formulan para administración de dosificación única. Para formular una composición, la fracción en peso del compuesto se disuelve, se suspende, se dispersa o se mezcla de otro modo en un vehículo seleccionado a una concentración eficaz de manera que se alivie, prevenga la afección tratada, o se mejoren uno o más síntomas.

En ciertos aspectos, se incluye un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, en el vehículo farmacéuticamente aceptable en una cantidad eficaz suficiente para ejercer un efecto terapéuticamente útil en ausencia o con efectos secundarios no deseados mínimos o insignificantes sobre el paciente tratado.

En ciertos aspectos, las proteínas terapéuticas para su uso en los métodos proporcionados en el presente documento se incluyen en el vehículo farmacéuticamente aceptable en una cantidad eficaz suficiente para ejercer un efecto terapéuticamente útil en ausencia o con efectos secundarios no deseados mínimos o insignificantes sobre el paciente tratado.

En ciertos aspectos, los anticuerpos para su uso en los métodos proporcionados en el presente documento se incluyen en el vehículo farmacéuticamente aceptable en una cantidad eficaz suficiente para ejercer un efecto terapéuticamente útil en ausencia o con efectos secundarios no deseados mínimos o insignificantes sobre el paciente tratado.

Las concentraciones de una proteína terapéutica, por ejemplo, un anticuerpo anti-CD47, en una composición farmacéutica para su uso en los métodos proporcionados en el presente documento dependerán, por ejemplo, de las características fisicoquímicas del anticuerpo, el programa de dosificación y la cantidad administrada, así como otros factores.

Las composiciones farmacéuticas para su uso en los métodos descritos en el presente documento se proporcionan para administración a seres humanos o animales (por ejemplo, mamíferos) en formas de dosificación unitarias, tales como soluciones o suspensiones parenterales estériles (por ejemplo, intravenosas) que contienen cantidades adecuadas de los compuestos o farmacéuticamente derivados aceptables de los mismos. Las composiciones farmacéuticas también se proporcionan para administración a seres humanos y animales en forma de dosificación unitaria, tales como comprimidos, cápsulas, píldoras, polvos, gránulos y soluciones o suspensiones orales o nasales, y emulsiones de aceite y agua que contienen cantidades adecuadas de una proteína terapéutica o derivados farmacéuticamente aceptables de las mismas. La proteína terapéutica, en una realización, se formula y se administra en formas de dosificación unitarias o formas de dosificación múltiple. Las formas de dosis unitarias, como se usan en el presente documento, se refieren a unidades físicamente discretas adecuadas para sujetos humanos o animales (por ejemplo, mamíferos) y envasadas individualmente. Cada dosis unitaria contiene una cantidad predeterminada de una proteína terapéutica suficiente para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con el vehículo, vehículo o diluyente farmacéutico requerido. Los ejemplos de formas de dosis unitarias incluyen ampollas y jeringas y comprimidos o

cápsulas empaquetadas individualmente. Las formas de dosis unitarias se pueden administrar en fracciones o múltiplos de las mismas. Una forma de dosis múltiple es una pluralidad de formas de dosis unitarias idénticas empaquetadas en un único recipiente a administrar en forma de dosis unitaria segregada. Los ejemplos de formas de dosis múltiples incluyen viales, frascos de comprimidos o cápsulas o frascos. Por lo tanto, en aspectos específicos, la forma de dosis múltiple es un múltiplo de dosis unitarias que no están segregadas en el envase.

En ciertas realizaciones, una o más proteínas terapéuticas para su uso en los métodos descritos en el presente documento, están en una formulación farmacéutica líquida. Las composiciones líquidas farmacéuticamente administrables pueden prepararse, por ejemplo, disolviendo, dispersando o mezclando de otro modo un anticuerpo y adyuvantes farmacéuticos opcionales en un vehículo, tal como, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa acuosa, glicerol, glicoles y similares, para formar así una solución o suspensión. En ciertas realizaciones, una composición farmacéutica proporcionada en el presente documento a administrar, también puede contener cantidades menores de sustancias auxiliares no tóxicas tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes solubilizantes y agentes tamponadores de pH y similares.

Los métodos para preparar dichas formas de dosificación son conocidos, o serán evidentes, para los expertos en esta técnica; por ejemplo, véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA; Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21^a ed. (2006) Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD.

La administración parenteral, en una realización, se caracteriza por inyección, también se contempla en el presente documento por vía subcutánea, intramuscular o intravenosa. Los inyectables pueden prepararse en formas convencionales, ya sea como soluciones o suspensiones líquidas, formas sólidas adecuadas para solución o suspensión en líquido antes de la inyección, o como emulsiones. Los inyectables, soluciones y emulsiones también contienen uno o más excipientes. Los excipientes adecuados son, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa, glicerol o etanol. Otras vías de administración pueden incluir, administración entérica, administración intracerebral, administración nasal, administración intraarterial, administración intracardíaca, infusión intraósea, administración intratecal y administración intraperitoneal.

Las preparaciones para administración parenteral incluyen soluciones estériles listas para inyección, productos estériles solubles secos, tales como polvos liofilizados, listos para combinarse con un disolvente justo antes del uso, incluyendo comprimidos hipodérmicos, suspensiones estériles listas para inyección, productos estériles insolubles secos listos para combinarse con un vehículo justo antes del uso, y emulsiones estériles. Las soluciones pueden ser acuosas o no acuosas.

Si se administran por vía intravenosa, los vehículos adecuados incluyen solución salina fisiológica o solución salina tamponada con fosfato (PBS), y soluciones que contienen agentes espesantes y solubilizantes, tales como glucosa, polietilenglicol y polipropilenglicol y mezclas de los mismos.

Los vehículos farmacéuticamente aceptables usados en preparaciones parenterales incluyen vehículos acuosos, vehículos no acuosos, agentes antimicrobianos, agentes isotónicos, tampones,

antioxidantes, anestésicos locales, agentes de suspensión y dispersantes, agentes emulsionantes, agentes secuestrantes o quelantes y otras sustancias farmacéuticamente aceptables.

Los vehículos farmacéuticos también incluyen alcohol etílico, polietilenglicol y propilenglicol para vehículos miscibles en agua; e hidróxido de sodio, ácido clorhídrico, ácido cítrico o ácido láctico para
5 ajustar el pH.

En ciertas realizaciones, la infusión intravenosa o intraarterial de una solución acuosa estéril que contiene una proteína terapéutica para su uso en los métodos descritos en el presente documento es un modo eficaz de administración. Otra realización es una solución o suspensión estéril acuosa u oleosa que contiene una proteína terapéutica para su uso en los métodos descritos en el presente documento
10 inyectados según sea necesario para producir el efecto farmacológico deseado.

En realizaciones específicas, una proteína terapéutica para su uso en los métodos descritos en el presente documento puede suspenderse en forma micronizada u otra forma adecuada. La forma de la mezcla resultante depende de una serie de factores, incluido el modo de administración previsto y la solubilidad del compuesto en el portador o vehículo seleccionado.

En otras realizaciones, las formulaciones farmacéuticas son polvos liofilizados, que pueden reconstituirse para administración como soluciones, emulsiones y otras mezclas. También se pueden reconstituir y formular como sólidos o geles.

El polvo liofilizado se puede preparar, por ejemplo, disolviendo una proteína terapéutica para su uso en los métodos proporcionados en el presente documento, en un disolvente adecuado. En algunas
20 realizaciones, el polvo liofilizado es estéril. Los disolventes adecuados pueden contener un excipiente que mejora la estabilidad u otro componente farmacológico del polvo o solución reconstituida, preparada a partir del polvo. Los excipientes que pueden usarse incluyen, pero sin limitación, dextrosa, sorbital, fructosa, jarabe de maíz, xilitol, glicerina, glucosa, sacarosa u otro agente adecuado. Un disolvente adecuado también puede contener un tampón, tal como citrato, fosfato de sodio o potasio u otro tampón
25 conocido por los expertos en la técnica, en una realización, a aproximadamente pH neutro. La posterior filtración estéril de la solución seguida de liofilización en condiciones estándar conocidas por los expertos en la técnica proporciona un ejemplo de una formulación. En una realización, la solución resultante se distribuirá en viales para la liofilización. El polvo liofilizado se puede almacenar en condiciones apropiadas, tal como a aproximadamente 4 °C a temperatura ambiente.

La reconstitución de este polvo liofilizado con agua para inyección proporciona una formulación para su uso en administración parenteral. Para la reconstitución, el polvo liofilizado se añade a agua estéril u otro vehículo adecuado.

En ciertos aspectos, una proteína terapéutica para su uso en los métodos proporcionados en el presente documento puede formularse para administración local o aplicación tópica, tal como para
35 aplicación tópica en la piel y las membranas mucosas, tal como en el ojo, en forma de geles, cremas y lociones y para aplicación en el ojo o para aplicación intracisternal o intraespinal. La administración tópica se contempla para administración transdérmica y también para la administración a los ojos o la mucosa, o

para terapias de inhalación. También se pueden administrar soluciones nasales del compuesto activo en solitario o en combinación con otros excipientes farmacéuticamente aceptables.

Los anticuerpos anti-CD47, anticuerpos anti-CD20, por ejemplo, rituximab y otras proteínas terapéuticas para su uso en los métodos proporcionados en el presente documento también pueden formularse para dirigirse a un tejido, órgano u otra área particular del cuerpo del sujeto a tratar. Muchos de estos métodos de direccionamiento se conocen bien por los expertos en la técnica. Todos estos métodos de direccionamiento se contemplan en el presente documento para su uso en las presentes composiciones. Para ejemplos no limitantes de métodos de focalización, véanse, por ejemplo, las Patentes de EE.UU. N.º 6,316,652, 6,274,552, 6,271,359, 6,253,872, 6,139,865, 6,131,570, 6,120,751, 6,071,495, 6,060,082, 6,048,736, 6,039,975, 6,004,534, 5,985,307, 5,972,366, 5,900,252, 5,840,674, 5,759,542 y 5,709,874. En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-CD47 descritos en el presente documento están dirigidos (o administrados de otro modo) a los órganos visuales, la médula ósea, el tracto gastrointestinal, los pulmones, el cerebro o las articulaciones. En realizaciones específicas, un anticuerpo anti-CD47 descrito en el presente documento es capaz de cruzar la barrera hematoencefálica.

5. Ejemplos

Los ejemplos en esta sección (es decir, la Sección 5) se ofrecen a modo de ilustración, y no a modo de limitación.

5.1 Ejemplo 1: Dosificación conjunta de rituximab y un anticuerpo anti-CD47 en monos Cynomolgus

El objetivo del estudio fue controlar la inmunogenicidad de un anticuerpo anti-CD47 humanizado que comprende las CDR de la región variable de cadena pesada de SEQ ID NOs: 50, 72 y 52, y las CDR de la región variable de cadena ligera de las SEQ ID NOs: 53, 71 y 55 (en lo sucesivo en el presente documento "el anticuerpo anti-CD47"), cuando se dosifica conjuntamente con rituximab o rituximab y metotrexato y evaluar su impacto en la farmacocinética después de la administración intravenosa en monos cynomolgus.

En la Primera parte de este estudio, el anticuerpo anti-CD47 se administró en cuatro inyecciones intravenosas (IV) a 3 grupos de monos cynomolgus (5 animales/grupo, 15 animales en total) los Días de estudio 1, 8, 15 y 22 al Grupo 1 y los Días de estudio 15, 22, 29 y 36 a los Grupos 2 y 3, a dosis de 20 mg/kg (Dosis 1 a 4). Rituximab se administró en cuatro inyecciones intravenosas a los animales del Grupo 2 y Grupo 3, los Días de estudio 1, 8, 15 y 22 a dosis de 10 mg/kg. El metotrexato se administró en tres inyecciones subcutáneas a los animales del Grupo 3, los Días de estudio 15, 16 y 18 a dosis de 0.4 mg/kg.

En la segunda parte de este estudio, el anticuerpo anti-CD47 se administró como una inyección intravenosa única a los animales del Grupo 1 y del Grupo 3 el Día de estudio 78 a una dosis de 20 mg/kg (Dosis 5). El metotrexato se administró como inyecciones subcutáneas múltiples a los animales del Grupo 3 los Días de estudio 71, 72, 74, 78, 79, 81, 88, 95, 102 y 109 a una dosis de 0.4 mg/kg.

Los datos de concentración después de la primera, cuarta y quinta dosis del anticuerpo anti-CD47 en monos cynomolgus se usaron para evaluaciones farmacocinéticas (PK), para comprender el efecto de

los fármacos dosificados conjuntamente en la PK del anticuerpo anti-CD47. La inmunogenicidad del anticuerpo anti-CD47 se evaluó mediante pruebas de títulos de anticuerpos anti-fármaco (ADA) en suero (siendo el "fármaco" el anticuerpo anti-CD47), semanalmente durante todo el estudio. Los recuentos de linfocitos B se siguieron semanalmente, a lo largo del curso del estudio.

5 Todos los animales a los que se les administró el anticuerpo anti-CD47 en solitario (Grupo 1) dieron positivo a ADA antes de la Dosis 4. El área bajo la curva de concentración sérica-tiempo del anticuerpo anti-CD47 desde el momento cero hasta 168 h (AUC_{0-168}) después la Dosis 4, una medida de la concentración sérica del anticuerpo anti-CD47, para los cinco animales del grupo 1, fue del 3-37 % del AUC_{0-168} después de la Dosis 1.

10 Esta disminución en el AUC después de la seroconversión se atribuyó a la disminución mediada por ADA en la exposición al anticuerpo anti-CD47 libre. Los números de linfocitos B CD20+ en estos animales estaban dentro del intervalo normal. Los números periféricos de linfocitos B CD20+ para todos los animales que recibieron rituximab (Grupos 2 y 3) disminuyeron rápidamente y fueron <100 células/ μ l en las 24 horas posteriores a la recepción de la primera dosis de rituximab. Los números de linfocitos B
15 comenzaron a recuperarse en torno al Día 15 después de la primera dosis de rituximab en 8 de 10 animales en los Grupos 2 y 3. Esta recuperación de linfocitos B es atribuible a los anticuerpos anti-rituximab, ya que todos los animales tenían anticuerpos anti-rituximab detectables el Día 15, con las correspondientes disminuciones en las concentraciones séricas de rituximab. Los 8 animales que mostraron recuperación en el número de linfocitos B se habían vuelto positivos por la presencia de
20 anticuerpos anti-fármaco (ADA) el Día 36, con títulos variables entre 5 y 625, y niveles variables de disminución en la exposición en los 8 animales que van del 2-53 % del AUC_{0-168} después de la Dosis 1.

En los animales 11 y 15, donde se mantuvieron concentraciones significativas de rituximab, los recuentos periféricos de linfocitos B CD20+ permanecieron insignificantes hasta el Día 36, cuando se administró la cuarta dosis del anticuerpo anti-CD47 a estos animales. Estos dos animales, que recibieron
25 las 4 dosis del anticuerpo anti-CD47 en el contexto del agotamiento eficaz de los linfocitos B, permanecieron negativos a ADA durante un tiempo prolongado, hasta el Día 71 y el final del estudio, respectivamente. Las concentraciones de anticuerpos anti-CD47 después de la dosis 4 fueron similares a las concentraciones observadas después de la dosis 1, siendo el AUC_{0-168} de la semana 4 del 115 % y del 83 % de las AUC promedio de la semana 1 en los animales 11 y 15, respectivamente.

30 Los monos tratados con el anticuerpo anti-CD47 en solitario (Grupo 1) o la combinación de los tres agentes (Grupo 3) se volvieron a estimular posteriormente con el anticuerpo anti-CD47 a las 12 semanas (Día 78). En los dos animales 11 y 15, donde el desarrollo de ADA se mitigó con un agotamiento eficaz de los linfocitos B, los perfiles de PK en la semana 12 fueron comparables a los perfiles de PK después de la Dosis 1 del anticuerpo anti-CD47, y el AUC_{0-168} en la semana 12 fue del
35 127 % y del 120 % del AUC_{0-168} medio después de la primera dosis, lo que confirma que no hubo pérdida mediada por ADA en la exposición en estos animales. Además, los niveles séricos de anticuerpos anti-fármaco se mantuvieron a niveles bajos en estos dos animales, con un fármaco detectable presente durante tres semanas después de la última dosis.

Las concentraciones de anticuerpos anti-CD47 en los animales positivos a ADA estuvieron por debajo del límite de cuantificación más allá de 4 días después de la última dosis. Estos datos indican que el agotamiento de los linfocitos B con rituximab reduce la respuesta inmunológica al anticuerpo anti-CD47 y aumenta la exposición al fármaco durante periodos prolongados de tiempo. Además, no se observó toxicidad en el anticuerpo anti-CD47 más rituximab o el anticuerpo anti-CD47 más rituximab más monos tratados con metotrexato.

5.2 Ejemplo 2: Estudio clínico de un anticuerpo anti-CD47 en combinación con rituximab

En el presente documento se describe un estudio abierto de aumento y expansión de dosis de Fase 1 del anticuerpo anti-CD47 administrado por infusión intravenosa (IV), en sujetos con cánceres sólidos y hematológicos refractarios avanzados. El estudio está compuesto por 2 partes. La Parte A es una fase de aumento de dosis que utiliza dosis crecientes del anticuerpo anti-CD47, y la Parte B es una fase de aumento y expansión de la dosis en la que el anticuerpo anti-CD47 en combinación con rituximab se administra en sujetos con linfoma no Hodgkin (NHL) positivo a CD20. La expansión puede tener lugar a la dosis máxima tolerada (MTD) establecida en la fase de aumento de dosis y/o a una dosis más baja, o un programa de dosificación tolerable alternativo, basado en la revisión de seguridad, la PK y datos farmacodinámicos de la Parte A. Se usa un diseño de aumento de dosis de 3 + 3 modificado para identificar la toxicidad inicial del anticuerpo anti-CD47. Las cohortes de 3 a 6 sujetos evaluables se tratan con el anticuerpo anti-CD47 en programas de dosificación definidos y, en caso de toxicidad limitante de la dosis (DLT) en un sujeto, las cohortes se expanden a la cohorte completa de 6 sujetos evaluables. En una cohorte de dosis dada, los sujetos del número 4 al 6 pueden incluirse antes de que los primeros 3 sujetos completen el Ciclo 1 para obtener información de seguridad adicional y garantizar un número suficiente de pacientes evaluables para la evaluación de DLT. No se incluye más de un sujeto al día en una cohorte de aumento de dosis dada.

Las dosis incluyen 0.3 mg/kg IV una vez a la semana (QW) y 1, 2, 4, 8, 15 y 20 mg/kg IV una vez cada 2 semanas (Q2W). Durante el aumento de la dosis, se determina la decisión de evaluar una cohorte de dosis inferior, cohortes de dosis intermedia, un intervalo de dosificación alternativo, o de declarar una MTD, basándose en la revisión de los datos de seguridad clínicos y de laboratorio para cohortes de dosis anteriores. Todos los tratamientos se administran en ciclos de 28 días, con el anticuerpo anti-CD47 administrado el D1 y D15. Después de administrar la primera dosis en cualquier cohorte, se observa a los sujetos durante al menos 28 días (Ciclo 1, ventana DLT) antes de que pueda comenzar la próxima cohorte de dosis más alta especificada por protocolo.

La dosis inicial para la Cohorte 1 es 0.3 mg/kg el Día 1 del Ciclo 1 seguido de 1 mg/kg QW a partir de entonces.

Para la Parte B, en sujetos con linfoma no Hodgkin positivo a CD20 recidivante o refractario que han recibido rituximab antes, la dosis de rituximab a 375 mg/m² una vez por semana comienza dos semanas antes de la administración del anticuerpo anti-CD47. La dosificación de rituximab es en cuatro dosis semanales antes y durante el Ciclo 1 (D-15, D-8, D-1, D8), una vez cada ciclo para los Ciclos 2-6 (en D8) y, si hay respuesta, cada dos meses a partir de entonces hasta 12 Ciclos (Ciclos 8, 10 y 12). Se

evalúan los recuentos seriales de linfocitos B y la PK. Además, las evaluaciones de la PK, PD y ADA se realizan tal como están para la parte A.

Criterios de inclusión:

1. Hombres y mujeres, mayores de 18 años, con tumores sólidos avanzados, recidivantes o refractarios, mieloma múltiple (MM) o linfoma no Hodgkin (NHL) en la Parte A.
En la Parte B, solo sujetos con NHL positivo a CD20 recidivante o refractario.
2. Al menos un sitio de enfermedad medible en sujetos con tumores sólidos y NHL.
3. Escala Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG PS) de 0 o 1.
4. Los sujetos deben tener una función hematopoyética, hepática, renal y de coagulación adecuada según lo evaluado por criterios específicos de laboratorio.
5. Las mujeres y los hombres deben aceptar los métodos anticonceptivos y evitar concebir durante todo el estudio, y hasta 8 semanas después de la última dosis del anticuerpo anti-CD47. Si participan en la Parte B, las mujeres en edad fértil deben continuar usando métodos anticonceptivos eficaces durante 12 meses después del tratamiento con rituximab

Criterios de exclusión:

1. Linfomas de alto grado (Burkitt o linfoblásticos), leucemia de células plasmáticas.
2. Tumores sólidos de alto grado, rápidamente proliferativos (por ejemplo, cáncer de pulmón de células pequeñas, tumores de células germinales, neuroblastoma) con carga tumoral extensa.
3. Afectación sintomática del sistema nervioso central.
4. Deterioro de la función cardíaca o enfermedad cardíaca clínicamente significativa.
5. Transfusión previa de glóbulos rojos (RBC) <3 meses antes del inicio con el anticuerpo anti-CD47.
6. Trasplante autólogo de células madre anterior ≤3 meses antes de comenzar con el anticuerpo anti-CD47.
7. Trasplante alogénico anterior de células madre con acondicionamiento estándar o de intensidad reducida ≤6 meses antes de comenzar con el anticuerpo anti-CD47.
8. Tratamientos sistémicos previos dirigidos al cáncer o modalidades de investigación ≤5 semividas o 4 semanas antes de comenzar con el anticuerpo anti-CD47, lo que sea más corto.
9. Cirugía mayor ≤2 semanas antes de comenzar con el anticuerpo anti-CD47.
10. Mujeres embarazadas o lactantes.
11. Infección por VIH conocida.
12. Infección crónica conocida por hepatitis B o C (VHB/VHC).
13. Tratamiento continuo con dosis terapéuticas crónicas de anticoagulantes.
14. Historia de anemia hemolítica autoinmune o trombocitopenia autoinmune.
15. Antecedentes de segundos cánceres concurrentes que requieran tratamiento sistémico activo y continuo.

Todas las referencias (por ejemplo, publicaciones o patentes o solicitudes de patentes) citadas en el presente documento se incorporan en el presente documento por referencia en su totalidad y para

todos los fines en la misma medida que si cada referencia individual (por ejemplo, publicación o patente o solicitud de patente) se indicara específica e individualmente para incorporarse por referencia en su totalidad para todos los fines.

Otras realizaciones están dentro de las siguientes reivindicaciones.

5

10

15

20

25

30

35

RESUMEN

Se proporcionan en el presente documento métodos y usos que implican la combinación de un anticuerpo anti-CD20, por ejemplo, rituximab, con una proteína terapéutica, por ejemplo, un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo que se une específicamente a CD47 humano).

5

10

15

20

25

30

35