



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 361 913**

51 Int. Cl.:
A61K 39/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03789346 .8**

96 Fecha de presentación : **18.12.2003**

97 Número de publicación de la solicitud: **1572233**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **14.09.2005**

54 Título: **Uso de HPV16 y HPV18 como vacunas con uno o más oncógenos de los tipos 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.**

30 Prioridad: **20.12.2002 US 435035 P**
20.08.2003 US 496653 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
24.06.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
24.06.2011

73 Titular/es: **GlaxoSmithKline Biologicals S.A.**
rue de l'Institut 89
1330 Rixensart, BE

72 Inventor/es: **Dubin, Gary;**
Innis, Bruce;
Slaoui, Moncef, M. y
Wettendorff, M.A.C.

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Uso de HPV16 y HPV18 como vacunas con uno o más HPV oncógenos de los tipos 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68

- 5 La presente invención se refiere a partículas viroides (PV) del virus del papiloma humano (VPH) y a sus usos en medicina, en particular a proporcionar protección contra la infección y/o enfermedad provocada por tipos heterólogos del VPH.

Antecedentes de la invención

- 10 Los virus del papiloma son pequeños virus tumorales de ADN, que son altamente específicos de especie. Hasta la fecha, se han descrito más de 100 genotipos individuales del virus del papiloma humano (VPH). Los VPH son generalmente específicos de piel (por ejemplo VPH-1 y -2) o de superficies mucosas (por ejemplo VPH-6 y -11) y habitualmente provocan tumores benignos (verrugas) que persisten durante varios meses o años. Tales tumores benignos pueden ser preocupantes para los individuos afectados pero tienden a no ser potencialmente mortales, con algunas excepciones.

- 15 Algunos VPH están asociados también a cánceres, conocidos como tipos oncógenos del VPH. La asociación positiva más fuerte entre un VPH y el cáncer humano es la que existe entre el VPH-16 y el VPH-18 y el carcinoma de cuello de útero. El cáncer de cuello de útero es el proceso maligno más común en los países en vías de desarrollo, dándose aproximadamente 500.000 casos nuevos en el mundo cada año.

Otros VPH de interés particular con respecto al cáncer son los tipos 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68.

- 20 Se han sugerido partículas viroides (PV) del VPH como vacunas potenciales para el tratamiento del VPH. Los estudios en animales han demostrado que las PV no producen protección cruzada contra la infección por otros tipos de VPH – véase, por ejemplo Suzich, J. A., y cols., Proc Natl Acad Sci, 92: 11553-11557, 1995, y Breitburd, Seminars in Cancer Biology, vol. 9, 1999, páginas 431 – 445.

El documento WO91/17551 divulga que las PV de los HPV 16 y 18 pueden formularse con el antígeno MPL-3D e hidróxido de aluminio para vacunación.

- 25 Existe todavía la necesidad de una vacuna que proteja contra múltiples tipos de VPH.

La presente invención responde a esta necesidad.

Sumario de la invención

- 30 La invención se refiere al uso de una mezcla que comprende PV del VPH 16 y del VPH 18 como se define en las reivindicaciones en la preparación de un medicamento para la prevención de la infección o enfermedad provocada por uno o más del grupo de tipos del VPH oncógenos 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68. medicamento para la prevención de la infección o enfermedad provocada por uno o más

Descripción detallada

- 35 Los inventores han encontrado sorprendentemente que el uso de la PV del VPH 16 y del VPH 18 proporciona protección cruzada contra la infección por uno o más de los grupos de tipos oncógenos del VPH (excluyendo los tipos 16 y 18), siendo los tipos oncógenos aquellos tipos capaces de provocar cáncer. El grupo de tipos oncógenos comprende o está constituido por los tipos 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82, 26, 53, y 66.

- 40 En particular, el uso de PV del VPH 16 y del VPH 18 proporciona protección cruzada contra la infección y /o enfermedad provocada por el grupo de tipos del VPH 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, y 68, denominado en lo sucesivo el grupo de 'tipos cancerosos de alto riesgo'. Se ha identificado la protección contra el grupo completo de tipos cancerosos de alto riesgo, y contra ciertos tipos específicos y combinaciones de tipos. El efecto se añade al efecto protector de 'homólogos' observado contra VPH 16 y VPH 18 mediante el uso de PV del VPH 16 y del VPH 18 respectivamente. Como tales, pueden usarse PV del VPH 16 y PV del VPH 18 tanto en una vacuna contra el VPH 16, el VPH 18 como contra otros tipos del VPH.

- 45 La protección cruzada en la presente memoria se considera que significa que la incidencia de la infección para un grupo de tipos oncógenos del VPH (siendo la infección probable o persistente) y/o enfermedad oncógena provocada por la infección por VPH es menor en un grupo de individuos vacunados con PV de VPH 16 y/o 18, preferiblemente los tipos 16 y 18, que en un grupo no vacunado. En la presente invención no se requiere la protección cruzada completa contra un tipo, o grupo de tipos, de hecho, cualquier nivel de protección cruzada proporciona un beneficio. Preferiblemente el nivel de protección cruzada observado es tal que el grupo vacunado tiene una infección y/o enfermedad menor en un 5% que un grupo comparable no vacunado, más preferiblemente una infección y/o enfermedad hasta un 10%, hasta un 15%, hasta un 20%, hasta un 25%, hasta un 30%, hasta un 35%, hasta un 40%, hasta un 45%, hasta un 50%, hasta un 55%, hasta un 60%, hasta un 65% hasta un 70%, hasta un 80%, hasta un 90% o incluso hasta un 100% menor.

- 55 La protección cruzada puede evaluarse detectando la presencia de ácidos nucleicos específicos para diversos tipos oncógenos en los vacunados y el grupo de control. La detección puede llevarse a cabo, por ejemplo, usando técnicas como las descritas en el documento WO03014402, y las referencias que en él se incluyen, en particular para la amplificación no específica de ADN del VPH y la detección subsiguiente de los tipos de ADN usando un sistema LiPA como se describe en el documento WO 99/14377, y en Kleter y cols., [Journal of Clinical Microbiology (1999), 37 (8): 2508-2517]. Sin embargo, puede usarse cualquier procedimiento adecuado para la detección de ADN del VPH en una muestra, tal como la PCR específica de tipo usando cebadores específicos para cada tipo del VPH

de interés. Los cebadores adecuados son conocidos por los expertos en la técnica, o pueden construirse fácilmente dado que se conocen las secuencias de los tipos oncógenos del VPH.

De forma adecuada la protección cruzada se observa en la población femenina, preferiblemente en mujeres que son seronegativas para la infección por el VPH, o seronegativas para el VPH 16 y 18, preferiblemente mujeres adolescentes antes de comenzar la actividad sexual.

La protección cruzada (como se evalúa por la protección observada en un grupo vacunado comparado con un grupo de control) se observa preferiblemente contra uno cualquiera de los tipos oncógenos distintos de 16 o 18, por ejemplo uno cualquiera del grupo de tipos cancerosos de alto riesgo 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 o 68 o, colectivamente, grupos de tipos cancerosos de alto riesgo tales como cualquiera de los tipos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 u 11, o de hecho todos los tipos cancerosos de alto riesgo. Específicamente se contemplan todas las combinaciones posibles de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 y 11 de los tipos cancerosos de alto riesgo, y como tal en la presente memoria hay diversos 'grupos' diferentes de tipos de PV individualizados, para los que puede analizarse el nivel de protección cruzada en comparación con un grupo tratado con placebo. Se prefiere el uso de PV del VPH 16 y/o del VPH 18 para proporcionar prevención contra la infección por cualquiera de tales grupos de tipos del VPH.

De forma adecuada la presente invención proporciona protección cruzada contra la infección y/o enfermedad por los siguientes grupos preferidos de tipos del VPH:

A el grupo que comprende uno o más de los tipos del VPH 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

B el grupo del enunciado A que comprende el tipo 31 y uno o más de los tipos 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

C el grupo del enunciado A o B que comprende el tipo 33 y uno o más de los tipos 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

D el grupo de los enunciados A-C que comprende el tipo 35 y uno o más de los tipos 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

E el grupo de los enunciados A-D que comprende el tipo 39 y uno o más de los tipos 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

F el grupo de los enunciados A-E que comprende el tipo 45 y uno o más de los tipos 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

G el grupo de los enunciados A-F que comprende el tipo 51 y uno o más de los tipos 52, 56, 58, 59, 66, 68.

H el grupo de los enunciados A-G que comprende el tipo 52 y uno o más de los tipos 56, 58, 59, 66, 68.

I el grupo de los enunciados A-H que comprende el tipo 56 y uno o más de los tipos 58, 59, 66, 68.

J el grupo de los enunciados A-I que comprende el tipo 58 y uno o más de los tipos 59, 66, 68.

K el grupo de los enunciados A-J que comprende el tipo 59 y uno o más de los tipos 66, 68.

L el grupo de los enunciados A-K que comprende el tipo 66 y uno o más de los tipos 68.

En particular los inventores han determinado que, en una población, un grupo tratado con placebo tenía posibilidades un 38% mayores de ser infectada con, al menos, uno del grupo de tipos cancerosos de alto riesgo en comparación con las mujeres vacunadas con una vacuna que comprende PV de los VPH 16 y 18. Así la invención se refiere en particular al uso de una composición que comprende PV de los VPH 16 y 18 en la prevención de la infección en una población por uno o más de los tipos cancerosos de alto riesgo. Preferiblemente la composición es hasta o al menos un 20% más efectiva que un placebo en la prevención de la infección en una población por el grupo constituido por tipos cancerosos de alto riesgo, preferiblemente hasta o al menos un 25 % más efectiva, lo más preferiblemente hasta o al menos un 30% más efectiva, de forma adecuada hasta o al menos un 34% más efectiva en la prevención de la infección, lo más preferiblemente hasta o al menos un 38% más efectiva en la prevención de infección.

Preferiblemente la presente invención se refiere a una composición que comprende PV del VPH 16 y del VPH 18 como se define en las reivindicaciones en la preparación de un medicamento para la prevención de la infección por uno o más de los VPH 31, 33, 35, 52 y 58.

Los inventores han determinado que, en una población, un grupo tratado con placebo tenía posibilidades un 43% mayores de ser infectado con, al menos, uno de los tipos del VPH del grupo 31, 33, 35, 52 y 58 en comparación con las mujeres vacunadas con PV del VPH 16 y del VPH 18. Así, la invención se refiere en particular al uso de una composición que comprende PV del VPH 16 y del VPH 18 para la prevención de la infección en una población por uno o más de VPH 31, 33, 35, 52 y 58. Preferiblemente la combinación es hasta o al menos un 10% más efectiva que un placebo en la prevención de la infección en una población por el grupo constituido por los VPH 31, 33, 35, 52 o 58, más preferiblemente hasta o al menos un 15 % efectiva, más preferiblemente hasta o al menos un 20% efectiva, 25% efectiva, 30% efectiva o de forma adecuada hasta o al menos un 43% efectiva en la prevención de infección.

Preferiblemente la presente invención se refiere a una composición que comprende PV del VPH 16 y del VPH 18 en la preparación de un medicamento para la prevención de la infección por uno o más de los VPH 31, 35 y 58.

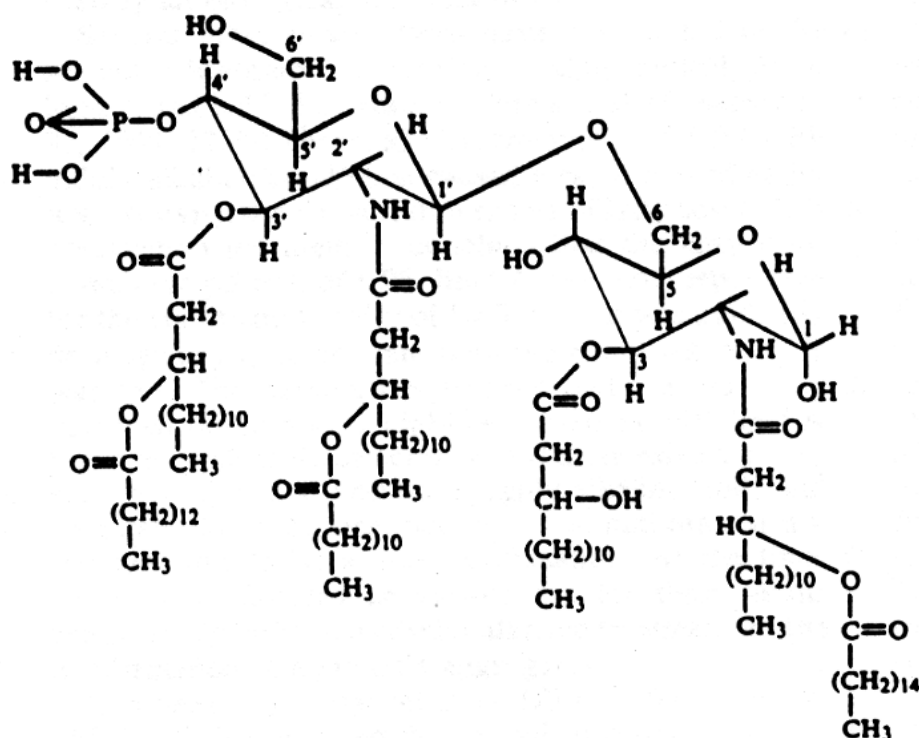
- Los inventores han determinado que, en una población, un grupo tratado con placebo tenía posibilidades un 58% mayores de ser infectado con, al menos, uno del grupo de tipos del VPH 31, 35 y 58 en comparación con mujeres vacunadas con PV del VPH 16 y del VPH 18. Así, la invención se refiere en particular al uso de una composición que comprende PV del VPH 16 y del VPH 18 en la prevención de la infección en una población por uno o más de VPH 31, 35 y 58. Preferiblemente la composición es hasta o al menos un 15% más efectiva que un placebo en la prevención de la infección en una población por el grupo constituido por VPH 31, 35 o 58, preferiblemente hasta o al menos un 20% efectiva, preferiblemente hasta un 25% efectiva, hasta un 30%, hasta un 35%, hasta un 40%, hasta un 45%, hasta un 49%, hasta un 55% o incluso más efectiva, de forma adecuada hasta o al menos un 58% efectiva en la prevención de la infección.
- 10 Preferiblemente la presente invención se refiere a una composición que comprende PV del VPH 16 y del VPH 18 en la preparación de un medicamento para la prevención de la infección por uno o más de VPH 45 y 59.
- 15 En particular los inventores han determinado que, en una población, un grupo tratado con placebo tenía posibilidades un 33% mayores de ser infectado con, al menos, uno (o más) del grupo de tipos 45 y 59 del VPH en comparación con las mujeres vacunadas con una vacuna que comprende PV de los VPH 16 y 18. Así la invención se refiere en particular al uso de una composición que comprende PV de los VPH 16 y 18 en la prevención de la infección en una población por uno o más de VPH 45 y VPH 59. Preferiblemente la composición es hasta o al menos un 20% más efectiva que un placebo en la prevención de la infección en una población por el grupo constituido por VPH 45 y VPH 59, preferiblemente hasta o al menos un 25 % más efectiva, más preferiblemente hasta un 30% más efectiva, más preferiblemente hasta un 33% más efectiva en la prevención de la infección.
- 20 Preferiblemente la composición que comprende PV del VPH 16 y del VPH 18 proporciona protección cruzada contra la infección por, al menos, uno de VPH 35 y VPH 52.
- Preferiblemente la composición de PV del VPH 16 y del VPH 18 también proporciona protección contra la infección por VPH 16 y/o VPH 18, preferiblemente ambos VPH 16 y VPH 18.
- 25 Preferiblemente, las PV del HPV 16 en combinación con las PV del HPV 18 se utilizan para proporcionar protección contra tipos oncogénicos individuales, preferiblemente los tipos cancerosos de alto riesgo, específicamente los tipos de HPV 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 58.
- Además del efecto de protección cruzada, preferiblemente la composición inmunógena de la invención, lo se usa en la inmunización activa de mujeres adultas y adolescentes a partir de los 10 años de edad en adelante para prevenir uno o más de: infección por VPH-16 y VPH-18, infección por VPH-16 y VPH-18 persistente y neoplasia de cuello del útero asociada a VPH-16 y VPH-18.
- 30 Preferiblemente el uso de la composición inmunógena de la invención se usa para evitar la neoplasia de cuello de útero asociada a la infección por otros tipos oncogénicos (distintos de VPH 16, 18).
- Las PV de VPH y los procedimientos para la producción de PV son notorios en la técnica. Las PV típicamente se construyen a partir de las proteínas estructurales L1 y opcionalmente L2 del virus, véase por ejemplo los documentos WO9420137 y WO9405792. En la presente invención puede usarse cualquier PV del VPH adecuada que proporcione protección cruzada, tal como una PV de L1 o L1 + L2.
- 35 Preferiblemente la PV es una L1 sólo en PV.
- La PV puede comprender la proteína L1 de longitud total.
- 40 Preferiblemente la proteína L1 usada para formar la PV es una proteína L1 truncada. Preferiblemente el truncado elimina una señal de localización nuclear. Preferiblemente el truncado es un truncado en el extremo C. Preferiblemente el truncado en el extremo C elimina menos de 50 aminoácidos, más preferiblemente menos de 40 aminoácidos. Cuando la PV es una PV del VPH 16 entonces preferiblemente el truncado del extremo C elimina 34 aminoácidos de L1 del VPH 16. Cuando la PV es una PV del VPH 18 entonces preferiblemente el truncado del extremo C elimina 35 aminoácidos de L1 del VPH 18.
- 45 Las proteínas L1 truncadas son, de forma adecuada, derivados funcionales de la proteína L1. Los derivados funcionales de la proteína L1 son capaces de provocar una respuesta inmunitaria (si fuera necesario, cuando se adyuvan de forma adecuada), siendo dicha respuesta inmunitaria capaz de reconocer una PV constituida por la proteína L1 de longitud completa y/o el tipo del VPH del que se derivó la proteína L1.
- 50 Las PV utilizadas en la invención como se define en las reivindicaciones pueden comprender también otros tipos de derivados funcionales de proteínas, incluyendo mutantes de las proteínas L1 del VPH de longitud completa o truncadas tales como mutantes por delección, sustitución, o inserción. Los derivados adecuados incluyen también secuencias con codones optimizados. La proteína o derivado de L1 puede ser también una proteína de fusión, tal como la fusión de la proteína L1 con L2 o con una proteína temprana. La proteína L1 o un derivado funcional de proteína es capaz de formar una PV, y la formación de PV puede evaluarse mediante técnicas estándar tales como, por ejemplo, microscopía electrónica y dispersión dinámica de luz láser.
- 55 Las PV pueden prepararse en cualquier sustrato celular adecuado tal como células de levaduras o células de insectos por ejemplo células de baculovirus, y las técnicas para la preparación de PV son notorias en la técnica, tales como los documentos WO9913056 y US6245568, y las referencias que se incluyen en los mismos.
- 60 Las PV se preparan preferiblemente mediante técnicas de desmontaje y remontaje, que pueden proporcionar PV del virus de papiloma más estables y/u homogéneas. Por ejemplo, McCarthy y cols., 1998 "Quantitative Disassembly and Reassembly of Human Papillomavirus Type 11 Viruslike Particles in Vitro" J. Virology 72(1):33-41, describe el desmontado y remontado de PV de L1 del VPH 11 purificadas a partir de células de insectos para obtener una

preparación homogénea de PV. Los documentos WO9913056 y US6245568 también describen procedimientos de desmontaje/remontaje para preparar PV del VPH.

Preferiblemente las PV del VPH utilizadas en la invención se preparan como se describe en los documentos WO9913056 o US6245568.

- 5 Las PV de la invención pueden combinarse con un adyuvante. Las vacunas de la invención pueden comprender un adyuvante o inmunostimulador adecuado tal como, pero sin limitación, lípido A desintoxicado de cualquier fuente y derivados no tóxicos de lípido A, saponinas y otros reactivos capaces de estimular una respuesta tipo The.

10 Se conoce desde hace tiempo que el lipopolisacárido enterobacteriano (LPS) es un estimulador potente del sistema inmunitario, aunque se ha restringido su uso en adyuvantes debido a sus efectos tóxicos. Un derivado no tóxico del LPS, monofosforil-lípido A (MPL), producido por eliminación del grupo carbohidrato del núcleo y el fosfato de la glucosamina del extremo reductor, ha sido descrito Ribi y cols. (1986, Immunology and Immunopharmacology of bacterial endotoxins, Plenum Publ. Corp., NY, páginas 407-419) y tiene la estructura siguiente:



- 15 Una versión desintoxicada más de MPL resulta de la eliminación de la cadena acilo de la posición 3 del esqueleto disacárido y se denomina monofosforil-lípido A 3-O-desacilado (MPL-3D). Puede purificarse y prepararse mediante los procedimientos que se enseñan en el documento GB 2122204B, referencia que describe también la preparación de difosforil lípido A, y sus variantes 3-O-desaciladas.

20 Una forma preferida de MPL-3D es en forma de emulsión que tiene un tamaño de partículas pequeñas inferior a 0,2 μm de diámetro, y el procedimiento para su fabricación se describe en el documento WO 94/21292. Las formulaciones acuosas que comprenden monofosforil-lípido A y un tensioactivo han sido descritas en el documento WO9843670A2.

25 Los adyuvantes derivados de lipopolisacáridos bacterianos a formular en las composiciones utilizadas en la presente invención pueden purificarse y procesarse de fuentes bacterianas, o de forma alternativa pueden ser sintéticos. Por ejemplo, se describe monofosforil-lípido A purificado en Ribi y cols. 1986 (referencia anterior), y monofosforil- o difosforil-lípido A 3-O-desacilado derivado de *Salmonella* sp. se describen en los documentos GB 2220211 y US 4912094. Se han descrito otros lipopolisacáridos purificados y sintéticos (Hilgers y cols., 1986, Int. Arch. Allergy. Immunol., 79(4):392-6; Hilgers y cols., 1987, Immunology, 60(1):141-6; y el documento EP 0 549 074 B1). Un adyuvante lipopolisacárido bacteriano preferido particular es MPL-3D.

30 En consecuencia, los derivados de LPS que pueden usarse en la presente invención son los inmunostimulantes que tienen estructuras similares a la de LPS o MPL o MPL-3D. En otro aspecto de la presente invención los derivados de LPS pueden ser un monosacárido acilado, que es una subporción de la estructura anterior de MPL.

35 Las saponinas se enseñan en: Lacaille-Dubois, M y Wagner H. (1996. A review of the biological and pharmacological activities of saponins. Phytomedicine vol. 2, páginas 363-386). Las saponinas son glicósidos esteroideos o triterpénicos ampliamente distribuidos en los reinos vegetal y animal marino. Las saponinas son notorias porque forman soluciones coloidales en agua que forman espuma al agitar, y porque precipitan el colesterol. Cuando las saponinas están cerca de membranas celulares crean estructuras tipo poro en la membrana que hacen que la membrana estalle. La hemólisis de los eritrocitos es un ejemplo de este fenómeno, que es una propiedad de ciertas,

pero no todas, las saponinas.

Las saponinas se conocen como adyuvantes en vacunas para la administración sistémica. La actividad de adyuvante y hemolítica de las saponinas individuales ha sido estudiada de forma extensa en la técnica (Lacaille-Dubois y Wagner, referencia anterior). Por ejemplo, Quil A (derivado de la corteza del árbol sudamericano *Quillaja Saponaria Molina*), y sus fracciones, se describen en el documento US 5.057.540 y "Saponins as vaccine adjuvants", Kensil, C. R., *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 1996, 12 (1-2):1-55; y el documento EP 0 362 279 B1. Las estructuras particuladas, denominadas complejos inmunoestimuladores (ISCOMS), que comprenden fracciones de Quil A son hemolíticas y se han usado en la fabricación de vacunas (Morein, B., documento EP 0 109 942 B1; documento WO 96/11711; documento WO 96/33739). Las saponinas hemolíticas QS21 y QS17 (fracciones de Quil A purificadas por HPLC) han sido descritas como adyuvantes sistémicos potentes, y el procedimiento para su producción se describe en la patente de Estados Unidos nº 5.057.540 y el documento EP 0 362 279 B1. Otras saponinas que se han usado en estudios de vacunación sistémicos incluyen los derivados de otras especies de plantas tales como *Gypsophila* y *Saponaria* (Bomford y cols., *Vaccine*, 10(9):572-577, 1992).

Un sistema mejorado implica la combinación de un derivado no tóxico del lípido A y un derivado de saponina en particular la combinación de QS21 y MPL-3D como se describe en el documento WO 94/00153, o una composición menos reactógena en la que QS21 se inactiva con colesterol como se describe en el documento WO 96/33739.

En el documento WO 95/17210 se describe una formulación de adyuvante particularmente potente que implica QS21 y MPL-3D en una emulsión de aceite en agua y es una formulación preferida.

En consecuencia, en una realización de la presente invención se proporciona una vacuna con adyuvantes como lípido A desintoxicado o un derivado no tóxico del lípido A, más preferiblemente con adyuvante como un monofosforil-lípido A o su derivado.

Preferiblemente la vacuna de forma adicional comprende una saponina, más preferiblemente QS21.

Preferiblemente la formulación de forma adicional comprende una emulsión de aceite en agua. La presente invención también proporciona un procedimiento para producir una formulación de vacuna que comprende mezclar un péptido L2 de la presente invención junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable, tal como MPL-3D.

Los componentes adicionales que están preferiblemente presentes en una formulación de vacuna con adyuvante de acuerdo con la invención incluyen detergentes no iónicos tales como los ésteres de octoxinóles y ésteres de polioxietileno como se describen en la presente memoria, en particular *terc*-octilfenoxi-polietoxietanol (Triton X-100) y monooleato de polioxietileno-sorbitan (Tween 80); y derivados de sales biliares o ácido cólico como se describe en la presente memoria, en particular desoxicolato o taurodesoxicolato sódico. Así, una formulación particularmente preferida comprende MPL-3D, Triton X-100, Tween 80 y desoxicolato sódico, que puede combinarse con una preparación de antígeno L2 para proporcionar una vacuna adecuada.

En una realización preferida de la presente invención, la vacuna comprende una formulación de adyuvante vesicular que comprende colesterol, una saponina y un derivado de LPS. A este respecto, la formulación de adyuvante comprende una vesícula unilaminar que comprende colesterol, que tiene una bicapa lipídica que preferiblemente comprende dioleoil-fosfatidil-colina, en la que la saponina y el derivado de LPS se asocian, o están insertadas en la bicapa lipídica. Más preferiblemente, estas formulaciones de adyuvantes comprenden QS21 como saponina, y MPL-3D como el derivado de LPS, en las que la relación de QS21:colesterol es de 1:1 a 1:100 peso/peso, y más preferiblemente 1:5 peso/peso. Tales formulaciones de adyuvantes se describen en el documento EP 0 822 831 B.

De forma adecuada, vacunas de la invención se usan combinadas con aluminio y, de forma adecuada, se adsorben o se adsorben parcialmente sobre adyuvantes de aluminio. De forma adecuada el adyuvante es una sal de aluminio, preferiblemente combinada con MPL-3D, tal como fosfato de aluminio y MPL-3D. Se prefiere también el hidróxido de aluminio, opcionalmente combinado con MPL-3D.

La más preferida en la presente invención es la combinación de PV con una sal de aluminio o con una sal de aluminio + MPL-3D. Como sal de aluminio se prefiere el hidróxido de aluminio.

La vacuna puede comprender también aluminio o un compuesto de aluminio como estabilizador.

Las vacunas de la invención pueden proporcionarse por cualquiera de una diversidad de vías tales como oral, tópica, subcutánea, mucosa (típicamente intravaginal), intravenosa, intramuscular, intranasal, sublingual, intradérmica y mediante supositorio.

Opcionalmente la vacuna puede formularse también o administrarse conjuntamente con otros antígenos del VPH tales como antígenos tempranos o antígenos que no sean del VPH. De forma adecuada, estos antígenos no VPH pueden proporcionar protección contra otras enfermedades, más preferiblemente enfermedades de transmisión sexual tales como el virus herpes simplex, VEB, clamidia y VIH. Los inventores en particular prefieren que la vacuna comprenda gD o un truncado de la misma del VHS. De esta forma la vacuna proporciona protección contra el VPH y VHS.

La dosis de los componentes de la vacuna variará dependiendo del estado, sexo, edad y peso del individuo, la vía de administración y VPH de la vacuna. La cantidad puede variarse también dependiendo del número de tipos de PV. De forma adecuada, la administración es de una cantidad de vacuna adecuada para generar una respuesta inmunológicamente protectora. De forma adecuada cada dosis de vacuna comprende 1-100 µg de cada PV, preferiblemente 5-80 µg, más preferiblemente 5-30 µg de cada PV, lo más preferiblemente 5-20 µg de cada PV siendo especialmente preferidos 5 µg, 6 µg, 10 µg, 15 µg o 20 µg.

Para todas las vacunas de la invención, se prefiere que la vacuna se use para la vacunación de niñas adolescentes

con edades entre los 10-15, preferiblemente 10-13 años. La vacuna puede administrarse también a mujeres después de un frotis vaginal anormal o después de cirugía tras la eliminación de una lesión provocada por VPH, o que son seronegativas y negativas para el ADN de los tipos cancerosos del VPH.

5 Preferiblemente la vacuna se administra con una pauta de administración de 2 o 3 dosis, por ejemplo con una pauta de mes 0, 1 o una pauta de mes 0, 1 y 6 respectivamente. De forma adecuada, la pauta de vacunación incorpora una inyección de recuerdo después de 5 a 10 años, preferiblemente 10 años.

Preferiblemente la vacuna es una formulación de vacuna líquida, aunque la vacuna puede liofilizarse y reconstituirse antes de su administración.

10 Preferiblemente el inmunógeno utilizado en la presente invención (PV del VPH 16 y/o del VPH 18) se usa como vacuna y puede formularse en forma de vacuna usando excipientes apropiados. Así, la invención en particular se refiere al uso de una vacuna del VPH 16 o VPH 18, tal como una vacuna únicamente con L1, en la prevención de la infección por VPH.

La presente invención se ilustra a continuación mediante referencia al siguiente ejemplo no limitante.

Ejemplo 1

15 Se inmunizó a mujeres sanas con edades entre 15 y 25 años con una mezcla de PV L1 del VPH 16 y VPH 18. Al inicio las mujeres eran: 1) seronegativas para el VPH-16 y el VPH-18; 2) negativas para infección por VPH del cuello del útero de alto riesgo (detectado por PCR del VPH); 3) tenían 6 o menos parejas sexuales en su vida y 4) tenían frotis vaginales normales.

20 La mezcla comprendía por cada dosis de 0,5 ml, 20 µg de PV L1 del VPH-16, 20 µg de PV L1 del VPH-18 y tenía como adyuvante 500 µg de hidróxido de aluminio y 50 µg de MPL-3D. Se inyectaron 500 µg de hidróxido de aluminio solo al grupo tratado con placebo.

Se evaluó la eficacia de la vacuna (E.V.) contra tipos cancerosos de alto riesgo del VPH, en la que la E.V. es el % de mejora en la protección contra la infección por la vacuna comparada con la de un grupo tratado con placebo.

25 Se evaluó la protección cruzada detectando la presencia de ácidos nucleicos específicos para diversos tipos oncogénos en las personas vacunadas y el grupo de control. La detección se llevó a cabo usando las técnicas descritas en el documento WO03014402, y las referencias que se incluyen en él, en particular para la amplificación no específica de ADN del VPH y detección subsiguiente de tipos de ADN usando un sistema LiPA como se describe en el documento WO 99/14377, y en Kleter y cols., [Journal of Clinical Microbiology (1999), 37 (8): 2508-2517], cuyo contenido completo se incorpora a la presente memoria como referencia.

30 Sin embargo, puede usarse cualquier procedimiento adecuado para la detección de ADN del VPH en una muestra, tal como las PCR específicas de tipo usando cebadores específicos para cada tipo del VPH de interés. Los expertos en la técnica conocen cebadores adecuados, o pueden construirlos fácilmente dado que se conocen las secuencias de los tipos oncogénos del VPH.

35 Se evaluó la eficacia de la vacuna contra las infecciones para todos los tipos cancerosos de alto riesgo, tipos relacionados filogenéticamente con el VPH-16 (los grupos de: 31, 35, y 58; 31, 33, 35, 52 y 58) y tipos relacionados filogenéticamente con el VPH-18 (45 y 59).

Se llevó a cabo un análisis inicial sobre una cohorte con intención de tratamiento, "ITT" (cohorte "Intention To Treat", que representa a todos los individuos que recibieron al menos una dosis de vacuna). Estos datos se muestran en la tabla 1.

40 Los resultados presentados en las tablas 2 y 3 se refieren al grupo de acuerdo con el protocolo, "ATP" (According To Protocol), para aquellas pacientes que cumplían todos los criterios del ensayo. La tabla 2 es un análisis en el punto medio con datos tomados de todas las pacientes en el punto temporal en el que al menos el 50% de la cohorte había sido vacunada por primera vez hacía más de 18 meses. La tabla 3 da los resultados finales, siendo todos los datos de sujetos 18 meses después de la primera vacunación (mes 0). En el grupo ATP todas las pacientes
45 recibieron 3 dosis de vacuna a 0, 1 y 6 meses y eran seronegativas a los 6 meses.

Como demuestran los datos que se presentan en la tabla 1, la inmunización con una mezcla de VPH16 y VPH18 proporcionó una aparente protección cruzada contra otros tipos del VPH. Aunque en este punto los tamaños de las muestras son demasiado pequeños para proporcionar un análisis estadístico riguroso, los datos demuestran una
50 tendencia positiva y sugieren que la inmunización con PV del VPH16 y del VPH 18 serán eficaces contra la infección con otros tipos del VPH.

Esto se confirmó a medida que el estudio avanzó.

La tabla 2 demuestra que el VPH 16 y el VPH 18 proporcionan una protección cruzada estadísticamente significativa contra el grupo de tipos cancerosos de alto riesgo 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68.

55 La tabla 3 demuestra que, excepto para los tipos relacionados con VPH-18 (que muestran una tendencia muy fuerte), hay una protección cruzada estadísticamente significativa contra los grupos de VPH 31, 35, 58; VPH 31, 33, 35, 52, 58; y los 12 tipos de alto riesgo (distintos de VPH-16/18) evaluados.

Tabla 1

Tipos del VPH analizados	Número de mujeres infectadas (grupo vacunado)	% de mujeres infectadas (grupo vacunado)= A	Número de mujeres infectadas (grupo tratado con placebo)	% de mujeres infectadas (grupo tratado con placebo)= B	% de eficacia de la vacuna $1 - (A/B) \times 100$, ajustado para el tamaño relativo del grupo vacunado y el de placebo	límites de confianza al 95%-límite inferior	límites de confianza al 95%-límite superior	P
VPH 31,35, 58	5	1,1	11	2,4	55,1	-29,1	84,4	0,127
VPH 31, 33, 35, 52, 58	17	3,8	24	5,4	30,3	-29,7	62,6	0,252
VPH 45, 59	3	0,7	6	1,3	50,6	-97,7	87,6	0,309
VPH31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.	27	6,3	40	9,4	34,6	-6,5	59,9	0,086

Las muestras se tomaron a los 9, 12, 15 y 18 meses de las pacientes y se analizaron para determinar la infección por VPH por los tipos especificados anteriormente.

Tabla 2 - eficacia de la vacuna después de tres dosis para prevenir probables infecciones heterólogas.

Tabla 2: Eficacia de la vacuna contra la infección con tipos relacionados filogenéticamente con el VPH-16, tipos relacionados filogenéticamente con el VPH-18, tipos relacionados filogenéticamente con el VPH-16 y/o VPH-18 y todos los tipos de alto riesgo excluyendo la VPH-16 y VPH-18 – Cohorte ATP (mes 6-18).

Tipo de Infección	Tasa de ataque						Eficacia de la vacuna			
	Vacuna			Placebo						
	N	n	TA	N	n	TA	%	95% IC	Valor p	
Relacionado con VPH-16	433	12	2,8	438	24	5,5	49,4	0,2	74,4	0,060
Relacionado con VPH-16 *	423	29	6,9	423	46	10,9	37,0	1,6	59,6	0,052
Relacionado con VPH-18	442	9	2,0	449	16	3,6	42,9	-27,9	74,5	0,223
Relacionado con VPH-16/18	433	21	4,9	438	41	9,4	48,2	13,8	68,9	0,012
Relacionado con VPH-16/18*	423	34	8,0	423	56	13,2	39,3	9,0	59,5	0,019
Alto riesgo**	385	53	13,8	386	88	22,8	39,6	17,7	55,7	0,001

N = número de sujetos en la cohorte específica

n = número de sujetos con infección probable por VHP

TA = Tasa de ataque = n / N

95% IC = Intervalo de confianza al 95%

límite inferior = $1 - \exp(\log(\text{tav} / \text{tap}) + 1,96 * \text{raíz cuadrada}(1/nv - 1/Nv + 1/np - 1/Np))$

límite superior = $1 - \exp(\log(\text{tav} / \text{tap}) - 1,96 * \text{raíz cuadrada}(1/nv - 1/Nv + 1/np - 1/Np))$

cuando el número de casos en vacuna = 0:

límite inferior* = $1 - \exp(\log(\text{tav}^* / \text{tap}^*) + 1,96 * \text{raíz cuadrada}(1/(nv+0,5) - 1/(Nv+0,5) + 1/(np+0,5) - 1/(Np+0,5)))$

límite superior* = $1 - \exp(\log(\text{tav}^* / \text{tap}^*) - 1,96 * \text{raíz cuadrada}(1/(nv+0,5) - 1/(Nv+0,5) + 1/(np+0,5) - 1/(Np+0,5)))$

siendo: tav = tasa de ataque en las receptoras de vacuna

tap = tasa de ataque en las receptoras de placebo

nv = número de casos en las receptoras de vacuna

Nv = número de casos y casos negativos en las receptoras de vacuna

np = número de casos en las receptoras de placebo

Np = número de casos y casos negativos en las receptoras de placebo

Relacionado con VPH-16: Tipos relacionados filogenéticamente con el VPH-16: 35, 31, 58 sin considerar otros tipos del VPH

Relacionado con VPH-16 *: Tipos relacionados filogenéticamente con el VPH-16: 35, 31, 58, 33, 52 sin considerar otros tipos del VPH

Relacionado con VPH-18: Tipos relacionados filogenéticamente con el VPH-18: 45, 59 sin considerar otros tipos del VPH

Relacionado con VPH-16 y/o VPH-18: Tipos relacionados filogenéticamente con el VPH-16 y/o el VPH-18: 35, 31, 58, 45, 59 sin considerar otros tipos del VPH

Relacionado con VPH-16 y/o VPH-18 *: Tipos relacionados filogenéticamente con el VPH-16 y/o el VPH-18: 35, 31, 58, 33, 52, 45, 59 sin considerar otros tipos del VPH

**= Tipos de alto riesgo excluyendo el VPH-16 y el VPH-18

Tabla 3

Tipos de VPH analizados	Número total de número de sujetos con información disponible por grupo	Número de mujeres infectadas (grupo vacunado)	% mujeres infectadas (grupo vacunado) = A	Número de mujeres infectadas (grupo placebo)	% mujeres infectadas (grupo placebo) = B	% eficacia de la vacuna 1-(A/B) x 100, ajustado al tamaño relativo de los grupos vacunado y placebo	Límites de confianza del 95% - límites inferiores	Límites de confianza del 95% - límites superiores	P
HPV 31,35, 58	412	11	2,7	26	6,3	57,9	15,9	78,9	0,012
HPV 31, 33, 35, 52, 58	403	28	6,9	48	12,2	43,0	11,0	63,5	0,015
HPV 45, 59	421	10	2,4	15	3,6	33,5	-46,3	69,8	0,319
HPV31,33, 35, 39,45,51,52,56 , 58,59,66,68.	368	58	15,8	90	25,3	37,7	16,2	53,6	0,002

Las muestras se tomaron de las pacientes a los 18 meses y se ensayaron para infección por VPH por los tipos especificados anteriormente.

REIVINDICACIONES

1. Uso de una composición que comprende partículas víroides (PV) del virus del papiloma humano (VPH) 16 y del VPH 18 donde las VP comprende la proteína L1 de dicho VPH o un fragmento inmunogénico suyo, en la preparación de un medicamento para la prevención de la infección y/o enfermedad por uno o más del grupo de tipos oncógenos del VPH, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.
2. Uso de acuerdo con la reivindicación 1 para la prevención de la infección y/o enfermedad por uno o más del grupo de tipos de VPH 31, VPH 33, VPH 35, VPH 52, y VPH 58.
3. Uso de acuerdo con la reivindicación 2 para la prevención de la infección y/o enfermedad por uno o más del grupo de VPH 31, VPH 35, y VPH 58.
4. Uso de acuerdo con la reivindicación 1 para la prevención de la infección y/o enfermedad por uno o más del grupo de VPH 45, y VPH 59.
5. Uso de acuerdo con la reivindicación 1 para la prevención de la infección y/o enfermedad provocada por VPH 31.
6. Uso de acuerdo con la reivindicación 1 para la prevención de la infección y/o enfermedad provocada por VPH 45.
7. Uso de acuerdo con la reivindicación 1 para la prevención de la infección y/o enfermedad provocada por VPH 52.
8. Uso de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en el que las PV del VPH se combinan con un adyuvante.
9. Uso de acuerdo con la reivindicación 8, en el que el adyuvante es una combinación de una sal de aluminio y monofosforil-lípido A 3-O-desacilado (MPL-3D).
10. Uso de acuerdo con la reivindicación 9, en el que el adyuvante es una combinación de hidróxido de aluminio y MPL 3D.
11. Uso de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en el que la PV comprende una proteína L1 o un fragmento inmunogénico suyo, pero no proteína L2.
12. Uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el que la composición comprende 20µg de PV de L1 de VPH 16 y 20µg de PV de VPH 18 y el adyuvante comprende 500µg de hidróxido de aluminio y 50µg de MPL 3D.