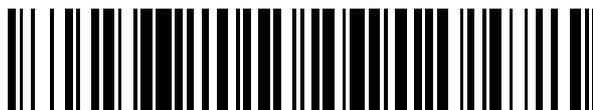


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 558 131**

51 Int. Cl.:

A61K 38/16 (2006.01)

A61K 9/127 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C12Q 1/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.06.2006 E 10191602 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.09.2015 EP 2366400**

54 Título: **Método para el tratamiento de pacientes con una vacuna de glicoproteína mucinosa (MUC-1)**

30 Prioridad:

28.06.2005 US 694233 P

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

02.02.2016

73 Titular/es:

**ONCOTHYREON INC. (100.0%)
2601 Fourth Avenue, Suite 500
Seattle, WA 98121, US**

72 Inventor/es:

LONGENECKER, MICHAEL B.

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 558 131 T3

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

DESCRIPCIÓN

Método para el tratamiento de pacientes con una vacuna de glicoproteína mucinosa (MUC-1)

Referencia cruzada con aplicaciones relacionadas

5 Esta solicitud internacional reivindica la prioridad que se otorga a la Solicitud Provisional de los Estados Unidos Número de Serie 60/694,233, que se presentó el 28 de junio de 2005.

Campo de la invención

La presente invención se refiere a un método para identificar a los individuos con cáncer de pulmón de células no pequeñas que son adecuados para el tratamiento con una formulación que se basa en la glicoproteína mucinosa (MUC-1). La formulación que se basa en (MUC-1) es una vacuna BLP25.

10 Antecedentes de la invención

El cáncer de pulmón es la principal causa de muerte por cáncer en ambos sexos en América del Norte. En el 2004, aproximadamente 174.000, nuevos casos de cáncer de pulmón (54% en los hombres, 46% en las mujeres) se diagnosticaron en los Estados Unidos. Más aún, en el 2004 aproximadamente 160.000, personas murieron de esta enfermedad solo en los Estados Unidos.

15 Desafortunadamente, en el momento del diagnóstico, sólo el 25% de los pacientes con cáncer de pulmón son potencialmente curables mediante la cirugía. Además, la quimioterapia solo mejora modestamente las posibilidades de supervivencia de los individuos afligidos con cáncer.

20 El cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) es el más común de los cánceres de pulmón, ya que representa aproximadamente del 75 al 80% de todos los cánceres de pulmón primarios. El NSCLC se caracteriza por el carcinoma de células escamosas, el adenocarcinoma, y el carcinoma de células grandes. Se observó que la glicoproteína mucinosa, MUC-1, se expresa altamente en tales carcinomas, más allá de los niveles de expresión normales en las células epiteliales de los individuos sanos. Se observó además que muchos restos de carbohidratos que se encuentran en la proteína MUC-1 son más cortos que los restos que se unen a las proteínas MUC-1 de las células normales, en virtud de la unión a la cadena principal polipeptídica de MUC-1. Por lo tanto, la cadena principal polipeptídica de MUC-1 en las células del cáncer está más expuesta que la cadena principal polipeptídica en las células normales.

25 Después del cáncer de pulmón, el cáncer de próstata es el segundo cáncer que se diagnostica más comunmente en los hombres en los Estados Unidos. Alrededor de 190.000, hombres se diagnostican con cáncer de próstata en los Estados Unidos y casi 30.000, hombres mueren por esta enfermedad cada año.

30 El fallo bioquímico después de la prostatectomía (PR) para el tratamiento del cáncer de próstata a menudo es un presagio del fracaso clínico, que puede acortar la esperanza de vida del paciente. Y aunque existe una necesidad de métodos de tratamiento no invasivos adicionales del cáncer de próstata, existe una necesidad especial de un tratamiento de los hombres con fallo bioquímico después de la prostatectomía.

35 North S y Butts C "Vaccination with BLP25 liposome vaccine to treat non-small cell lung and prostate cancers", en Expert Rev. Vaccines, Junio 2005; 4(3), p. 249-257, describen un ensayo de fase II de una vacuna liposomal MUC-1 en el cáncer de pulmón de células no pequeñas.

40 Existe la necesidad en la técnica de identificar pacientes adecuados para las nuevas terapias contra el cáncer, así como también de desarrollar tales terapias novedosas contra el cáncer. La presente invención proporciona un método para identificar a los individuos con cáncer de pulmón de células no pequeñas que son adecuados para el tratamiento con la formulación que se basa en la glicoproteína-mucinosa (MUC-1).

Compendio de la invención

La presente invención se refiere a la identificación y el tratamiento de individuos con cáncer de pulmón de células no pequeñas como se define en las reivindicaciones.

45 En un aspecto de la descripción, la formulación a base de MUC-1 puede ser una vacuna liposomal a base de MUC-1. Por ejemplo, la vacuna liposomal puede comprender un péptido MUC-1 en su bicapa lipídica o encapsulado dentro de su estructura vesicular. El péptido MUC-1 puede además lipidarse para facilitar su asociación con la membrana o bicapa lipídica liposomal. El péptido MUC-1 puede comprender la secuencia de aminoácidos representada en la sec. con núm. de ident. 1 o un fragmento inmunológicamente activo o variante del mismo (que se denomina colectivamente como una "variante funcional"), o sec. con núm. de ident. 2, o un fragmento inmunológicamente activo o variante del mismo. Las características particulares de las variantes de repetición del núcleo MUC-1 se describen más abajo.

En otro aspecto de la presente descripción se proporciona un método ("Método 1") para el tratamiento de un sujeto con NSCLC o cáncer de próstata. El método comprende: (A) seleccionar para el tratamiento a un sujeto que tiene NSCLC o cáncer de próstata, y (B) administrar al sujeto, durante un período de tiempo, una formulación a base de MUC-1. En un aspecto del Método 1, la formulación a base de MUC-1 comprende un liposoma que contiene al menos un polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos representada en sec. con núm. de ident. 1 o un fragmento inmunológicamente activo o variante del mismo, o sec. con núm. de ident. 2, o un fragmento inmunológicamente activo o variante del mismo.

En aspectos específicos, el método 1 puede incluir además una etapa (C) que comprende evaluar al sujeto tratado. En aspectos individuales, la evaluación del paciente tratado se puede llevar a cabo mediante la medición de una reacción inmune en el sujeto tratado. En ciertos aspectos, la medición de la reacción inmune en el sujeto tratado puede comprender la medición de una proliferación de células T. Aún en otra evaluación del sujeto tratado puede comprender la determinación de al menos uno o más de los siguientes aspectos: (a) el tamaño del tumor, (b) la localización del tumor, (c) la etapa nodal, (d) la velocidad de crecimiento del cáncer NSCLC o de próstata, (e) la tasa de supervivencia del sujeto, (f) los cambios en los síntomas del cáncer de pulmón o de próstata del sujeto, (g) los cambios en la concentración de PSA del sujeto, (h) los cambios en la velocidad de duplicación de la concentración de PSA del sujeto, (i) los cambios en la calidad de vida del sujeto, o (j) una combinación de los mismos.

En estos aspectos, la evaluación del sujeto puede llevarse a cabo antes, durante, o después del período de tiempo. La evaluación del sujeto puede también llevarse a cabo antes y después del período de tiempo.

En un aspecto adicional, la formulación es una vacuna liposomal BLP25. "BLP25" es una repetición específica del núcleo MUC-1 lipidado, que se identifica a continuación. La vacuna BLP25 puede comprender liposomas preformados que comprenden una repetición del núcleo MUC-1, tal como el que se representa en las sec. con núm. de ident. 1 y 2. Los liposomas preformados que comprenden una repetición del núcleo MUC-1 se pueden liofilizar.

En un aspecto de este método, la vacuna liposomal BLP25 está en un estuche y las instrucciones para preparar y utilizar la vacuna se incluyen en el estuche. Por lo tanto, el estuche puede comprender otro líquido, tal como una disolución de cloruro de sodio (0,9%, USP) que puede utilizarse para reconstituir dicho material liofilizado. Alternativamente, la vacuna liposomal BLP25 puede suministrarse como un líquido. El estuche también puede comprender un adyuvante, o una combinación de adyuvantes. Los ejemplos de adyuvantes incluyen, pero no se limitan a, el lípido A, el dipéptido de muramilo, alúmina, o una citocina. Por lo tanto, el estuche puede comprender varios viales o recipientes que permitan a una persona preparar la vacuna BLP25 para la administración.

La etapa de administración de la formulación al sujeto puede ser por cualquier método adecuado, y mediante la utilización de cualquier forma de dosificación farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos de métodos de administración incluyen, pero no se limitan a, la inyección, en donde la inyección es una inyección intramuscular, una inyección subcutánea, intravenosa, intranodal, intratumoral, intraperitoneal, o una inyección intradérmica. Alternativamente, la vacuna o el péptido de la repetición del núcleo MUC-1 que se une liposomalmente se puede administrar mediante la administración nasal, oral, vaginal, rectal, ocular, local (povos, ungüentos o gotas), bucal, intracisternal, intraperitoneal o tópica, y similares. La vacuna o el péptido de la repetición del núcleo MUC-1 se puede administrar además a través de una formulación adecuada para la administración transdérmica, tal como mediante un parche transdérmico.

En otro aspecto de la presente descripción, se describe un método ("Método 2") para mejorar o mantener la calidad de vida de un individuo con cáncer, tal como el NSCLC o el cáncer de próstata. Este método puede comprender la administración a un sujeto que se diagnostica con un cáncer susceptible al tratamiento con una formulación que se basa en MUC-1, tal como el NSCLC o el cáncer de próstata, de una dosis de la vacuna liposomal BLP25 rutinariamente durante un período de tiempo. En un aspecto adicional del Método 2, un marcador combinado de bienestar físico de los individuos, de bienestar funcional, y de los síntomas del cáncer antes, durante y después de un período de tiempo puede calcularse.

En un aspecto la dosis de la vacuna liposomal BLP25 proporciona alrededor de 1.000 µg del lipopéptido MUC-1 BLP25, en una o múltiples administraciones, aunque otras dosis, que se describen más abajo, se pueden administrar. Véase, por ejemplo, las dosis que se previeron bajo la subsección Dosis de BLP25 más abajo.

Otro aspecto de la presente descripción es un método para la identificación de sujetos adecuados para el tratamiento con una composición a base de MUC-1, tal como una vacuna BLP25. Un aspecto del método supone la determinación de si el nivel de circulación del péptido MUC-1 en el torrente sanguíneo de un sujeto, o en sangre, plasma, orina, suero, u otra muestra biológica adecuada, es normal o anormal. Si el nivel de circulación de MUC-1 es normal, entonces el sujeto es adecuado para el posterior tratamiento con una composición de MUC-1. Es decir, a un sujeto que tiene un nivel normal de circulación de MUC-1 se le puede administrar una dosis de una vacuna de MUC-1, tal como la BLP25. En un aspecto el límite superior del nivel normal de MUC-1 circulante es de aproximadamente 37,7 U/ml. En consecuencia, un sujeto que tiene un nivel de MUC-1 circulante de 37,7 U/ml o menos es adecuado para el tratamiento con una composición de MUC-1, tal como una vacuna BLP25. Sin embargo, se encuentra bien dentro del alcance de la persona experta la determinación de los niveles umbrales de los péptidos MUC-1 circulantes en diferentes grupos de individuos. Es decir, el valor "37,7 U/ml" no es necesariamente un umbral

definitivo para todas las poblaciones que se sometían a ensayo. Una cantidad de antígeno circulante "normal" se puede determinar a partir de una subpoblación que se desee y se utiliza como un indicador para clasificar las cantidades de MUC-1 como normales o anormales.

5 En otro aspecto, el método supone la detección de la presencia de la proteína HLA A2 o ácido nucleico que la codifica o un ARN transcrito para la HLA A2 en el torrente sanguíneo de un sujeto, o en la sangre, el plasma, la orina, el suero, u otra muestra biológica adecuada. La detección de la presencia de la proteína HLA A2 o del ácido nucleico que la codifica o de un ARN transcrito para la HLA A2 en la muestra biológica indica que el sujeto es adecuado para el tratamiento con una composición a base de MUC-1, tal como una vacuna BLP25.

10 En un aspecto, el sujeto que se examina para determinar su idoneidad para el tratamiento con una composición de MUC-1 tiene cáncer de pulmón de células no pequeñas en el estadio IIIB o en el IV.

15 Un aspecto de la presente descripción es un método para el tratamiento de un sujeto con cáncer. Este método comprende (a) seleccionar para el tratamiento a un sujeto que tiene una célula cancerosa que expresa MUC-1, y (b) administrar a ese sujeto, durante un período de tiempo, una formulación a base de MUC-1, en donde la formulación comprende: (i) un liposoma; y (ii) al menos un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en la secuencia de aminoácidos sec. con núm. de ident. 1, una variante inmunológicamente activa de la secuencia de aminoácidos sec. con núm. de ident. 1, la secuencia de aminoácidos sec. con núm. de ident. 2, y una variante inmunológicamente activa de la secuencia de aminoácidos sec. con núm. de ident. 2, y en donde el sujeto no tiene un alto nivel de circulación de MUC-1 en el suero. En un aspecto, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de colon, cáncer de mama, 20 cáncer de páncreas, cáncer de riñón, cáncer de cabeza y cuello y mieloma múltiple.

Tanto la descripción general anterior como la siguiente breve descripción de las figuras son ilustrativas y explicativas y se destinan a proporcionar una explicación adicional de la invención como se reivindica.

Breve descripción de las figuras

25 La Figura 1 es un gráfico que representa los resultados de un estudio, que se detalla en la presente memoria, que muestra la supervivencia global en un grupo de estudio entre los pacientes que recibieron el tratamiento con la vacuna liposomal BLP25 o pacientes que recibieron sólo el mejor cuidado de apoyo (BSC). Véase el ejemplo 1 más abajo.

30 La Figura 2 es un gráfico que demuestra el análisis de supervivencia para los pacientes con NSCLC en estadio IIIB locoregional. El análisis de supervivencia para los dos grupos de pacientes (tratamiento y BSC) incluye la función de distribución de supervivencia de los pacientes que se trataron con la vacuna liposomal BLP25 frente a los pacientes que se trataron sólo con el mejor cuidado de apoyo. Véase el ejemplo 1 más abajo.

La Figura 3 es un gráfico que representa la variación porcentual del tiempo de doblaje del antígeno prostático específico ("PSA") para distintos pacientes que recibieron una dosis de la vacuna liposomal BLP25. Véase el ejemplo 3 más abajo.

35 La Figura 4 es una tabla con la distribución de las frecuencias de los valores de CA27.29 del paciente por visita, el grupo (BLP25 o Control), y el nivel normal/anormal.

La Figura 5 muestra la curva de supervivencia para los pacientes con niveles normales de antígeno en los valores iniciales en comparación con los pacientes que tenían niveles anormales.

40 La Figura 6 muestra que la supervivencia media de los pacientes con niveles normales de CA27.29 fue de 24,2 meses mientras que la de los pacientes con niveles anormales fue de 9,8 meses (Cox $p=0,0006$).

La Figura 7 muestra los datos del grupo control donde la supervivencia media de los pacientes con niveles normales de CA27.29 fue de 15,1 meses en comparación con los 11,3 meses para aquellos con niveles de CA27.29 anormales (Cox $p=0,0042$).

45 La Figura 8 muestra los datos de que en los pacientes con niveles preexistentes normales de CA27.29 en el grupo BLP25 había una supervivencia media de 24,2 meses en comparación con los pacientes del grupo de Control que tenían una supervivencia media de 15,1 meses (Cox $p=0,0605$).

La Figura 9 muestra que los pacientes con niveles pre-existentes anormales de CA27.29 en el grupo BLP25 tenían una supervivencia media de 9,8 meses y los pacientes en el grupo de control tenían una supervivencia media de 11,3 meses (Cox $p=0,5234$).

50 La Figura 10 muestra las Curvas de Kaplan-Meier de la duración de la supervivencia por la proliferación de células T.

La Figura 11 ilustra los análisis de supervivencia que se realizaron para los tipos de HLA que se eligieron entre los grupos de tratamiento.

La Figura 12 muestra la supervivencia de los pacientes con HLA A02 en cada uno de los grupos del estudio.

La Figura 13 demuestra las diferencias en la supervivencia entre los dos grupos en los pacientes con el alelo DQB 1-05.

La Figura 14 muestra la supervivencia de los pacientes en ambos grupos que tienen el haplotipo DRB1-04.

5 La Figura 15 muestra otra curva de supervivencia para los pacientes de ambos grupos que tienen el alelo DQB1-02.

La Figura 16 ilustra los análisis de supervivencia adicionales en los grupos de tratamiento para los mismos haplotipos que se enumeran en la Figura 11.

La Figura 17 muestra las curvas de Supervivencia de Kaplan-Meier para los pacientes en el grupo BLP25 que sólo tienen el alelo CW07 (n=45) frente a aquellos pacientes que no tienen el alelo (n=43).

10 La Figura 18 muestra la supervivencia por grupo de tratamiento de los pacientes con derrame pleural maligno estadio IIIB o con la enfermedad en estadio IV al comienzo del estudio.

La Figura 19 muestra la supervivencia en términos de valores iniciales de CA27.29 normales frente a anormales (grupo control).

La Figura 20 muestra los valores iniciales de la supervivencia global de CA27.29 normales frente a anormales.

15 La Figura 21 muestra la supervivencia global por grupo de tratamiento.

La Figura 22 muestra la supervivencia por grupo de tratamiento de los pacientes con la enfermedad en estadio IIIB locorregional al comienzo del estudio.

La Figura 23 muestra la supervivencia en términos de los valores iniciales de CA27.29 normales vs. anormales (grupo BLP).

20 **Descripción detallada de la invención**

La presente invención, como se define en las reivindicaciones adjuntas, proporciona formulaciones que se basan en MUC-1 para tratar a un individuo afectado con NSCLC. La presente descripción también incluye el tratamiento del cáncer de próstata y otros cánceres con las formulaciones que se basan en MUC-1 descritas.

25 Según la presente descripción una formulación puede comprender una repetición del núcleo MUC-1. Una repetición del núcleo MUC-1 puede ser una secuencia de aminoácidos que se encuentra cualquier número de veces en una proteína MUC-1. Preferentemente, un péptido de repetición del núcleo MUC-1 de la presente descripción imita la naturaleza expuesta de una proteína MUC-1 que se expresa en células cancerosas, que tiene restos de carbohidratos más cortos que se unen a la cadena principal de la proteína MUC-1.

30 En un aspecto una repetición del núcleo MUC-1 de la presente invención tiene la secuencia de aminoácidos, STAPPAHGVT SAPDTRPAPGSTAPP (sec. con núm. de ident. 1).

Una repetición del núcleo MUC-1 puede tener además la secuencia de aminoácidos que se representa en cualquiera de las siguientes:

STAPPAHGVT SAPDTRPAPGSTAPPK(palmitoil)G (sec. con núm. de ident. 2)

STAPPAHGVT SAPDTRPAPG (sec. con núm. de ident. 3)

35 En ciertos aspectos, esta repetición del núcleo puede lipidarse. Uno de tales lipopéptidos de repeticiones del núcleo MUC-1 se denomina BLP25 en la presente memoria. La formulación puede asociarse además con un liposoma. Esta asociación puede incluir, pero no se limita a, la incorporación del péptido dentro del liposoma o a la encapsulación del péptido por el liposoma.

Una vacuna liposomal que contiene un lipopéptido BLP25 se denomina en la presente memoria como "L-BLP25."

40 Las formulaciones de la descripción pueden comprender además un adyuvante, o una combinación de adyuvantes, tales como el lípido A o la interleucina-2 (IL-2). Otros adyuvantes ilustrativos se describen más abajo. La formulación a base de MUC-1 se puede formular como una vacuna, y la vacuna puede ser una vacuna donde la repetición del núcleo MUC-1 se asocia a liposomas. En varias realizaciones, la formulación de la vacuna comprende una repetición del núcleo MUC-1 que se asocia a liposomas y un adyuvante. La repetición del núcleo MUC-1 puede lipidarse.

45 Una vacuna de la presente descripción puede comprender: (a) una repetición del núcleo MUC-1 que comprende la secuencia sec. con núm. de ident. 1 y un lípido exógeno; o (b) una repetición del núcleo MUC-1 que comprende la secuencia sec. con núm. de ident. 1 y un liposoma; o (c) una repetición del núcleo MUC-1 que comprende la

secuencia sec. con núm. de ident. 1 y un liposoma y un adyuvante; o (d) una repetición del núcleo MUC-1 que comprende la secuencia sec. con núm. de ident. 1 y un liposoma y un adyuvante, donde el adyuvante es el lípido A.

5 En ciertos otros aspectos, una vacuna puede comprender: (a) una repetición del núcleo MUC- 1 que comprende la secuencia sec. con núm. de ident. 2 y un lípido exógeno; o (b) una repetición del núcleo MUC-1 que comprende la secuencia sec. con núm. de ident. 2 y un liposoma; o (c) una repetición del núcleo MUC-1 que comprende la secuencia sec. con núm. de Ident. 2 y un liposoma y un adyuvante; o (d) una repetición del núcleo MUC-1 que comprende la secuencia sec. con núm. de ident. 2 y un liposoma y un adyuvante, donde el adyuvante es el lípido A.

10 El concepto del tratamiento de Individuos que tiene un cáncer susceptible al tratamiento con una formulación a base de MUC-1, como el cáncer de próstata o el NSCLC, así como también los constituyentes de la vacuna que se basa en MUC-1, se describen con más detalle más abajo.

I. Vacuna Liposomal BLP25

15 En un aspecto la formulación a base de MUC-1 comprende una cierta cantidad del lipopéptido de MUC- 1 BLP25 y una cierta cantidad de adyuvante. Tal formulación se denomina en la presente memoria como una vacuna liposomal BLP25 ("L-BLP25"), que puede estar en una formulación líquida o liofilizada. Por ejemplo, la formulación o la vacuna pueden contener, en la cantidad de una sola dosis, aproximadamente 1.000 µg del lipopéptido de MUC-1 BLP25 y aproximadamente 500 µg de lípido A.

20 Otras cantidades en microgramos del lipopéptido MUC-1 y del lípido A, sin embargo, se prevén en esta descripción. Por ejemplo, la cantidad del lipopéptido BLP25 puede ser suficiente para dar cabida a múltiples dosis de la vacuna. De ahí que, la formulación de repetición del núcleo de MUC-1 puede contener, por ejemplo, aproximadamente 50 µg, aproximadamente 100 µg, aproximadamente 200 µg, aproximadamente 300 µg, aproximadamente 400 µg, aproximadamente 500 µg, aproximadamente 600 µg, aproximadamente 700 µg, aproximadamente 800 µg, aproximadamente 900 µg, aproximadamente 1.000 µg, aproximadamente 1.010 µg, aproximadamente 1.020 µg, aproximadamente 1.030 µg, aproximadamente 1.040 µg, aproximadamente 1.050 µg, aproximadamente 1.060 µg, aproximadamente 1.070 µg, aproximadamente 1.080 µg, aproximadamente 1.090 µg, aproximadamente 1.100 µg, aproximadamente 1.200 µg, aproximadamente 1.300 µg, aproximadamente 1.400 µg, aproximadamente 1.500 µg, aproximadamente 1.600 µg, aproximadamente 1.700 µg, aproximadamente 1.800 µg, aproximadamente 1.900 µg, aproximadamente 2.000 µg, aproximadamente 3.000 µg, aproximadamente 4.000 µg, aproximadamente 5.000 µg, aproximadamente 6.000 µg, aproximadamente 7.000 µg, aproximadamente 8.000 µg, aproximadamente 9.000 µg, aproximadamente 10.000 µg, aproximadamente 15.000 µg, aproximadamente 25.000 µg, o más repeticiones del núcleo de MUC-1. Una dosificación particular de repeticiones del núcleo de MUC-1 está en el intervalo de aproximadamente 500 µg a aproximadamente 1.500 µg, aproximadamente 500 µg a aproximadamente 1.500 µg, y aproximadamente 1.000 µg.

35 Similarmente, la cantidad de lípido A se puede variar para que se ajuste con la cantidad del péptido MUC-1 que se formula en la vacuna. Por lo tanto, la cantidad de lípido A puede ser de aproximadamente 50 µg, aproximadamente 100 µg, aproximadamente 200 µg, aproximadamente 300 µg, aproximadamente 400 µg, aproximadamente 500 µg, aproximadamente 600 µg, aproximadamente 700 µg, aproximadamente 800 µg, aproximadamente 900 µg, aproximadamente 1.000 µg, aproximadamente 1.010 µg, aproximadamente 1.020 µg, aproximadamente 1.030 µg, aproximadamente 1.040 µg, aproximadamente 1.050 µg, aproximadamente 1.060 µg, aproximadamente 1.070 µg, aproximadamente 1.080 µg, aproximadamente 1.090 µg, aproximadamente 1.100 µg, 1.200 µg, 1.300 µg, 1.400 µg, 1.500 µg, 1.600 µg, 1.700 µg, 1.800 µg, 1.900 µg, o aproximadamente 2.000 µg, o más. En particular, puede haber alrededor de 500 µg de lípido A.

40 El lipopéptido BLP25 y el lípido A pueden asociarse con la bicapa lipídica de los liposomas que se forman después de la rehidratación del polvo seco.

45 La formulación puede retenerse en un frasco, tal como en un frasco de vidrio de borosilicato Tipo I de 5 ml. El frasco que contiene la formulación MUC-1, también puede contener otros ingredientes de la vacuna. Por ejemplo, el frasco puede comprender lípidos liposomales adicionales, tales como el dipalmitoil fosfatidilcolina, el colesterol y dimiristoil fosfatidilglicerol. Cada cantidad de esos lípidos en particular puede variar. Por lo tanto, la cantidad de cualquiera de dipalmitoil fosfatidilcolina, colesterol y dimiristoil fosfatidilglicerol en un frasco puede ser de aproximadamente 1 mg, aproximadamente 2 mg, aproximadamente 3 mg, aproximadamente 4 mg, aproximadamente 5 mg, aproximadamente 6 mg, aproximadamente 7 mg, aproximadamente 8 mg, aproximadamente 9 mg, aproximadamente 10 mg, aproximadamente 11 mg, aproximadamente 12 mg, aproximadamente 13 mg, aproximadamente 14 mg, aproximadamente 15 mg, aproximadamente 16 mg, aproximadamente 17 mg, aproximadamente 18 mg, aproximadamente 19 mg, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 25 mg, aproximadamente 30 mg, aproximadamente 35 mg, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 45 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 55 mg, aproximadamente 60 mg, aproximadamente 65 mg, aproximadamente 70 mg, aproximadamente 75 mg, aproximadamente 80 mg, aproximadamente 85 mg, aproximadamente 90 mg, aproximadamente 95 mg, o aproximadamente 100 mg, o más de aproximadamente 100 mg. Los lípidos liposomales pueden contenerse en un segundo frasco mientras que la formulación MUC-1 puede contenerse en un primer frasco.

Por supuesto, existen otros aspectos para los propósitos de esta descripción. Por tanto, las cantidades anteriores del lipopéptido de MUC-1 BLP25, del adyuvante y de los lípidos liposomales en la L-BLP25 se dan como ejemplos solamente. La determinación de la cantidad apropiada de cada constituyente, lo que incluye las cantidades del lipopéptido MUC-1, se puede lograr fácilmente. En algunos aspectos, la cantidad del lipopéptido MUC-1 será mayor o menor que aproximadamente 300 µg. La vacuna no tiene que suministrarse en un frasco de vidrio de borosilicato de tipo I de 5 ml, pero se puede suministrar de cualquier manera conocida en la materia.

En un aspecto el lipopéptido BLP25 es un péptido lineal de 27 residuos que contiene un derivado de aminoácido lipidado cerca de su C-terminal. Específicamente, el BLP25 comprende un lípido palmitoil en un residuo de Usina en la posición 26 del polipéptido. La secuencia del lipopéptido BLP25 se representa en la sec. con núm. de ident. 2, que se muestra más abajo:

sec. con núm. de ident. 2: STAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPK(palmitoil)G

En otros aspectos, poseer una secuencia del núcleo MUC-1, un aminoácido, tal como treonina, serina, lisina, arginina, o cisteína, que puede encontrarse dentro de la secuencia natural del péptido, puede ser un sitio conveniente para que un lípido se pueda unir. Adicionalmente, el lípido puede unirse a un aminoácido sintético o un aminoácido que no se encuentra naturalmente en la secuencia del núcleo MUC-1. Más aún, uno o más de cualquiera de los aminoácidos naturales o sintéticos se pueden añadir a cualquier extremo o dentro de la secuencia del núcleo de MUC-1 para facilitar la unión de un lípido.

El número de aminoácidos que pueden añadirse a la secuencia del núcleo de MUC-1 no pretende ser limitante, ya que cualquier número de aminoácidos se puede añadir siempre que el péptido todavía funcione en los métodos de la descripción. Como se demostró anteriormente, dos aminoácidos adicionales se añadieron al polipéptido BLP25. Es decir, el extremo C-terminal de la secuencia del núcleo de MUC-1 termina con una prolina y tiene, por lo tanto, 25-residuos de longitud. En el caso del polipéptido BLP25, sin embargo, una lisina y una glicina se añadieron a la prolina C-terminal para facilitar la unión del palmitoil. Por lo tanto, la longitud del polipéptido BLP25 es de 27 aminoácidos de longitud. Los métodos de síntesis de los péptidos convencionales se pueden utilizar para añadir uno o más de tales aminoácidos adicionales a una secuencia peptídica. Alternativamente, el péptido con la secuencia del núcleo de MUC-1 o BLP25 se puede preparar de forma recombinante.

En un aspecto particular, una Vacuna Liposomal BLP25 ("L-BLP25") puede comprender el lipopéptido BLP25, el lípido A, colesterol, DMPG, y DPPC. El lipopéptido BLP25 puede comprender la secuencia sec. con núm. de ident. 2, un fragmento inmunológicamente activo, o una variante inmunológicamente activa de la misma. Una dosis de tal Vacuna Liposomal BLP25 puede comprender aproximadamente 1.000 µg del lipopéptido BLP25, aproximadamente 500 µg de lípido A, aproximadamente 17,3 mg de colesterol, aproximadamente 3,6 mg de DMPG, y aproximadamente 29,1 mg de DPPC.

Esta composición y dosis de la vacuna en particular puede describirse también en cantidades "por frasco". Por lo tanto, un frasco puede comprender aproximadamente 300 µg del lipopéptido BLP25, alrededor de 150 µg de lípido A, aproximadamente 5,2 mg de colesterol, aproximadamente 1,1 mg de DMPG, y aproximadamente 8,7 mg de DPPC.

Esta vacuna se puede liofilizar y después reconstituir antes de la administración, tal como en una disolución de cloruro de sodio. Las cantidades de la Vacuna Liposomal BLP25 que se describe anteriormente se pueden reconstituir, por ejemplo, en aproximadamente 0,6 ml de líquido, aunque cualquier volumen de líquido, dependiendo de la dosis que se desee, se puede utilizar, tal como aproximadamente 0,1 ml, 0,2 ml, 0,3 ml, 0,4 ml, 0,5 ml, 0,6 ml, 0,7 ml, 0,8 ml, 0,9 ml, 10 ml, 11 ml, 12 ml, 13 ml, 14 ml, 15 ml, 16 ml, 17 ml, 18 ml, 19 ml ó 20 ml, o más de 20 ml. El volumen de líquido en el que se reconstituye una vacuna liofilizada de MUC-1 no es necesariamente el volumen que se administra a un individuo.

A. Variantes de la repetición del núcleo de MUC-1

Como alternativa a la secuencia de repetición central MUC-1 representada en la sec. con núm. de ident. 1 y 2, la formulación puede incorporar homólogos inmunológicamente activos o variantes de esas repeticiones del núcleo de MUC-1. En consecuencia, la presente invención abarca el uso de un péptido de repetición del núcleo de MUC-1 que tiene una secuencia que es similar a, pero no idéntica a, la secuencia de aminoácidos representada en la sec. con núm. de ident. 1 o la sec. con núm. de ident. 2. Por lo tanto, la presente descripción contempla el uso de una repetición del núcleo de MUC-1 que tiene una identidad de secuencia de 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91%, 90%, 89%, 88%, 87%, 86%, 85%, 84%, 83%, 82%, 81% u 80% en comparación con la secuencia de sec. con núm. de ident. 1 o la sec. con núm. de ident. 2, y que es inmunológicamente activo.

Una proteína de repetición del núcleo de MUC-1 de la presente descripción puede modificarse para contener variaciones conservadoras o pueden modificarse a fin de cambiar los residuos no críticos o los residuos en regiones no críticas. Los aminoácidos que no son críticos pueden identificarse por métodos que se conocen en la técnica, tales como la mutagénesis dirigida al sitio, la cristalización, la resonancia magnética nuclear, el marcado por fotoafinidad, o la mutagénesis de barrido de alanina (Cunningham y otros, Science, 244:1081-1085 (1989); Smith y otros, J. Mol. Biol., 224:899-904 (1992); de Vos y otros, Science, 255:306-312 (1992)). Las proteínas que se

modifican pueden ser fácilmente comprobadas en cuanto a la actividad o la capacidad para inducir una respuesta inmune a través de métodos tales como la unión de la proteasa al sustrato, la escisión, la actividad in vitro, o la actividad in vivo.

5 Específicamente, una variante de repetición del núcleo de MUC-1 puede incorporar 1, 2, 3, 4, ó 5 sustituciones de aminoácidos que mejoran la estabilidad de la repetición del núcleo MUC-1 o con un aminoácido hidrófobo diferente que mejora la estabilidad de la repetición del núcleo de MUC-1 contra la oxidación, o con un aminoácido diferente que mejora la estabilidad de la repetición del núcleo MUC-1 frente a la proteasa. Por lo tanto, una "variante" del polipéptido de la repetición del núcleo de MUC-1 puede diferir en secuencia de aminoácidos de la secuencia representada en la sec. con núm. de ident. 1 o la sec. con núm. de ident. 2 por una o más sustituciones, deleciones, 10 inserciones, inversiones, truncamientos, o una combinación de los mismos. Tal variante se puede fabricar para contener las sustituciones de aminoácidos que sustituyen un aminoácido dado por otro aminoácido de características similares. Las sustituciones conservadoras incluyen, entre los aminoácidos alifáticos el intercambio de alanina, valina, leucina, e isoleucina; el intercambio de los residuos de hidroxilo serina y treonina, el intercambio de los residuos ácidos aspartato y glutamato, la sustitución entre los residuos amida asparagina y glutamina, el intercambio de los residuos básicos lisina y arginina, y las sustituciones entre los residuos aromáticos de fenilalanina y tirosina. Véase Bowie y otros, Science, 247:1306-1310 (1990).

B. Proteínas de fusión de la repetición del núcleo de MUC-1

Un péptido de la repetición del núcleo de MUC-1 que tiene la secuencia de longitud completa de la sec. con núm. de ident. 1 o la sec. con núm. de ident. 2, o una variante del mismo, puede además unirse a otro polipéptido con el que se normalmente no se asocia. Así, un péptido de la repetición del núcleo de MUC-1 puede unirse operativamente, ya sea en su extremo N-terminal o C-terminal, a un polipéptido heterólogo que tiene una secuencia de aminoácidos que no es sustancialmente homóloga a la repetición del núcleo de MUC-1. "Unirse operativamente" indica que el péptido de la repetición del núcleo de MUC-1 y el polipéptido heterólogo están a la vez en el mismo marco de lectura.

Una proteína de fusión puede, o no puede, afectar a la capacidad de la repetición del núcleo de MUC-1, o una variante funcional de la misma, de inducir una reacción inmunológica de un sistema del huésped. Por ejemplo, la proteína de fusión puede ser una proteína fusión-glutación S-transferasa (GST) en la que la repetición del núcleo de MUC-1 se fusiona al C-terminal de la secuencia de la GST o a un marcador HA de la gripe. Otros tipos de proteínas de fusión incluyen, pero no se limitan a, las proteínas de fusión enzimáticas, por ejemplo, las fusiones con beta-galactosidasa, las fusiones con GAL de dos híbridos de levadura, las fusiones con poli-His, y las fusiones con Ig. 25 Tales proteínas de fusión, en particular las fusiones con poli-His, pueden facilitar la purificación de la repetición del núcleo de MUC-1 que se produce de forma recombinante para su uso en la descripción. En ciertas células huésped, la expresión y/o secreción de una proteína se puede aumentar mediante la utilización de una secuencia señal heteróloga que se fusiona a una proteasa que transporta el péptido de la repetición del núcleo de MUC-1 a una matriz extracelular o que localiza la proteína de la repetición del núcleo de MUC-1 en la membrana celular.

35 Otras proteínas de fusión pueden afectar la capacidad de una repetición del núcleo de MUC-1 para inducir una reacción inmunológica. Por ejemplo, una subregión de una repetición del núcleo de MUC-1 puede reemplazarse, por ejemplo, con el dominio correspondiente o la subregión de otra región de una proteína MUC-1. En consecuencia, se pueden producir repeticiones del núcleo de MUC-1 quiméricas. Asimismo, la afinidad por el sustrato se puede alterar o incluso se puede impedir la proteólisis del sustrato. En consecuencia, se puede utilizar una proteína que tiene una secuencia de, por ejemplo, la sec. con núm. de ident. 1 o la sec. con núm. de ident. 2, o una variante de las mismas, como un inhibidor competitivo de otro péptido de la repetición del núcleo de MUC-1.

C. Modificaciones de las repeticiones del núcleo de MUC-1

Las variantes de la repetición del núcleo de MUC-1 abarcan además los derivados o los análogos en los que (i) un aminoácido se sustituye con un residuo de aminoácido que no se codifica por el código genético, (ii) el polipéptido maduro se fusiona con otro compuesto tal como el polietilenglicol, o (iii) algunos aminoácidos adicionales se fusionan al polipéptido MUC-1, tales como una secuencia secretora o líder o una secuencia para la purificación del polipéptido. 45

Las modificaciones típicas incluyen, pero no se limitan a, la acetilación, la acilación, la ADP-ribosilación, la amidación, la unión covalente a la flavina, la unión covalente de un resto hemo, la unión covalente de un nucleótido o derivado de nucleótido, la unión covalente de un lípido o derivado del lípido, la unión covalente de fosfatidilinositol, la reticulación, la ciclación, la formación de enlaces disulfuro, la desmetilación, la formación de reticulaciones covalentes, la formación de cistina, la formación de piroglutamato, la formilación, la carboxilación gamma, la glicosilación, la formación de anclajes GPI, la hidroxilación, la yodación, la metilación, la miristoilación, la oxidación, el procesamiento proteolítico, la fosforilación, la prenilación, la racemización, la selenoilación, la sulfatación, la adición de aminoácidos mediada por la transferencia por ARN a proteínas tales como la arginilación, y la ubiquitinación. 55

Particularmente las modificaciones comunes de los péptidos que se pueden aplicar a la repetición del núcleo de MUC-1 incluyen la glicosilación, la unión de lípidos, la sulfatación, la carboxilación gamma de los residuos de ácido

glutámico, la hidroxilación y la ADP-ribosilación. Véase T. E. Creighton, *Proteins-Structure and Molecular Properties*, 2ª ed. (W. H. Freeman and Company, Nueva York (1993)); Wold, F., *Posttranslational Covalent Modification of Proteins*, B. C. Johnson, Ed. (Academic Press, Nueva York 1-12 (1983)); Seiftery otros, *Meth. Enzymol.*, 182: 626-646 (1990); y Rattan y otros, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 663:48-62 (1992).

- 5 Las modificaciones se pueden hacer en cualquier lugar de un polipéptido de la repetición del núcleo de MUC-1, lo que incluye al esqueleto peptídico, las cadenas laterales de los aminoácidos, y los extremos amino o carboxilo. El bloqueo del grupo amino o carboxilo en un polipéptido, o ambos, por una modificación covalente, es común en los polipéptidos de origen natural y sintéticos.

II. Dosis de BLP25

- 10 Cuando una formulación a base de MUC-1, incluyendo a un péptido del núcleo de MUC-1, a un polipéptido BLP25 o a una vacuna liposomal BLP25 se está administrando a un sujeto, un experto en la materia entiende que la dosificación puede depender de varios factores, incluyendo, pero sin limitarse a, el peso del sujeto, el tamaño del tumor, o la progresión del tumor. Generalmente, como se utiliza en la presente memoria, un sujeto que reciba la formulación a base de MUC-1 es un solo organismo. En ciertos aspectos, un sujeto será un mamífero.
- 15 Específicamente, un sujeto puede ser un ser humano, lo que incluye ser un hombre o una mujer. En muchos aspectos, el sujeto será un paciente, o un individuo en espera o bajo atención médica y tratamiento.

- A un sujeto se puede administrar una dosis de aproximadamente 50 µg, aproximadamente 100 µg, proximadamente 200 µg, aproximadamente 300 µg, aproximadamente 400 µg, aproximadamente 500 µg, aproximadamente 600 µg, aproximadamente 700 µg, aproximadamente 800 µg, aproximadamente 900 µg, aproximadamente 1.000 µg,
- 20 aproximadamente 1.010 µg, aproximadamente 1.020 µg, aproximadamente 1.030 µg, aproximadamente 1.040 µg, aproximadamente 1.050 µg, aproximadamente 1.060 µg, aproximadamente 1.070 µg, aproximadamente 1.080 µg, aproximadamente 1.090 µg, aproximadamente 1.100 µg, 1.200 µg, 1.300 µg, 1.400 µg, 1.500 µg, 1.600 µg, 1.700 µg, 1.800 µg, 1.900 µg, o aproximadamente 2.000 µg del polipéptido BLP25 MUC-1 que está en la vacuna liposomal BLP25, en aplicaciones únicas o acumulativas. En aspectos específicos, la dosis que se administra al sujeto es de
- 25 aproximadamente 1.000 µg de la formulación a base de MUC-1 por semana.

- Un sujeto puede recibir una dosis de la formulación a base de MUC-1, por ejemplo, varias veces al día, cada día, cada dos días, una vez por semana, o cualquier otro régimen de dosificación adecuado. En un aspecto la administración rutinaria abarca la administración de una dosis de la vacuna liposomal BLP25 una vez a la semana durante un período de tiempo. Por supuesto, el régimen de dosificación puede comprender otras permutaciones del suministro de los péptidos MUC-1. Es decir, la vacuna se puede administrar una vez, dos veces, tres veces, cuatro veces, cinco veces, seis veces o más veces a la semana. En algunos aspectos, a los sujetos se les dará al menos 5 dosis a lo largo un período de tiempo. En otros aspectos a los sujetos se les dará más de o menos de 5 dosis. Por lo tanto, un sujeto puede recibir una dosis de aproximadamente 1.000 µg del polipéptido MUC-1 lipidado cada semana. Como alternativa, el sujeto puede recibir dos dosis de 500 µg, dos veces por semana, o una dosis diaria de 100 µg
- 30 durante cinco días.

- Estos ejemplos de dosificación son no limitantes y solo se utilizan para ejemplificar regímenes de dosificación particulares para la administración de aproximadamente 1.000 µg del polipéptido MUC-1 lipidado. Por ejemplo, si la dosis apropiada para una situación dada es de 1.000 µg por semana, las dosis se pueden dividir en cualquier número de permutaciones. Esto es válido además si la dosis apropiada para una situación particular es superior o inferior a 1.000 µg.
- 40

- El período de tiempo en que la formulación a base de MUC1 se administra al sujeto puede ser cualquier período adecuado. Ejemplos de tales períodos adecuados incluyen, pero sin limitarse a, al menos aproximadamente 3 meses, al menos aproximadamente 4 meses, al menos aproximadamente 5 meses, al menos aproximadamente 6 meses, al menos aproximadamente 7 meses, al menos aproximadamente 8 meses, al menos aproximadamente 9 meses, al menos aproximadamente 10 meses, al menos aproximadamente 11 meses, al menos aproximadamente 12 meses, al menos aproximadamente 13 meses, aproximadamente 14 meses, al menos aproximadamente 15 meses, al menos aproximadamente 16 meses, al menos aproximadamente 17 meses, al menos aproximadamente 18 meses, al menos aproximadamente 19 meses, al menos aproximadamente 20 meses, al menos aproximadamente 21 meses, al menos aproximadamente 22 meses, al menos aproximadamente 23 meses, o al menos aproximadamente 24 meses o más. El período de tratamiento también puede continuar durante más de 24 meses, si se desea, tal como, durante 30 meses, 31 meses, 32 meses, 33 meses, 34 meses, 35 meses, 36 meses, o más de 36 meses.
- 45
- 50

- En otro aspecto, el período de tiempo de la dosificación para cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria es durante al menos aproximadamente 2 semanas, al menos aproximadamente 4 semanas, al menos aproximadamente 8 semanas, al menos aproximadamente 16 semanas, al menos aproximadamente 17 semanas, al menos aproximadamente 18 semanas, al menos aproximadamente 19 semanas, al menos aproximadamente 20 semanas, al menos aproximadamente 24 semanas, al menos aproximadamente 28 semanas, al menos aproximadamente 32 semanas, al menos aproximadamente 36 semanas, al menos aproximadamente 40 semanas, al menos aproximadamente 44 semanas, al menos aproximadamente 48 semanas, al menos aproximadamente 52
- 55

semanas, al menos aproximadamente 60 semanas, al menos aproximadamente 68 semanas, al menos aproximadamente 72 semanas, al menos aproximadamente 80 semanas, al menos aproximadamente 88 semanas, al menos aproximadamente 96 semanas, o al menos aproximadamente 104 semanas.

5 La formulación a base de MUC-1 se puede administrar en diferentes fases del tratamiento. Por ejemplo, la formulación a base de MUC-1 puede administrarse tanto en una fase de tratamiento como en una fase de mantenimiento. En algunos aspectos, la fase de tratamiento comprenderá la administración de la formulación a base de MUC-1 en dosis semanales, mientras que la fase de mantenimiento puede ser en periodos de tiempo más largos, tales como aproximadamente cada 6 semanas, aproximadamente cada 7 semanas, aproximadamente cada 8 semanas, aproximadamente cada 9 semanas, aproximadamente cada 10 semanas, aproximadamente cada 11
10 semanas, aproximadamente cada 12 semanas, o más. En algunos casos, la dosificación que se administra en la fase de tratamiento será mayor que la dosificación que se administra en la fase de mantenimiento. Sin embargo, las fases de tratamiento y de mantenimiento pueden diseñarse para un individuo en particular por lo que el tiempo y las dosificaciones entre las fases de tratamiento y de mantenimiento pueden variar significativamente de los ejemplos anteriores. Generalmente, la fase de mantenimiento puede comenzar en cualquier momento que se considere oportuno. Por ejemplo, en algunos aspectos, la fase de tratamiento será de ocho semanas, y la fase de mantenimiento continuará durante toda la vida del individuo. En otros aspectos, se llevarán a cabo sólo un
15 tratamiento o una fase de mantenimiento.

20 Todavía en aspectos adicionales, la formulación a base de MUC-1 se administrará de manera profiláctica. En estas realizaciones, la administración de la formulación a base de MUC-1 puede impedir que una persona desarrolle un cáncer, tal como el cáncer de próstata o el NSCLC. Cuando se utiliza la formulación a base de MUC-1 profilácticamente, la cantidad de la dosificación y el régimen se pueden determinar fácilmente.

Los médicos pueden determinar la cantidad de tiempo por la que un sujeto debe permanecer con el tratamiento con la formulación a base de MUC-1. En algunos casos, puede ser ventajoso administrar la formulación a base de MUC-1 para el resto de la vida del individuo.

25 III. Liposomas

En muchos aspectos, la formulación a base de MUC-1 se utilizará con liposomas. Los liposomas son vesículas microscópicas que consisten en una o más bicapas lipídicas que rodean los compartimentos acuosos. Véase por ejemplo, Bakker-Woudenberg y otros, Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 12 (Supl. 1): S61 (1993), y Kim, Drugs, 46: 618 (1993). Debido a que los liposomas se pueden formular con moléculas de lípidos en volumen que también se encuentran en las membranas celulares naturales, los liposomas generalmente se pueden administrar de forma segura y son biodegradables. Así, los liposomas se utilizan a menudo en la administración de fármacos.
30

Dependiendo del método de preparación, los liposomas pueden ser unilamelares o multilamelares, y pueden variar en tamaño con diámetros que van desde aproximadamente 0,02 μm a más de aproximadamente 10 μm . Una variedad de agentes puede encapsularse en o insertarse en los liposomas. Los agentes hidrofóbicos se ubican en las bicapas y los agentes hidrofílicos se ubican dentro del (los) espacio(s) acuoso(s) interno(s). Véase por ejemplo, Machy y otros, LIPOSOMES IN CELL BIOLOGY AND PHARMACOLOGY (John Libbey, 1987), y Ostro y otros, American J. Hosp. Pharm. 46: 1576 (1989).
35

Los liposomas se pueden adsorber a virtualmente cualquier tipo de célula y después liberar un agente que se les incorpore. En algunos casos, el liposoma puede fusionarse con la célula diana, de manera que el contenido del liposoma se vacía en la célula diana. Alternativamente, un liposoma puede endocitarse por células que son fagocíticas. La endocitosis se sucede por la degradación intralisosomal de los lípidos liposomales y la liberación de los agentes que se encapsularon. Scherphof y otros, Ann. N.Y. Acad. Sci., 446: 368 (1985).
40

Además, los liposomas se pueden utilizar para presentar agentes activos, tales como polipéptidos, en su superficie y, por lo tanto, inducir diversos eventos, tales como las cascadas de señalización o iniciar rutas bioquímicas, sin fusionarse a una célula diana o a una superficie como se menciona en el párrafo anterior. Así, por ejemplo, un polipéptido se puede incorporar en la bicapa lipídica, por ejemplo, de un liposoma a través de un lípido que se une al polipéptido.
45

Los liposomas se utilizan como vehículos de suministro con las formulaciones a base de MUC-1 de la presente descripción. Liposomas adecuados ilustrativos que se pueden utilizar incluyen las vesículas multilamelares (MLV), las vesículas oligolamelares (OLV), las vesículas unilamelares (UV), las pequeñas vesículas unilaminares (SUV), las vesículas unilamelares medianas (MUV), las vesículas unilamelares grandes (LUV), las vesículas unilamelares gigantes (GUV), las vesículas multivesiculares (MVV), las vesículas oligolamelares o sencillas que se fabrican por el método de evaporación en fase inversa (REV), las vesículas multilamelares que se fabrican por el método de evaporación de fase inversa (MLV-REV), las vesículas plurilaminares estables (SPLV), las MLV que se congelan y descongelan (FATMLV), las vesículas que se preparan por métodos de extrusión (VET), las vesículas que se preparan mediante prensa francesa (FPV), las vesículas que se preparan mediante fusión (FUV), las vesículas de deshidratación- rehidratación (DRV), y los bubblesomas (BSV). Sin embargo, tal como se entiende por un experto en la técnica, el tipo de liposoma no pretende ser limitante y puede incluir cualquier liposoma que se fabrique en
50
55

cualquier materia que sea compatible con los métodos de la descripción. Las técnicas para preparar los liposomas se conocen bien en la materia. Véase COLLOIDAL DRUG DELIVERY SYSTEMS, vol. 66 (J. Kreuter ed., Marcel Dekker, Inc. (1994)).

IV. Lípidos

5 En muchos aspectos, la formulación a base de MUC-1 puede lipidarse, tal como la sec. con núm. de ident. 2. Como se utiliza en la presente invención, un "lípidos" puede ser una molécula de miristilo, palmitoilo, o laurilo que se puede unir a los aminoácidos que poseen los grupos funcionales oxígeno, nitrógeno o azufre. Tales aminoácidos incluyen, pero no se limitan a, la treonina, la serina, la lisina, la arginina y la cisteína.

10 Un "monolipopéptido" es un péptido al que solo se unió una cadena de lípidos. De manera similar, un "dilipopéptido" es un péptido que tiene dos cadenas de lípidos unidas ya sea a uno o dos aminoácidos. Si las dos cadenas lipídicas se unen a dos residuos de aminoácidos, los residuos pueden espaciarse a cualquier número de aminoácidos de distancia. En los casos en que se une más de un lípido, los lípidos pueden ser tanto el mismo lípido como diferentes lípidos. De manera similar, si más de dos lípidos se unen, dos o más de los lípidos pueden ser los mismos o la totalidad de los lípidos pueden ser diferentes.

15 Se cree que un lipopéptido, tal como el BLP25, se puede incorporar en un liposoma debido a que la porción lipídica del péptido se integra espontáneamente en la bicapa lipídica del liposoma. Así, en este caso, un lipopéptido puede presentarse en la "superficie" de un liposoma. Alternativamente, un péptido puede encapsularse dentro de un liposoma. Las técnicas para la preparación y la formulación de los liposomas con moléculas tales como péptidos se conocen bien.

20 V. Adyuvantes Ilustrativos

La presente formulación a base de MUC-1 puede incluir además uno o más adyuvantes. Alternativamente, uno o más adyuvantes se pueden administrar antes, junto con, o después de la administración de la formulación a base de MUC-1 de la descripción.

25 Como se puede apreciar bien, los adyuvantes son sustancias que actúan junto con estímulos antigénicos específicos para mejorar una respuesta específica a un antígeno. El monofosforil lípido A (MPLA), por ejemplo, es un adyuvante eficaz que produce un aumento de la presentación del antígeno liposomal a los Linfocitos T específicos. Alving, C.R., Immunobiol., 187:430-446 (1993). El MPLA puede unirse a los receptores toll-like, que pueden conducir a la activación de las rutas de defensa de señalización que controlan la expresión de varios genes de la respuesta inmune.

30 Los adyuvantes que se basan en lípidos, tales como el lípido A y los derivados del mismo, son adecuados para el uso con las formulaciones a base de MUC-1. Cuando se incorpora en liposomas, un dipéptido de muramilo (MDP) se demostró además que aumenta la capacidad adyuvante (Gupta RK y otros, Adjuvants-A balance between toxicity and adjuvancity", Vaccine, 11, 293-306 (1993)).

35 Otras clases de adyuvantes que pueden utilizarse en la presente descripción incluyen citoquinas estimulantes, tales como la interleucina-2 (IL-2). Así, los presentes vacunas liposomales se pueden formular con IL -2, o la IL-2 se puede administrar por separado para respuesta antigénica óptima. En muchos aspectos, la IL-2 se formula beneficiosamente con liposomas.

40 Las imitaciones sintéticas de los adyuvantes pueden además ser co-formuladas con el uso de las formulaciones a base de MUC-1. Por ejemplo, un imitador del lípido A puede utilizarse en junto con la vacuna liposomal. Un tipo particular de un imitador del lípido A es uno en el que una o ambas unidades de azúcar del disacárido del lípido A se sustituye con al menos el esqueleto carbonado del pentaeritritol. Véase, por ejemplo, WO 03/094850.

VI. Formulaciones de Vacunas Ilustrativas

45 Cuando la formulación a base de MUC-1 es una vacuna, las vacunas se pueden formular además con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Las propiedades de tales excipientes se conocen bien en la materia, pero típicamente incluyen excipientes que son fisiológicamente tolerables e inertes o que mejoran las propiedades de vacuna de las composiciones inventivas. Los ejemplos no limitantes de excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen vehículos líquidos tales como la disolución salina fisiológica, estéril. Un excipiente se puede añadir en cualquier punto en la formulación de una vacuna liposomal o se puede mezclar con la composición de la vacuna completa. Se puede determinar fácilmente tanto la selección del excipiente apropiado para su uso con las vacunas de la descripción como cuándo añadir el excipiente.

50 Una formulación de vacuna particular puede comprender aproximadamente 300 µg del lipopéptido de MUC-1 BLP25 de la sec. con núm. de ident. 2, aproximadamente 150 µg de lípido A, y aproximadamente 15 mg de uno o más lípidos liposomales adicionales, tales como dipalmitoilfosfatidilcolina, colesterol (DPMC) y dimiristoilfosfatidilglicerol (DPMG).

VII. Ciclofosfamida

Antes del tratamiento con una formulación a base de MUC-1, un sujeto puede ser "pretratado" con ciclofosfamida. En muchos aspectos, la dosis de ciclofosfamida será de aproximadamente 300 mg/m², de aproximadamente 400 mg/m², de aproximadamente 500 mg/m², o de aproximadamente 600 mg/m². Una dosis de ciclofosfamida en el intervalo de aproximadamente 300 mg/m² se considera una dosis baja. En ciertos aspectos se dará la ciclofosfamida en una dosis única. En otros aspectos se dará la ciclofosfamida en más de una dosis durante un período de tiempo.

El uso de una dosis de ciclofosfamida, tal como 300 mg/m², puede superar en parte la supresión inmune vista en algunos pacientes con cáncer. En diversos modelos animales, se demostró que la ciclofosfamida en ciertos sujetos aumenta las respuestas de hipersensibilidad de tipo retardado, aumenta la producción de anticuerpos, abroga la tolerancia, y potencia la inmunidad antitumoral. Otros medicamentos que afectan el sistema inmune de una manera similar a la ciclofosfamida pueden además utilizarse en regímenes de tratamiento previo con las formulaciones de la presente descripción.

VIII. Ruta de Administración y Destino de la Vacuna L-BLP25

Las formulaciones a base de MUC-1 de la descripción, incluyendo las vacunas, se pueden formular para múltiples rutas de administración. Las rutas específicas incluyen cualquier método farmacéuticamente adecuado de administración, tal como mediante inyecciones intravenosas, intramusculares, subcutáneas, o intradérmicas, aerosoles, transdérmicas, pulmonares, nasales, orales, vaginales, rectales, oculares, locales (polvos, ungüentos o gotas), bucales, intracisternales, intraperitoneales, o de administración tópica, y similares, o por una combinación de estas rutas, que se administran al mismo tiempo o en una pluralidad de dosis unitarias. La vacuna o el péptido de la repetición del núcleo de MUC-1 que se une liposomalmente puede además administrarse a través de una formulación adecuada para la administración transdérmica, tal como mediante un parche transdérmico.

La administración de vacunas se conoce bien y depende en última instancia de la formulación particular y del juicio del médico tratante. Las formulaciones que se basan en MUC-1, tales como la L-BLP25 pueden mantenerse como una suspensión o pueden liofilizarse y posteriormente hidratarse para generar una formulación utilizable.

En algunos aspectos, tales como el ejemplo 1, una dosis de la formulación a base de MUC-1 se puede inyectar en varios sitios diferentes. Por ejemplo, en caso del ejemplo 1, 1.000 µg del polipéptido a base de MUC-1 se pueden administrar en cuatro sub-dosis de aproximadamente 250 µg cada una. En el caso de las inyecciones, la cantidad de la inyección es irrelevante siempre y cuando la dosis apropiada o la sub-dosis de la composición inventiva se suministre. Por ejemplo, una inyección puede ser de 1 cc (ml), mientras que otra inyección con la misma dosis exacta puede ser de 5 cc (ml). Además, la cantidad en la sub-dosis se entiende solo como un ejemplo no limitante y los aspectos en los que las sub-dosis son más o menos de 1/4 de la dosis completa están anticipadas.

Las sub-dosis o dosis pueden administrarse en la región deltoidea o de los tríceps de los brazos, y en las regiones izquierda y derecha anterolateral del abdomen. Sin embargo, estos sitios de inyección se ofrecen solo como ejemplos. En algunos aspectos, se darán sólo dos sub-dosis y estas sub-dosis se pueden administrar en cualquiera de las regiones que se exponen anteriormente. En otros aspectos adicionales las sub-dosis o las dosis completas se administran en regiones completamente diferentes. Si se inyecta la formulación a base de MUC-1, después un sitio apropiado de inyección puede determinarse fácilmente.

Para proporcionar una mayor especificidad, reduciendo así teóricamente el riesgo de los efectos tóxicos o no deseados durante la administración in vivo, en algunos aspectos las composiciones se dirigirán a las células a través de la que están diseñadas para actuar, y que se denominan células presentadoras de antígeno. Esta puede realizarse convenientemente utilizando tecnología de orientación convencional para dirigir un liposoma que contiene un péptido inmunogénico a un lugar determinado dentro del cuerpo. Para dirigirlos a las células diana presentadoras de antígenos, por ejemplo, la manosa y la porción Fc de los anticuerpos pueden conjugarse químicamente a un péptido antigénico, o el péptido de direccionamiento puede fusionarse de forma recombinante al lipopéptido inmunogénico. Otras estrategias similares, serán familiares para el practicante. Sin embargo, en algunos aspectos las composiciones no se dirigirán a tipos específicos de células u órganos.

IX. Individuos para el Tratamiento

Cualquier sujeto que se diagnostique con un cáncer susceptible del tratamiento con una formulación a base de MUC-1, tal como el NSCLC y el cáncer de próstata, puede recibir el tratamiento con las formulaciones a base de MUC-1 que se describen en la presente invención. Alternativamente, cualquier individuo que exhiba los síntomas de cualquier etapa de un cáncer susceptible al tratamiento con una formulación a base de MUC-1, tales como los síntomas de cualquier etapa del NSCLC o cualquier etapa del cáncer de próstata, pero que no se diagnosticó formalmente como enfermo de cáncer, también puede recibir el tratamiento con las formulaciones que se basan en MUC-1. Además, como se indicó anteriormente, las formulaciones a base de MUC-1 podrán darse profilácticamente para evitar que un sujeto contraiga un cáncer susceptible al tratamiento con una formulación a base de MUC-1, tales como el cáncer de próstata o el NSCLC.

En la selección de un sujeto con un cáncer susceptible al tratamiento con una formulación a base de MUC-1, tal como un sujeto con cáncer de próstata y/o NSCLC, para el tratamiento con la formulación a base de MUC-1, puede ser beneficioso el determinar el nivel de MUC-1 en el suero del sujeto, ya sea antes o durante el tratamiento. En ciertos pacientes de cáncer, niveles séricos elevados de MUC-1 se correlacionaron con un mal pronóstico. Véase, por ejemplo, Pihl y otros, *Pathology*, 12:439-447 (1980). Debido a que una cantidad anormal de MUC-1 circulante puede inhibir o reducir la eficacia de las interacciones de las formulaciones exógenas a base de MUC-1, el conocer la cantidad de MUC-1 endógeno puede ayudar en la decisión de la dosis apropiada de las formulaciones que se basan en MUC-1 que han de administrarse a un sujeto.

A. Marcador tumoral CA27.29 (MUC1)

CA27.29 es el nombre de un antígeno que es un objetivo particularmente útil para identificar la proteína MUC-1, especialmente para la identificación de los fragmentos de MUC-1 de proteínas que circulan en el torrente sanguíneo de un sujeto, o en una muestra biológica adecuada, tales como en la sangre, la orina, o las muestras de suero. El antígeno CA27.29 puede detectarse por un anticuerpo monoclonal que es específico para el núcleo de las proteínas del producto MUC1. El mapeo de epítomos mínimo con la superposición de péptidos sintéticos puede utilizarse para identificar un anticuerpo monoclonal adecuado. Un anticuerpo de este tipo es el B27.29.

Algunas variables, tales como el número de repeticiones de MUC-1 en tándem y la glicosilación post transcripcional de MUC-1 puede afectar la detección de los epítomos, in vivo y la cuantificación de los marcadores que se relacionan con MUC-1. La detección in vivo de MUC-1 y de sus fragmentos puede complicarse más aún por la presencia de autoanticuerpos circulantes anti-mucina, que se encuentran ocasionalmente en pacientes con cáncer como resultado de una respuesta del huésped a la bioquímica alterada de la mucina. Estos anticuerpos son capaces de formar inmunocomplejos mucina mucina- anticuerpo que pueden afectar a la detección de MUC1, dependiendo del formato de ensayo. Véase Gion y otros, *Clinical Chemistry*, 45: 630-637 (1999).

Cualquier método puede utilizarse para someter a ensayo o detectar cantidades de antígeno CA27.29 en una muestra de sangre de un sujeto, tales como un ensayo de inmunoabsorción de unión a enzimas. Otro ensayo es el ensayo ACS:180 BR (Bayer Diagnostics), que es un inmunoensayo quimioluminiscente competitivo totalmente automatizado. Un anticuerpo monoclonal de ratón, que se genera contra un epítopo peptídico en la región tándem de la cadena principal de MUC-1 y que se marca con éster de acridinio, se incubó durante 7,5 min tanto con la muestra del paciente como con el CA27.29 purificado que se acopla covalentemente a partículas paramagnéticas (fase sólida). Tanto el antígeno en la muestra como el CA27.29 en la fase sólida compiten por la unión al anticuerpo marcado. Por lo tanto, una relación inversa se encuentra entre la cantidad de antígeno en la muestra y la cantidad de unidades relativas de luz que se detectan por el sistema. El ensayo se puede realizar de acuerdo con las Instrucciones del fabricante.

Otro ensayo es el radioinmunoensayo TRUQUANT BR, que utiliza el anticuerpo monoclonal B27.29 que se señaló anteriormente para cuantificar el antígeno de la mucina CA27.29 en el suero. Véase MacLean y otros, *J. Immunother.*, 20(1):70-8 (1997).

Típicamente, en el presente caso que se ejemplifica en el Ejemplo 4, un nivel normal del antígeno CA27.29 en suero o en sangre circulante es de aproximadamente 37,7 U/ml. Los niveles de suero MUC-1 que son mayores de aproximadamente 37,7 U/ml indican un resultado anormal.

Está bien dentro del alcance de la persona experta el determinar los niveles umbrales de los péptidos MUC-1 circulantes, tales como el antígeno CA27.29, en diferentes grupos de individuos. Es decir, el valor "37,7 U/ml" no es necesariamente un umbral definitivo para todas las poblaciones que se sometieron a ensayo. Una cantidad "normal" de CA27.29 circulante, por ejemplo, puede determinarse a partir de una subpoblación que se desee y se utiliza como un indicador para clasificar las cantidades de C27.29, ya sea como normales o anormales.

En el presente caso, el límite superior de los niveles normales de MUC-1 circulante, medida por los niveles de C27.29, fue de 37,7 U/ml. De acuerdo con la presente descripción, por lo tanto, un individuo con un nivel de MUC-1 que es de aproximadamente 37,7 U/ml o menor que aproximadamente 37,7 U/ml es un candidato adecuado para el tratamiento con una vacuna que se basa en MUC-1, tal como con la BLP25, o una de las demás formulaciones de MUC-1 que se describen en la presente invención.

Además de acuerdo con la presente descripción, un sujeto con un nivel de MUC-1 que es igual o menor que un nivel normal "umbral" diferente de MUC-1 circulante es además un candidato adecuado para el tratamiento con una vacuna que se basa en MUC-1, tal como con la BLP25, o con una de las otras formulaciones MUC-1 que se describen en la presente invención.

B. Tipificación de HLA A2

El término HLA se refiere al Sistema de Antígenos Leucocitarios Humanos, que se controla por los genes en el brazo corto del cromosoma seis. El loci HLA es parte de la región genética que se conoce como el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC). El MHC tiene genes (incluyendo el HLA) que son parte integral de la función normal de la respuesta Inmune. La función esencial de los antígenos HLA recae en el control del auto-reconocimiento y por lo

tanto en la defensa contra los microorganismos. Algunos antígenos HLA se reconocen en todos los tejidos del cuerpo, en lugar de sólo en las células sanguíneas.

5 El antígeno leucocitario humano (HLA) A2 es el alelo más heterogéneo en el locus HLA A, con aproximadamente 56 subtipos diferentes. Una heterogeneidad sustancial en la distribución de A02 se observó en las poblaciones en todo el mundo. El HLA B40 es el alelo más común que se asocia con los haplotipos A2. El HLA A2 también se implicó en una serie de enfermedades que incluyen la enfermedad de Alzheimer, la artritis psoriásica, el vitíligo, y la tuberculosis pulmonar.

10 Es posible detectar la presencia de la proteína HLA A2 tanto en la sangre del individuo como en una muestra de tejido o de ADN o ARN. Por lo tanto, en este último tipo de ensayo, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) puede emplearse para detectar el HLA A2 ADN, ARN o ADNc. Por ejemplo, la técnica de hibridación específica para oligonucleótidos-transferencia inversa basada en PCR. Alternativamente pueden emplearse una transferencia Southern o Northern con una sonda HLA A2- específica. Por otra parte, un anticuerpo se puede utilizar para detectar la proteína HLA A2.

15 La presencia o ausencia del ácido nucleico de la HLA o de la proteína HLA A2 es un factor a considerar en la preparación del sujeto para el tratamiento con una vacuna que se basa en MUC-1, tal como con la BLP25.

X. Individuos con CPCNP

20 Cuando sujetos con CPCNP se van a tratar con una formulación basada en MUC-1 de la descripción, los sujetos diagnosticados en etapa IIIB locorregional (LR), etapa IIIB con derrame pleural maligno, o CPCNP etapa IV específicamente se pueden tratar. Sin embargo, la presente descripción además abarca el tratamiento de individuos con CPCNP distintos de los que tienen etapa III locorregional, etapa III con derrame pleural, y enfermedad en etapa IV. Así, la presente descripción contempla el tratamiento de pacientes diagnosticados con CPCNP de etapa IA, etapa IB, etapa IIA, etapa IIB, etapa IIIA, etapa IIIB, etapa IIIB locoregional, etapa IIIB con derrame pleural, y etapa IV. Véase Mountain C. F., Chest, 111 (6): 1710-7 (1997).

A. La estadificación del cáncer de pulmón

25 Generalmente, cuando las formulaciones basadas en MUC-1 se usan en sujetos con CPCNP, la etapa del CPCNP en el individuo se puede determinar antes, después, o durante el tratamiento. Un bosquejo de la estadificación del cáncer de pulmón se expone a continuación:

30 Normalmente en el cáncer de pulmón, un número de "etapa" mayor correlaciona con un peor pronóstico. Para diagnosticar un individuo en una etapa particular, el tamaño y la localización del tumor primario (valor "T"), así como el grado de afectación ganglionar y el aumento de la probabilidad de metástasis (valor "N"), se tienen en cuenta. Además se observa cuando se diagnostican individuos la ausencia ("M0") o presencia ("M1") de metástasis.

1. Categoría T

35 La categoría T se compone de subcategorías, T1-T4, en donde un número creciente desde 1 a 4 representa el aumento del tamaño e invasión local por el tumor primario. T1 y T2 se diferencian principalmente en el tamaño, por ejemplo, T1 es menor que 3 cm mientras T2 es mayor que 3 cm. Los tumores T3 implican típicamente la pared del pecho, e incluyen, pero no se limitan a, el surco pulmonar superior, el diafragma, la pleura mediastínica, el pericardio, o el tronco principal del bronquio proximal, pero pueden ser reseables. Los tumores T4 no son reseables quirúrgicamente porque pueden haber invadido el mediastino y pueden involucrar el corazón, los grandes vasos, la tráquea, carina, o el esófago, o en el caso de un derrame pleural maligno, la pleura.

40 2. Categoría N

Las Etapas ganglionares se dividen en N1, N2, y N3. Los ganglios N1 típicamente involucran ganglios peribronquiales o hiliares ipsilaterales. Estos ganglios están en posición intrapleural. Los ganglios N2 típicamente involucran ganglios mediastinales ipsilaterales o subcarinales. Los ganglios N3 típicamente involucran ganglios hiliares contralaterales, o mediastinales, cualquier ganglio escaleno, o supraclaviculares.

45 3. Etapas de CPCNP

Las "etapas" del CPCNP, por lo tanto, representan diferentes clasificaciones del CPCNP que se basan en las diversas permutaciones de los valores T, N, y M. Las etapas reconocidas de CPCNP son las siguientes:

50 Carcinoma Oculto: En esta categoría, los pacientes se clasifican como TX N0 M0, lo que significa que se les han detectado células malignas en sus secreciones broncopulmonares, pero no hay tumor evidente por métodos broncoscópicos o radiográficos.

Etapa IA y Etapa IB: La etapa IA se clasifica como T1 N0 M0 basado en un resultado de supervivencia a los 5 años significativamente mejor que los pacientes con enfermedad en etapa IB (T2 N0 M0). La cirugía es el tratamiento

preferido para estos pacientes. En 1997, el índice de supervivencia de 5 años para pacientes estadificados quirúrgicamente como etapa IA fue 67% y para etapa IB fue 57%.

5 Etapa IIA y Etapa IIB: La enfermedad en etapa IIA se define como T1 N1 M0 y tiene un índice de supervivencia de 5 años de 55% basado en la estadificación quirúrgica. La enfermedad en etapa IIB se compone de T2 N1 M0 y T3 N0 M0. La designación de T3 N0 M0 representa la extensión extrapulmonar del tumor sin involucrar ganglio linfático. La clasificación T3 N0 M0 se agrupa con T2 N1 M0 porque sus respectivos índices de supervivencia de 5 años para la enfermedad estadificada quirúrgicamente, 38% frente a 39%, no son significativamente diferentes. La cirugía es además el tratamiento primario para estos individuos.

10 Etapa IIIA: Los paciente en etapa IIIA se consideran resecables, mientras los de etapa IIIB no lo son. Los pacientes en etapa IIIA se definen por lesiones con extensión extrapulmonar (T3) y limitada afectación de ganglios linfáticos (N1 o N2). La afectación ganglionar se puede extender a los ganglios mediastinales ipsilaterales, y/o subcarinales. Estos pacientes se clasifican ya sea como T3 N1 M0, o T1-3 N2 M0. Hasta 1997, el índice de supervivencia de 5 años para la enfermedad en estadio IIIA fue del 23%.

15 Etapa IIIB: La clasificación de etapa IIIB se refiere a pacientes que tienen afectación extrapulmonar que incluye pero no se limita a ganglios linfáticos mediastinales o hiliares contralaterales; ganglios ipsilaterales o supraclaviculares contralaterales o escalenos; ganglios mediastinales extensos sin metástasis a distancia; o derrame pleural con citología maligna positivo. Estos pacientes se pueden clasificar ya sea como T1-3 N3 M0 o T4 N0-3 M0. Hasta 1997, el índice de supervivencia de 5 años para la enfermedad estadificada clínicamente fue 5% con terapia multimodal.

20 Etapa IV: La etapa IV se define por cualquier afectación metastásica. Estos pacientes se clasifican como M1 con cualquier T y cualquier N. Hasta 1997, más de un cuarto de los pacientes con CPCNP tenían etapa clínica IV.

XI. Individuos con cáncer de próstata

25 Similar al bajo índice supervivencia de las personas con cáncer de pulmón con etapa avanzada que llevan a cabo una terapia multimodal, los hombres con cáncer de próstata con fracaso bioquímico después de una prostatectomía tienen pocas opciones terapéuticas. Una opción terapéutica que ellos sí tienen es la terapia de reducción de andrógeno (ADT). Desafortunadamente, esta terapia tiene una morbilidad significativa, especialmente si se usa durante largos períodos de tiempo.

30 En individuos con cáncer de próstata, se conoce por ejemplo, que los niveles del antígeno específico de próstata ("PSA") en la sangre tienden a elevarse cuando la glándula prostática se agranda. En consecuencia, el PSA es un buen marcador biológico o tumoral para el cáncer de próstata. En individuos con la enfermedad más avanzada, la disminución de PSA inducido por el tratamiento se correlaciona con una mejor supervivencia (Schery otros, J. Natl. Cancer Inst., 91 (3):244-51 (1999)).

XII. Tratamiento de individuos con CPCNP o cáncer de próstata

35 La presente descripción abarca el tratamiento con las formulaciones basadas en MUC-1 de la descripción de individuos con CPCNP en todas las etapas del CPCNP así como el tratamiento de individuos con cáncer de próstata, que incluyen individuos con cáncer de próstata que tienen fallo del PSA, después de la prostatectomía radical. El uso de la frase "tratar" significa que la formulación o vacuna es útil para prevenir, curar, revertir, atenuar, aliviar, minimizar, suprimir, o detener los efectos perjudiciales de un estado de la enfermedad, progresión de la enfermedad, agente causante de la enfermedad, u otra condición anormal.

40 En algunos aspectos, individuos con ya sea CPCNP o cáncer de próstata pueden haberse tratado previamente con radiación o cirugía, antes del tratamiento con las composiciones inventivas. Los individuos pueden además someterse a un tratamiento con quimioterapia, radiación o cirugía antes, durante, o después de tratarse con las formulaciones basadas en MUC-1 de la descripción.

En el caso de estos individuos, cualquier tratamiento aceptado para el cáncer se puede dar antes, durante, o después del tratamiento con las formulaciones basadas en MUC-1.

45 Cuando se escogen los individuos que se van a tratar con las formulaciones y vacunas de la presente descripción, se pueden usar criterios de inclusión y exclusión. Por ejemplo, en un aspecto, cuando individuos con CPCNP se van a tratar con la formulación basada en MUC-1, los individuos que se van a tratar pueden ser hombres o mujeres con edades superiores a 18 años cuya enfermedad es estable o quienes han respondido al tratamiento después de completar su primera línea de quimioterapia estándar. Individuos diferentes de los anteriores pueden tratarse con las formulaciones basadas en MUC-1. De hecho, algunos individuos tratados con las composiciones de la invención no se habrán tratado con quimioterapia antes del tratamiento con la formulación basada en MUC-1.

XIII. Posibles criterios de inclusión y exclusión para individuos con CPCNP

En otro aspecto, un individuo con CPCNP elegido para el tratamiento tiene estado funcional de acuerdo con Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) de ≤ 2 , con un conteo de neutrófilos $\geq 1,5 \times 10^9/L$; conteo de plaquetas ≥ 100

$x 10^9/L$; $WBC \geq 2,5 \times 10^9/L$ y hemoglobina 90 g/L. Aunque los números ECOG se pueden usar para evaluar individuos para el tratamiento, no se requieren números ECOG particulares antes, durante, o después del tratamiento.

5 Otros criterios de inclusión pueden incluir una supervivencia prevista de cuatro meses, y donde los individuos han comprendido y firmado un consentimiento por escrito. Por supuesto, estos no son criterios de inclusión fijos y se prevé el tratamiento de individuos con esperanzas de vida más bajas. Además, a medida que la formulación basada en MUC-1 se convierta en un tratamiento generalizado, los individuos probablemente tendrán las composiciones de la invención prescritas y no se requerirá el consentimiento escrito firmado.

10 Con respecto a las personas con CPCNP que pueden excluirse del tratamiento, los criterios de exclusión se consideran solamente como guías. En muchos casos, las personas que exhiben uno o más de los criterios de exclusión, lo que incluye todos los criterios de exclusión, aún pueden tratarse con las formulaciones basadas en MUC-1. Ejemplos de criterios de exclusión para los individuos con CPCNP incluyen: (a) la cirugía o la inmunoterapia en las cuatro semanas antes del tratamiento, (b) los fármacos inmunosupresores que incluyen corticoesteroides sistémicos en las tres semanas antes del tratamiento, (c) historia pasada o actual de neoplasia distinta del carcinoma de pulmón, (d) enfermedad autoinmune o enfermedad de inmunodeficiencia reconocida, (e) disfunción hepática o renal clínicamente significativa, (f) enfermedad cardíaca significativa o infección activa, o (g) los individuos que tuvieron una esplenectomía.

XIV. Posibles criterios de inclusión y exclusión para individuos con cáncer de próstata

20 De forma similar a los individuos con CPCNP, los individuos con cáncer de próstata pueden además someterse a criterios de inclusión y exclusión. Una vez más, estos criterios son sólo orientaciones y un individuo con cáncer de próstata que no satisfaga cualquiera de los criterios de inclusión o satisfaga cualquiera de, o todos, los criterios de exclusión todavía puede tratarse con los métodos de la presente descripción. Para individuos con cáncer de próstata, los criterios de inclusión pueden incluir: (a) la prostatectomía radical al menos 6 meses antes del tratamiento, (b) tres valores de PSA sérico aumentados consecutivos post-prostatectomía radical con al menos un incremento del 50% por encima del punto más bajo post-prostatectomía, (c) sin evidencia de enfermedad maligna en las evaluaciones antes del tratamiento como las evidenciadas por TC pélvica y exploración ósea negativas, (d) estado funcional ECOG de 0, 1, (e) pruebas de la función hematológica, hepática y renal normales, (f) entender y firmar un consentimiento informado por escrito; y (g) los individuos que nunca se trataron con terapia hormonal para el cáncer de próstata (es decir, tratamiento neoadyuvante pre-RP) deben tener la testosterona sérica dentro del intervalo normal. Como se planteó anteriormente, estos criterios de inclusión son solamente orientaciones y muchos individuos con diferentes criterios se pueden tratar por medio del uso de los métodos de la descripción. Por ejemplo, individuos con cáncer de próstata que no tienen una prostatectomía radical se pueden tratar. Además, individuos que no tienen PSA sérico elevado o cuyo PSA sérico no se incrementó consecutivamente o no se encuentra por encima del 5% en comparación con el punto más bajo post-prostatectomía además se pueden tratar.

35 Criterios de exclusión que se pueden usar, aunque no se requieren, para individuos con cáncer de próstata incluyen: (a) terapia hormonal en los 6 meses antes del tratamiento, (b) inmunoterapia en las 4 semanas antes del tratamiento, (c) radioterapia en el lecho prostático en el año antes del tratamiento, (d) tratamiento con fármacos inmunosupresivos tales como ciclosporina u hormona adrenocorticotrópica (ACTH) o requerir tratamiento crónico con corticoesteroides, (e) enfermedad autoinmune o inmunodeficiencia conocida, o (f) enfermedad cardíaca clínicamente significativa o una infección activa. Una vez más, estos criterios de exclusión son solamente ejemplos. Por ejemplo, individuos con cáncer de próstata y enfermedad cardíaca clínicamente significativa pueden tratarse con los métodos de la presente descripción en casos individuales.

XV. Efectos del tratamiento

45 El tratamiento con las formulaciones basadas en MUC-1 descritos en la presente descripción pueden tener como resultado varios efectos. Un efecto de tratar un individuo diagnosticado con CPCNP, específicamente un individuo diagnosticado con CPCNP etapa IIIB, con la formulación basada en MUC-1 es un aumento en la duración de la supervivencia. Similarmente, administrar la formulación descrita basada en MUC-1 a un individuo puede impactar la "calidad de vida" o "calidad de vida relacionada con la salud" de ese individuo." Un aumento en la supervivencia, así como un impacto en la calidad de vida, puede además verse en individuos con cáncer de próstata tratados. Además, en ciertos individuos con cáncer de próstata, el tratamiento con la formulación basada en MUC-1 tendrá como resultado el PSA más bajo, el PSA estabilizado, o velocidades de duplicación del PSA disminuidas.

55 Las comparaciones de los efectos del tratamiento con formulaciones basadas en MUC-1 se pueden hacer entre individuos tratados e individuos que no se someten a ningún cuidado o individuos que se someten al mejor cuidado de soporte (BSC). El BSC comprende muchos tipos alternativos de cuidado que no incluyen tratamiento con la formulación basada en MUC-1. Por ejemplo, el BSC, aunque usualmente discrecional en dependencia de las circunstancias, puede incluir apoyo psicosocial, analgésicos, y apoyo nutricional.

En algunos aspectos, la comparación de los efectos del tratamiento se hará entre Individuos que reciben diferentes cantidades de la formulación basada en MUC-1. En otros aspectos adicionales, los individuos se someterán al BSC en conjunto con el tratamiento con la formulación basada en MUC-1.

5 Antes del tratamiento de un individuo con las formulaciones basadas en MUC-1 de la presente descripción, los individuos pueden someterse a una evaluación pre-tratamiento. Un ejemplo no limitante de una evaluación pre-tratamiento incluye una historia completa y examen físico. El examen físico puede incluir cosas tales como una exploración por CT o rayos X. Los individuos además pueden someterse a evaluaciones del tratamiento durante el curso del tratamiento. Una evaluación del tratamiento puede incluir el control de signos vitales del Individuo, la inspección de los lugares de inyección, y el análisis de muestras de sangre.

10 Un individuo tratado puede además evaluarse por la determinación de: (a) el tamaño del tumor, (b) la localización del tumor, (c) etapa ganglionar, (d) velocidad de crecimiento del CPCNP o el cáncer de la próstata, (e) la tasa de supervivencia del individuo, (f) cambios en los síntomas del cáncer de pulmón o el cáncer de la próstata del individuo, (g) cambios en la concentración del PSA del individuo, (h) cambios en la velocidad de duplicación de la concentración del PSA del individuo, o (i) cambios en la calidad de vida del Individuo.

15 XVI. Aumento del tiempo de supervivencia en Individuos con CPCNP por la administración de la formulación basada en MUC-1 o vacuna de liposoma BLP25

20 Una de las ventajas de tratar un Individuo con CPCNP o cáncer de próstata con las formulaciones basadas en MUC-1 de la descripción es que el individuo puede tener un tiempo de supervivencia más largo que un individuo que no recibe el tratamiento con las composiciones de la invención. Los índices de supervivencia se pueden determinar al comparar el número real de supervivientes con el número de individuos que comenzaron el tratamiento con la formulación basada en MUC-1. En otros aspectos, los índices de supervivencia se pueden comparar con los índices de supervivencia publicados para un tipo de cáncer particular. En general, el índice de supervivencia se puede medir en cualquier momento a partir del comienzo del tratamiento.

25 Por ejemplo, el índice de supervivencia se puede medir a menos de 6 meses a partir del comienzo del tratamiento, más de 6 meses pero menos de un año, un año o más pero menos de 2 años, 2 años o más pero menos de 5 años, o 5 o más años. En algunos aspectos, un índice de supervivencia aumentado será evidencia de que las formulaciones basadas en MUC-1 de la invención tienen efecto en un individuo particular.

XVII. Mantener la calidad de vida y los síntomas del cáncer de pulmón por la administración de formulaciones basadas en MUC-1

30 Como se expuso anteriormente, otra ventaja de tratar un individuo con CPCNP o cáncer de próstata con las formulaciones basadas en MUC-1 de la descripción es el mantenimiento o un aumento en la calidad de vida del individuo. Los médicos y las agencias regulatorias reconocen que la "calidad de vida" ("QoL") de un individuo es un punto final importante en los ensayos clínicos en cáncer. Véase, por ejemplo, Plunketty otros, Clin. Lung Cáncer, 5(1):28-32 (2003), y Cella y otros, J. Clin. Epidemiol., 55(3):285-95 (2002).

35 Cuatro de los más importantes indicadores de la calidad de vida son las funciones físicas y ocupacionales, estado psicológico, interacción social, y sensaciones somáticas. En este sentido, en individuos con CPCNP, dos cuestionarios de cáncer de pulmón, la Organización europea para la investigación y el tratamiento del cáncer ("EORTC") y la evaluación funcional de la terapia del cáncer ("FACT-L"), se pueden usar para evaluar la calidad de vida relacionada con la salud de un individuo, específicamente de un individuo, antes, durante, y después de un
40 tratamiento con las formulaciones basadas en MUC-1 descritas en la presente descripción.

Se anticipa que los métodos de la descripción se pueden usar en conjunto con las evaluaciones de acuerdo con varias subescalas que controlan el bienestar físico (PWB), el bienestar social /familiar (SWB), el bienestar emocional (EWB), el bienestar funcional (FWB), y la subescala de síntomas del cáncer de pulmón (LCS). Aunque la subescala de síntomas del cáncer de pulmón está obviamente adaptada a los individuos con cáncer de pulmón, diferentes subescalas se pueden usar con diferentes tipos de cáncer. Así, se puede usar una subescala diferente con individuos con cáncer de próstata. En dependencia de qué calificadores de "bienestar" se combinen, uno puede obtener un "calificador FACT-L" (la suma de todas las subescalas) o un "calificador del resultado del ensayo (TOI)" (la suma de las subescalas PWB, FWB, y LCS). El TOI es un indicador fiable de cambio significativo en la calidad de vida. Véase, Cella y otros, supra.

50 El individuo se puede evaluar por sus calificadores FACT-L y TOI antes, durante, y después del tratamiento con las formulaciones basadas en MUC-1 de la descripción. Por ejemplo, el calificador TOI se puede tomar en la línea base, es decir, pre-tratamiento, y después a varios intervalos después que el tratamiento comenzó, es decir, a las 4 semanas, 8 semanas, 19 semanas, 31 semanas, o 43 semanas, o más tiempo. Estos varios intervalos son ejemplos solamente y los indicadores de calidad de vida se pueden tomar en cualquier momento apropiado. Por ejemplo, el
55 primer calificador TOI se puede tomar después del primer tratamiento, en lugar de en la línea base. Después, se puede calcular el cambio en los calificadores en diferentes momentos para determinar las tendencias relacionadas con mejoría, empeoramiento, o mantenimiento de la calidad de vida.

5 Se ha calculado que una disminución de 3 puntos o más a partir de la línea base para LCS es un empeoramiento clínicamente significativo en los síntomas del cáncer de pulmón y un aumento de 3 puntos o más es una mejoría clínicamente significativa en los síntomas del cáncer de pulmón. De igual forma para los calificadores TOI, una disminución de 7 o más puntos indica un empeoramiento en la calidad de vida, mientras que un aumento de 7 o más puntos indica una mejoría en la calidad de vida.

En algunos aspectos, una mejoría clínica en los síntomas del cáncer de pulmón o calidad de vida demostrará que las formulaciones basadas en MUC-1 tienen efecto en un individuo particular.

10 Así, la administración de las formulaciones basadas en MUC-1 de la descripción puede ser útil para mejorar o mantener la calidad de vida de individuos que tienen CPCNP o cáncer de próstata. Al medir el efecto en la calidad de vida, se puede determinar un tamaño del efecto a partir de la línea base o a partir de cualquier punto del tratamiento. En algunos aspectos, un tamaño de efecto entre 0,2 a < 0,49 indica un efecto pequeño, 0,5 a 0,79 indica un efecto moderado, y 0,8 o mayor indica un efecto grande. Los números son ejemplos solamente y el tamaño del efecto puede cambiar con el tratamiento de ciertos individuos.

15 La administración de formulaciones basadas en MUC-1 puede además ser útil en la prevención del empeoramiento en la calidad de vida que se ve en el tiempo en muchos pacientes de cáncer. Por ejemplo, en algunos aspectos, la administración de una formulación basada en MUC-1 tal como la vacuna liposomal BLP25 puede tener como resultado índices de calidad de vida que esencialmente permanecen invariables o no alcanzan el nivel de empeoramiento o mejoramiento de la calidad de vida.

20 En un aspecto, la presente descripción abarca mejorar o mantener la calidad de vida o mejorar o estabilizar los síntomas del cáncer de pulmón en un individuo diagnosticado con CPCNP por la determinación de los calificadores TOI o LCS del individuo antes, durante, y después del tratamiento con la formulación basada en MUC-1 BLP25 descrita en la presente descripción.

XVIII. Disminución del tiempo de duplicación del PSA

25 En algunos aspectos, el tratamiento de individuos con cáncer de próstata con las formulaciones basadas en MUC-1 de la invención tendrán como resultado una disminución en las concentraciones de PSA, una estabilización de las concentraciones de PSA, o una disminución en el tiempo de duplicación del PSA. Generalmente, el efecto de las formulaciones basadas en MUC-1 sobre las concentraciones de PSA o el tiempo de duplicación del PSA se pueden medir en cualquier momento. Por ejemplo, aunque las concentraciones de PSA a continuación del tratamiento se pueden comparar a un valor de línea base, la concentración de PSA puede además compararse entre puntos del
30 tratamiento o entre un punto específico del tratamiento y el final del tratamiento. En ciertos aspectos la respuesta a PSA se confirmará durante el tratamiento.

XIX. Evaluación del tratamiento por medio del uso de la función inmune

35 En algunos aspectos, la respuesta de individuos a las formulaciones basadas en MUC-1 se medirá por medio del uso de pruebas de la función inmune, tales como un ensayo de la respuesta de proliferación de células T. En algunos aspectos, los resultados de los ensayos de respuesta de proliferación de células T se usarán para determinar si el tratamiento con la formulación basada en MUC-1 tiene efecto en un individuo. Los resultados de estos ensayos se pueden usar además para determinar la respuesta individual a las formulaciones durante diferentes momentos durante el curso del tratamiento.

40 Los ensayos para medir células T proliferativas no son particularmente limitantes y se pueden lograr por cualquier método conocido en la técnica. La comparación de la respuesta de proliferación de células T se puede llevar a cabo para comparar la respuesta pre-tratamiento frente a la post-tratamiento así como para comparar las respuestas inmunes dentro del tratamiento.

XX. Otros Cánceres

45 La presente descripción además abarca el tratamiento de otros cánceres adicionalmente al CPCNP y cáncer de próstata con las formulaciones basadas en MUC-1 descritas en la presente descripción.

50 Cualquier individuo que tiene cáncer que expresa MUC-1 puede ser objetivo de tratamiento con las formulaciones basadas en MUC-1. Por ejemplo, un individuo con cáncer tipo mucinoso, o un adenocarcinoma que expresa una proteína MUC-1 puede ser objetivo del tratamiento con la vacuna de liposoma BLP25. Ejemplos de adenocarcinomas incluyen, pero no se limitan a cáncer de ovario, cáncer de hígado, por ejemplo, colangiocarcinomas invasivos del hígado, cáncer de colon, cáncer de mama, cáncer pancreático, por ejemplo, carcinomas ductales invasivos de páncreas, y cáncer de riñón, y mieloma múltiple. Otros cánceres incluyen cáncer cervical, cáncer uterino, y leucemia. Otro cáncer que expresa MUC-1 es el cáncer de cabeza y cuello.

Los siguientes ejemplos pretenden ilustrar, pero no limitar, la invención, la cual se define en las reivindicaciones.

Ejemplo 1

Estudio Fase II de la vacuna liposomal MUC1 para el tratamiento del CPCNP

Este ejemplo demuestra los efectos de una vacuna L-BLP25 sobre el tratamiento de sujetos con CPCNP ya sea en etapa IIIB locoregional o etapa IV.

5 Los pacientes tratados con la vacuna L-BLP25 demostraron un aumento en los índices de supervivencia. Además, una clara ventaja de la adición de la vacuna de liposoma BLP25 al mejor cuidado de soporte solo se demostró por el mantenimiento en el bienestar físico estable a lo largo del tratamiento y las fases de mantenimiento de la terapia y el mantenimiento de la calidad de vida, medida por el calificador total FACT-L y el índice del resultado del ensayo.

10 Métodos: El ensayo Fase IIb controlado, de etiqueta abierta incluyó 171 pacientes. De los 171 pacientes incluidos, 65 tenían enfermedad IIIB locoregional. De ellos, 35 se aleatorizaron al tratamiento y 30 se aleatorizaron al mejor cuidado estándar. Los grupos estaban bien equilibrados en términos de edad y etnicidad. Más mujeres y pacientes ECOG se aleatorizaron al tratamiento frente al mejor cuidado estándar (BSC) (51,4% y 36,7%, y 40,0% y 26,7%) y más pacientes en el grupo de tratamiento recibieron radioterapia, adicionalmente a la quimioterapia, para el tratamiento del cáncer antes de incluirse en el ensayo (91,4 frente a 76,7%).

15 La vacuna L-BLP25 usada en este experimento particular fue una preparación liofilizada que consistió de (1) 1.000 µg de un lipopéptido de BLP25, por ejemplo, un péptido de MUC-1 que comprende la sec. con núm. de ident.: 2, (2) 500 µg del inmunoadyuvante monosfosforil lípido A, y (3) tres lípidos: (i) 17,3 mg colesterol, (ii) 3,6 mg dimiristoil fosfatidilglicerol, y (iii) 29,1 mg dipalmitoil fosfatidilcolina que forman un producto liposomal.

20 Todos los pacientes del grupo L-BLP25 recibieron al menos cinco vacunaciones, 96,6% de estos pacientes completaron la fase primaria y 69,3% continuaron en la fase de mantenimiento del plan de tratamiento. La terapia de segunda línea en el estudio consistió fundamentalmente en quimioterapia (segunda o tercera línea), radioterapia, y cirugía. Durante el período de tratamiento primario del estudio, cinco pacientes en el grupo L-BLP25 y 10 pacientes en el grupo BSC recibieron terapia de segunda línea. De los pacientes que continuaron en el período de mantenimiento del estudio, 43 pacientes en el grupo L- BLP25 y 45 pacientes en el grupo BSC recibieron terapia de segunda línea.

25 Para aumentar la estimulación antigénica de un número mayor ganglios linfáticos de drenaje, la vacuna se administró en cuatro lugares anatómicos. La dosis de 1.000 µg de L-BLP25 se administró en cuatro inyecciones subcutáneas de 0,5 mL, donde cada inyección contenía un cuarto de la dosis total. Las sub-dosis se administraron en la región del deltoide o el tríceps del brazo superior, y los aspectos anterolaterales izquierdo y derecho del abdomen.

30 Generalmente, como se usa en este ejemplo, el tiempo de supervivencia se definió como el tiempo desde la fecha de aleatorización a la fecha de la muerte. Para los pacientes vivos o perdidos para seguimiento en el momento del análisis, el intervalo entre la fecha de aleatorización y la fecha en que el paciente se supo vivo por última vez se calculó y usó como observación censurada en el análisis. En este ejemplo, la supervivencia se controló en intervalos de tres meses durante 12 meses después de completar el reclutamiento de pacientes.

35 Se administró un cuestionario FACT-L QoL a todos los pacientes en momento específicos. El análisis QoL incluyó la evaluación de los calificadores de cambio Individual FACT-L medios a partir de la línea base hasta la semana cuatro y la semana ocho, la representación gráfica de los calificadores QoL en el tiempo, y el análisis de área bajo la curva para los calificadores totales y las subescalas. El tamaño del efecto de los cambios en la calidad de vida entre los grupos de tratamiento se determinó a partir de la línea base. Un tamaño de efecto entre 0,2 a < 0,49 Indica un efecto pequeño 0,5 a 0,79 indica un efecto moderado, y 0,8 o mayor indica un efecto grande.

40 Resultados: Como se muestra en la Figura 2, la supervivencia de dos años observada para los pacientes en etapa IIIB locoregional es 60% para el grupo vacuna frente a 36,7% para el grupo control, lo que demuestra un aumento significativo en la esperanza de vida de 23,3%. En la población global de pacientes, la supervivencia de dos años es 43,2% para el grupo vacuna frente a 28,9% para el grupo control, lo que demuestra un aumento en la esperanza de vida de 14,3%. Véase la Figura 1. La mediada de supervivencia de los pacientes en etapa IIIB locoregional que se sometieron solamente al mejor cuidado estándar fue similar a la mediana de supervivencia global del grupo entero que se sometió al mejor cuidado estándar a 13,3 meses. En contraste, la mediana de supervivencia global para los pacientes en etapa IIIB locoregional que se sometieron al tratamiento con L-BLP25 no se ha alcanzado con una mediana mínima de 24 meses, lo que demuestra un aumento en la esperanza de vida de al menos 10,7 meses. Esto es sorprendente e inesperado, ya que antes de la introducción de las composiciones MUC-1 de la descripción ninguna opción de tratamiento viable para esta categoría de pacientes podía producir tales resultados.

45 Con respecto a la calidad de vida, se demostró una clara ventaja para el grupo L-BLP25 en comparación con el grupo BSC. Más pacientes en el grupo L-BLP25 mostraron ya fuera una mejoría clínicamente significativa o no cambiaron en comparación a los pacientes en el grupo BSC. En el grupo de BSC solamente, más pacientes demostraron un empeoramiento clínicamente significativo en el índice de resultado del ensayo (TOI).

Método: El análisis de la comparación de los subgrupos con enfermedad etapa IIIB locoregional (LR) y etapa IIIB con derrame pleural maligno (PE)/IV entre los pacientes con tratamiento y BSC solamente se realizó para el calificador total FACT-L, las varias subescalas, y TOI por medio del uso de una prueba-T. Un calificador de cambio Total/TOI negativo indica un empeoramiento en QoL, mientras un calificador de cambio Total/TOI positivo indica una mejoría. El análisis de subgrupos indica un QoL mejor para pacientes en etapa IIIB LR tratados con L-BLP25. Esto es consistente con datos previos que demostraron una mejoría clínicamente significativa en la supervivencia en pacientes en etapa IIIB LR tratados con BLP25 (p=0,0692).

Los resultados de la comparación de la calidad de vida se muestran en la Tabla 1 más abajo:

Tabla 1: Comparación FACT-L de la calidad de vida en el estudio de CPCNP						
QoL	IIIBLR TX	IIIBLR BSC	P	IIIBPE/IV TX	IIIBPE/IV BSC	P
Calificador total FACT- L						
Δ de la línea base semana 19	0,6±12,1	-7,5±12,7	0,027	-0,2±13,2	-8,6±22,2	0,072
Δ de la línea base semana 31	2,9±14,2	-8,0±9,0	0,008	-2,4±10,3	-0,7±17,0	0,737
TOI						
Δ de la línea base semana 19	0,5±8,2	-6,5±10,9	0,014	-1,0±10,6	-6,6±15,0	0,110
Δ de la línea base semana 31	1,2±10,2	-6,5±8,3	0,016	-1,3±8,7	-2,4±10,5	0,761

10 Diseño del estudio

Semana -2: Administración de un cuestionario FACT-L QoL.

Semana -2: Los pacientes se aleatorizaron ya sea a L-BLP25 más mejor cuidado estándar o a mejor cuidado estándar solo (mejor cuidado estándar incluye radioterapia paliativa y/o quimioterapia de segunda línea de acuerdo con la práctica clínica estándar actual y puede además incluir apoyo psicosocial, analgésicos y apoyo nutricional).

15 Semana -2: Evaluación pretratamiento (historia completa, examen físico, y estudios de laboratorio clínico). Se llevaron a cabo evaluaciones de otros lugares potenciales de enfermedad, si estaban garantizados clínicamente, para descartar enfermedad progresiva en otras áreas. A las mujeres con maternidad potencial se les requirió tener una prueba de embarazo negativa (HCG) antes del tratamiento.

20 Día -3: Los pacientes del grupo de tratamiento recibieron una única dosis intravenosa de 300 mg/m² de ciclofosfamida.

25 Semanas 0 a 7: Vacunaciones de L-BLP25 n° 1 a n° 8 (período de tratamiento primario). A los pacientes en el grupo L- BLP25 se les evaluaron los signos vitales y se inspeccionaron los lugares de inyección previos antes de cada tratamiento con L-BLP25. Los signos vitales además se controlaron una-hora después de cada tratamiento con L-BLP25. Se les dio a los pacientes tarjetas diario a continuación de cada vacunación para registrar cualquier evento adverso y los lugares de inyección previos se evaluaron en cada visita subsecuente. La toxicidad se clasificó de acuerdo con los Criterios Expandidos CALGB.

Semana 4: Evaluación del tratamiento y análisis de sangre de seguridad e inmunología para los pacientes en el grupo de tratamiento. Cuestionario FACT-L QoL a todos los pacientes.

30 Semana 8: Evaluación del tratamiento (examen físico, estado ECOG, signos vitales, Inspección del lugar de tratamiento para el grupo L-BLP25, y evaluación de eventos adversos). Las muestras de sangre además se tomaron y analizaron para seguridad estándar (hematología y química) así como para la respuesta Inmune. Cuestionario FACT-L QoL a todos los pacientes.

35 Semana 19+: Vacunaciones de mantenimiento (intervalos de 6 semanas) y evaluaciones del tratamiento (intervalos de 12 semanas). A los pacientes en el grupo L-BLP25 se les realizaron evaluaciones del tratamiento y análisis de sangre de seguridad en cada vacunación de mantenimiento así como un examen del perfil inmunológico una semana después de la primera vacunación de mantenimiento. Cuestionario FACT-L QoL a todos los pacientes.

Población de pacientes

Criterios de inclusión

1. Hombres y mujeres mayores de 18 años de edad con CPCNP cuyas enfermedades estaban estables y quienes respondieron al tratamiento después de completar su quimioterapia estándar de primera línea.
- 5 2. Estado funcional de acuerdo con Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) ≤ 2 , con un conteo de neutrófilos $\geq 1,5 \times 10^9/L$; conteo de plaquetas $\geq 100 \times 10^9/L$; WBC $\geq 2,5 \times 10^9/L$ y hemoglobina 90 g/L.
3. Supervivencia esperada de cuatro meses.
4. Entendieron y firmaron un consentimiento escrito.

Criterios de exclusión

- 10 1. Cirugía o inmunoterapia en las cuatro semanas anteriores a la entrada al estudio.
2. Fármacos inmunosupresores que incluyen corticosteroides sistémicos en las tres semanas antes del entrar al estudio.
3. Historia pasada o actual de una neoplasia diferente del carcinoma de pulmón.
4. Enfermedad autoinmune o enfermedad de inmunodeficiencia reconocida.
- 15 6. Disfunción hepática o renal clínicamente significativa.
7. Enfermedad cardíaca significativa o infección activa, o pacientes que tuvieron una esplenectomía.

Tabla 2: Características de los pacientes del estudio de CPCNP

	L-BLP25 + BSC N=88	BSC N=83	Total N=171
Edad en la aleatorización (años)			
Mediana	59,5	59	59
Género: N (%)			
Hembra	36 (40,9)	40 (48,2)	76 (44,4)
Macho	52 (59,1)	43(51,8)	95 (55,6)
Estado funcional ECOG: N (%)			
0	31 (35,2)	22 (26,5)	53 (31,0)
1	53 (60,2)	57 (68,7)	110(64,3)
2	4 (4,5)	4 (4,8)	8 (4,7)
Etapas de la enfermedad: N (%)			
IIIB LR	35 (39,8)	30(36,1)	65(38)
IIIB MPE o IV	53(60,2)	53 (63,9)	106 (62)
Respuesta a la terapia de primera línea: N (%)			
Enfermedad estable	39 (44,3)	38 (45,8)	77 (45,0)
Respuesta clínica (PR ó CR)	49 (55,7)	45 (54,2)	94 (55,0)

Ejemplo 2

Ensayos de respuesta de proliferación de células T

Este ejemplo demuestra que las formulaciones de MUC-1 de la descripción fueron directamente responsables por el aumento de la mediana de supervivencia mostrada en el Ejemplo 1.

- 5 Se realizaron ensayos de linfoproliferación por medio del uso de los pacientes incluidos en el estudio del Ejemplo 1 para controlar la respuesta TH específica por el antígeno MUC1 (proliferación de células T auxiliaadoras) antes y después de las vacunaciones para medir la dinámica de la respuesta inmune celular anti-MUC1 de los pacientes. Los ensayos de proliferación de células T se realizaron en pacientes en el grupo L-BLP25 pre-inmunización y en varios momentos después de la inmunización.
- 10 De los pacientes en el grupo L-BLP25, 78 se evaluaron en cuanto a una respuesta proliferativa de células T. Se determinó que dieciséis pacientes tenían una respuesta proliferativa de células T específica por MUC-1 que se indujo por la vacuna L- BLP25 (la respuesta no existía pre-inmunización). De los dieciséis pacientes que desarrollaron una respuesta inmune, dos tenían la enfermedad en etapa IIIB locoregional, con los restantes pacientes que tenían la enfermedad en etapa IV. La mediana de supervivencia de los pacientes en el grupo L-BLP25
- 15 con una respuesta proliferativa positiva fue de 27,6 meses mientras que aquellos pacientes con respuesta proliferativa negativa tuvieron una mediana de supervivencia de 16,7 meses. Estos resultados demuestran que la formulación de MUC-1 de la descripción fue directamente responsable por el aumento de la mediana de supervivencia de la esperanza de vida de 1,9 meses.

Ejemplo 3

- 20 Estudio fase II de la vacuna liposomal MUC-1 en fallos de PSA post-prostatectomía radical (RP)

Este ejemplo muestra los efectos inmunoterapéuticos de la vacuna L-BLP25 sobre los niveles de PSA en hombres con incrementos del PSA a continuación de una prostatectomía radical.

- 25 Al final del período de tratamiento primario (semana 8), 8/16 pacientes tenían el PSA estable. Un paciente mantuvo estable el PSA hasta el final del período de estudio (semana 49). Hubo una prolongación notable en el tiempo de duplicación del PSA ("PSADT") para todos menos uno de los pacientes incluidos. El tiempo de duplicación es la extensión de tiempo que demora en duplicarse el nivel de PSA de un individuo y es un factor usado para predecir la supervivencia después de la cirugía en Individuos con cáncer de próstata. Los presentes datos muestran que, en 6/16 pacientes, el tiempo de duplicación excedió el 50%.

- 30 Métodos: Se incluyeron hombres con fallo bioquímico evidenciado por 3 aumentos del PSA post-prostatectomía. Esto incluyó dieciséis pacientes, con una mediana de edad de 60, un calificador ECOG de 0 ó 1, y mediana de calificador Gleason de 7. Los puntos finales primarios fueron eficacia (medida por la respuesta a PSA) y seguridad de una vacuna liposomal de MUC-1 (L-BLP25). Se evaluaron además los cambios en el tiempo de duplicación de PSA (PSADT). Los pacientes recibieron una dosis intravenosa única de 300 mg/m² de ciclofosfamida (CTX) seguida de 8 vacunaciones subcutáneas semanales con L-BLP25 que contenían 1.000 µg del antígeno (tratamiento).
- 35 Las vacunaciones subsecuentes se dieron a intervalos de 6 semanas hasta la semana 49 (mantenimiento). Las concentraciones de PSA se midieron durante el tratamiento y en las fases de mantenimiento y el PSADT se calculó para estos intervalos y se comparó al PSADT antes de la inclusión.

- 40 Todos los 16 pacientes recibieron CTX y 15/16 completaron el período de tratamiento. Diez pacientes completaron el período de mantenimiento. Los eventos adversos más comunes después del tratamiento fueron náuseas (31%) y fatiga (25%); sin embargo, ninguno de estos efectos adversos fue peor que grado 1.

Resultados: Después de la inducción, 8/15 pacientes evaluables tenían ya sea estabilización o disminución en el PSA (según la definición del PSA Working Group). En la última medición del PSA en el estudio, un paciente mantuvo el PSA estable. 6/15 pacientes tuvieron una prolongación del >50% del PSADT en comparación al PSA pre-estudio.

- 45 La evaluación del punto final primario de estabilización o reducción del PSA en esta población individual por el uso de la vacuna L-BLP25 fue como sigue:

- 8/16 individuos tenían estabilidad en el PSA después del período de tratamiento primario;
- 1/16 individuos retuvieron la estabilidad en el PSA hasta el final del período de mantenimiento; y
- el PSADT se prolongó en 14/15 sujetos por el uso de la vacuna; 6/16 individuos tuvieron una prolongación del PSADT del >50%.

50

Diseño del estudio:

Semana -2: Evaluación pre-tratamiento (examen físico, medición de la concentración de PSA, CT pélvico, y exploración ósea).

Día -3: Pretratamiento de ciclofosfamida.

5 Semanas 0 a 7: Vacunaciones con L-BLP25 nº 1 a nº 8 (período de tratamiento primario).

Semana 8: Evaluación del período de tratamiento primario que incluye la respuesta a PSA.

Semana 13: Confirmación de la respuesta a PSA.

Semanas 13, 19, 25, 31, 37, 43 y 49: Vacunaciones de L-BLP25 nº 9 a nº 15 (período de mantenimiento).

Semana 43: Evaluación de la respuesta a PSA.

10 Semana 49: Confirmación de la respuesta a PSA.

Semana 50: Evaluación del tratamiento de mantenimiento.

Población Individual:

Criterios de inclusión

1. Prostatectomía radical al menos 6 meses antes de la entrada al estudio.
- 15 2. Tres aumentos consecutivos en los valores séricos de PSA post-prostatectomía radical con un aumento del 50% por encima del punto más bajo post-prostatectomía.
3. No evidencias de enfermedad maligna en las evaluaciones pre-tratamiento evidenciado por CT pélvicos y examen óseo negativos.
4. Estado funcional ECOG de 0, 1.
- 20 5. Pruebas funcionales hematológicas, hepáticas y renales normales.
6. Entender y firmar un consentimiento informado escrito.
7. Testosterona sérica dentro del intervalo normal para todos los pacientes que alguna vez se han tratado con terapia hormonal para el cáncer de próstata (es decir tratamiento neoadyuvante pre-RP).

Criterios de exclusión

- 25 1. Terapia hormonal en los 6 meses antes de entrar al estudio.
2. Inmunoterapia en las 4 semanas antes de entrar al estudio.
3. Radioterapia en el lecho prostático en el año antes del tratamiento.
4. Tratamiento con fármacos inmunosupresores tales como ciclosporina u hormona adrenocorticotrópica (ACTH) o tratamiento crónico requerido con corticoesteroides.
- 30 5. Enfermedad autoinmune o inmunodeficiencia conocidas.
6. Enfermedad cardíaca clínicamente significativa o infección activa.

Tabla 3: Características de los pacientes para el estudio de cáncer de próstata.

Edad (años):	
n	16
Media ± D.E.	60,4 ± 7,7
Mediana	60,0
25% / 75%	54,5 / 66,0

ES 2 558 131 T3

intervalo	46,0 a 74,0
Estado funcional ECOG:	n (%)
0	13 (81%)
1	3 (19%)
Grado Gleason:	
6	3 (19%)
7	10 (63%)
8	3 (19%)

Diagnóstico inicial a la entrada al estudio (años):

Media ± D.E.	3,8 ± 2,5
Mediana	3,2
Intervalo	1,0 a 9,5

Punto más bajo post-prostatectomía para entrada en el estudio (años):

Media ± D.E.	3,1 ± 2,3
Mediana	2,8
Intervalo	0,6 a 9,1

5

PSA línea base µg/L:

Media	3,8
Mediana	0,4
25% / 75%	0,1 / 0,8

Tratamiento recibido

Número total que recibe tratamiento	n (%)
ciclofosfamida	16 (100,0)
Vacunaciones del período de tratamiento primario	
1	16 (100,0)
2	16 (100,0)
3	16 (100,0)

ES 2 558 131 T3

4	16 (100,0)
5	16 (100,0)
6	16 (100,0)
7	15 (93,8)
8	15 (93,8)
Vacunaciones del período de tratamiento de mantenimiento	
9	14 (87,5)
10	14 (87,5)
11	13 (81,3)
12	12 (75,0)
13	11 (68,8)
14	10 (62,5)
15	10 (62,5)

Tabla 4: Valores de PSA

Cambios en el PSA desde la línea base hasta la semana 8 (período de tratamiento primario) por paciente

Número del sujeto	PSA en línea base (µg/L)	PSA semana 8 (µg/L)	Respuesta en la semana 8
001	20,00	No alcanzó la semana 8	No evaluado
002	35,00	48,00	Progresión
003	0,07	0,07	PSA Estable
004	0,47	0,46	PSA Estable
005	0,17	0,14	PSA Estable
006	0,89	0,94	PSA Estable
007	0,36	0,45	Progresión
008	0,58	0,79	Progresión
009	0,10	0,11	PSA Estable
010	0,08	0,10	Progresión
011	0,59	0,82	Progresión
012	0,11	0,18	Progresión
013	0,13	0,18	Progresión
014	0,71	0,64	PSA Estable

ES 2 558 131 T3

015	1,80	1,90	PSA Estable
016	0,38	0,34	PSA Estable

Eventos Adversos

Número total de pacientes con eventos adversos, n (%) 14 (87,5) Pacientes que reportaron eventos adversos con frecuencia del 10% o mayor

Náuseas	5(31,3)
Fatiga	4 (25,0)
Diarrea NOS (no especificado de cualquier otra forma)	3 (18,8)
Enfermedad tipo gripe	3(18,8)
Nasofaringitis	3(18,8)
Estreñimiento	2(12,5)
Cefalea NOS	2(12,5)
Dolor NOS	2(12,5)

5

Seis de dieciséis pacientes no reportaron ninguna reacción de ningún tipo en el sitio de la inyección. Nueve pacientes reportaron eritema. No ocurrieron ulceraciones. No ocurrieron eventos que fueran severos o impidieran las vacunaciones adicionales.

Tabla 5: Tiempo de duplicación del PSA

ID del Paciente	PSADT Intervalo A (días)	PSADT Intervalo B (días)	Diferencias en PSADT entre el intervalo A y el intervalo B
002	173	476	175%
003	133	291	119%
004	345	393	14%
005	302	342	13%
006	172	185	8%
007	309	347	12%
008	173	332	92%
009	404	637	58%
010	508	595	17%
011	165	257	56%
012	241	97	-60%

013	84	112	33%
014	479	844	76%
015	227	288	27%
016	344	385	12%
Media	271	372	44%
Intervalo A = Pre-estudio (desde la primera de tres elevaciones pre-estudio del PSA consecutivas antes de la entrada al estudio hasta la línea base)			
Intervalo B = Mantenimiento (desde la semana 8 al final del estudio)			

Ejemplo 4

Marcador tu moral CA27.29

5 La Figura 1 enumera la frecuencia de distribución de los valores de CA27.29 de los pacientes por visita, grupo (BLP25 o Control), y nivel normal/anormal. La determinación de los niveles séricos de MUC1 (CA27.29) se realizó en las muestras de línea base de 166 pacientes (no se generaron datos para 4 pacientes en el grupo BLP25 (3 - no se recibió muestra; 1 - etiquetado incorrecto) y 1 paciente en el grupo control (1 - no se recibió el dato para la entrada) y en 8 muestras post inmunización de 153 pacientes. No se vieron diferencias significativas entre los grupos para los niveles de CA27.29.

10 Las Figuras 5-9 exponen las curvas de Kaplan-Meier de duración de la supervivencia por CA27.29 (MUC1). La Figura 5 expone la curva de supervivencia para pacientes con niveles normales de antígeno en la línea base comparada con aquellos pacientes que tenían valores anormales. El nivel superior de normal para los niveles séricos de MUC1 según se determinaron en este ensayo (Truquant ® BR Radioimmunoassay, basado en los sueros de 1004 donantes femeninas sanas) es 37,7 U/ml. Los niveles séricos de MUC 1 que fueron mayores que 37,7 U/ml se consideraron anormales. Hubo 124 pacientes en la línea base con niveles normales de CA27.29 (63 en el grupo BLP25 y 61 en el grupo control) y 42 con niveles anormales (21 en el grupo BLP25 y 21 en el grupo control). La mediana de supervivencia de aquellos pacientes que tienen niveles normales de CA27.29 en la línea base fue de 19,5 meses mientras la mediana de supervivencia de aquellos que tienen valores anormales fue de 10,5 meses (Cox $p < 0,0001$).

20 Las Figuras 6 y 7 ilustran la supervivencia de los pacientes en base a si tienen valores normales o anormales de los niveles de CA27.29 en la línea base. En el grupo BLP25 (Figura 6), la mediana de supervivencia de aquellos pacientes con niveles normales de CA27.29 fue 24,2 meses mientras que la de los pacientes con niveles anormales fue 9,8 meses (Cox $p = 0,0006$). En el grupo control (Figura 7), la mediana de supervivencia de los pacientes con niveles normales de CA27.29 fue 15,1 meses en comparación a 11,3 meses para aquellos con niveles de CA27.29 anormales (Cox $p = 0,0042$).

30 Las Figuras 8 y 9 muestran las diferencias en la supervivencia de los pacientes en el grupo A (BLP25) frente a aquellos en el grupo B (Control) basado en si ellos tienen niveles séricos de CA27.29 pre-inmunización normales o anormales. Como se ilustra en la Figura 8, los pacientes con niveles normales de CA27.29 pre-existentes en el grupo BLP25 tuvieron una mediana de supervivencia de 24,2 meses en comparación a aquellos pacientes en el grupo Control que tuvieron una mediana de supervivencia de 15,1 meses (Cox $p = 0,0605$). En la Figura 9, los pacientes con niveles anormales de CA27.29 pre-existentes en el grupo BLP25 tuvieron una mediana de supervivencia de 9,8 meses y aquellos pacientes en el grupo control tuvieron una mediana de supervivencia de 11,3 meses (Cox $p = 0,5234$).

35 La Figura 10 muestra las curvas de Kaplan-Meier de duración de la supervivencia por proliferación de células T. Los ensayos de proliferación de células T se realizaron en pacientes en el grupo A (BLP25) pre-inmunización y en varios momentos post inmunización. Estos pacientes después se enumeraron como con respuesta positiva o negativa si uno o más de los momentos mostró una respuesta que fue diferente que la respuesta en el momento pre-inmunización. De los pacientes en el grupo BLP25, 78 se evaluaron en cuanto a una respuesta proliferativa de células T. Se determinó que dieciséis pacientes tuvieron una respuesta proliferativa de células T específica a MUC1 positiva que se indujo por la vacuna L-BLP25. La curva de supervivencia de Kaplan Meier (Figura 10) muestra tres poblaciones de pacientes: el grupo control, los proliferadores positivos en el grupo BLP25 y los proliferadores negativos en el grupo BLP25. La mediana de supervivencia de aquellos pacientes en el grupo BLP25 con una respuesta proliferativa positiva fue 27,6 meses mientras aquellos pacientes con una respuesta proliferativa negativa

tuvieron una mediana de supervivencia de 16,7 meses; y los pacientes en el grupo control tuvieron una mediana de supervivencia de 13 meses (Cox $p=0,2148$).

Ejemplo 5

Tipificación HLA

5 La tipificación HLA se realizó en todos los pacientes en el grupo A (BLP25) y en el grupo B (control). Esta tipificación se hizo para considerar la posibilidad de que los alelos HLA clase I y II que un paciente expresa puedan ser de importancia para la eficacia de la vacuna. La tipificación HLA se realizó por análisis de ADN no serología y la nomenclatura usada es aquella para el ADN. Para cada grupo, se determinó el % de frecuencia y la n para un alelo dado. Para el análisis de supervivencia, se eligieron los alelos de HLA que tenían una $n \geq 19$ en cualquier grupo. Además el análisis se realizó para HLA 11 ya que hay un epítoto CTL de MUC1 conocido para este haplotipo.

10 La Figura 11 ilustra el análisis de supervivencia que se realizó para los tipos de HLA escogidos entre los grupos de tratamiento. La Tabla enumera el haplotipo/alelo, el número total de pacientes con aquel haplotipo (cada paciente tiene más de un haplotipo), el número de pacientes con aquel tipo en los grupos BLP25 y Control, la mediana de supervivencia para los pacientes con aquellos haplotipos en los grupos BLP25 y Control y la significación estadística por los análisis de la prueba de Log-Rank Cox H.R. cuando se compara el tratamiento.

15 Las Figuras 12-16 ilustran los resultados del análisis de supervivencia de Kaplan-Meier para unos pocos de los alelos HLA. Estos análisis se corrigieron para la estratificación de la respuesta y estadificación a la entrada en el estudio en el análisis de Cox H.R. La Figura 12 muestra la supervivencia de los pacientes con HLA A02 en cada uno de los grupos del estudio. Hubo 44 pacientes con este tipo en el grupo BLP25 y 36 pacientes en el grupo Control. Los pacientes HLA A02 en el grupo BLP25 tuvieron una mediana de supervivencia de 22 meses comparado con la mediana de supervivencia de 11,9 meses para los pacientes HLA A02 en el grupo control (Cox $p=0,0063$). La Figura 13 demuestra las diferencias en supervivencia entre los dos grupos en los pacientes con el alelo DQB 1-05. La mediana de supervivencia de los pacientes con este alelo en el grupo BLP25 ($n=25$) no se ha alcanzado todavía mientras la mediana de supervivencia de aquellos pacientes DQB 1-05 en el grupo control ($n=27$) es 12,9 meses (Cox $p=0,0213$). La Figura 14 expone la supervivencia de pacientes en ambos grupos que tienen el haplotipo DRB1-04. Hubo 22 pacientes en el grupo BLP25 con este haplotipo y 23 pacientes en el grupo control. La mediana de supervivencia fue 22 meses para aquellos pacientes en el grupo BLP25 y 11,8 meses para aquellos pacientes en el grupo control (Cox $p=0,0043$).

20 La Figura 15 muestra otra curva de supervivencia para los pacientes en ambos grupos que tienen el alelo DQB 1-02. Los pacientes con este alelo en el grupo BLP25 ($n=31$) tuvieron una mediana de supervivencia de solamente 9,8 meses mientras aquellos en el grupo control tuvieron una mediana de supervivencia de 16 meses (Cox $p=0,0424$).

25 La Figura 16 ilustra análisis de supervivencia adicionales en los grupos de tratamiento para los mismos haplotipos enumerados en la Figura 17. La primera mitad de la Tabla enumera el haplotipo, el número de pacientes en el grupo BLP25 que son positivos y negativos para el haplotipo, los valores de Log-Rank y Cox H.R. p , y la mediana de supervivencias de los pacientes en el grupo BLP25 que son positivos y negativos para aquel haplotipo. La segunda mitad de la tabla da la misma información para aquellos pacientes en el grupo control.

30 La última curva de supervivencia de Kaplan-Meier (Figura 18) expone los pacientes en el grupo BLP25 solamente que tienen el alelo CW07 ($n=45$) frente a aquellos pacientes que no tienen el alelo ($n=43$). La mediana de supervivencia de los pacientes con el alelo CW07 en el grupo BLP25 tuvieron una mediana de supervivencia de solamente 12,6 meses mientras aquellos en el grupo sin el alelo tuvieron una mediana de supervivencia de 24,2 meses (Cox $p=0,0171$). No hubo diferencias en la supervivencia de los pacientes en el grupo control con y sin el alelo CW07 (Gráfico no mostrado). Adicionalmente, no hubo una diferencia real en la supervivencia de pacientes en el grupo BLP25 que tenían el alelo CW07 y aquellos en el grupo control que tenían el alelo (datos no mostrados).

35 Como se entenderá, todos los intervalos descritos en la presente descripción además abarcan cualquier y todos los posibles subintervalos y combinaciones de subintervalos. Así, cualquier Intervalo enumerado se puede reconocer fácilmente como suficientemente al describir y permitir que el mismo intervalo se divida en al menos mitades, tercios, cuartos, quintos, décimos, etc. iguales. Como un ejemplo no limitante, cada intervalo discutido en la presente descripción se puede dividir fácilmente en un tercio inferior, tercio medio, tercio superior, etc. Como además se entenderá, todo el lenguaje como "hasta", "al menos", "mayor que", "menos que", "más que" y similares incluye el número citado y se refiere a intervalos que pueden subsecuentemente dividirse en subintervalos como se discutió anteriormente. De la misma manera, todas las relaciones descritas en la presente descripción además incluyen todas las sub-relaciones que caen dentro de la relación más amplia. A menos que se especifique lo contrario, "un" o "uno" significa "uno o más". Se pretende que la presente invención abarque las modificaciones y variaciones de esta invención siempre que se encuentren dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

55

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una formulación vacunal basada en MUC-1 que comprende un liposoma que comprende una repetición del núcleo de MUC-1 que tiene una secuencia de amino ácidos que es al menos 80% idéntica a la sec. con núm. de ident.:2 para usar en el tratamiento del cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) en un sujeto, el tratamiento comprende:
- (a) medir el nivel de marcador tumoral CA27.29 (MUC-1) circulante mediante análisis de inmunoadsorción enzimática, quimioluminiscencia o radioinmunoanálisis de un sujeto que tiene una célula cancerosa que expresa MUC-1;
- (b) seleccionar para tratamiento un sujeto que tiene un nivel de CA27.29 (MUC-1) circulante de 37,7 U/ml o menos; y
- 10 (c) administrar a aquel sujeto, durante un período de tiempo, la formulación basada en MUC-1.
2. La formulación basada en MUC-1 para usar en el tratamiento del cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la formulación comprende además al menos un adyuvante seleccionado del grupo que consiste en lípido A, muramil dipéptido, alúmina, una citocina, y una combinación de estos.
- 15 3. La formulación basada en MUC-1 para usar en el tratamiento del cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el lípido A es monofosforil lípido A o un lípido A sintético.
4. La formulación basada en MUC-1 para usar en el tratamiento del cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) de acuerdo con la reivindicación 1, que además comprende una etapa (d) evaluar al sujeto sometido a tratamiento.
- 20 5. La formulación basada en MUC-1 para usar en el tratamiento del cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) de acuerdo con la reivindicación 4, en donde la evaluación del sujeto tratado se realiza (i) antes del período de tiempo de la etapa (c); (ii) durante el período de tiempo de la etapa (c); (iii) después del período de tiempo de la etapa (c); o (iv) una combinación de estos.
- 25 6. La formulación basada en MUC-1 para usar en el tratamiento del cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) según la reivindicación 4 o 5, en donde evaluar al sujeto tratado comprende medir una reacción inmune en el sujeto tratado.
7. La formulación basada en MUC-1 para usar en el tratamiento del cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) de acuerdo con la reivindicación 6, en donde medir la reacción inmune en los sujetos tratados comprende medir una proliferación de células T.
- 30 8. La formulación basada en MUC-1 para usar en el tratamiento del cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la vacuna liposomal se proporciona en un estuche.
9. La formulación basada en MUC-1 para usar en el tratamiento del cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde la etapa de administración es por suministro por inyección, aerosol, nasal, vaginal, rectal, bucal, ocular, local, tópico, intracisternal, intraperitoneal, u oral, y en donde la inyección es una inyección intramuscular, intravenosa, subcutánea, intranodal, intratumoral, intraperitoneal o intradérmica.
- 35 10. La formulación basada en MUC-1 para el uso en el tratamiento del cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde el período de tiempo se selecciona del grupo que consiste en al menos aproximadamente 2 semanas, al menos aproximadamente 4 semanas, al menos aproximadamente 8 semanas, al menos aproximadamente 16 semanas, al menos aproximadamente 17 semanas, al menos aproximadamente 18 semanas, al menos aproximadamente 19 semanas, al menos aproximadamente 20 semanas, al menos aproximadamente 24 semanas, al menos aproximadamente 28 semanas, al menos aproximadamente 32 semanas, al menos aproximadamente 36 semanas, al menos aproximadamente 40 semanas, al menos aproximadamente 44 semanas, al menos aproximadamente 48 semanas, al menos aproximadamente 52 semanas, al menos aproximadamente 60 semanas, al menos aproximadamente 68 semanas, al menos aproximadamente 72 semanas, al menos aproximadamente 80 semanas, al menos aproximadamente 88 semanas, al menos aproximadamente 96 semanas, y al menos aproximadamente 104 semanas.
- 40 11. La formulación basada en MUC-1 para usar en el tratamiento del cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde el individuo se trata con ciclofosfamida antes de (c).
- 45 12. La formulación basada en MUC-1 para usar en el tratamiento del cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la vacuna liposomal comprende aproximadamente 300 µg de un péptido de MUC-1.
- 50

13. La formulación basada en MUC-1 para usar en el tratamiento del cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la vacuna liposomal comprende aproximadamente 1.000 μg de un péptido de MUC-1.

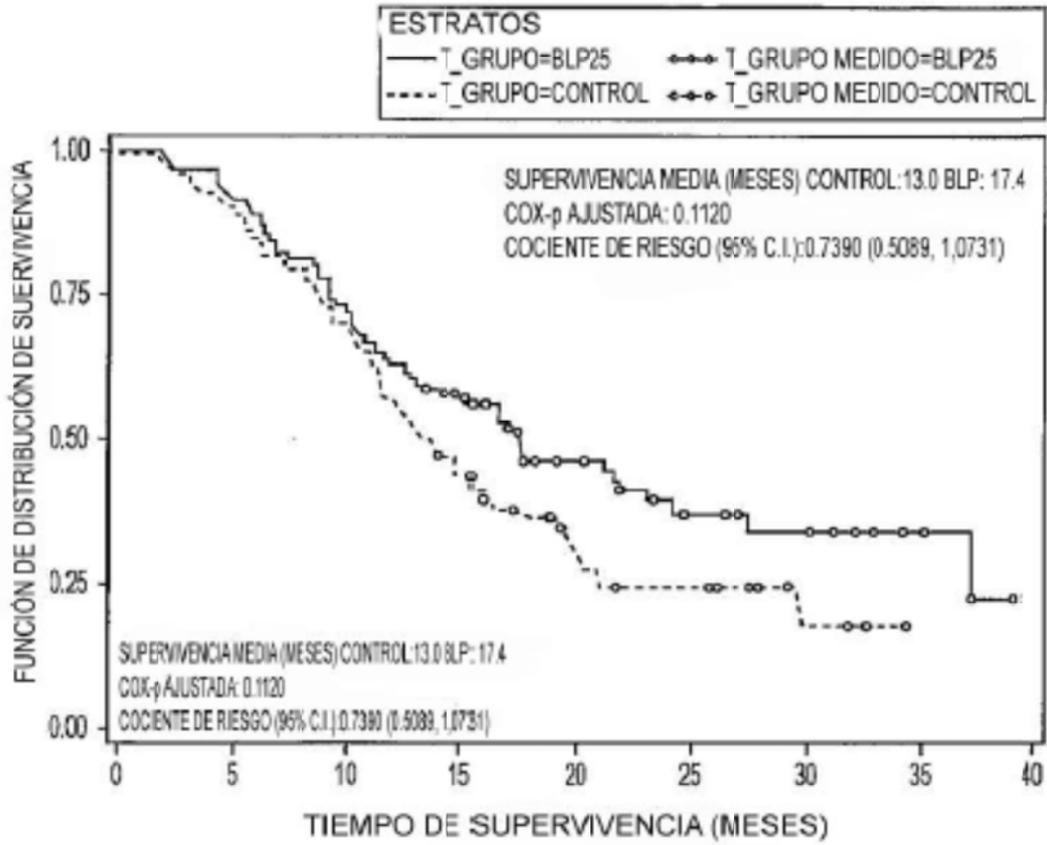


FIG. 1

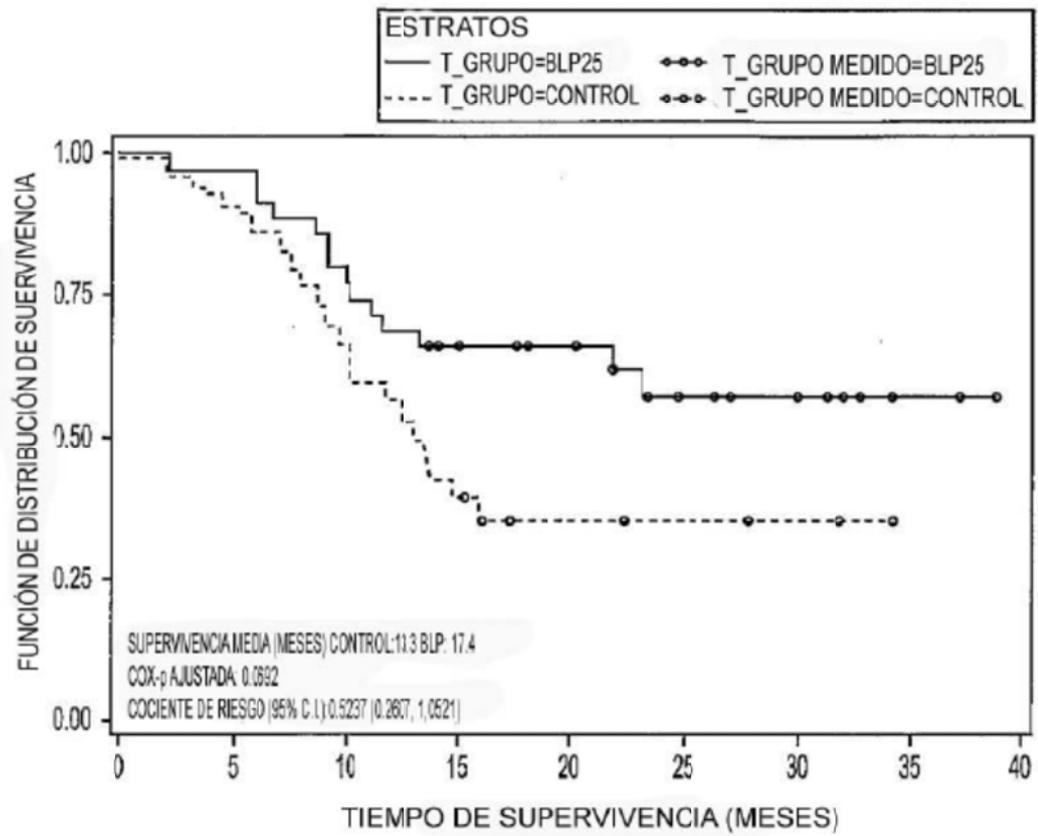


FIG. 2

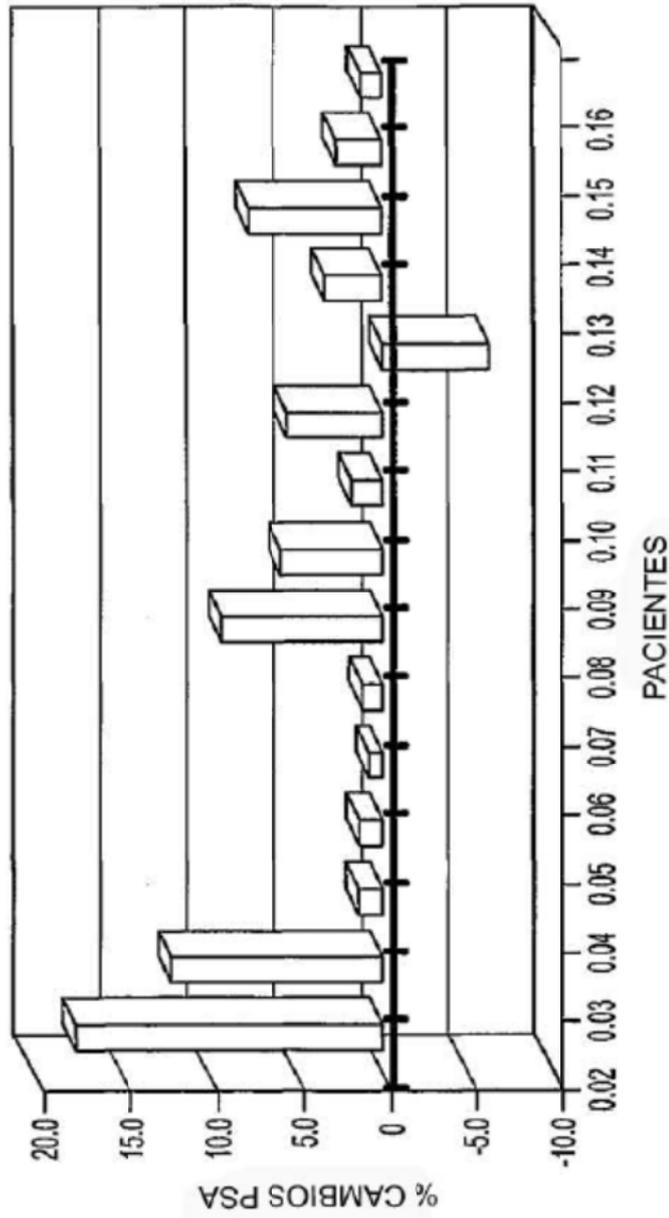


FIG. 3

			N	%
VISITA	GRUPO	CA27.29		
A. PRE	BLP25	NORMAL	63	37.95
		ANORMAL	21	12.65
	CONTROL	NORMAL	61	36.75
		ANORMAL	21	12.65
B. POST8	BLP25	NORMAL	62	40.52
		ANORMAL	20	13.07
	CONTROL	NORMAL	53	34.64
		ANORMAL	18	11.76

FIG. 4

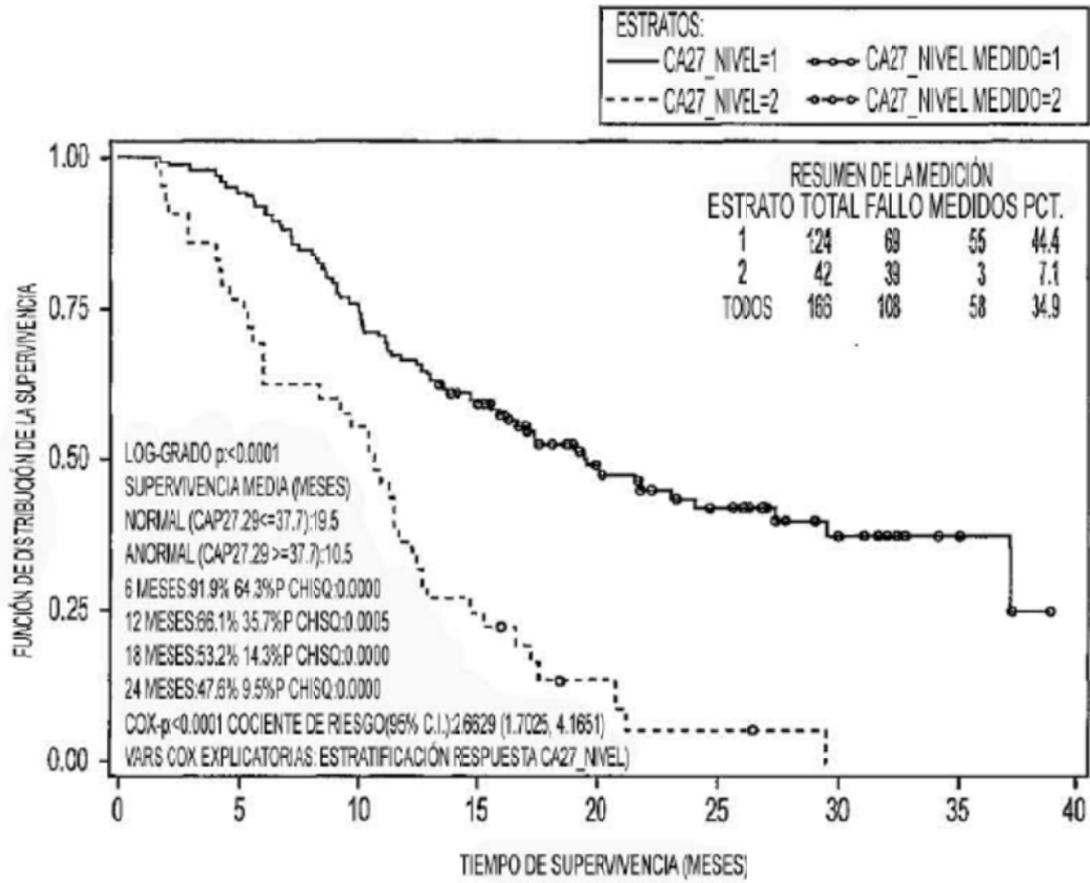


FIG. 5

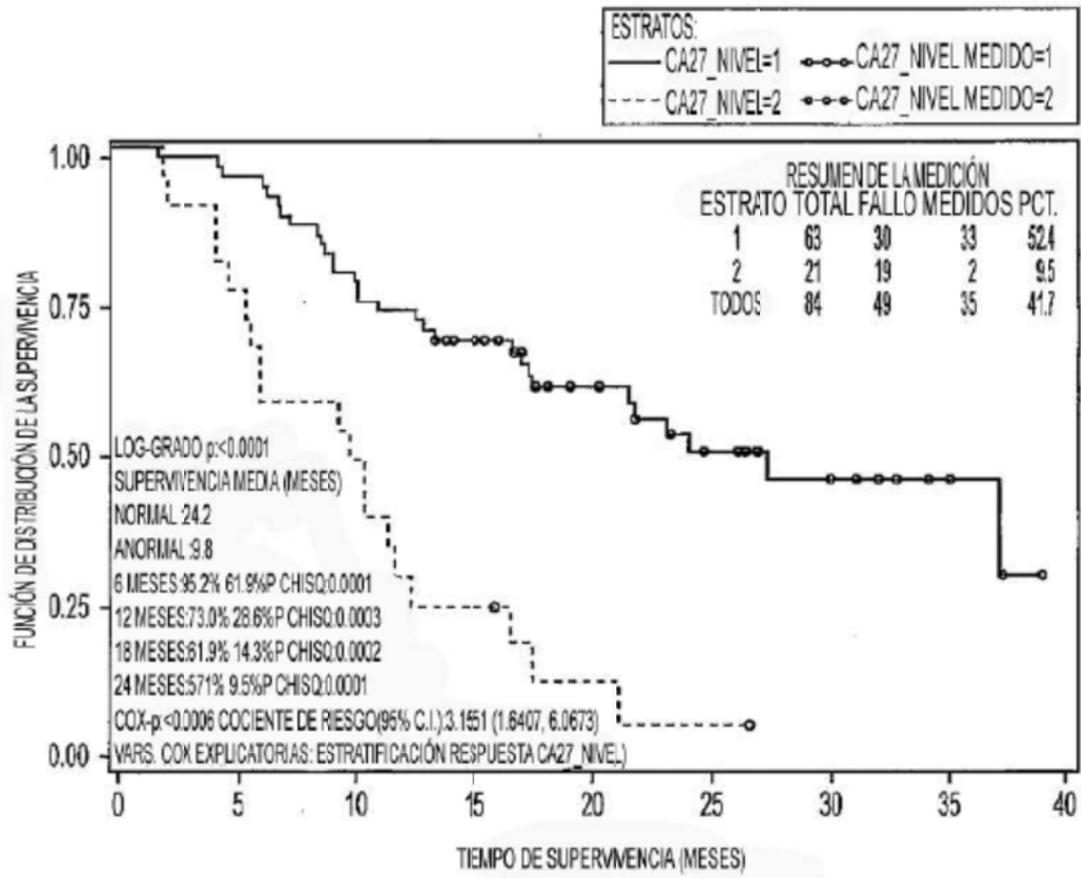


FIG. 6

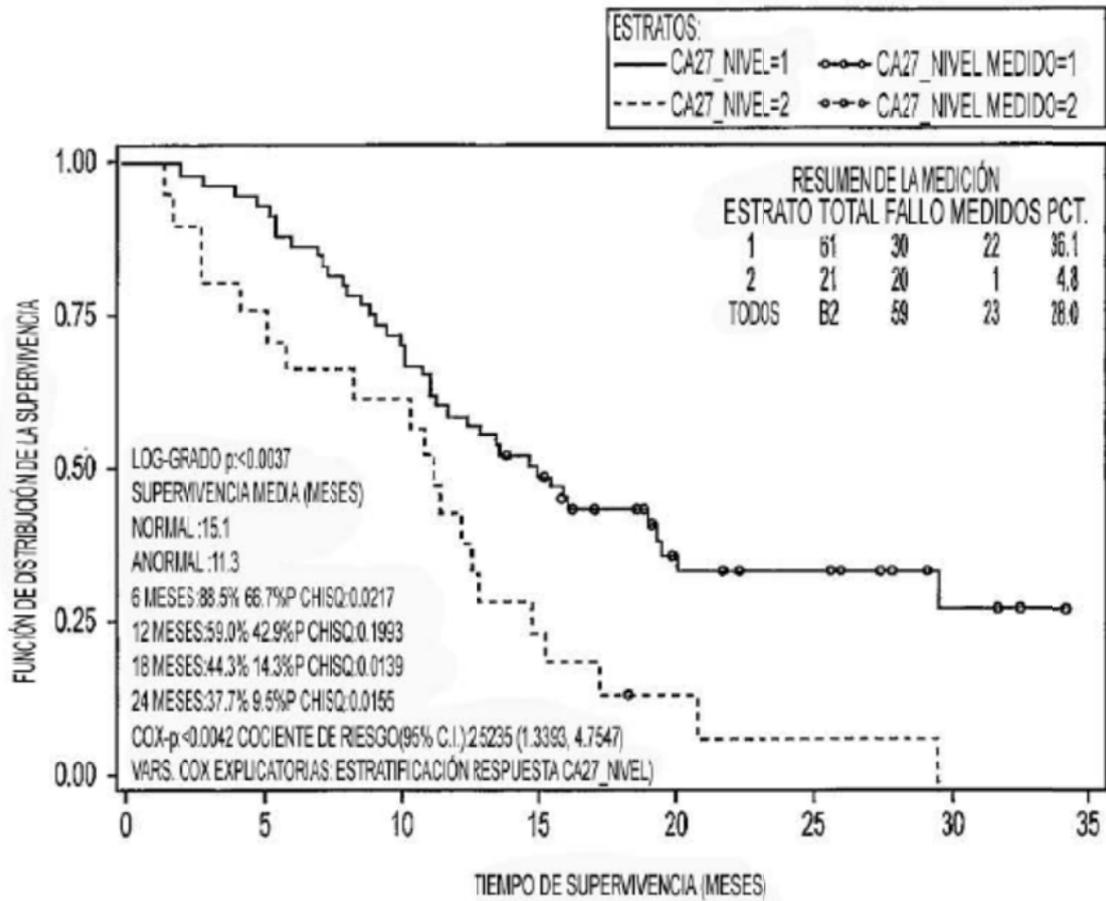


FIG. 7

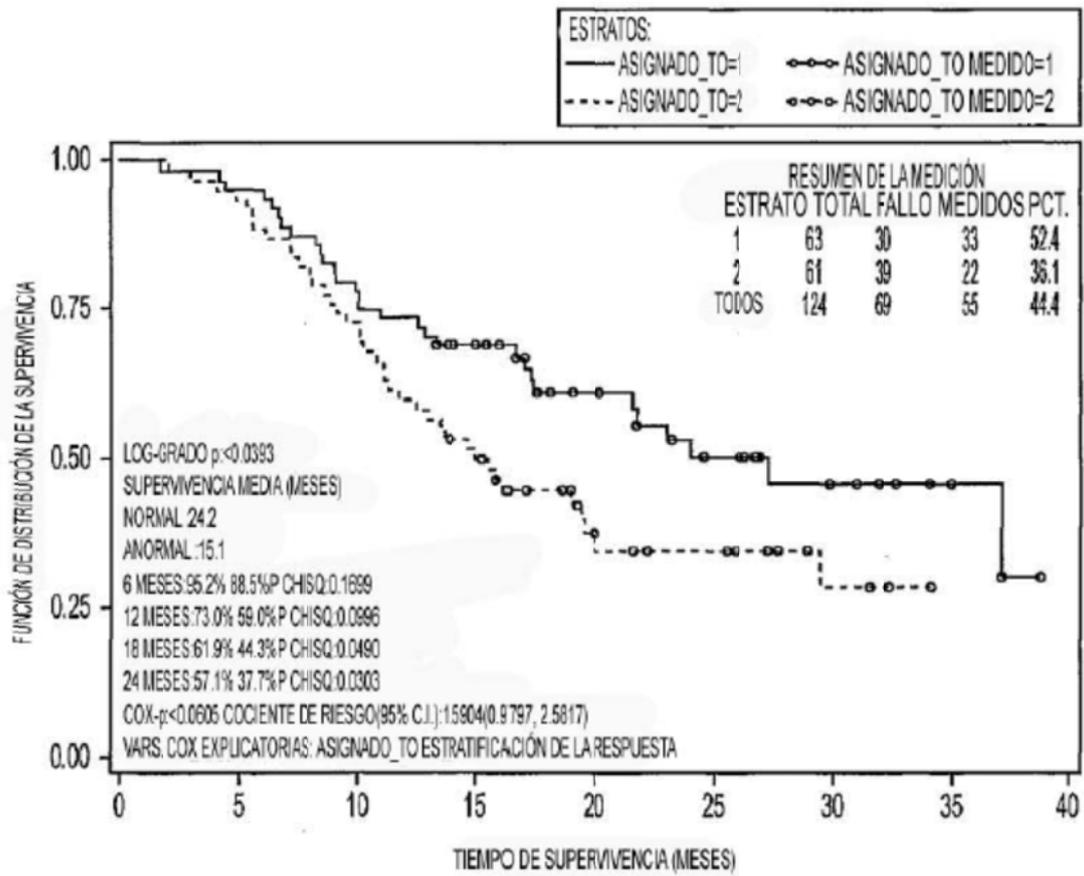


FIG. 8

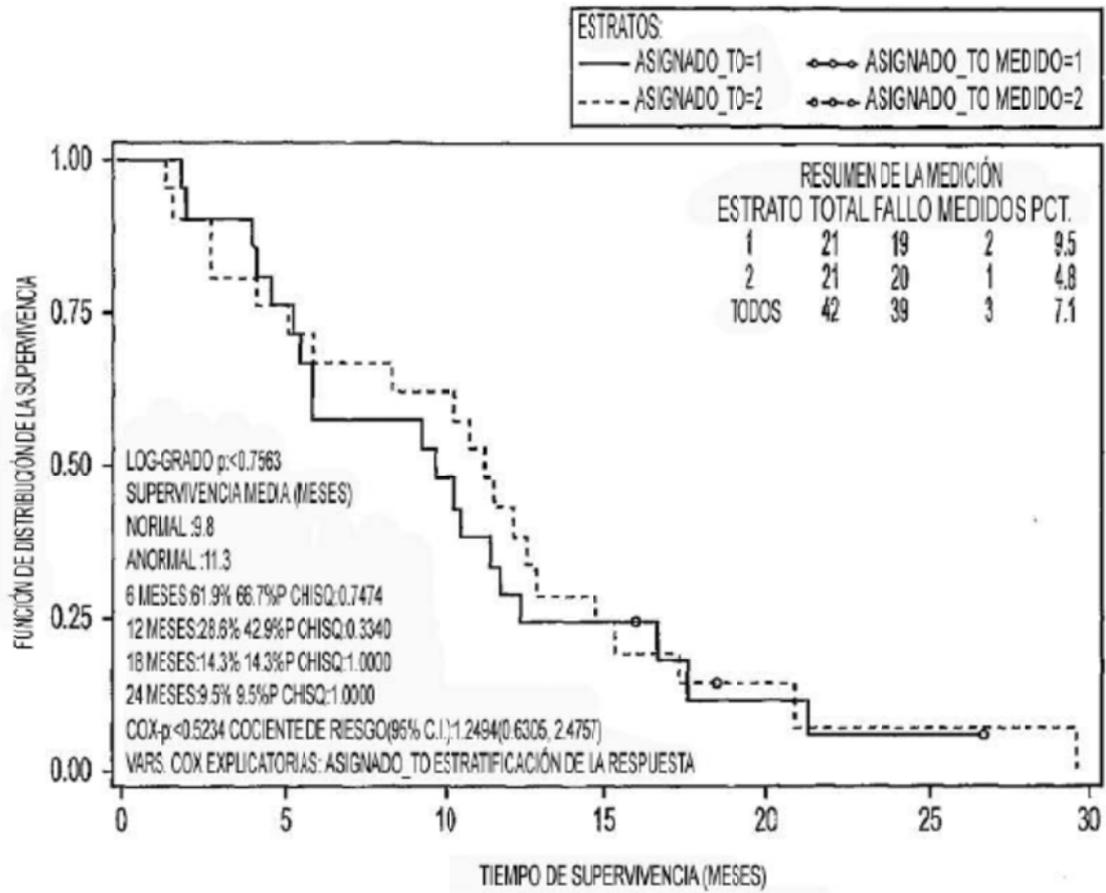


FIG. 9

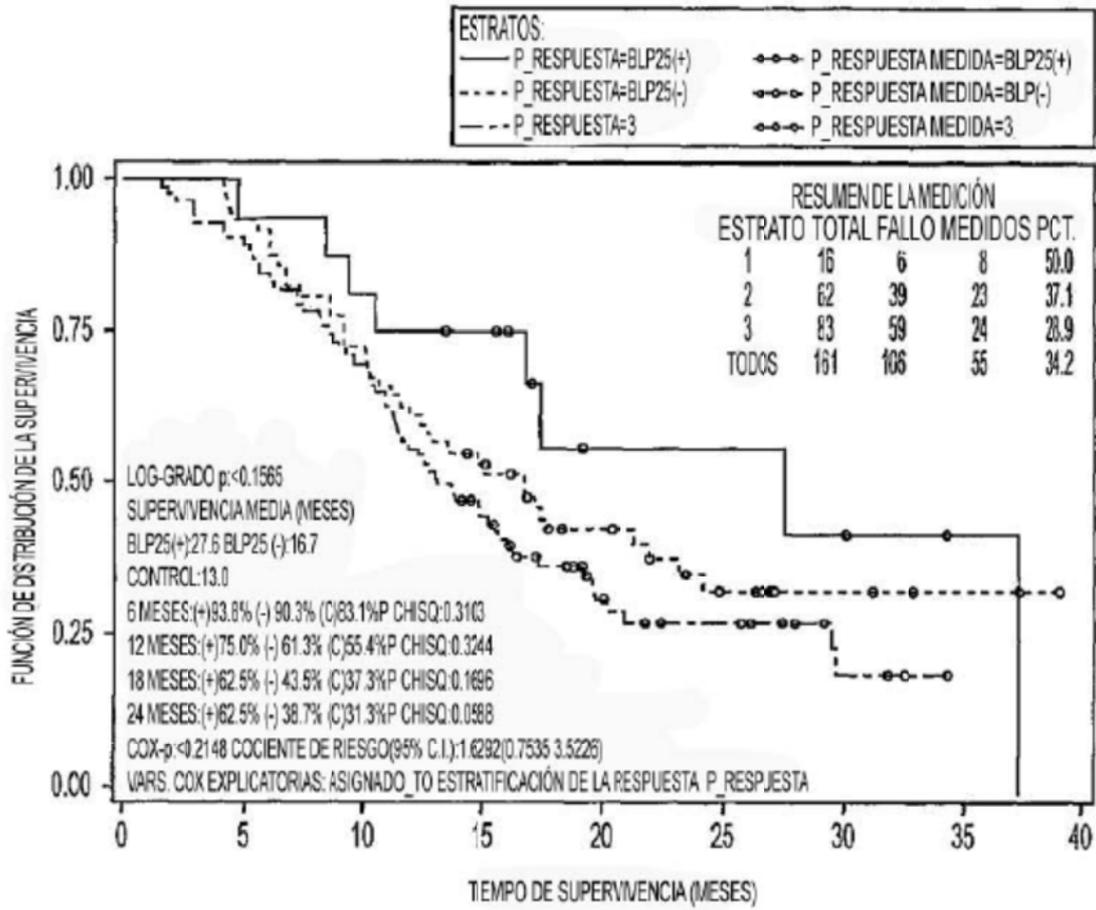


FIG. 10

TIPO DE HLA	N TOTAL	LOG-GRADO P	COX P	N BLP25	SUPERVIVENCIA MEDIA (MESES) BLP25	N CONTROL	SUPERVIVENCIA MEDIA (MESES) CONTROL
A01	45	0.6482	0.5197	19	10.4	26	15.4
A02	80	0.0067	0.0063	44	22.0	36	11.9
A03	37	0.9661	0.8780	22	14.8	15	15.6
A24	34	0.9930	0.9053	19	11.1	15	13.0
A11	27	0.0672	0.0760	11	21.3	16	11.2
B07	35	0.5329	0.6015	22	15.1	13	14.8
B08	37	0.3208	0.1925	19	9.4	18	16.0
B44	38	0.3919	0.2835	19	13.4	19	11.1
CW07	85	0.9831	0.9865	45	12.6	40	13.6
DQB1-06	78	0.3267	0.3650	40	21.3	38	14.8
DQB1-02	64	0.1465	0.0424	31	9.8	33	16.0
DRB1-04	45	0.0076	0.0043	22	22.0	23	11.8
DQB1-05	52	0.0143	0.0213	25		27	12.9
DRB1-15	45	0.2902	0.3331	25	21.3	20	12.8
DQB1-03	42	0.7678	0.7122	23	17.1	19	15.1
DRB1-07	40	0.5436	0.8318	19	27.6	21	14.8
DRB1-13	37	0.7260	0.7446	19	13.4	18	13.7
DRB3	98	0.7485	0.7871	56	15.1	42	14.8
DRB4	87	0.0505	0.1097	45	17.6	42	12.4
DRB5	47	0.1405	0.1771	25	21.7	22	12.8

FIG. 11

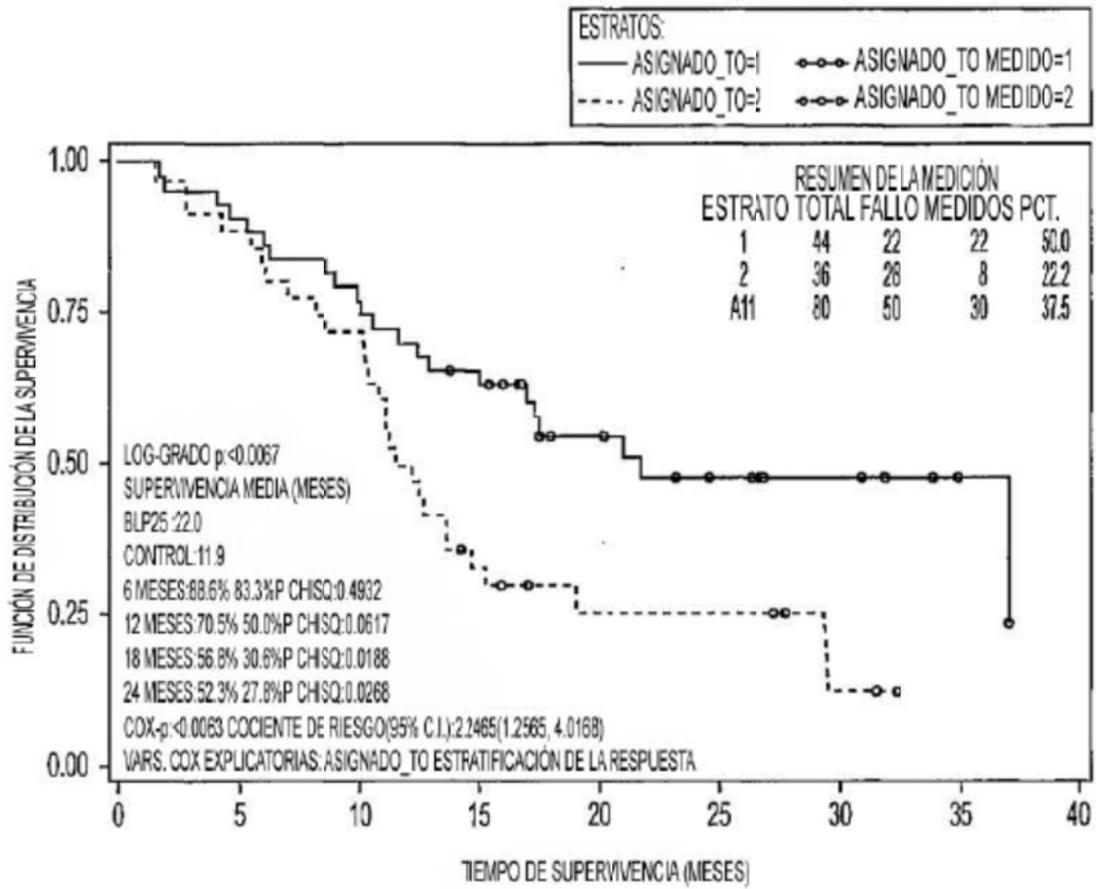


FIG. 12

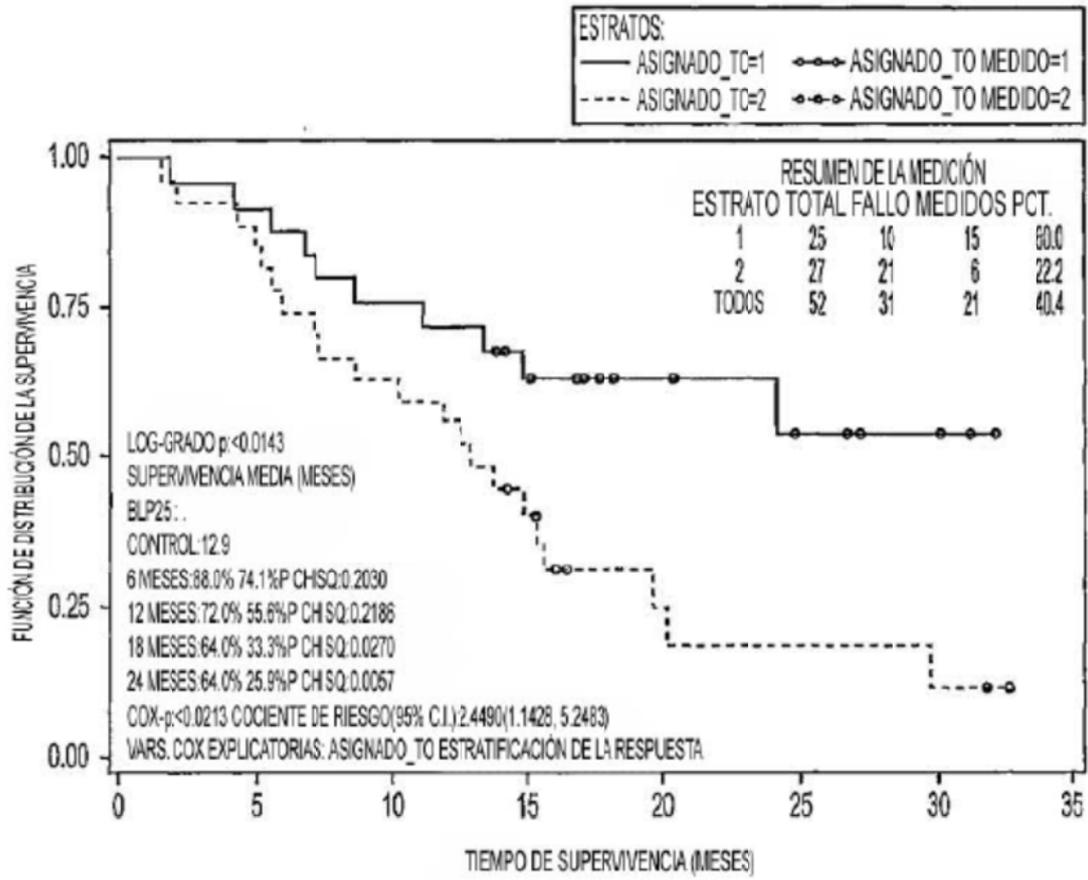


FIG. 13

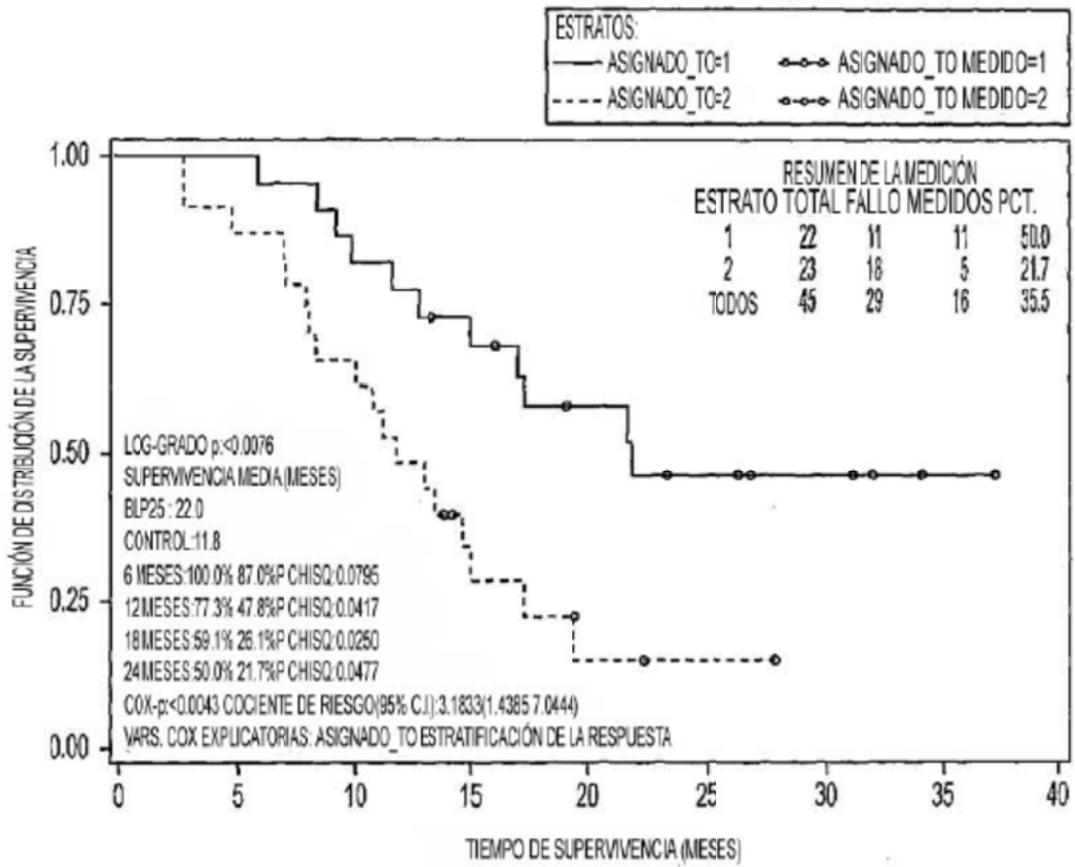


FIG. 14

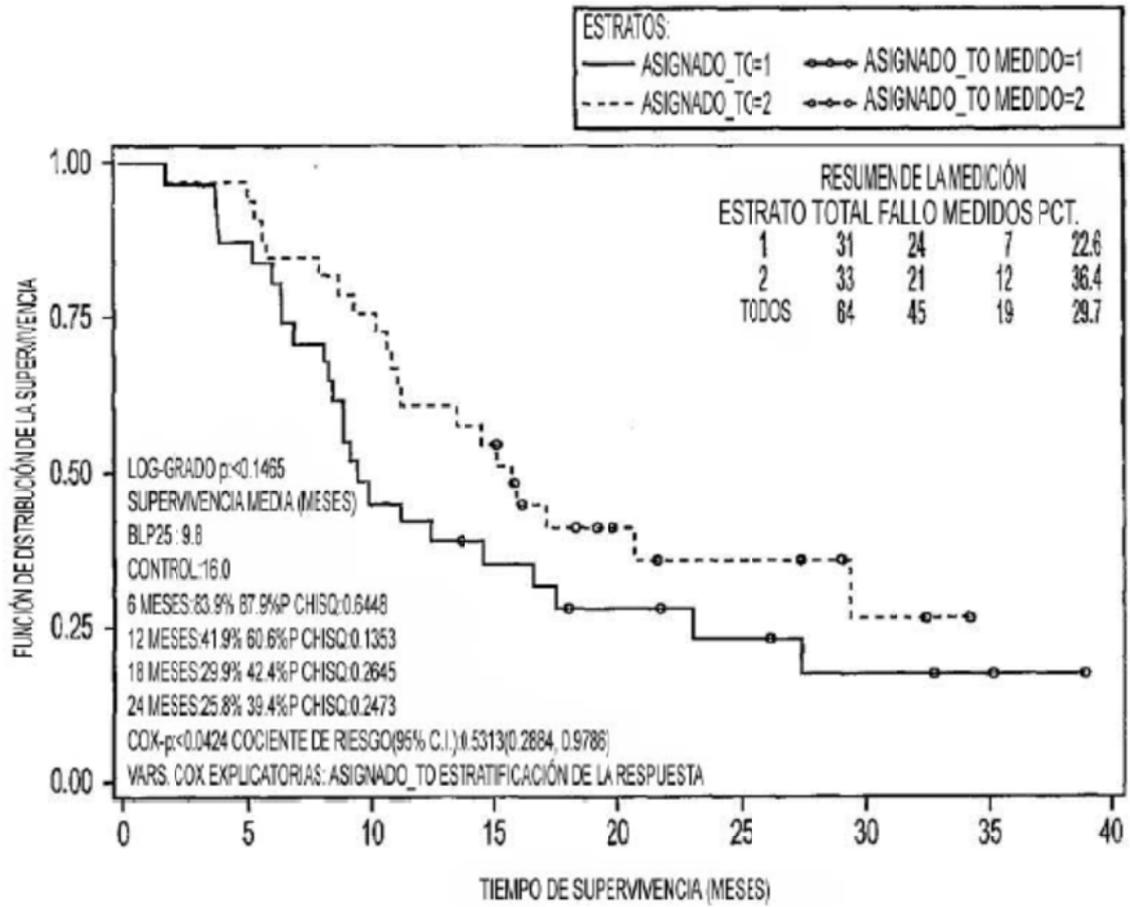


FIG. 15

TIPO DE HLA	N POS		LOG-GRADO BLP	COXP BLP	SUPERVIVENCIA POS, BLP		N POS CONTROL	N NEG CONTROL	LOG-GRADO CONTROL	COXP CONTROL	SUPERVIVENCIA POS, CONTROL	
	BLP				MEIA *	MEIA *					MEIA *	MEIA *
A01	19	69	0.0589	0.6833	10.4	21.7	26	57	0.9522	0.1979	15.4	12.9
A02	44	44	0.0444	0.4514	22.0	14.1	38	47	0.2531	0.1674	11.9	15.6
A03	22	66	0.4581	0.6820	14.8	17.4	15	68	0.6380	0.2100	15.6	12.8
A11	11	77	0.4693	0.7931	21.3	16.7	16	67	0.2544	0.2094	11.2	14.8
A24	19	69	0.1010	0.8378	11.1	17.6	15	68	0.8730	0.2020	13.0	13.1
B07	22	66	0.8357	0.7142	15.1	17.4	13	70	0.7192	0.2076	14.8	13.0
B08	19	69	0.0280	0.7598	9.4	21.3	18	65	0.5811	0.2304	16.0	12.6
B44	19	69	0.5321	0.7242	13.4	17.5	19	64	0.3133	0.1427	11.1	14.4
CW7	45	43	0.0186	0.8470	12.6	24.2	40	43	0.9509	0.1829	13.6	12.6
D0B1402	31	57	0.0368	0.2849	9.8	21.7	33	50	0.1359	0.1752	16.0	12.4
D0B1403	23	69	0.9290	0.6334	17.1	17.5	19	64	0.3966	0.2273	15.1	12.8
D0B1405	25	63	0.0920	0.8384		16.7	27	56	0.3466	0.1833	12.9	13.3
D0B1406	40	48	0.5384	0.7416	21.3	16.7	38	45	0.3589	0.1510	14.8	12.5
D0B1403	12	76	0.0309	0.6349	9.2	21.3	11	72	0.1332	0.1915	16.0	13.0
D0B1404	22	66	0.1212	0.5386	22.0	16.7	23	60	0.1826	0.1588	11.8	14.3
D0B1407	19	69	0.6593	0.7925	27.6	18.8	21	62	0.5461	0.1331	14.8	12.8
D0B1413	19	69	0.7748	0.7546	13.4	17.4	18	65	0.8673	0.1921	13.7	13.0
D0B1415	25	63	0.9846	0.7557	21.3	18.8	20	63	0.1800	0.1939	12.8	13.6
D0B3	56	32	0.6380	0.5614	15.1	17.6	42	41	0.2215	0.2449	14.8	12.5
D0B4	45	44	0.3283	0.6129	17.6	16.7	42	41	0.3763	0.2280	12.4	14.8
D0B5	25	63	0.3434	0.7471	21.7	15.1	22	61	0.1754	0.1950	12.8	13.6

FIG. 16

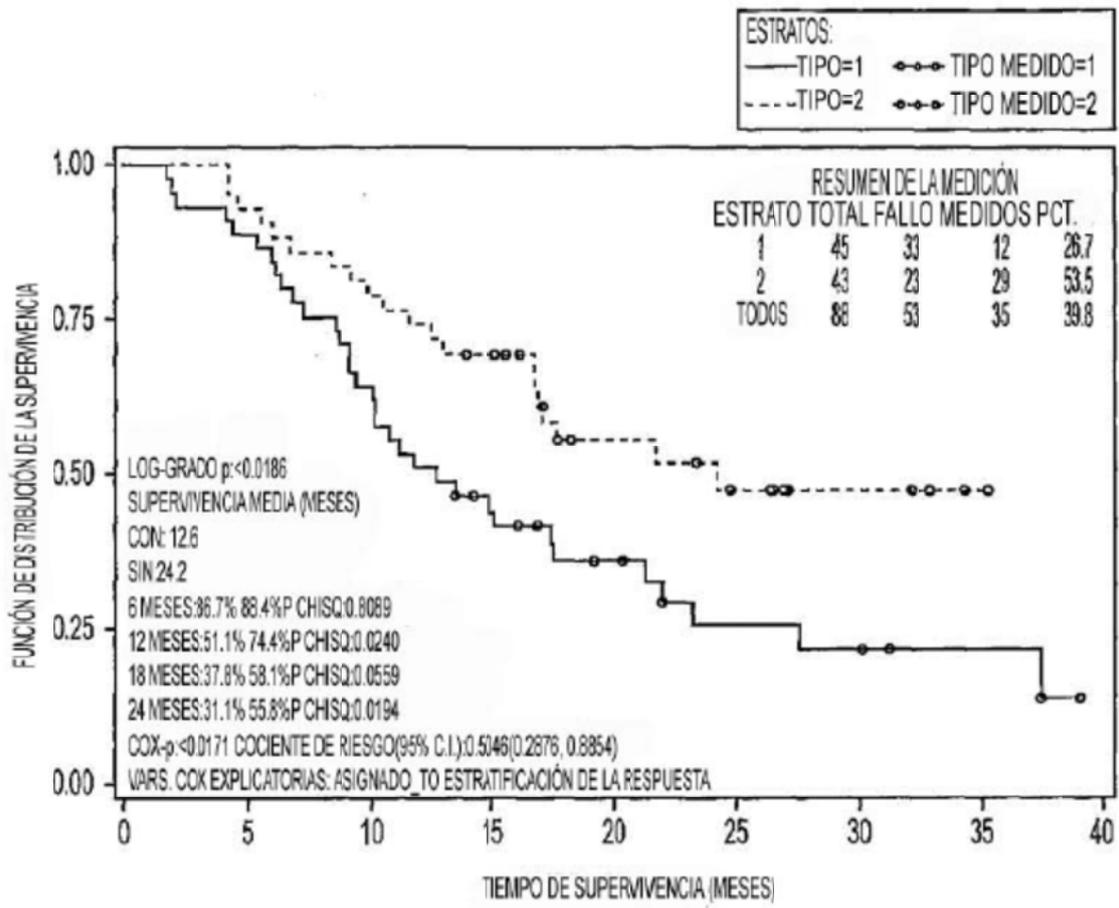


FIG. 17

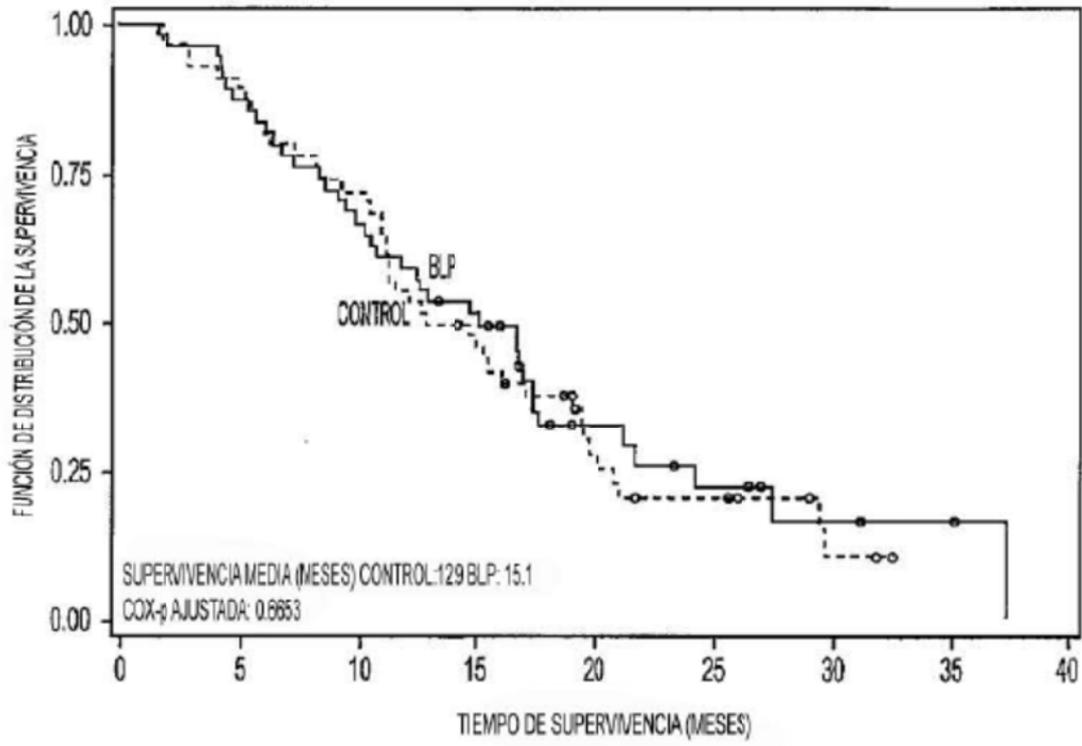


FIG. 18

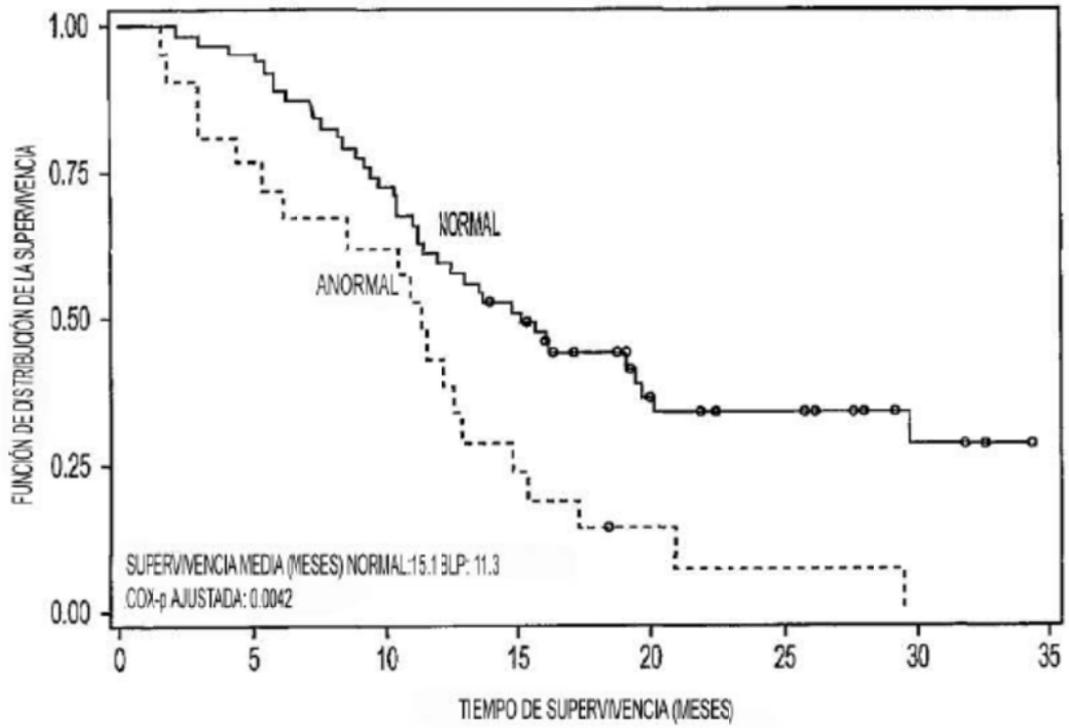


FIG. 19

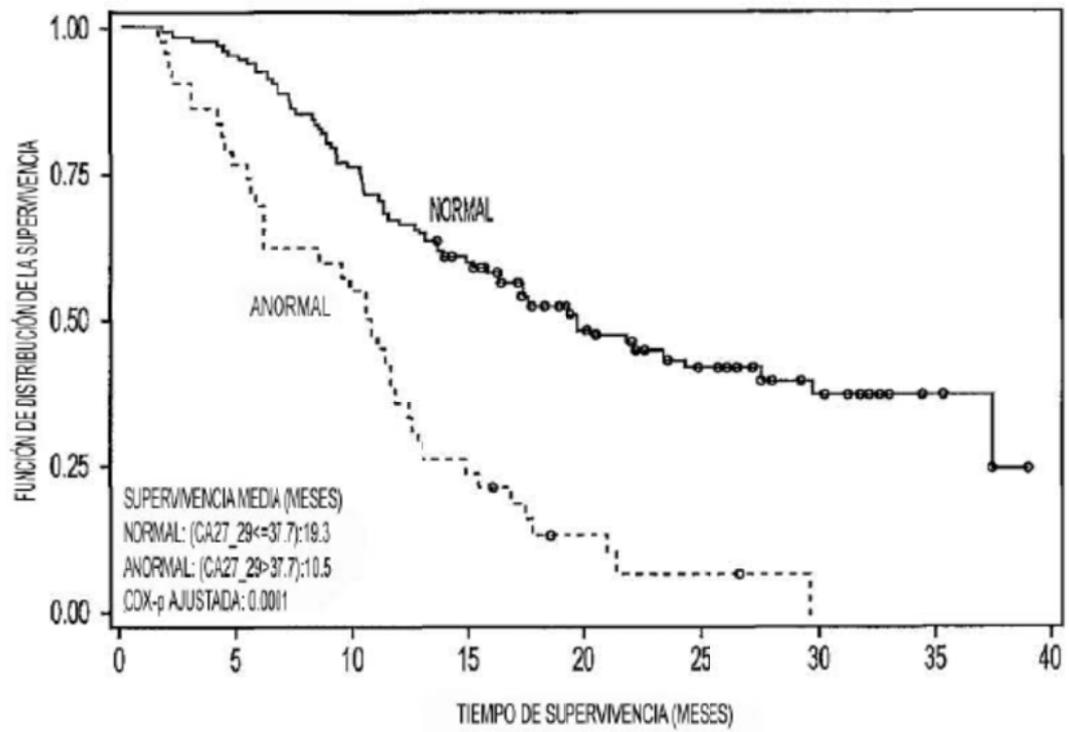


FIG. 20

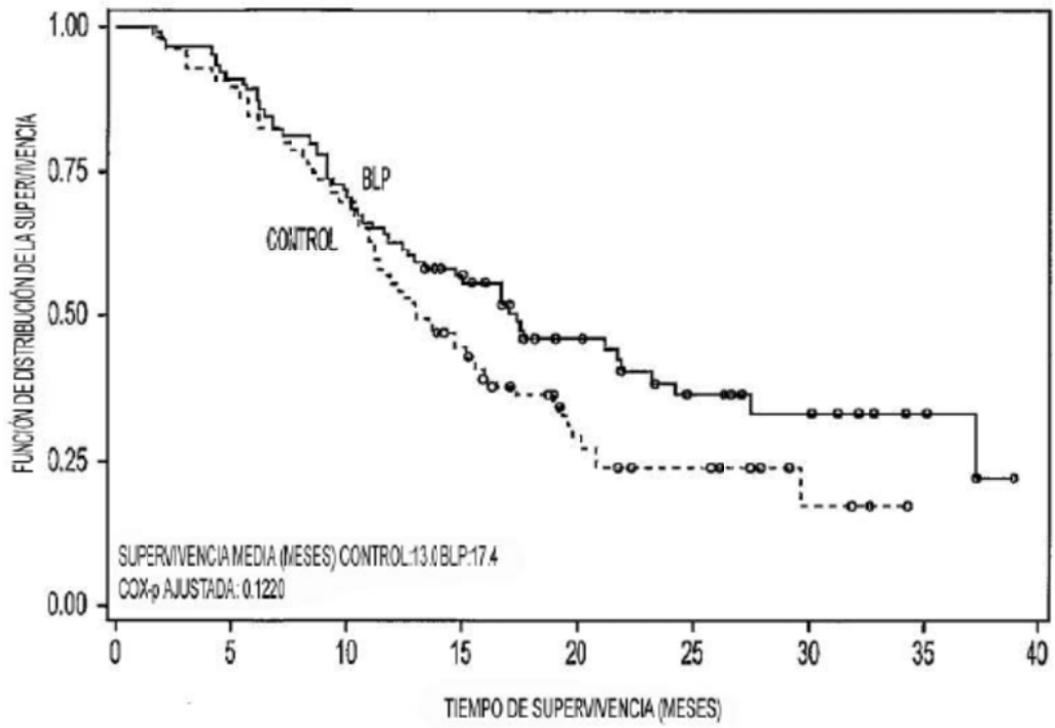


FIG. 21

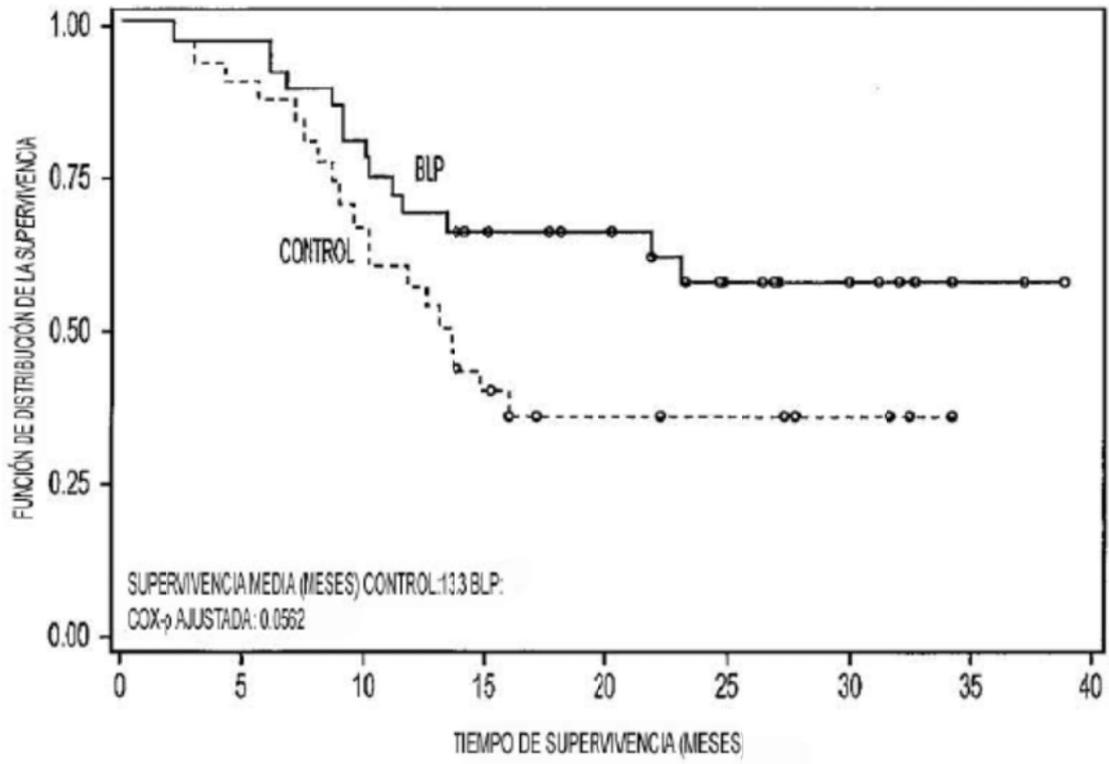


FIG. 22

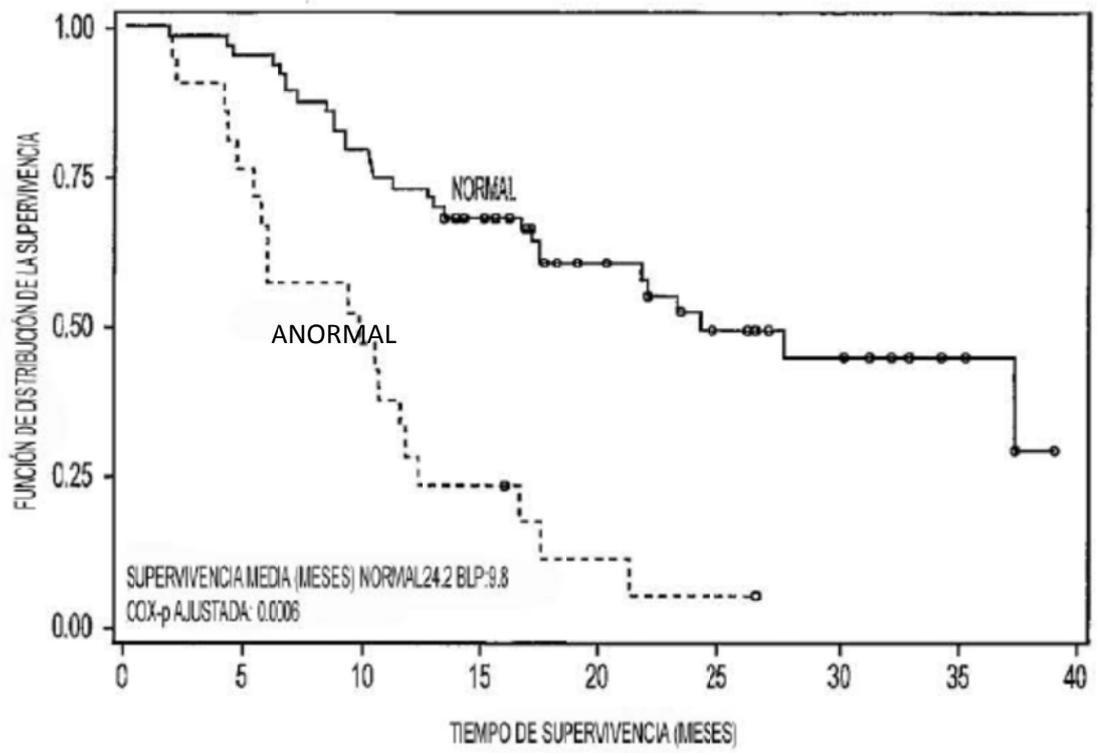


FIG. 23