(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 560 808**

(51) Int. CI.:

A61K 9/127 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.04.2005 E 11196228 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.10.2015 EP 2524700**

(54) Título: **Vacuna de glicoproteína mucinosa (MUC-1) para el tratamiento del cáncer de próstata**

(30) Prioridad:

01.04.2004 US 558139 P
04.06.2004 US 576804 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.02.2016

(73) Titular/es:

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

(72) Inventor/es:

LONGENECKER, MICHAEL

(74) Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

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

Vacuna de glicoproteína mucinosa (MUC-1) para el tratamiento del cáncer de próstata

Reivindicación de prioridad

La presente solicitud reivindica el beneficio de prioridad de la Solicitud de Patente Provisional de Estados Unidos Nº 60/558.139, presentada el 1 de abril de 2004, y la Solicitud de Patente Provisional de Estados Unidos Nº 60/576.804, presentada el 4 de junio de 2004.

Campo de la invención

La presente invención se refiere al tratamiento de individuos con cáncer de próstata usando una formulación a base de glicoproteína mucinosa (MUC-1). En algunos casos, la formulación a base de MUC-1 es una vacuna con liposomas BLP25.

Antecedentes de la invención

El cáncer de pulmón es la primera causa de mortalidad relacionada con cáncer para ambos sexos en América del Norte. En 2004, en los Estados Unidos se diagnosticaron aproximadamente 174.000 nuevos casos de cáncer de pulmón (un 54 % en los hombres, un 46 % en las mujeres). En 2004, solamente en los Estados Unidos fallecieron aproximadamente 160.000 personas por esta enfermedad.

Desafortunadamente, en el momento del diagnóstico, solamente 25 % de los pacientes de cáncer de pulmón se pueden curar potencialmente con cirugía. Además, la quimioterapia ha mejorado solo ligeramente las posibilidades de supervivencia en los individuos aquejados por el cáncer.

El cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC) es el más común de los cánceres de pulmón y se tipifica mediante el carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma y carcinoma de células grandes. El NSCLC representa aproximadamente de 75 a 80 % de todos los cánceres primarios de pulmón. Se ha observado que la glicoproteína mucinosa, MUC-1, se expresa altamente en dichos carcinomas, más allá de los niveles de expresión normal en las células epiteliales de los individuos sanos. Además, se ha observado que muchos restos de hidratos de carbono que adornan la proteína MUC-1, en virtud de la unión a la cadena principal del polipéptido de MUC-1, son más cortos que los restos unidos a las proteínas MUC-1 de las células normales. Por lo tanto, la cadena principal de polipéptidos de MUC-1 en las células cancerígenas está más expuesta que la cadena principal de polipéptidos en las células normales.

El cáncer de próstata es el segundo cáncer diagnosticado más común en los hombres en los Estados Unidos después del cáncer de pulmón. Se diagnostica cáncer de próstata a alrededor de 190.000 hombres en los Estados Unidos y cerca de 30.000 hombres mueren de la enfermedad cada año.

La insuficiencia bioquímica después de la prostatectomía (PR) para el tratamiento del cáncer de próstata a menudo es un presagio de insuficiencia clínica, lo que puede acortar la esperanza de vida del paciente. Y aunque existe una necesidad de métodos no invasivos adicionales para tratar el cáncer de próstata, existe una necesidad especial de un tratamiento de hombres con insuficiencia bioquímica después de la prostatectomía.

El documento WO03/003985 desvela el uso de una formulación que comprende un antígeno peptídico MUC1 conjugado con KLH (hemocianina de lapa californiana) y el adyuvante de QS1 en el tratamiento de cáncer de próstata.

Palmer M *et al*. divulgan un estudio en fase I de una vacuna liposomal de MUC-1 en cáncer de pulmón no microcítico ("Phase I study of the BLP25 (MUC1 peptide) liposomal vaccine for active specific immunotherapy in stage IIIB/IV non-small-cell lung cancer", Clin Lung Cancer., Ago 2001; 3(1):49-57).

La presente divulgación proporciona un método para tratar a una población de individuos aquejados de cáncer de pulmón no microcítico y cáncer prostático usando una formulación basada en MUC-1. En muchos aspectos, la formulación es una vacuna liposomal de MUC-1 lipidada.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a una formulación a base de MUC-1 que comprende un liposoma que comprende al menos un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos de MUC-1 lipidada de SEC ID Nº: 1 o 2, para uso en el tratamiento de cáncer de próstata.

Por ejemplo, la vacuna liposomal puede comprender un péptido de MUC-1 en su bicapa lipídica o encapsulado dentro de su estructura vesicular. Además, el péptido de MUC-1 se puede lipidar para facilitar su asociación con la bicapa o membrana lipídica liposomal. El péptido de MUC-1 puede comprender la secuencia de aminoácidos que se representa en la SEC ID Nº: 1 o SEC ID Nº: 2.

En otro aspecto de la presente divulgación, se proporciona un método (“Método 1”) para tratar a un individuo con NSCLC o cáncer de próstata. El método comprende:

(A) seleccionar para el tratamiento a un individuo que tiene NSCLC o cáncer de próstata, y

(B) administrar a ese individuo, durante un periodo de tiempo, una formulación basada en MUC-1.

En un aspecto del Método 1, la formulación basada en MUC-1 comprende un liposoma que contiene al menos un polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos representada en SEC ID Nº: 1 o una variante de la misma, o SECID Nº: 2, o una variante de la misma.

En aspectos específicos, el método 1 puede incluir adicionalmente una etapa (C) que comprende la evaluación del individuo tratado. En aspectos individuales, la evaluación del individuo tratado se puede conseguir midiendo una reacción inmune en el individuo tratado. En ciertos aspectos, la medida de la reacción inmune en el individuo tratado puede comprender la medida de una proliferación de linfocitos T. En otros aspectos más, la evaluación del individuo tratado puede comprender la determinación de al menos uno o más de: (a) tamaño del tumor, (b) ubicación del tumor, (c) estadio nodal, (d) velocidad de crecimiento del NSCLC o del cáncer de próstata, (e) tasa de supervivencia del individuo, (f) cambios en los síntomas del cáncer de pulmón o el cáncer de próstata en el individuo, (g) cambios en la concentración de PSA en el individuo, (h) cambios en la velocidad de duplicación de la concentración de PSA en el individuo , (i) cambios en la calidad de vida del individuo , o (j) una combinación de los mismos.

En estos aspectos, la evaluación del individuo se puede realizar antes, durante, o después del periodo de tiempo. Además, la evaluación del individuo se puede realizar antes y después del periodo de tiempo.

En un aspecto adicional, la formulación es una vacuna con liposomas BLP25. "BLP25" es un núcleo de repetición de MUC-1 lipidado específico, que se identifica a continuación. La vacuna de BLP25 puede comprender liposomas formados previamente que comprenden un núcleo de repetición de MUC-1, tal como los que se representan en las SEC ID Nº: 1 y 2. Los liposomas formados previamente que comprenden un núcleo de repetición de MUC-1 se pueden liofilizar.

En un aspecto de este método, la vacuna con liposomas BLP25 está en un kit, y las instrucciones para preparar y usar la vacuna se incluyen en el kit. Por lo tanto, el kit puede comprender otro líquido, tal como una solución de cloruro sódico (0,9 %, USP) que se puede usar para reconstituir ese material liofilizado. Como alternativa, la vacuna con liposomas BLP25 se puede proporcionar en forma de un líquido. Además, el kit puede comprender un adyuvante adicional, tal como lípido A, dipéptido de muramilo, alumbre, o una citocina, que se puede añadir a la preparación de la vacuna. Ejemplos de estos y otros adyuvantes se divulgan en detalle a continuación. Por lo tanto, el kit puede comprender varios viales o recipientes que permiten a una persona preparar la vacuna de BLP25 para su administración.

La etapa de administración de la formulación al individuo puede ser por cualquier método adecuado, tal como por inyección, en la que la inyección es una inyección intramuscular, una inyección subcutánea, intranodal, intratumoral, intraperitoneal, o una inyección intradérmica. Como alternativa, la vacuna o el péptido de núcleo de repetición de MUC-1 unido de forma liposomal se pueden administrar por aerosol, administración nasal, o administración oral. La vacuna o el péptido de núcleo de repetición de MUC-1 unido de forma liposomal también se pueden administrar a través de una formulación adecuada para la administración transdérmica, tales como a través de un parche transdérmico.

En un aspecto adicional el periodo de tiempo de dosificación para cualquiera de los métodos descritos en el presente documento 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 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.

En otro aspecto más, se describe un método (“Método 2”) para mejorar o mantener la calidad de vida de un individuo con NSCLC o cáncer de próstata. Este método puede comprender administrar a un individuo al que se ha diagnosticado NSCLC o cáncer de próstata una dosis de vacuna liposomal BLP25 rutinariamente durante un periodo de tiempo. En un aspecto adicional del Método 2, puede calcularse una puntuación combinada del bienestar físico del individuo, bienestar funcional y síntomas de cáncer de pulmón o síntomas de cáncer de próstata antes, durante y después de un periodo de tiempo.

En un aspecto, la administración de rutina incluye la administración de una dosis de vacuna con liposomas BLP25 una vez a la semana durante un periodo de tiempo. Por supuesto, el régimen de dosificación puede comprender otras permutaciones de administración del péptido de 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 otro aspecto, el periodo de tiempo para el que la vacuna se administra en dicho régimen es al menos durante aproximadamente 6 meses, al menos aproximadamente 12 meses, al menos aproximadamente 18 meses o al menos aproximadamente 24 meses.

En un aspecto, la dosis de vacuna con liposomas BLP25 proporciona aproximadamente 1.000 μg del lipopéptido de MUC-1 BLP25, aunque se pueden administrar otras dosis que se describen a continuación. Véanse, por ejemplo, las dosis previstas en la subsección de Dosificaciones de BLP25 a continuación.

Tanto la descripción general anterior como la siguiente descripción breve de las figuras son a modo de ejemplo y explicativas y pretenden proporcionar una explicación adicional de la invención tal como se reivindica.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 es un gráfico que representa los resultados de un estudio, que se detalla en el presente documento, que muestra la supervivencia global mediante el estudio del grupo entre pacientes que reciben tratamiento con vacuna con liposomas BLP25 o pacientes que reciben solamente los mejores cuidados paliativos (BSC). Véase el ejemplo 1 que sigue a continuación.

La Figura 2 es un gráfico que demuestra el análisis de supervivencia para pacientes con NSCLC en estadio IIIB locorregional. El análisis de supervivencia para los dos grupos de pacientes (tratamiento y BSC) incluye la función de distribución de supervivencia de pacientes tratados con vacunas con liposomas BLP25 frente a pacientes tratados solamente con el mejor tratamiento de soporte. Véase el ejemplo 1 a continuación.

La Figura 3 es un gráfico que representa el cambio del porcentaje en el tiempo de duplicación del antígeno específico de próstata ("PSA") para diferentes pacientes que habían recibido una dosis de vacuna con liposomas BLP25. Véase el ejemplo 3 que sigue a continuación.

Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona formulaciones a base de MUC-1 para tratar a un individuo que está aquejado de cáncer de próstata como se define en las reivindicaciones.

De acuerdo con la presente divulgación, una formulación puede comprender un núcleo de repetición de MUC-1. Un núcleo de repetición de MUC-1 puede ser una secuencia de aminoácidos que aparece cualquier número de veces en una proteína MUC-1. Preferentemente, un péptido de núcleo de repetición de MUC-1 de la presente divulgación imita la naturaleza expuesta de una proteína MUC-1 expresada en células cancerígenas, que tienen restos de hidratos de carbono más cortos unidos a la cadena principal de proteína MUC-1.

En un aspecto, un núcleo de repetición de MUC-1 de la presente divulgación tiene la secuencia de aminoácidos, STAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPP (SEC ID Nº: 1).

Además, un núcleo de repetición de MUC-1 puede tener la secuencia de aminoácidos que se representa en cualquiera de los que siguen a continuación:

STAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPK(palmitoil)G (SEC ID Nº: 2)

STAPPAHGVTSAPDTRPAPG (SEC ID Nº: 3)

GSTAPPAHGVTSAPDTRPAP (SEC ID Nº: 4)

GVTSAPDTRPAPGSTAPPAH (SEC ID Nº: 5)

PDTRPAPGSTAPPAHGVTSA (SEC ID Nº: 6)

HGVTSAPDTRPAPGSTAPPA (SEC ID Nº: 7)

Un péptido de MUC-1 de la presente divulgación puede tener cualquier longitud de aminoácidos. Por ejemplo, el péptido puede comprender 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46; 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89; 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, o más aminoácidos de longitud.

En ciertos aspectos, este núcleo de repetición se puede lipidar. En el presente documento, uno de dichos lipopéptidos de núcleo de repetición de MUC-1 se denomina BLP25. Además, la formulación se puede asociar con un liposoma. Esta asociación puede incluir, pero sin limitación, la incorporación del péptido en el liposoma o la encapsulación del péptido por el liposoma.

En el presente documento, una vacuna con liposomas que contiene un lipopéptido BLP25 se denomina "L-BLP25."

Las formulaciones de la divulgación pueden comprender adicionalmente un adyuvante, tal como lípido A o

interleucina-2 (IL-2). Otros adyuvantes a modo de ejemplo útiles en la divulgación se describen a continuación. En muchos casos, la formulación a base de MUC-1 se puede formular como una vacuna. En ciertos aspectos, la vacuna es una vacuna de núcleo de repetición de MUC-1 asociado de forma liposomal. En varios aspectos, la formulación de la vacuna comprende un núcleo de repetición de MUC-1 asociado de forma liposomal y un adyuvante. En muchos aspectos, el núcleo de repetición de MUC-1 estará lipidado.

En ciertos aspectos, una vacuna de la presente divulgación puede comprender (a) un núcleo de repetición de MUC-1 que comprende la secuencia de SEC ID Nº: 1 y lípido exógeno; o (b) un núcleo de repetición de MUC-1 que comprende la secuencia de SEC ID Nº: 1 y un liposoma; o (c) un núcleo de repetición de MUC-1 que comprende la secuencia de SEC ID Nº: 1 y un liposoma y un adyuvante; o (d) un núcleo de repetición de MUC-1 que comprende la secuencia de SEC ID Nº: 1 y un liposoma y un adyuvante, en el que el adyuvante es lípido A.

En otras aspectos determinados, una vacuna puede comprender (a) un núcleo de repetición de MUC-1 que comprende la secuencia de SEC ID Nº: 2 y un lípido exógeno; o (b) un núcleo de repetición de MUC-1 que comprende la secuencia de SEC ID Nº: 2 y un liposoma; o (c) un núcleo de repetición de MUC-1 que comprende la secuencia de SEC ID Nº: 2 y un liposoma y un adyuvante; o (d) un núcleo de repetición de MUC-1 que comprende la secuencia de SEC ID Nº: 2 y un liposoma y un adyuvante, donde el adyuvante es lípido A.

El concepto de tratamiento de individuos que tienen NSCLC o cáncer de próstata con formulaciones a base de MUC-1, así como los constituyentes de la fórmula de vacuna a base de MUC-1, se describen con más detalle a continuación.

I. <u>Vacuna con Liposomas BLP25</u>

En un aspecto, la formulación a base de MUC-1 comprende una determinada cantidad de lipopéptido BLP25 de MUC-1 y una determinada cantidad de adyuvante. En el presente documento, dicha formulación se denomina Vacuna con Liposomas BLP25 ("L-BLP25"), que pueden estar en una formulación líquida o liofilizada. Por ejemplo, la formulación, o la vacuna, pueden contener, en una sola cantidad de dosificación, aproximadamente 1000 μg de lipopéptido BLP25 de MUC-1 y aproximadamente 500 μg de lípido A.

Sin embargo, en la presente divulgación se prevén otras cantidades en microgramos de lipopéptido de MUC-1 y lípido A. Por ejemplo, la cantidad de lipopéptido BLP25 puede ser suficiente para acomodar múltiples dosis de la vacuna. Por lo tanto, la formulación de núcleo de repetición de MUC-1 puede contener 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 3000 μg, aproximadamente 4000 μg, aproximadamente 5000 μg, aproximadamente 6000 μg, aproximadamente 7000 μg, aproximadamente 8000 μg, aproximadamente 9000 μg, aproximadamente 10000 μg, aproximadamente 15000 μg, aproximadamente 25000 μg, o más de núcleo de repetición de MUC-1. Una dosificación en particular de núcleo de repetición de MUC-1 está en el intervalo de aproximadamente 500 μg a aproximadamente 1500 μg, más preferentemente entre aproximadamente 500 μg y aproximadamente 1500 μg, y más preferentemente aproximadamente 1000 μg.

De forma análoga, la cantidad de lípido A se puede variar para que coincida con la cantidad de péptido de MUC-1 formulado en la vacuna. Por lo tanto, la cantidad de lípido A puede ser 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 ser aproximadamente 500 μg de lípido A.

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

Una formulación de liposomas o la vacuna L-BLP25 se pueden retener en uno o más viales, tal como en un vial de vidrio de borosilicato de Tipo I de 5 ml. El vial, que contiene la formulación de MUC-1, también puede contener otros ingredientes de la vacuna. Por ejemplo, el vial puede comprender lípidos liposomales adicionales tales como dipalmitoil fosfatidilcolina, colesterol, y dimiristoil fosfatidilglicerol. Cada cantidad de esos lípidos en particular puede variar. Por lo tanto, la cantidad de uno cualquiera de dipalmitoil fosfatidilcolina, colesterol, y dimiristoil fosfatidilglicerol en un vial 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 se pueden contener en un vial diferente al vial que contiene la formulación de MUC-1.

Existen, por supuesto, otros aspectos para los fines de la presente divulgación.

Por lo tanto, las cantidades anteriores de lipopéptido BLP25 de MUC-1, adyuvante, y lípidos liposomales en la L-BLP25 se proporcionan solamente como ejemplos. La determinación de la cantidad apropiada de cada constituyente, incluyendo cantidades de lipopéptido de MUC-1, se puede conseguir fácilmente y es de rutina. En algunos aspectos, la dosis de lipopéptido de MUC-1 será mayor o menor que aproximadamente 1000 μg. La vacuna no necesita el suministro en un vial de vidrio de borosilicato de Tipo I de 5 ml, pero se puede suministrar de cualquier forma conocida en la técnica.

En un aspecto, el lipopéptido BLP25 es un péptido lineal de 27 restos que contiene un derivado de aminoácido lipidado cercano a su extremo C. Específicamente, BLP25 comprende un lípido de palmitoílo sobre un resto de lisina en la posición 26 del polipéptido. La secuencia del lipopéptido BLP25 se representa en la SEC ID Nº: 2, que se muestra a continuación:

SEC ID Nº: 2: STAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPK(palmitoil)G

En otros aspectos que poseen una secuencia de núcleo de MUC-1, un aminoácido, tal como treonina, serina, lisina, arginina o cisteína, que puede aparecer dentro de la secuencia natural del péptido, puede ser un sitio conveniente al que se puede unir un lípido. En algunos aspectos, el lípido se puede unir a un aminoácido sintético o a un aminoácido que no se encuentra en la naturaleza en la secuencia del núcleo de MUC-1. En ciertos aspectos, se pueden añadir uno o más de los aminoácidos naturales o sintéticos en cualquiera de los extremos o dentro de la secuencia del núcleo de MUC-1 para facilitar la unión de un lípido.

No se pretende que el número de aminoácidos que se pueden añadir a la secuencia del núcleo de MUC-1 sea limitante y se puede añadir cualquier número de aminoácidos siempre y cuando el péptido todavía funcione en los métodos de la divulgación. Tal como se ha demostrado anteriormente, se han añadido dos aminoácidos adicionales al polipéptido BLP25. Es decir, el extremo C de la secuencia del núcleo de MUC-1 termina con una prolina y, por lo tanto, tiene 25 restos de longitud. En el caso del polipéptido BLP25, sin embargo, se han añadido una lisina y una glicina a la prolina C-terminal para facilitar la unión del palmitoílo. Por lo tanto, la longitud del polipéptido BLP25 es de 27 aminoácidos de longitud. Los métodos de síntesis de péptidos convencionales se pueden usar para añadir uno o más de dichos aminoácidos adicionales a una secuencia de péptidos. Como alternativa, el péptido de la secuencia de núcleo de MUC-1 o BLP25 se puede preparar de forma recombinante.

En un aspecto particular, una Vacuna con Liposomas BLP25 ("L-BLP25") puede comprender el lipopéptido BLP25, lípido A, colesterol, DMPG y DPPC. El lipopéptido BLP25 puede comprender la secuencia de la SEC ID Nº: 2 o una variante de la misma. Una dosis de dicha Vacuna con Liposomas BLP25 puede comprender aproximadamente 1000 μg de lipopéptido BLP25, aproximadamente 500 μg de lípido A, aproximadamente 17,3 mg de colesterol, aproximadamente 3,6 mg de DMPG, y que aproximadamente 29,1 mg de DPPC.

Esta composición de vacuna en particular y la dosificación también se pueden describir en cantidades "por vial". Por lo tanto, un vial puede comprender aproximadamente 300 μg de lipopéptido BLP25, aproximadamente 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 a continuación reconstituir, tal como en solución de cloruro sódico, antes de la administración. Las cantidades de la Vacuna con Liposomas BLP25 que se han descrito anteriormente se pueden reconstituir, por ejemplo, en aproximadamente 0,6 ml de líquido, aunque se puede usar cualquier volumen de líquido, dependiendo de la dosificación deseada, 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 o 20 ml, o más de 20 ml.

El volumen de líquido en el que se reconstituye una vacuna de MUC-1 liofilizada no es necesariamente el volumen que se administra a un individuo. Se puede administrar una determinada dosificación en uno o múltiples volúmenes de vacuna reconstituida.

A. Variantes de núcleo de repetición de MUC-1

Como una alternativa a la secuencia de núcleo de repetición de MUC-1 que se representa en una cualquiera de las SEC ID Nº: 1-8, la formulación de la divulgación puede incorporar homólogos o variantes de esas repeticiones de núcleo de MUC-1. Por consiguiente, la presente divulgación abarca el uso de un péptido de núcleo de repetición de MUC-1 que tiene una secuencia que es similar a, pero no idéntica, a la secuencia de aminoácidos que se representa en cualquiera de las SEC ID Nº: 1-8. Por lo tanto, la presente divulgación contempla el uso de un núcleo de repetición 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 cualquiera de las SEC ID Nº: 1-8.

Una proteína de núcleo de repetición de MUC-1 de la presente divulgación se puede modificar para que contenga variaciones conservativas o se puede modificar con el fin de que cambie restos no críticos o restos en regiones no críticas. Los aminoácidos que no son críticos se pueden identificar mediante métodos conocidos en la técnica, tales como mutagénesis dirigida al sitio, cristalización, resonancia magnética nuclear, marcado por fotoafinidad, o mutagénesis con exploración de alanina (Cunningham *et al.*, Science, 244: 1081-1085 (1989); Smith *et al.*, J. Mol. Biol., 224:899-904 (1992); de Vos *et al.*, Science, 255: 306-312 (1992)). Las proteínas modificadas se pueden someter a ensayo fácilmente para la actividad o la capacidad de inducir una respuesta inmune a través de métodos tales como unión de proteasas a sustratos, escisión, actividad *in vitro*, o actividad *in vivo*.

Específicamente, una variante de núcleo de repetición de MUC-1 puede incorporar de 1 a 5 sustituciones de aminoácidos que mejoran la estabilidad de los núcleos de repetición de MUC-1 o con un aminoácido hidrofóbico diferente que mejora la estabilidad de los núcleos de repetición de MUC-1 frente a la oxidación, o con un aminoácido diferente que mejora la estabilidad de los núcleos de repetición de MUC-1 frente a proteasas.

Por lo tanto, un polipéptido de los núcleos de repetición de MUC-1 "variante" de la divulgación puede diferir en la secuencia de aminoácidos de la secuencia representada en las SEC ID Nº: 1 o 2 mediante una o más sustituciones, supresiones, inserciones, inversiones, truncamientos, o una combinación de los mismos. Una cualquiera de ellas se pueden preparar para contener sustituciones de aminoácidos que sustituyan un aminoácido dado con otro aminoácido de características similares. Las sustituciones conservativas incluyen, entre los aminoácidos alifáticos intercambio de alanina, valina, leucina e isoleucina; intercambio de los restos hidroxilo de serina y treonina, intercambio de restos ácidos de aspartato y glutamato, sustitución entre los restos amida de asparagina y glutamina, intercambio de los restos básicos de lisina y arginina, y reemplazos entre los restos aromáticos de fenilalanina y tirosina. Véase Bowie *et al.*, Science, 247: 1306-1310 (1990).

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

Un péptido de núcleo de repetición de MUC-1 que tiene la secuencia de longitud total de SEC ID Nº: 1 o 2, o una variante de la misma, también se puede unir a otro polipéptido con el que no se asocia normalmente. Por lo tanto, un péptido de núcleo de repetición de MUC-1 se puede unir de forma operativa, en su extremo N o su extremo C, a un polipéptido heterólogo que tiene una secuencia de aminoácidos no básicamente homóloga de los núcleos de repetición de MUC-1. "Unido de forma operativa" indica que el péptido de núcleo de repetición de MUC-1 y el polipéptido heterólogo están ambos en fase.

Una proteína de fusión puede afectar, o puede no afectar, a la capacidad del núcleo de repetición de MUC-1, o una variante funcional del mismo, para inducir una reacción inmunológica de un sistema hospedador. Por ejemplo, la proteína de fusión puede ser una proteína de fusión Glutatión S-transferasa (GST) en la que el núcleo de repetición de MUC-1 se fusiona con el extremo C de la secuencia de GST o un marcador HA de gripe. Otros tipos de proteínas de fusión incluyen, pero sin limitación, proteínas de fusión enzimática, por ejemplo, fusiones de beta-galactosidasa, fusiones de GAL de dos híbridos de levadura, fusiones de poli-His, y fusiones de Ig. Dichas proteínas de fusión, particularmente las fusiones de poli-His, pueden facilitar la purificación del núcleo de repetición de MUC-1 producido de forma recombinante para su uso en la divulgación.

En determinadas células hospedadoras, la expresión y/o la secreción de una proteína puede aumentar mediante el uso de una secuencia de señal heteróloga fusionada con una proteasa que transporta el péptido del núcleo de repetición de MUC-1 a una matriz extracelular o localiza la proteína del núcleo de repetición de MUC-1 en la membrana celular.

Otras proteínas de fusión pueden afectar la capacidad de un núcleo de repetición de MUC-1 para inducir una reacción inmunológica. Por ejemplo, una subregión de un núcleo de repetición de MUC-1 se puede reemplazar, por ejemplo, con el dominio o subregión correspondiente de otra región de una proteína MUC-1. En consecuencia, se pueden producir núcleos de repetición quiméricos de MUC-1. Del mismo modo, la afinidad por el sustrato se puede alterar o incluso evitar la proteólisis del sustrato. En consecuencia, se puede usar una proteína que tiene una secuencia de, por ejemplo, la SEC ID Nº: 1 o 2, o variante de la misma, como un inhibidor competitivo de otro péptido del núcleo de repetición de MUC-1.

C. Modificaciones del núcleo de repetición de MUC-1

Las variantes del núcleo de repetición de MUC-1 también incluyen derivados o análogos en los que (i) un aminoácido está sustituido con un resto de aminoácido que no es uno codificado por el código genético, (ii) el polipéptido maduro se fusiona con otro compuesto tal como polietilenglicol, o (iii) aminoácidos adicionales se fusionan con el polipéptido de MUC-1, tal como una secuencia directora o secretora o una secuencia para la purificación del polipéptido.

Las modificaciones habituales incluyen, pero sin limitación, acetilación, acilación, ADP-ribosilación, amidación, unión covalente de flavina, unión covalente de un resto hemo, unión covalente de un nucleótido o derivado de nucleótido, unión covalente de un lípido o derivado de lípido, unión covalente de fosfatidilinositol, reticulación, ciclación, formación de enlaces disulfuro, desmetilación, formación de reticulaciones covalentes, formación de cistina, formación de piroglutamato, formilación, carboxilación gamma, glicosilación, formación de anclaje GPI, hidroxilación, yodación, metilación, miristoilación, oxidación, procesamiento proteolítico, fosforilación, prenilación, racemización, selenoilación, sulfatación, adición mediada por transferencia de ARN de aminoácidos a proteínas tales como arginilación, y ubiquitinación.

Las modificaciones de péptidos particularmente comunes que se pueden aplicar al núcleo de repetición de MUC-1 incluyen glicosilación, unión de lípidos, sulfatación, gamma-carboxilación de restos de ácido glutámico, hidroxilación y ribosilación de ADP. Véase T. E. Creighton, Proteins-Structure and Molecular Properties, 2ª Ed. (W. H. Freeman y Compañía, Nueva York (1993)); Wold, F., Posttranslational Covalent Modification of Proteins, B. C. Johnson, Ed. (Academic Press, Nueva York 1-12 (1983)); Seifter *et al.*, Meth. Enzymol., 182: 626-646 (1990); y Rattan *et al.*, Ann. N. Y. Acad. Sci., 663: 48-62 (1992).

Se pueden hacer modificaciones en cualquier lugar en un polipéptido de núcleo de repetición de MUC-1, incluyendo la cadena principal de péptidos, las cadenas laterales de 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 sintético.

II Dosificaciones de BLP25

Cuando una formulación a base de MUC-1, que incluye un péptido de núcleo de MUC-1, polipéptido BLP25, o vacunas con liposomas BLP25 se está administrando a un individuo, un experto en la materia entiende que la dosificación puede depender de varios factores, que incluyen, pero sin limitación, el peso del individuo, tamaño del tumor, o progresión del tumor. Generalmente, tal como se usa en el presente documento, un individuo que recibe la formulación a base de MUC-1 es un solo organismo. En determinados aspectos, un individuo será un mamífero. Específicamente, un individuo puede ser humano, incluyendo que sea un hombre o una mujer. En muchos aspectos el individuo será un paciente, o un individuo que espera o que está bajo cuidado y tratamiento médico.

Se puede administrar a un individuo una dosis 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, 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 3000 μg, aproximadamente 4000 μg, aproximadamente 5000 μg, aproximadamente 6000 μg, aproximadamente 7000 μg, aproximadamente 8000 μg, aproximadamente 9000 μg, aproximadamente 10000 μg, aproximadamente 15000 μg, o aproximadamente 25000 μg o más de polipéptido de MUC-1 BLP25 que está en la vacuna con liposomas BLP25, en aplicaciones individuales o acumulativas. En aspectos específicos, la dosis administrada al individuo es de aproximadamente 1.000 μg de la formulación a base de MUC-1 a la semana.

Un individuo puede recibir, sin embargo, dicha dosis de la formulación a base de MUC-1, por ejemplo, varias veces al día, cada día, cada dos días, una vez a la semana, o cualquier otro régimen de dosificación adecuado. En algunos aspectos, se administran a los individuos al menos 5 dosis durante un periodo de tiempo. En otros aspectos, se administrarán a los individuos más de o menos de 5 dosis. Por lo tanto, un individuo puede recibir una dosis de aproximadamente 1.000 μg del polipéptido lipidado de MUC-1 cada semana. Como alternativa, el individuo puede recibir dos dosis de 500 μg, dos veces a la semana, o una dosis diaria de 100 μg durante cinco días.

Estos ejemplos de dosificación no son limitantes y solamente se usan para ejemplificar regímenes de dosificación en particular para administrar aproximadamente 1.000 μg del polipéptido lipidado de MUC-1. Por ejemplo, si la dosis apropiada para una situación dada es de 1.000 μg a la semana, las dosis se pueden dividir en cualquier número de permutaciones. Esto también es válido si la dosis apropiada para una situación en particular es mayor o menor que 1.000 μg.

El periodo de tiempo que la formulación a base de MUC-1 se administra al individuo puede ser cualquier periodo

adecuado. Ejemplos de dichos periodos adecuados incluyen, pero sin limitación, al menos aproximadamente 6 meses, al menos aproximadamente 12 meses, al menos aproximadamente 18 meses, o al menos aproximadamente 24 meses o periodos más largos. Por lo tanto, la dosificación puede continuar durante un periodo de tratamiento que es 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, al menos 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. El periodo de tratamiento también puede continuar durante un periodo más largo de 24 meses, si se desea, tal como durante 30 meses, 31 meses, 32 meses, 33 meses, 34 meses, 35 meses, 36 meses, o superior a 36 meses. Los médicos pueden determinar el periodo de tiempo que un individuo debería permanecer con la formulación a base de MUC-1. En algunos casos, puede ser ventajoso administrar la formulación a base de MUC-1 durante el resto de la vida de un individuo.

La formulación a base de MUC-1 se puede administrar en diferentes fases del tratamiento. Por ejemplo, la formulación a base de MUC-1 se puede administrar 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 dosificaciones semanales, mientras que la fase de mantenimiento puede ser en periodos de tiempo más largos, tales como cada 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, 12 semanas o un periodo más largo. En algunos casos, En algunos casos, la dosificación administrada en la fase de tratamiento será mayor que la dosificación administrada en la fase de mantenimiento. Sin embargo, las fases de tratamiento y de mantenimiento se pueden diseñar 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 mencionados anteriormente. Generalmente, la fase de mantenimiento puede comenzar en cualquier momento que se considere apropiado. 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, solamente se comenzará una fase de tratamiento o de mantenimiento.

Además, en aspectos adicionales, la formulación a base de MUC-1 se administra profilácticamente. En estos aspectos, la administración de la formulación a base de MUC-1 puede evitar que un individuo desarrolle cáncer, tal como NSCLC o cáncer de próstata. Cuando la formulación a base de MUC-1 se usa profilácticamente, la cantidad y el régimen de dosificación se pueden determinar fácilmente.

III. Liposomas

Tal como se ha expuesto anteriormente, en muchos aspectos, la formulación a base de MUC-1 se usará con liposomas. Los liposomas son vesículas microscópicas que consisten en una o más bicapas lipídicas que rodean compartimentos acuosos. Véase por ejemplo, Bakker-Woudenberg *et al.*, Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 12 (Supl. 1): S61 (1993), y Kim, Drugs, 46: 618 (1993). Dado que los liposomas se pueden formular con moléculas de lípidos en masa que se encuentran en membranas celulares naturales, los liposomas generalmente se pueden administrar de forma segura y son biodegradables. Por lo tanto, los liposomas a menudo se usan en administración de fármacos.

Dependiendo del método de preparación, los liposomas pueden ser unilamelares o multilamelares, y pueden variar en tamaño con diámetros que varían de aproximadamente 0,02 μm a superiores a aproximadamente 10 μm. Una diversidad de agentes se puede encapsular o insertar en liposomas. Los agentes hidrofóbicos se reparten en las bicapas y los agentes hidrofílicos se reparten dentro del espacio o espacios acuosos internos. Véase por ejemplo, Machy *et al.*, LIPOSOMES IN CELL BIOLOGY AND PHARMACOLOGY (John Libbey, 1987), y Ostro *et al.*, American J. Hosp. Pharm. 46: 1576 (1989).

Los liposomas pueden adsorber a prácticamente cualquier tipo de célula y luego liberar un agente incorporado. En algunos casos, el liposoma se puede fusionar con la célula diana, mediante lo cual el contenido del liposoma se vacía a continuación en la célula diana. Como alternativa, un liposoma puede ser endocitado por células que son fagocíticas. La endocitosis va seguida de la degradación intralisosómica de los lípidos liposomales y la liberación de los agentes encapsulados. Scherphof *et al.*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 446: 368 (1985).

Además, los liposomas se pueden usar para presentar agentes activos, tales como polipéptidos, en su superficie y, por lo tanto, inducir diversos sucesos, tales como las cascadas de señalización o iniciar rutas bioquímicas, sin la fusión a una célula diana o de superficie tal como se ha mencionado en el párrafo anterior. Por lo tanto, 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.

Cuando se usan con las formulaciones a base de MUC-1 de la presente divulgación, los liposomas se usan como vehículos de administración. Los liposomas adecuados a modo de ejemplo que se pueden usar en los métodos de la divulgación incluyen vesículas multilamelares (MLV), vesículas oligolamelares (OLV), vesículas unilamelares (UV),

vesículas unilamelares pequeñas (SUV), vesículas unilamelares de tamaño medio (MUV), vesículas unilamelares grandes (LUV), vesículas unilamelares gigantes (GUV), vesículas multivesiculares (MVV), vesículas individuales u oligolamelares preparadas con el método de evaporación en fase inversa (REV), vesículas multilamelares preparadas con el método de evaporación en fase inversa (MLV-REV), vesículas plurilamelares estables (SPLV), MLV congeladas y descongeladas (FATMLV), vesículas preparadas mediante métodos de extrusión (VET), vesículas preparadas mediante prensa francesa (FPV), vesículas preparadas por fusión (FUV), vesículas de deshidratación-rehidratación (DRV), y burbujosomas (BSV). Sin embargo, tal como lo entiende un experto en la materia, el tipo de liposoma no pretende ser limitante y puede incluir cualquier liposoma preparado con cualquier materia que sea compatible con los métodos de la divulgación. Las técnicas para preparar liposomas se conocen bien en este campo. Véase COLLOIDAL DRUG DELIVERY SYSTEMS, vol. 66 (J. Kreuter, ed., Marcel Dekker, Inc., 1994).

IV. Lípidos

Tal como se indicó anteriormente, en muchos aspectos, la formulación a base de MUC-1 se puede lipidar, tal como es el caso de la SEC ID Nº: 2. Tal como se usa en el presente documento, un "lípido" puede ser miristilo, palmitoílo, o una molécula de laurilo que se puede unir a aminoácidos que poseen grupos con funcionalidad de oxígeno, nitrógeno o azufre. Tal como se ha descrito anteriormente, dichos aminoácidos incluyen, pero sin limitación, treonina, serina, lisina, arginina y cisteína.

Un "monolipopéptido" es un péptido al que solamente se une una cadena de lípido. Del mismo modo, un "dilipopéptido" es un péptido que tiene dos cadenas de lípidos unidas a uno o dos aminoácidos. Si las dos cadenas de lípidos se unen a dos restos de aminoácidos, esos restos se pueden espaciar por cualquier número de aminoácidos de distancia. En los casos en los que se une más de un lípido, los lípidos pueden ser el mismo lípido o pueden ser diferentes lípidos. Del mismo modo, si se unen más de dos lípidos, dos o más de los lípidos pueden ser iguales o todos los lípidos pueden ser diferentes.

Se cree que un lipopéptido, tal como BLP25, se puede incorporar a un liposoma porque la porción lipídica de ese péptido se integra espontáneamente en la bicapa lipídica del liposoma. Por lo tanto, en este caso, un lipopéptido se puede presentar en la "superficie" de un liposoma. Como alternativa, un péptido se puede encapsular dentro de un liposoma. Se conocen bien técnicas para la preparación y la formulación de liposomas con moléculas tales como péptidos.

V. Adyuvantes a Modo de Ejemplo

La presente formulación a base de MUC-1 también puede incluir un adyuvante. Como alternativa, un adyuvante se puede administrar ya sea antes, junto con, o después de la administración de la formulación a base de MUC-1 de la divulgación.

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

Los adyuvantes basados en lípidos, tales como Lípido A y derivados de los mismos, son adecuados para su uso con las formulaciones a base de MUC-1. También se ha demostrado que un dipéptido de muramilo (MDP) o alumbre, cuando se incorporan en liposomas, aumenta la capacidad adyuvante (Gupta RK *et al.*, Adjuvants - A balance between toxicity and adjuvancity," Vaccine, 11, 293-306 (1993)).

Otra clase de adyuvantes que se pueden usar con la presente divulgación incluye citocinas estimulantes, tales como interleucina-2 (IL-2). Por lo tanto, las presentes vacunas liposomales se pueden formular con IL-2 o IL-2 se puede administrar por separado para una respuesta antigénica óptima. En muchos aspectos, IL-2 se formula beneficiosamente con liposomas.

Los miméticos sintéticas de adyuvantes también se pueden co-formular con el uso de las formulaciones a base de MUC-1. A este respecto, un mimético de lípido A se puede usar junto con la vacuna liposomal. Un tipo particular de imitador de lípido A es uno en el que una o ambas de las unidades de azúcar del disacárido del lípido A se sustituye con al menos el esqueleto de carbono de pentaeritritol. Véase, por ejemplo, el documento WO 03/094850.

VI. Formulaciones de Vacunas a Modo de Ejemplo

Cuando la formulación a base de MUC-1 es una vacuna, las vacunas también se pueden formular con un excipiente farmacéuticamente aceptable. Las propiedades de dichos excipientes se conocen bien en la técnica, pero por lo general incluyen excipientes que son fisiológicamente tolerables e inertes o de potenciación con respecto a las propiedades de la vacuna de las composiciones divulgadas. Los ejemplos no limitantes de excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen vehículos líquidos tales como solución salina fisiológica, estéril. Se puede añadir un excipiente en cualquier momento de la formulación de una vacuna liposomal o se puede mezclar con la

composición de vacuna finalizada. Se puede determinar fácilmente tanto cuándo añadir el excipiente como el excipiente apropiado para uso con las vacunas de la divulgación.

Una formulación de vacuna en particular puede comprender en una cantidad en vial de aproximadamente 300 μg de lipopéptido BLP25 de MUC-1 de la SEC ID Nº: 2, aproximadamente 150 μg de lípido A, y aproximadamente 15 mg de uno o más lípidos liposomales adicionales, tales como dipalmitoil fosfatidilcolina, colesterol (DPMC), y dimiristoil fosfatidilglicerol (DPMG).

Una formulación de vacuna en particular puede comprender una cantidad de dosificación de aproximadamente 1000 μg de lipopéptido BLP25 de MUC-1 de la SEC ID Nº: 2, aproximadamente 500 μg de lípido A, y aproximadamente 29,1 mg de dipalmitoil fosfatidilcolina, aproximadamente 17,3 mg de colesterol, y aproximadamente 3,6 mg de dimiristoil fosfatidilglicerol (DPMG).

VII. Ciclofosfamida

Antes del tratamiento con una formulación a base de MUC-1, un individuo se puede "tratar previamente" con ciclofosfamida. En muchos aspectos, la dosis de ciclofosfamida será de aproximadamente 50 mg/m^2, 100 mg/m^2, 200 mg/m^2, 300 mg/m^2, aproximadamente 400 mg/m^2, aproximadamente 500 mg/m^2, o aproximadamente 600 mg/m^2. Una dosis de ciclofosfamida en el intervalo de aproximadamente 300 mg/m^2 se considera una dosis baja. En determinados aspectos, la ciclofosfamida se administrará en una sola dosis. En otros aspectos, la ciclofosfamida se administrará en más de una dosis durante un periodo de tiempo.

El uso de una dosis de ciclofosfamida, tal como 300 mg/m^2, puede superar parcialmente la supresión inmune observada en algunos pacientes con cáncer. En diversos modelos animales, se ha mostrado que la ciclofosfamida en determinados individuos aumenta las respuestas de hipersensibilidad de tipo retardado, aumenta la producción de anticuerpos, anula la tolerancia, y potencia la inmunidad antitumoral. Además, se pueden usar otros fármacos que afectan al sistema inmune de una manera similar a la ciclofosfamida en regímenes de tratamiento previo con las formulaciones de la presente divulgación.

VIII. Vía de Administración de Vacuna L-BLP25 y Dirección

Las formulaciones a base de MUC-1 de la divulgación, incluyendo las vacunas, se pueden formular para múltiples vías de administración. Las vías específicas incluyen cualquier método de administración adecuada, tal como por vía intramuscular, subcutánea, o inyección intradérmica, aerosol, transdérmica, pulmonar, nasal, o administración oral, o por una combinación de estas vías, administradas de una sola vez o en una pluralidad de dosificaciones individuales.

La administración de las vacunas se conoce bien y depende en última instancia de la formulación en particular y el criterio del médico que trata. Las formulaciones a base de MUC-1, tales como L-BLP25 se pueden mantener en forma de suspensión o se pueden liofilizar e hidratar más tarde para generar una formulación que se pueda usar.

En algunos aspectos, tales como la realización en el ejemplo 1, una dosis de la formulación a base de MUC-1 se puede inyectar en varios sitios diferentes. Por ejemplo, en el ejemplo 1, se pueden administrar 1.000 μg de polipéptido a base de MUC-1 en cuatro subdosis de aproximadamente 250 μg cada una. En el caso de inyecciones, la cantidad de la inyección es irrelevante, siempre y cuando se esté administrando la dosis o una subdosis apropiada de la composición desvelada. Por ejemplo, una inyección puede ser de 1 cm^3 (ml), mientras que otra inyección con la misma dosis exacta puede ser de 5 cm^3 (ml). Además, la cantidad de la subdosis se entiende solamente como un ejemplo no limitante y se anticipan aspectos en los que las subdosis son más o menos de ¼ de la dosis total.

Las subdosis o dosis se pueden administrar en la región deltoidea o del tríceps de los brazos superiores, y en las posiciones anterolateral izquierda y derecha del abdomen. Sin embargo, estos sitios de inyección se ofrecen solamente como ejemplos. En algunos aspectos, solamente se administrarán dos subdosis y estas subdosis se pueden administrar en cualquiera de las regiones que se han expuesto anteriormente. En otros aspectos adicionales, se administrarán subdosis o dosis completas en regiones completamente diferentes: si se inyecta la formulación a base de MUC-1, a continuación se puede determinar fácilmente un sitio de inyección apropiado.

Para proporcionar una mayor especificidad, reduciendo de este modo teóricamente el riesgo de efectos tóxicos u otros efectos no deseados durante la administración *in vivo*, en algunos aspectos, las composiciones se dirigirán a las células a través de las que se diseñan para que actúen, es decir, las células que presentan antígenos. Esto se puede conseguir convenientemente usando tecnología de dirección convencional para dirigir un liposoma que contiene un péptido inmunogénico a una ubicación en particular dentro del organismo. Para dirigirse a las células que presentan antígenos, por ejemplo, manosa y la porción Fc de los anticuerpos se pueden conjugar químicamente con un péptido antigénico, o el péptido de dirección se puede fusionar de forma recombinante con el lipopéptido inmunogénico. Otras estrategias similares serán familiares para el experto. No obstante, en algunos aspectos, las composiciones no se dirigirán a tipos de células u órganos específicos.

IX. Individuos para el Tratamiento

Cualquier individuo al que se ha diagnosticado NSCLC o cáncer de próstata puede recibir tratamiento con las formulaciones basadas en MUC-1 que se describen en el presente documento. Como alternativa, cualquier individuo que presenta síntomas de cualquier estadio de NSCLC o cualquier estadio de cáncer de próstata, pero al que no se ha diagnosticado formalmente que padezca NSCLC o cáncer de próstata, también puede recibir tratamiento con las formulaciones a base de MUC-1. Además, tal como se ha indicado anteriormente, las formulaciones a base de MUC-1 se pueden administrar profilácticamente para evitar que un individuo contraiga NSCLC o cáncer de próstata.

En la selección de un individuo con NSCLC y/o cáncer de próstata para el tratamiento con la formulación a base de MUC-1, puede ser beneficioso determinar el nivel de MUC-1 en el suero del individuo, ya sea antes o durante el tratamiento. En determinados pacientes con cáncer, los niveles de MUC-1 elevados en suero se han correlacionado con mal pronóstico. Véase, por ejemplo, Pihl *et al*, Pathology, 12: 439-447 (1980). Debido a que una cantidad anómala de MUC-1 en circulación puede inhibir o reducir la eficacia de las interacciones de las formulaciones a base de MUC-1 exógeno, el conocimiento de la cantidad de MUC-1 endógeno puede ayudar en la decisión de la dosis apropiada de las formulaciones a base de MUC-1 que se administran a un individuo.

X. Individuos con NSCLC

Cuando los individuos con NSCLC se van a tratar con una formulación a base de MUC-1 de la divulgación, los individuos a los que se diagnostica un estadio IIIB locorregional (LR), estadio IIIB con derrame pleural maligno, o NSCLC en estadio IV se pueden tratar específicamente. Sin embargo, la presente divulgación también abarca el tratamiento de individuos con NSCLC distintos de los que tienen la enfermedad en estadio III locorregional, en estadio III con derrame pleural, y en estadio IV. Por lo tanto, la presente divulgación contempla el tratamiento de pacientes a los que se ha diagnosticado NSCLC en estadio IA, estadio IB, estadio IIA, estadio IIB, estadio IIIA, estadio IIIB, estadio IIIB locorregional, estadio IIIB con derrame pleural, y estadio IV. Véase Mountain C. F., Chest; 111 (6): 1710-7 (1997).

De hecho, la presente divulgación contempla el tratamiento de pacientes con diversa gravedad de NSCLC, no solamente los que muestran estadios avanzados de cáncer NSCLC. Por ejemplo, los individuos a los que se diagnostica que tienen NSCLC de estadio IIIA son tratables de acuerdo con la presente divulgación.

A. Estadificación del Cáncer de Pulmón

Generalmente, cuando las formulaciones a base de MUC-1 se usan en individuos con NSCLC, el estadio de NSCLC en el individuo se puede determinar antes, después, o durante el tratamiento. Un esquema de la estadificación del cáncer de pulmón se expone a continuación:

Normalmente, en el cáncer de pulmón, un número de "estadio" creciente se correlaciona con un pronóstico peor. Para diagnosticar a un individuo en un estadio en particular, se tienen en cuenta 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"). Además se observa en el diagnóstico de los individuos la ausencia ("M0") o presencia ("M1") de metástasis.

1. Categoría T

La categoría T se compone de subcategorías, T1-T4, por las que un número creciente de 1 a 4 representa el aumento de tamaño y la invasión local por el tumor primario. T1 y T2 se diferencian principalmente en el tamaño, por ejemplo, T1 es menor de 3 cm, mientras que T2 es superior a 3 cm. Los tumores T3 implicar por lo general a la pared del pecho, e incluyen, pero sin limitación, el surco pulmonar superior, diafragma, pleura mediastínica, pericardio o bronquio principal proximal, pero se pueden resecar. Los tumores T4 no se pueden resecar quirúrgicamente debido a que pueden haber invadido el mediastino y pueden implicar al corazón, grandes vasos, tráquea, carina o esófago, o en el caso de un derrame pleural maligno, la pleura.

2. Categoría N

Los estadios ganglionares se dividen en N1, N2 y N3. Los ganglios N1 por lo general implican ganglios hiliares peribronquiales o ipsilaterales. Estos ganglios tienen una posición intrapleural. Los ganglios N2 por lo general implican ganglios ipsilaterales del mediastino o subcarinales. Los ganglios N3 por lo general implican ganglios hiliares contralaterales, o del mediastino, cualquier ganglio escaleno, o ganglios supraclaviculares.

3. Estadios de NSCLC

Los "estadios" de NSCLC, por lo tanto, representan distintas clasificaciones de NSCLC que se basan en las diversas permutaciones de los valores T, N y M. Los estadios reconocidos de NSCLC son los que siguen a continuación:

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

Estadio IA y Estadio IB: El estadio IA se clasifica como T1 N0 M0 basándose en un resultado de supervivencia de 5 años significativamente superior que los pacientes con la enfermedad en estadio IB (T2 N0 M0). La cirugía es el tratamiento preferente para estos pacientes. En 1997, la tasa de supervivencia de 5 años para los pacientes clasificados quirúrgicamente como en estadio IA fue de 67 % y para el estadio IB fue de 57 %.

Estadio IIA y Estadio IIB: La enfermedad en estadio IIA se define como T1 N1 M0 y tiene una tasa de supervivencia de 55 % a los 5 años basándose en la estadificación quirúrgica. La enfermedad en estadio IIB se compone de T2 N1 M0 y T3 N0 M0. La designación de T3 N0 M0 representa la extensión extrapulmonar del tumor sin afectación ganglionar. La clasificación T3 NO MO se agrupa con T2 N1 M0 debido a que sus respectivas tasas de supervivencia de 5 años para la enfermedad estadificada quirúrgicamente, un 38 % frente a un 39 %, no son significativamente diferentes. La cirugía es también el tratamiento principal para estos individuos.

Estadio IIIA: Los pacientes en estadio IIIA se consideran resecables, mientras que los pacientes en Estadio IIIB no lo son. Los pacientes en estadio IIIA se definen por lesiones con extensión extrapulmonar (T3) y afectación limitada de los ganglios linfáticos (N1 o N2). La afectación ganglionar se puede extender hasta el mediastino ipsilateral, y/o ganglios linfáticos subcarinales. Estos pacientes se clasifican como T3 N1 M0 o T1-3 N2 M0. A partir de 1997, la tasa de supervivencia de 5 años para la enfermedad en estadio IIIA fue de 23 %.

Estadio IIIB: La clasificación del estadio IIIB se refiere a pacientes que tienen afectación extrapulmonar, que incluye, pero sin limitación los ganglios linfáticos contralaterales del mediastino o hiliares; ganglios ipsilaterales o contralaterales supraclaviculares o escalenos; ganglios del mediastino extensos sin metástasis a distancia; o derrame pleural maligno positivo en la citología. Estos pacientes se pueden clasificar como T1-3 N3 M0 o T4 N0-3 M0. En 1997, la tasa de supervivencia de 5 años para la enfermedad estadificada clínicamente fue de 5 % con la terapia multimodal.

Estadio IV: El estadio IV se define mediante cualquier afectación metastásica. Estos pacientes se clasifican como M1 con cualquier T y cualquier N. En 1997, más de una cuarta parte de los pacientes con NSCLC tenían el estadio clínico IV.

XI. Individuos con Cáncer de Próstata

Del mismo modo a la baja tasa de supervivencia de los individuos con cáncer de pulmón en estadio avanzado que se someten a terapia multimodal, hombres con cáncer de próstata que experimentan insuficiencia bioquímica después de la prostatectomía tienen pocas opciones terapéuticas. Una opción terapéutica que tienen es la terapia de supresión de andrógenos (ADT). Desafortunadamente, esta terapia tiene una morbilidad significativa, especialmente si se usa durante largos periodos de tiempo.

En individuos con cáncer de próstata, se sabe, por ejemplo, que los niveles de antígeno específico de próstata ("PSA") en la sangre tienden a aumentar cuando la próstata aumenta de tamaño. 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 inducida por el tratamiento en PSA se correlaciona con una supervivencia mayor (Scher, *et al*., J. Natl. Cancer Inst.; 91 (3): 244-51 (1999)).

XII. Tratamiento de Individuos con NSCLC o Cáncer de Próstata

La presente divulgación abarca el tratamiento con las formulaciones a base de MUC-1 de la divulgación de individuos con NSCLC en todos los estadios de NSCLC, así como el tratamiento de individuos con cáncer de próstata, incluyendo individuos con cáncer de próstata que tienen insuficiencia de PSA, después de prostatectomía radical. El uso de la expresión "que trata" se refiere a que la formulación o vacuna es útil para prevenir, curar, revertir, atenuar, aliviar, minimizar, suprimir, o detener los efectos perjudiciales de una patología, progresión de la enfermedad, agente causal de la enfermedad, u otra afección anómala.

En algunos aspectos, los individuos con cualquiera de NSCLC o cáncer de próstata se pueden haber tratado previamente con radiación o cirugía, antes del tratamiento con las composiciones desveladas. Los individuos también se pueden someter a un tratamiento con quimioterapia, radiación o cirugía antes, durante, o después de que se hayan tratado con las formulaciones a base de MUC-1 de la divulgación.

En el caso de estos individuos, cualquier tratamiento del cáncer aceptado se puede administrar antes, durante o después del tratamiento con las formulaciones a base de MUC-1.

Al elegir los individuos a tratar con las formulaciones y vacunas de la presente divulgación, se pueden usar criterios de inclusión y de exclusión. Por ejemplo, en un aspecto, cuando los individuos con NSCLC se van a tratar con la formulación a base de MUC-1, los individuos para tratar pueden ser hombres o mujeres mayores de 18 años cuya enfermedad es estable o que han respondido al tratamiento después de la finalización de su quimioterapia convencional de primera línea. Los individuos distintos a los mencionados anteriormente se pueden tratar con las formulaciones a base de MUC-1. De hecho, algunos individuos tratados con las composiciones que se divulgan no se habrán tratado con quimioterapia antes del tratamiento con la formulación a base de MUC-1.

XIII. Posibles Criterios de Inclusión y Exclusión para Individuos con NSCLC

En otro aspecto, un individuo con NSCLC elegido para el tratamiento tiene un estado funcional del Grupo de Oncología Cooperativa del Este (ECOG) de ≤ 2, con un recuento de neutrófilos ≥ 1,5 x 10^9/l; recuento de plaquetas ≥ 100 x 10^9/l; WBC ≥ 2,5 x 10^9/l y hemoglobina de 90 g/l. Sin embargo, aunque los números de ECOG se pueden usar para evaluar a los individuos para el tratamiento, no se requieren números de ECOG en particular antes, durante, o después del tratamiento.

Otros criterios de inclusión pueden incluir una supervivencia prevista de cuatro meses y cuando el individuo ha comprendido y firmado un consentimiento por escrito. Por supuesto, estos no son criterios de inclusión establecidos y se prevé el tratamiento de individuos con menor esperanza de vida. Además, a medida que la formulación a base de MUC-1 se convierte en tratamientos contra el cáncer convencionales, los individuos tendrán probablemente las composiciones desveladas recetadas y no se requerirá ningún consentimiento escrito y firmado.

En cuanto a los individuos con NSCLC que se pueden excluir del tratamiento, los criterios de exclusión se interpretan solamente como guías. En muchos casos, los individuos que presentan uno o más de los criterios de exclusión, incluyendo todos los criterios de exclusión, todavía se pueden tratar con las formulaciones a base de MUC-1. Ejemplos de criterios de exclusión para individuos con NSCLC incluyen: (a) cirugía o inmunoterapia en un plazo de cuatro semanas antes del tratamiento, (b) fármacos inmunosupresores que incluyen corticosteroides sistémicos en un plazo de tres semanas antes del tratamiento, (c) historia anterior o actual de neoplasia distinta al carcinoma de pulmón, (d) enfermedad autoinmune o enfermedad de inmunodeficiencia reconocida, (e) disfunción hepática o renal clínicamente significativa, (f) enfermedad cardíaca o infección activa significativa, o (g) individuos que habían tenido una esplenectomía.

XIV. Posibles Criterios de Inclusión y Exclusión para Individuos con Cáncer de Próstata

De forma análoga a los individuos con NSCLC, los individuos con cáncer de próstata también se pueden someter a criterios de inclusión y exclusión. Una vez más, estos criterios solamente son directrices y un individuo con cáncer de próstata que no satisfaga alguno de los criterios de inclusión o satisfaga alguno de, o todos, los criterios de exclusión aún se pueden tratar con los métodos de la presente divulgación.

Para los individuos con cáncer de próstata, los criterios de inclusión pueden incluir: (a) prostatectomía radical al menos 6 meses antes del tratamiento, (b) tres valores consecutivos de PSA en suero aumentados en prostatectomía post-radical con al menos un aumento de 50 % por encima del punto más bajo después de la prostatectomía, (c) sin prueba de enfermedad maligna en las evaluaciones antes del tratamiento tal como se evidencia por CT pélvica negativa y exploración ósea, (d) estado funcional del ECOG de 0, 1, (e) ensayos hematológicos, hepáticos y de función renal normales, (f) entender y firmar un consentimiento informado por escrito; y (g) individuos que nunca se han tratado con terapia hormonal para el cáncer de próstata (es decir, tratamiento neoadyuvante anterior a RP) deben tener la testosterona en suero dentro del intervalo normal. Tal como se ha indicado anteriormente, estos criterios de inclusión solamente son directrices y muchos individuos con diferentes criterios se pueden tratar usando los métodos de la divulgación.

Por ejemplo, se pueden tratar los individuos con cáncer de próstata que no han tenido una prostatectomía radical. Además, también se pueden tratar los individuos que no tienen un aumento de PSA en suero o cuyos niveles de PSA en suero no se han incrementado, ya sea consecutivamente o que no están por encima de 50 % en comparación con el punto más bajo después de la prostatectomía.

Los criterios de exclusión que se pueden usar, aunque no es necesario, 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 al lecho de próstata en un año antes del tratamiento, (d) tratamiento con fármacos inmunosupresores tales como ciclosporina u hormona adrenocorticotrópica (ACTH) o que requieren tratamiento crónico con corticosteroides, (e) enfermedad autoinmune o de inmunodeficiencia conocida, o (f) enfermedad cardíaca clínicamente significativa o infección activa. Una vez más, estos criterios de exclusión son solamente ejemplos. Por ejemplo, los individuos tanto con cáncer de próstata como con enfermedad cardíaca clínicamente significativa se pueden tratar con los métodos de la presente divulgación en casos individuales.

XV. Efectos del Tratamiento

El tratamiento con las formulaciones a base de MUC-1 que se describen en la presente memoria puede dar lugar a diversos efectos. Uno de los efectos del tratamiento de un individuo al que se ha diagnosticado NSCLC, específicamente un individuo al que se ha diagnosticado NSCLC en estadio IIIB, con la formulación a base de MUC-1 es un aumento de la duración de la supervivencia. Del mismo modo, la administración a un individuo de la formulación a base de MUC-1 descrita puede influir en esa "calidad de vida" o "calidad de vida relacionada con la salud" de ese individuo. Un aumento de la supervivencia, así como un impacto en la calidad de vida, también se pueden observar en los individuos tratados con cáncer de próstata. Además, en determinados individuos con cáncer de próstata, el tratamiento con la formulación a base de MUC-1 dará como resultado un PSA más bajo, PSA estabilizado o tasas de duplicación de PSA disminuidas.

Se pueden hacer comparaciones de los efectos del tratamiento con formulaciones a base de MUC-1 entre los individuos tratados y los individuos que no se someten a cuidados o los individuos que se someten a los mejores cuidados paliativos (BSC). BSC comprende muchos tipos alternativos de cuidados que no incluyen el tratamiento con la formulación a base de MUC-1. Por ejemplo, BSC, aunque normalmente discrecional dependiendo de las circunstancias, puede incluir apoyo psicosocial, analgésicos y apoyo nutricional. En algunos aspectos, se hará la comparación de los efectos del tratamiento entre los individuos que reciben diferentes cantidades de la formulación a base de MUC-1. En más aspectos adicionales, los individuos se someterán a BSC junto con el tratamiento con las formulaciones a base de MUC-1.

Antes del tratamiento de un individuo con las formulaciones a base de MUC-1 de la presente divulgación, los individuos se pueden someter a evaluación antes del tratamiento. Un ejemplo no limitante de una evaluación antes del tratamiento incluye una historia clínica completa y un examen físico. El examen físico puede incluir cosas tales como una exploración por CT o rayos X. Los individuos también se pueden someter a evaluaciones de tratamiento durante el transcurso del tratamiento. Una evaluación del tratamiento puede incluir el control de signos vitales del individuo, inspección de los lugares de inyección, y análisis de muestras de sangre.

Un individuo tratado también se puede evaluar mediante la determinación de: (a) el tamaño del tumor, (b) la localización del tumor, (c) el estadio ganglionar, (d) la velocidad de crecimiento del NSCLC o del cáncer de próstata, (e) la tasa de supervivencia del individuo, (f) los cambios en los síntomas de cáncer de pulmón o de cáncer de próstata del individuo, (g) los cambios en la concentración de PSA del individuo, (h) los cambios en la velocidad de duplicación de la concentración de PSA del individuo, o (i) cambios en la calidad de vida del individuo.

XVI. Mayor Tiempo de Supervivencia en Individuos con NSCLC mediante la Administración de Formulación a base de MUC-1 o Vacuna con Liposomas BLP25

Una de las ventajas para tratar un individuo con NSCLC o con cáncer de próstata con las formulaciones a base de MUC-1 de la divulgación es que el individuo puede tener un periodo de tiempo de supervivencia más largo que un individuo que no recibe tratamiento con las composiciones de la invención. Las tasas de supervivencia se pueden determinar por comparación del número actual de supervivientes con el número de individuos que comenzaron el tratamiento con la formulación a base MUC-1. En otros aspectos, las tasas de supervivencia se pueden comparar con las tasas de supervivencia publicadas para un tipo de cáncer en particular. En general, la tasa de supervivencia se puede medir en cualquier momento después del inicio del tratamiento.

Por ejemplo, la tasa de supervivencia se puede medir en menos de 6 meses después del el inicio 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 aumento de la tasa de supervivencia será prueba de que las formulaciones a base de MUC-1 están haciendo efecto en un individuo en particular.

XVII. Mantenimiento de la Calidad de Vida y Síntomas de Cáncer de Pulmón mediante la Administración de Formulaciones a base de MUC-1

Tal como se ha expuesto anteriormente, otra de las ventajas de tratar a un individuo con NSCLC o con cáncer de próstata con las formulaciones a base de MUC-1 de la divulgación es el mantenimiento o el aumento de la calidad de vida del individuo. Los médicos y los organismos reguladores reconocen que una "calidad de vida" de un individuo ("QoL") es un criterio de valoración importante en los ensayos clínicos sobre el cáncer. Véase, por ejemplo, Plunkett *et al*., Clin. Lung Cancer, 5 (1): 28-32 (2003), y Cella *et al*., J. Clin. Epidemiol., 55 (3): 285-95 (2002).

Cuatro de los indicadores de la calidad de vida más importantes son la función física y ocupacional, el estado psicológico, la interacción social, y las sensaciones somáticas. En este sentido, en los individuos con NSCLC, dos cuestionarios sobre el cáncer de pulmón, la Organización Europea para la Investigación y Tratamiento del Cáncer ("EORTC") y la Evaluación Funcional sobre la Terapia para el Cáncer ("FACT-L"), se pueden usar para evaluar la calidad de vida de un individuo, específicamente de un individuo, relacionada con la salud antes, durante, y después del tratamiento con las formulaciones a base de MUC-1 que se describen en el presente documento.

Se anticipa que los métodos de la divulgación se pueden usar junto con evaluaciones de acuerdo con diversas subescalas que controlan el Bienestar Físico de un individuo (PWB), Bienestar Social/Familiar (SWB), Bienestar Emocional (EWB), Bienestar Funcional (FWB), y subescala de Síntomas de Cáncer de Pulmón (LCS). Aunque la subescala de Síntomas de Cáncer de Pulmón se adapta obviamente a individuos con cáncer de pulmón, se pueden usar diferentes subescalas con diferentes tipos de cáncer. Por lo tanto, una subescala diferente se puede usar con individuos con cáncer de próstata. Dependiendo de qué puntuaciones de "Bienestar" se combinen, se puede obtener una "puntuación de FACT-L" (la suma de todas las subescalas) o una "Puntuación de Resultados del Ensayo (TOI)" (la suma de las subescalas PWB, FWB, y LCS). La TOI es un indicador fiable de un cambio significativo en la calidad de vida. Véase, Cella *et al*, mencionado anteriormente.

El individuo se puede evaluar con respecto a sus puntuaciones de FACT-L y TOI antes, durante y después del tratamiento con las formulaciones a base de MUC-1 de la divulgación. Por ejemplo, la puntuación de TOI se puede tomar en la medida inicial, es decir, antes del tratamiento, y a continuación a diversos intervalos después de que el tratamiento haya comenzado, es decir, a las 4 semanas, 8 semanas, 19 semanas, 31 semanas o 43 semanas, o

más. Estos diversos intervalos son solamente ejemplos y los indicadores de la calidad de vida se pueden tomar en cualquier momento apropiado. Por ejemplo, la primera puntuación de TOI se puede tomar después del primer tratamiento, en lugar de en la medida inicial. Entonces, se puede calcular el cambio en las puntuaciones entre diversos puntos de tiempo para determinar las tendencias relacionadas con la mejora, empeoramiento, o mantenimiento de la calidad de vida.

Se ha calculado que una disminución de 3 puntos o más a partir de la medida inicial de LCS es un empeoramiento clínicamente significativo de los síntomas de cáncer de pulmón y un aumento en 3 o más puntos es una mejoría clínicamente significativa de los síntomas del cáncer de pulmón. Del mismo modo para las puntuaciones de 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 mejora en la calidad de vida.

En algunos aspectos, una mejora clínica de los síntomas de cáncer de pulmón o de la calidad de vida demostrará que las formulaciones a base de MUC-1 están haciendo efecto en el individuo en particular.

Por lo tanto, la administración de las formulaciones a base de MUC-1 de la divulgación puede ser útil para mejorar o mantener la calidad de vida de los individuos tratados que tienen NSCLC o cáncer de próstata. En la medida del efecto de la calidad de vida, un tamaño del efecto se puede determinar a partir de la medida inicial o a partir de cualquier punto del tratamiento. En algunos aspectos, un tamaño del efecto entre 0,2 y < 0,49 indica un efecto pequeño, de 0,5 a 0,79 indica un efecto moderado, y 0,8 o superior indica un gran efecto. Estos números son solamente ejemplos y el tamaño del efecto puede cambiar con el tratamiento de determinados individuos.

La administración de las formulaciones a base de MUC-1 también puede ser útil en la prevención del empeoramiento de la calidad de vida observado en el tiempo en muchos pacientes con cáncer. Por ejemplo, la administración de una formulación a base de MUC-1 tal como la vacuna con liposomas BLP25 puede dar como resultado índices de calidad de vida que permanecen básicamente invariables o no alcanzan el nivel de empeoramiento o de mejora de la calidad de vida.

En un aspecto, la presente divulgación incluye la mejora o el mantenimiento de la calidad de vida o la mejora o la estabilización de los síntomas del cáncer de pulmón en un individuo al que se ha diagnosticado NSCLC mediante la determinación de las puntuaciones de TOI o de LCS del individuo antes, durante, y después del tratamiento con la formulación a base de MUC-1 con BLP25 que se describe en el presente documento.

XVIII. Disminución del Tiempo de Duplicación de PSA

En algunos aspectos, el tratamiento de individuos con cáncer de próstata con las formulaciones a base de MUC-1 de la divulgación dará como resultado una disminución de las concentraciones de PSA, una estabilización de las concentraciones de PSA, o una disminución del tiempo de duplicación de PSA. En general, el efecto de las formulaciones a base de MUC-1 sobre las concentraciones de PSA o sobre el tiempo de duplicación de PSA se puede medir en cualquier momento. Por ejemplo, aunque las concentraciones de PSA después del tratamiento se pueden comparar con un valor de la medida inicial, la concentración de PSA también se puede comparar entre los puntos de tratamiento o entre un punto de tratamiento específico y el final del tratamiento. En ciertos aspectos, la respuesta de PSA se confirmará durante el tratamiento.

XIX. Evaluación del Tratamiento Usando la Función Inmune

En algunos aspectos, la respuesta de los individuos a formulaciones a base de MUC-1 se medirá usando ensayos de la función inmune, tales como ensayos de respuesta de proliferación de linfocitos T. En algunos aspectos, los resultados de los ensayos de respuesta de proliferación de linfocitos T se usarán para determinar si el tratamiento con la formulación a base de MUC-1 está haciendo efecto en un individuo. Los resultados de estos ensayos también se pueden usar para determinar la respuesta individual a las formulaciones durante diferentes puntos de tiempo durante el transcurso del tratamiento.

Los ensayos para medir linfocitos T proliferativos no se limitan particularmente y se pueden conseguir mediante cualquier método conocido en la técnica. La comparación de la respuesta de proliferación de linfocitos T se puede iniciar para comparar el tratamiento previo frente a la respuesta después del tratamiento así como para comparar las respuestas inmunes en el tratamiento.

XX. Otros Cánceres

La presente divulgación también abarca el tratamiento de otros cánceres además de NSCLC y cáncer de próstata con las formulaciones a base de MUC-1 que se describen en el presente documento.

Cualquier individuo que tiene un cáncer que expresa MUC-1 puede ser objeto de tratamiento con las formulaciones a base de MUC-1. Por ejemplo, un individuo con un adenocarcinoma que expresa una proteína MUC-1 puede ser objeto de tratamiento con la vacuna con liposomas BLP25. Los ejemplos de adenocarcinomas incluyen, pero sin limitación, cáncer de ovario, cáncer de hígado, por ejemplo, colangiocarcinomas invasivos del hígado, cáncer de colon, cáncer de mama, cáncer de páncreas, por ejemplo, carcinomas ductales invasivos del páncreas, y cáncer de

riñón. Otro cáncer que expresa MUC-1 es el cáncer de cabeza y cuello.

Los ejemplos que siguen a continuación pretenden ilustrar pero no limitar la invención.

Ejemplo 1

Estudio en Fase II de Vacuna MUC1 Liposomal para Tratamiento de NSCLC

Este ejemplo demuestra los efectos de una vacuna L-BLP25 sobre el tratamiento de individuos con NSCLC en estadio IIIB locorregional o en estadio IV.

Los pacientes tratados con la vacuna L-BLP25 demostraron un aumento de las tasas de supervivencia. Además, una clara ventaja de la adición de la vacuna con liposomas BLP25 a los mejores cuidados paliativos en comparación con los mejores cuidados paliativos solos se demostró mediante el mantenimiento del bienestar físico estable durante todo el tratamiento y todas las fases mantenimiento de terapia y mantenimiento de la calidad de vida de los individuos, tal como se mide con la puntuación total FACT-L y el Índice de Resultados de Ensayo.

Métodos: El ensayo en Fase IIb sin ocultación, controlado admitió a 171 pacientes. De los 171 pacientes admitidos, 65 tenían enfermedad locorregional IIIB. De estos, 35 se asignaron al azar al tratamiento y 30 se asignaron al azar a los mejores cuidados paliativos. Los grupos estaban bien equilibrados en términos de edad y origen étnico. Más mujeres y pacientes con ECOG 0 se asignaron al azar a tratamiento frente a los mejores cuidados paliativos (BSC) (51,4 % y 36,7%, y 40,0% y 26,7 %) y más pacientes en el grupo de tratamiento recibieron radioterapia, además de quimioterapia, para el tratamiento del cáncer antes de la admisión en el ensayo (un 91,4 % frente a un 76,7 %).

La vacuna L-BLP25 usada en este experimento en particular era una preparación liofilizada que consiste en (1) 1000 μg de un lipopéptido BLP25, por ejemplo, un péptido de MUC-1 que comprende la SEC ID Nº: 2, (2) 500 μg de monosfosforil lípido A inmunoadyuvante, y (3) tres lípidos: (i) 17,3 mg de colesterol, (ii) 3,6 mg de dimiristoil fosfatidilglicerol, y (iii) 29,1 mg de dipalmitoil fosfatidilcolina formando un producto liposomal.

Todos los pacientes en el grupo L-BLP25 recibieron al menos cinco vacunas, un 96,6 % de estos pacientes completó la fase primaria y un 69,3 % continuó a la fase de mantenimiento del plan de tratamiento. La terapia de segunda línea durante el estudio consistió principalmente en quimioterapia (segunda o tercera línea), radioterapia y cirugía. Durante el periodo 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 al periodo de mantenimiento del estudio, 43 pacientes en el grupo L-BLP25 y 45 pacientes en el grupo BSC recibieron terapia de segunda línea.

Para mejorar la estimulación antigénica de un mayor número de ganglios linfáticos de drenaje, la vacuna se administró a cuatro sitios anatómicos. La dosis de L-BLP25 de 1000 μg se administró en cuatro inyecciones subcutáneas de 0,5 ml, conteniendo cada inyección una cuarta parte de la dosis total. Las subdosis se administraron en la región deltoidea o tríceps de los brazos superiores, y los aspectos anterolateral izquierdo y derecho del abdomen.

Generalmente, tal como se usa en este ejemplo, el tiempo de supervivencia se define como el tiempo a partir de la fecha de asignación al azar hasta la fecha de la muerte. Para los pacientes vivos o perdidos durante el seguimiento en el momento del análisis, el intervalo entre la fecha de la asignación al azar y la fecha en la que se supo por última vez que el paciente estaba vivo se calculó y se usó como una observación censurada en el análisis. En este ejemplo, la supervivencia se controló en intervalos de tres meses durante 12 meses después de la finalización del reclutamiento de pacientes.

Un cuestionario de calidad de vida de FACT-L se proporcionó a todos los pacientes en momentos específicos. El análisis de la calidad de vida incluía la evaluación de las puntuaciones medias de cambios individuales de FACT-L a partir de la medida inicial hasta la semana cuatro y la semana ocho, la representación gráfica de las puntuaciones de la calidad de vida en el tiempo, y el análisis del área bajo la curva para las puntuaciones totales y de la subescala. El tamaño del efecto de los cambios de la calidad de vida entre grupos de tratamiento se determinó a partir de la medida inicial. Un tamaño del efecto entre 0,2 y < 0,49 indica un efecto pequeño, de 0,5 a 0,79 indica un efecto moderado, y 0,8 o superior indica un gran efecto.

Resultados: Tal como se muestra en la Figura 2, la supervivencia de dos años observada para pacientes locorregionales en estadio IIIB es de 60 % para el grupo de la vacuna frente a 36,7 % para el grupo de control, lo que demuestra un aumento significativo de la esperanza de vida de 23,3 %. En la población general de pacientes, la supervivencia a los dos años es de 43,2 % para el grupo de la vacuna frente a 28,9 % para el grupo de control, lo que demuestra un aumento de la esperanza de vida de 14,3 %. Véase la Fig. 1. La supervivencia mediana de pacientes locorregionales en estadio IIIB que experimentan solamente los mejores cuidados estándar fue similar a la supervivencia global media de todo el grupo que recibió solo el mejor cuidado convencional a los 13,3 meses. Por el contrario, la supervivencia global mediana para pacientes locorregionales en estadio IIIB sometidos a tratamiento con L-BLP25 se ha mantenido sin cubrir con una media mínima de 24 meses, lo que demuestra *un aumento de la esperanza de vida de al menos 10,7 meses*. Esto es sorprendente e inesperado, ya que antes de la introducción de las composiciones de MUC-1 de la divulgación, ninguna opción de tratamiento viable para esta categoría de

pacientes ha podido producir dichos resultados.

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 una mejora clínicamente significativa o no cambiaron en comparación con los pacientes del grupo BSC. En el único grupo de BSC, más pacientes demostraron un empeoramiento clínicamente significativo en el Índice de Resultados del Ensayo (TOI).

Método: Se realizó análisis de comparación de la enfermedad locorregional en estadio IIIB (LR) y del subgrupo (PE)/IV con derrame pleural maligno en estadio IIIB entre pacientes con tratamiento y solamente con BSC para la puntuación total de FACT-L, las diversas subescalas y TOI usando un ensayo de T. Una puntuación de cambio Total/TOI negativa indica un empeoramiento en la calidad de vida, mientras que una puntuación de cambio total/TOI positiva indica una mejora. El análisis de subgrupos indica una mejor calidad de vida para los pacientes con LR en estadio IIIB tratados con L-BLP25. Esto es coherente con los datos previos que demuestran una mejoría clínicamente significativa en la supervivencia en pacientes con LR en estadio IIIB tratados con BLP25 (p = 0,0692).

Los resultados de las comparaciones de la Calidad de Vida se muestran en la Tabla 1 que sigue a continuación:

Tabla 1: Comparación de la Calidad de Vida de FACT-L en el estudio de NSCLC

Calidad de Vida	TX IIIBLR	BSC IIIBLR	P	TX IIIBPE/IV	BSC IIIBPE/IV	P
Puntuación Total de FACT-L						
Δ a partir de la Medida Inicial en la semana 19	0,6 ± 12,1	-7,5 ± 12,7	0,027	-0,2 ± 13,2	-8,6 ± 22,2	0,072
Δ a partir de la Medida Inicial en la semana 31	2,9 ± 14,2	-8,0 ± 9,0	0,008	-2,4 ± 10,3	-0,7 ± 17,0	0,737
TOI						
Δ a partir de la Medida Inicial en la semana 19	0,5 + 8,2	-6,5 ± 10,9	0,014	-1,0 ± 10,6	-6,6 ± 15,0	0,110
Δ a partir de la Medida Inicial en la semana 31	1,2 ± 10,2	-6,5 ± 8,3	0,016	-1,3 ± 8,7	-2,4 ± 10,5	0,761

Diseño del Estudio

Semana -2: Administración de un cuestionario de calidad de vida de FACT-L.

Semana -2: Los pacientes se asignaron al azar a L-BLP25 más el mejor nivel de atención o el mejor nivel de atención solo (el mejor nivel de atención incluye radioterapia paliativa y/o quimioterapia de segunda línea de acuerdo con la práctica clínica convencional actual y también puede incluir apoyo psicosocial, analgésicos y apoyo nutricional).

Semana -2: Evaluación del tratamiento previo (historia completa, examen físico, y estudios de laboratorio clínico). Se realizaron evaluaciones de otros sitios potenciales de la enfermedad, si se justificaban clínicamente, para descartar la enfermedad progresiva en otras áreas. Se requirió que las mujeres en edad fértil presentaran un test de embarazo negativo (HCG) antes del tratamiento.

Día -3: Los pacientes del grupo de tratamiento recibieron una sola dosis intravenosa de 300 mg/m^2 de ciclofosfamida.

Semanas 0 a 7: Vacunas Nº 1 a Nº 8 de L-BLP25 (periodo de tratamiento primario). Se evaluaron los signos vitales y se inspeccionaron los sitios de inyección previa de los pacientes en el grupo L-BLP25 antes de cada tratamiento de L-BLP25. Además, se controlaron los signos vitales una hora después de cada tratamiento de L-BLP25. Se proporcionó a los pacientes tarjetas diarias después de cada vacuna para registrar cualquier suceso adverso y los sitios de inyección previa se evaluaron en cada visita posterior. La toxicidad se clasificó de acuerdo con los Criterios Expandidos de CALGB.

Semana 4: Evaluación del tratamiento y seguridad y análisis de sangre de inmunología para pacientes en el grupo

de tratamiento: Cuestionario de calidad de vida de FACT-L para todos los pacientes.

Semana 8: Evaluación del tratamiento (examen físico, estado de ECOG, signos vitales, inspección del sitio de tratamiento para el grupo L-BLP25, y evaluación de sucesos adversos). Además, se extrajeron muestras de sangre y se analizaron para seguridad convencional (hematología y química) así como la respuesta inmune. Cuestionario de calidad de vida de FACT-L para todos los pacientes.

Semana 19+: Vacunas de mantenimiento (intervalos de 6 semanas) y evaluaciones del tratamiento (intervalos de 12 semanas). Se realizaron evaluaciones de tratamiento y extracción de sangre de seguridad de los pacientes en el grupo L-BLP25 en cada vacuna de mantenimiento, así como un examen del perfil de inmunología una semana después de la primera vacuna de mantenimiento. Cuestionario de calidad de vida de FACT-L para todos los pacientes.

Población de Pacientes

Criterios de Inclusión

1. Hombres y mujeres mayores de 18 años de edad con NSCLC cuya enfermedad era estable o que habían respondido al tratamiento después de la finalización de su primera quimioterapia convencional de primera línea.

2. Estado funcional de los Grupos de Oncología Cooperativa del Este (ECOG) de ≤ 2, con un recuento de neutrófilos ≥ 1,5 x 10^9/l; recuento de plaquetas ≥ 100 x 10^9/l; WBC ≥ 2,5 x 10^9/l y hemoglobina de 90 g/l.

3. Supervivencia esperada de cuatro meses.

4. Entendieron y firmaron un consentimiento por escrito.

Criterios de Exclusión

1. Cirugía o inmunoterapia en cuatro semanas antes de la entrada en el estudio.

2. Fármacos inmunosupresores que incluyen corticosteroides sistémicos en tres semanas antes de la entrada en el estudio.

3. Historia anterior o actual de neoplasia distinta al carcinoma de pulmón.

4. Enfermedad autoinmune o enfermedad de inmunodeficiencia reconocida.

6. Disfunción hepática o renal clínicamente significativa.

7. Enfermedad cardíaca significativa o infección activa, o pacientes que habían experimentado esplenectomía.

Tabla 2: Características de Pacientes del Estudio de NSCLC

	L-BLP25 + BSC	**BSC**	**Total**
	N = 88	**N = 83**	**N = 171**
Edad en el Momento de la Asignación al Azar: (años)			
Mediana	59,5	59	59
Género: N (%)			
Femenino	36 (40,9)	40 (48,2)	76 (44,4)
Masculino	52 (59,1)	43 (51,8)	95 (55,6)

Tabla 2: Características de Pacientes del Estudio de NSCLC

	L-BLP25 + BSC	**BSC**	**Total**
	N = 88	**N = 83**	**N = 171**
Estado funcional del 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)
Estadio de la Enfermedad: N (%)			
LR en IIIB	35 (39,8)	30 (36,1)	65 (38)
MPE en IIIB 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 o CR)	49(55,7)	45 (54,2)	94 (55,0)

Ejemplo 2

Ensayos de Respuesta de Proliferación de Linfocitos T

Este ejemplo demuestra que las formulaciones de MUC-1 de la divulgación eran directamente responsables del aumento de la supervivencia mediana que se muestra en el Ejemplo 1.

Se realizaron ensayos de linfoproliferación usando los pacientes inscritos en el estudio del Ejemplo 1 para controlar la respuesta TH específica del antígeno MUC1 (proliferación de linfocitos T auxiliares) antes y después de las vacunas para medir la dinámica de la respuesta inmune celular anti-MUC1 del paciente. Se realizaron ensayos de proliferación de linfocitos T en pacientes en el grupo L-BLP25 tanto antes de la inmunización como en varios puntos de tiempo después de la inmunización.

De los pacientes en el grupo L-BLP25, 78 se evaluaron con respecto a una respuesta proliferativa de linfocitos T. Se determinó que dieciséis pacientes tenían una respuesta proliferativa de linfocitos T específicos de MUC1 positiva que era inducida por la vacuna L-BLP25 (la respuesta no existía antes de la inmunización). De los dieciséis pacientes que desarrollaron una respuesta inmune, dos tenían enfermedad locorregional en estadio IIIB, teniendo el resto de pacientes enfermedad en estadio IV. La supervivencia mediana de los pacientes en el grupo L-BLP con una respuesta proliferativa positiva fue de 27,6 meses, mientras que los pacientes con una respuesta proliferativa negativa tuvieron una supervivencia media de 16,7 meses. Estos resultados demuestran que la formulación de MUC-1 de la divulgación era responsable directamente del aumento de la supervivencia mediana de la esperanza de vida de 10,9 meses.

Ejemplo 3

Estudio en Fase II de Vacuna de MUC1 Liposomal en Prostatectomía Post-radical con Insuficiencias de PSA (RP)

Este ejemplo muestra los efectos inmunoterapéuticos de la vacuna L-BLP25 en los niveles de PSA en hombres con un aumento de PSA después de la prostatectomía radical.

Al final del periodo de tratamiento primario (semana 8), 8/16 pacientes tenían PSA estable. Un paciente mantuvo PSA estable hasta el final del periodo de estudio (semana 49). Hubo una prolongación notable en el tiempo de duplicación de PSA ("PSADT") de todos menos uno de los pacientes inscritos. El tiempo de duplicación es el periodo de tiempo que se necesita para que el nivel de PSA de un individuo se duplique y es un factor usado para predecir la supervivencia después de la cirugía en individuos con cáncer de próstata. Los datos actuales muestran que, en 6/16 pacientes, el tiempo de duplicación superó 50 %.

Métodos: Se inscribieron hombres con insuficiencia bioquímica tal como se pone en evidencia con 3 aumentos en

PSA después de la prostatectomía. Esto incluyó dieciséis pacientes, con una edad mediana de 60, una puntuación ECOG de 0 o 1, y una puntuación de Gleason mediana de 7. Los criterios de valoración primarios fueron eficacia (tal como se mide con la respuesta de PSA) y seguridad de una vacuna liposomal MUC 1 (L-BLP25). También se evaluaron los cambios en el tiempo de duplicación de PSA (PSADT). Los pacientes recibieron una sola dosis intravenosa de 300 mg/m^2 de ciclofosfamida (CTX) seguido de 8 vacunaciones subcutáneas semanalmente con L-BLP25 que contenían 1.000 μg de antígeno (tratamiento). Las vacunaciones posteriores se administraron a intervalos de 6 semanas hasta la semana 49 (mantenimiento). Se midieron las concentraciones de PSA durante las fases de tratamiento y mantenimiento y PSADT se calculó para estos intervalos y se comparó con PSADT antes de la inscripción.

Los 16 pacientes recibieron CTX y 15/16 completaron el periodo de tratamiento. Diez pacientes completaron el periodo de mantenimiento. Los sucesos adversos más comunes después del tratamiento fueron náuseas (31 %) y fatiga (25 %); sin embargo, ninguno de estos efectos adversos fueron peores que el grado 1.

Resultados: Después de la inducción, 8/15 pacientes evaluables tuvieron una estabilización o disminución de PSA (según la definición del Grupo de Trabajo de PSA). En la última medición de PSA durante el estudio, un paciente mantuvo PSA estable. 6/15 pacientes tuvieron una prolongación > 50 % de PSADT en comparación con PSADT antes del estudio.

La evaluación del criterio de valoración primario de la estabilización o la reducción de PSA en esta población individual mediante el uso de la vacuna L-BLP25 fue tal como sigue a continuación:

- 8/16 individuos presentaban estabilidad de PSA después del periodo de tratamiento primario;
- 1/16 individuos mantuvieron la estabilidad de PSA hacia el final del periodo de mantenimiento; y
- PSADT se prolongó en 14/15 sujetos mediante el uso de vacuna; 6/16 individuos presentaron prolongación de PSADT en > 50 %.

Diseño del Estudio:

Semana -2: Evaluación antes del tratamiento (examen físico, medida de la concentración de PSA, CT pélvica, y exploración ósea).

Día -3: Tratamiento previo con ciclofosfamida.

Semanas 0 a 7: Vacunas Nº 1 y Nº 8 de L-BLP25 (periodo de tratamiento primario).

Semana 8: Evaluación del periodo de tratamiento primario incluyendo respuesta de PSA.

Semana 13: Confirmación de la respuesta de PSA.

Semanas 13, 19, 25, 31, 37, 43 y 49: Vacunas Nº 9 a Nº 15 de L-BLP25 (periodo de mantenimiento).

Semana 43: Evaluación de la respuesta de PSA.

Semana 49: Confirmación de la respuesta de PSA.

Semana 50: Evaluación del tratamiento de mantenimiento.

Población Individual:

Criterios de Inclusión

1. Prostatectomía radical al menos 6 meses antes de la entrada en el estudio.

2. Tres valores consecutivos de PSA en suero aumentados en después de prostatectomía radical con al menos un aumento de 50 % por encima del punto más bajo después de la prostatectomía.

3. Sin pruebas de enfermedad maligna en las evaluaciones antes del tratamiento tal como se demuestra por CT pélvica negativa y exploración.

4. Estado funcional del ECOG de 0, 1.

5. Ensayos hematológicos, hepáticos y de función renal normales.

6. Entender y firmar un consentimiento informado por escrito.

7. Testosterona en suero dentro del intervalo normal para todos los pacientes que nunca se han tratado con terapia hormonal para el cáncer de próstata (es decir, tratamiento neoadyuvante antes de RP).

Criterios de Exclusión

1. Terapia hormonal en 6 meses antes de la entrada en el estudio.

2. Inmunoterapia en 4 semanas antes de la entrada en el estudio.

3. Radioterapia en el lecho de la próstata en un año antes de la entrada en el estudio.

4. Tratamiento con fármacos inmunosupresores tales como ciclosporina u hormona adrenocorticotrópica (ACTH) o que necesitaron tratamiento crónico con corticosteroides.

5. Enfermedad autoinmune o enfermedad de inmunodeficiencia conocida.

6. Enfermedad cardíaca o infección activa clínicamente significativa.

Tabla 3: Características de Pacientes del Estudio de Cáncer de Próstata

Edad (años):	
n	16
Media ± D.T.	60,4 ± 7,7
Mediana	60,0
25 % / 75 %	54,5 / 66,0
Intervalo	de 46,0 a 74,0
Estado Funcional de ECOG:	n (%)
0	13 (81 %)
1	3 (19 %)
Grado de Gleason:	
6	3 (19 %)
7	10 (63 %)
8	3 (19 %)

Diagnóstico Inicial para la Entrada en el Estudio (años):	
Media ± D.T.	3,8 ± 2.5
Mediana	3,2
Intervalo	de 1,0 a 9,5
Punto más bajo después de la Prostatectomía en la Entrada en el Estudio (años):	
Media ± D.T.	3,1 ± 2,3

Tabla 3: Características de Pacientes del Estudio de Cáncer de Próstata

Mediana	2,8
Intervalo	de 0,6 a 9,1
PSA de la medida inicial en 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)
Vacunas del Periodo de Tratamiento Primario	
1	16 (100,0)
2	16 (100,0)
3	16 (100,0)
4	16 (100,0)
5	16 (100,0)
6	16 (100,0)
7	15 (93,8)
8	15 (93,8)
Vacunas del Periodo 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

Cambio en PSA a partir de la Medida Inicial en la Semana 8

(periodo de tratamiento primario)

Por Paciente

Número del Sujeto	PSA de la Medida Inicial (μg/l)	PSA en la Semana 8 (μg/l)	Respuesta en la Semana 8
001	20,00	No alcanzaron 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
015	1,80	1,90	PSA estable
016	0,38	0,34	PSA estable

Sucesos Adversos

Número Total de Pacientes con Sucesos Adversos, n (%) 14 (87,5) Pacientes que Presentan Sucesos Adversos con una Frecuencia de un10 % o Superior

Náuseas	5 (31,3)
Fatiga	4 (25,0)
NOS con Diarrea (no especificado de otro modo)	3 (18,8)
Enfermedad similar a la gripe	3 (18,8)
Nasofaringitis	3 (18,8)
Estreñimiento	2 (12,5)
NOS Con Dolor de cabeza	2 (12,5)
NOS con Dolor	2 (12,5)

Seis de dieciséis pacientes no presentaron reacciones en el sitio de la inyección de ningún tipo. Nueve pacientes presentaron eritema. No aparecieron ulceraciones. No se produjeron sucesos que fueran graves o que excluyeran vacunas adicionales.

Tabla 5: TIEMPO DE DUPLICACIÓN DE PSA

ID del Paciente	**PSADT en Intervalo A** (días)	**PSADT en Intervalo B** (días)	**Diferencia de 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 = Estudio previo (a partir del primero de 3 PSA de estudio previo crecientes consecutivos antes de la entrada en el estudio en la medida inicial)

Intervalo B = Mantenimiento (a partir de la Semana 8 hasta el final del estudio)

Tal como se entenderá, todos los intervalos que se divulgan en el presente documento también incluyen todos y cada uno de los posibles subintervalos y combinaciones de subintervalos de los mismos. Por lo tanto, se puede reconocer fácilmente que cualquier intervalo enumerado describe y permite suficientemente que el mismo intervalo se desglose en al menos mitades iguales, tercios, cuartos, quintos, décimos, etc. Como un ejemplo no limitante, cada intervalo que se analiza en el presente documento se puede desglosar fácilmente en un tercio inferior, tercio medio y tercio superior, etc. Además, tal como se entenderá, todas las expresiones tales como "hasta", "al menos", "superior a", "inferior a", "más que" y similares incluyen el número mencionado y se refieren a los intervalos que se pueden desglosan posteriormente en subintervalos tal como se ha analizado anteriormente. De la misma forma, todas las relaciones que se divulgan en el presente documento también incluyen todas las subrelaciones que entran dentro de una relación más amplia.

Además, cuando se agrupan miembros entre sí de manera común, tal como en un grupo Markush, la presente invención abarca no solamente el grupo completo enumerado en su totalidad, sino cada miembro del grupo individualmente y todos los posibles subgrupos del grupo principal. En consecuencia, para todos los fines, la presente invención abarca no solamente el grupo principal, sino también el grupo principal sin uno o más de los miembros del grupo. La presente invención también prevé la exclusión explícita de uno o más de cualquiera de los miembros del grupo en la invención reivindicada.

A menos que se especifique de otro modo, "un" o "uno" se refiere a "uno o más".

REIVINDICACIONES

1. Una formulación a base de MUC-1 que comprende un liposoma que comprende al menos un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos de MUC-1 lipidada de SEC ID Nº: 1 o 2, para uso en el tratamiento de cáncer de próstata.

2. La formulación a base de MUC-1 para uso en el tratamiento de cáncer de próstata de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la formulación a base de MUC-1 comprende adicionalmente al menos un adyuvante, en la que opcionalmente:

(a) el adyuvante es un lípido A, o en la que
(b) el adyuvante es un dipéptido de muramilo, o en la que
(c) el adyuvante es una citocina.

3. La formulación a base de MUC-1 para uso en el tratamiento de cáncer de próstata de acuerdo con la reivindicación 2, en el que el adyuvante es monofosforil lípido A o interleucina-2.

4. La formulación a base de MUC-1 para uso en el tratamiento de cáncer de próstata de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende adicionalmente uno o más lípidos liposomales adicionales.

5. La formulación a base de MUC-1 para uso en el tratamiento de cáncer de próstata de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en la que la formulación a base de MUC-1 es para uso en la mejora o el mantenimiento de la calidad de vida de un individuo al que se ha diagnosticado cáncer de próstata, en el que dicho efecto sobre la calidad de vida se puede determinar a partir de la puntuación combinada del bienestar físico del individuo, bienestar funcional y síntomas de cáncer de próstata antes, durante y después del periodo de tiempo en el que al individuo se le había diagnosticado cáncer de próstata.

6. La formulación a base de MUC-1 para uso en el tratamiento de cáncer de próstata de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, en la que

(a) la cantidad de péptido MUC-1 es de aproximadamente 300 μg, o en la que
(b) la cantidad de péptido MUC-1 es de aproximadamente 800 μg a aproximadamente 1200 μg, o en la que
(c) la cantidad de péptido MUC-1 es de aproximadamente 900 μg, o en la que
(d) el adyuvante es lípido A.

7. La formulación a base de MUC-1 para uso en el tratamiento de cáncer de próstata de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos de SEC ID Nº: 1.

8. La formulación a base de MUC-1 para uso en el tratamiento de cáncer de próstata de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos de SEC ID Nº: 2.

9. La formulación a base de MUC-1 para uso en el tratamiento de cáncer de próstata de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 en la que la formulación a base de MUC-1 se administra por inyección, aerosol, administración nasal, o administración oral, y en la que la inyección es una inyección intramuscular, una inyección subcutánea o una inyección intradérmica.

10. La formulación a base de MUC-1 para uso en el tratamiento de cáncer de próstata de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 en la que la formulación a base de MUC-1 se administra durante un periodo de tiempo seleccionado entre el grupo que consiste en 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 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.

11. La formulación a base de MUC-1 para uso en el tratamiento de cáncer de próstata de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en la que la formulación es para uso en combinación con un tratamiento previo con ciclofosfamida.

12. La formulación a base de MUC-1 para uso en el tratamiento de cáncer de próstata de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en la que la formulación a base de MUC-1 es para uso en el tratamiento de cáncer de próstata en hombres con PSA creciente después de prostatectomía radical.

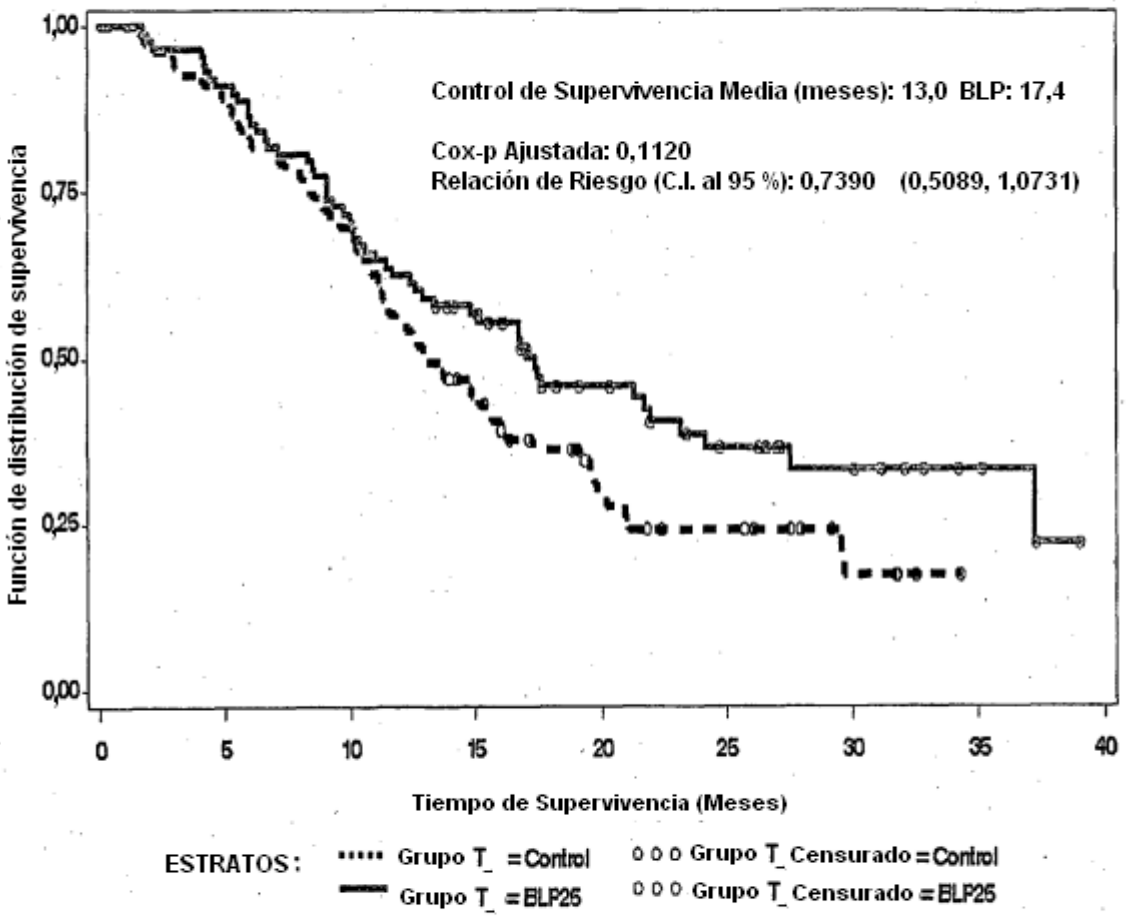
Control de Supervivencia Media (meses): 13,0 BLP: 17,4
Cox-p Ajustada: 0,1120
Relación de Riesgo (C.I. al 95 %): 0,7390 (0,5089, 1,0731)
Función de distribución de supervivencia
1,00
0,75
0,50
0,25
0,00
0
5
10
15
20
25
30
35
40
Tiempo de Supervivencia (Meses)
ESTRATOS:
Grupo T_ =Control
Grupo T_ =BLP25
Grupo T_ Censurado =Control
Grupo T_ Censurado =BLP25

FIGURA 1

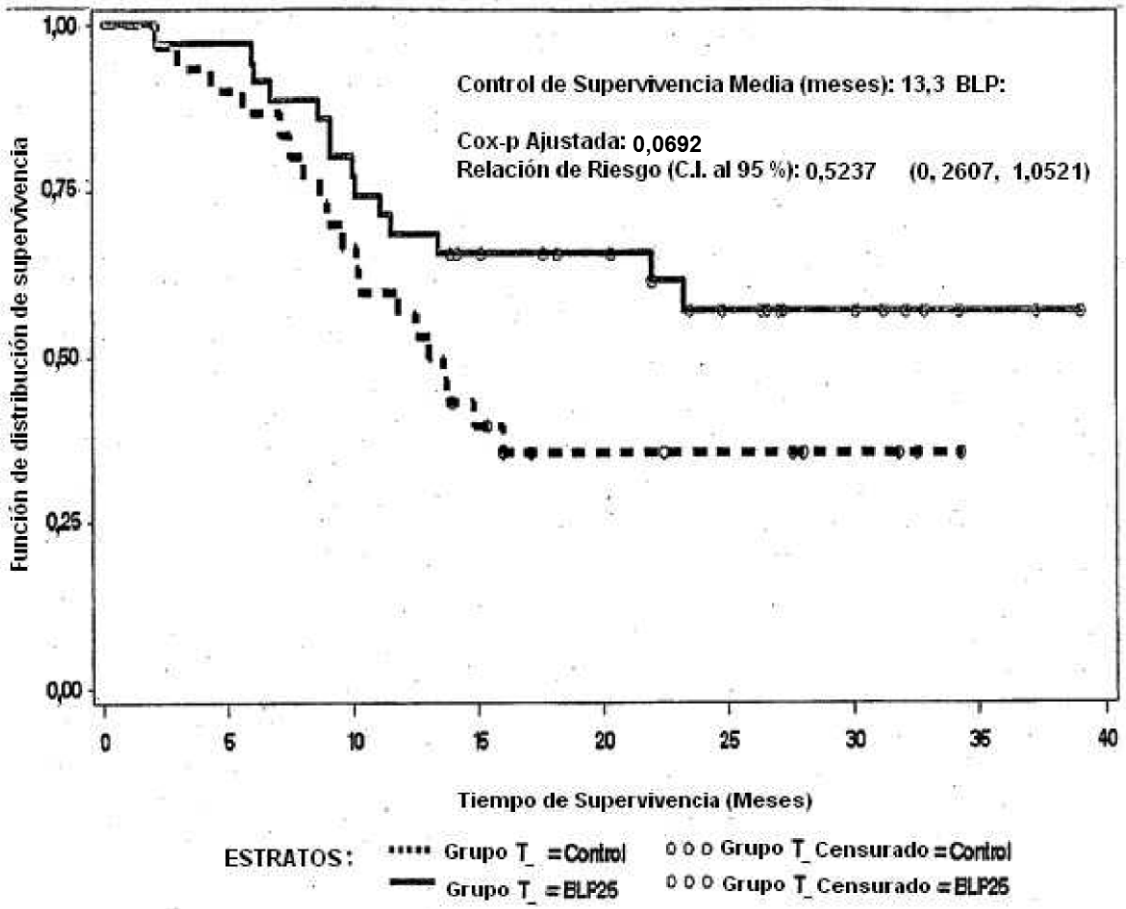
Control de Supervivencia Media (meses): 13,3 BLP:
Cox-p Ajustada: 0,0692
Relación de Riesgo (C.I. al 95 %): 0,5237 (0, 2607, 1,0521)
Función de distribución de supervivencia
1,00
0,75
0,50
0,25
0,00
0
5
10
15
20
25
30
35
40
Tiempo de Supervivencia (Meses)
ESTRATOS:
***** Grupo T_ =Control
Grupo T_ =BLP25
o o o Grupo T_ Censurado =Control
o o o Grupo T_ Censurado =BLP25

FIGURA 2

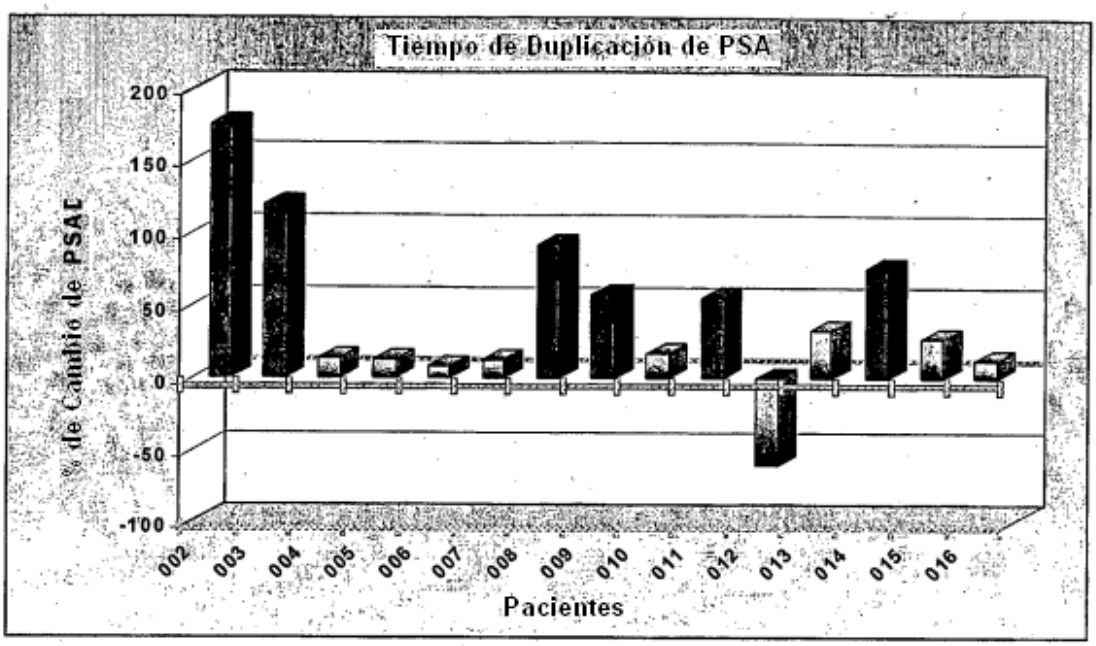
Tiempo de Duplicación de PSA
% de Cambio de PSAD
200
150
100
50
0
-50
-100
002
003
004
005
006
007
008
009
010
011
012
013
014
015
016
Pacientes

FIGURA 3