

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 568 755**

51 Int. Cl.:

A61K 38/20 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

A61P 1/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.08.2012 E 12745817 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.01.2016 EP 2739301**

54 Título: **Inmunoterapia para VHC**

30 Prioridad:

03.08.2011 EP 11306012

04.08.2011 US 201161514915 P

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

04.05.2016

73 Titular/es:

**CYTHERIS (100.0%)
175 Rue Jean-Jacques Rousseau
92130 Issy Les Moulineaux, FR**

72 Inventor/es:

**MORRE, MICHEL;
ASSOULINE, BRIGITTE;
CROUGHS, THÉRÈSE;
DEMOL, PIERRE y
BEQ, STEPHANIE**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 568 755 T3

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

DESCRIPCIÓN

Inmunoterapia para VHC

La presente invención se refiere al campo del tratamiento de la hepatitis C. Más concretamente, se proporciona una nueva terapia contra la hepatitis C, utilizando interleuquina-7 (IL-7).

5 **Antecedentes de la invención**

La hepatitis C es la principal causa de enfermedad hepática crónica y sus complicaciones, incluyendo la fibrosis hepática y la cirrosis, la insuficiencia hepática y el carcinoma hepatocelular.

10 El virus de la hepatitis C (VHC) es un problema importante de salud pública en todo el mundo. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que hasta 170 millones de personas en todo el mundo (3% de la población mundial) están infectados con el virus de la hepatitis C (VHC), más de 130 millones de esas personas están crónicamente infectados y en riesgo de desarrollar cirrosis hepática y cáncer de hígado. Alrededor de cuatro millones de personas se infectan con el VHC cada año (Organización Mundial de la Salud. Cánceres virales: Hepatitis C en línea www.who.int; OMS 2010).

15 El tratamiento convencional (SOC) actual para la erradicación del VHC del hígado consiste en interferón de tipo I pegilado (PegIFN) y terapia con el ribonucleótido sintético ribavirina (RBV) (Fried MW et al., *N Engl J Med* 2002; 347 (13): 975-82; EASL Clinical Practice Guideline: Management of hepatitis C virus infection, *J Hepatol.* 2011; 55: 245-264). Sin embargo, esta terapia convencional tiene una eficacia limitada e impredecible, un extenso perfil de toxicidad que con frecuencia conduce a la interrupción del tratamiento y es muy cara. Menos de la mitad de los individuos con infección crónica por el VHC de genotipo 1 y 4 responden al tratamiento a largo plazo (48 semanas) de la terapia convencional (PegIFN/RBV) (Testino G et al; *Hepatogastroenterology* 2011; 58 (106): 536-8).

20 El interferón (IFN) es una citoquina antiviral muy activa pero es linfopénica, con una escasa tolerancia clínica. Así, aunque el IFN muestra actividad antiviral, también bloquea la producción y mantenimiento de las células T de memoria centrales de protección a largo plazo. Esto se traduce en una alta frecuencia de recaídas en pacientes infectados por el VHC crónicos tratados con PegIFN/RBV. Además, en comparación con un grupo de control, el tratamiento prolongado con peginterferon en pacientes con hepatitis C crónica avanzada se asocia con el exceso de mortalidad general (Di Bisceglie AM et al; *Hepatology* 2011; 53 (4): 1100-8).

25 Se han desarrollado nuevos compuestos antivirales que tienen como diana la inhibición de las diferentes etapas del ciclo de vida del VHC. Varios de los nuevos fármacos antivirales (inhibidores de molécula pequeña de la replicación viral también referidos como antivirales de acción directa (AAD), incluyendo inhibidores de proteasa e inhibidores de polimerasa) para la hepatitis C, se encuentran actualmente en una fase avanzada de desarrollo. Telaprevir y Boceprevir han llegado al mercado (Ghany et al., *Hepatology* de 2011, 54(4): 1433-44). Estos nuevos agentes antivirales han sido sometidos a ensayo en monoterapia o en terapia de múltiples fármacos, con o sin la terapia convencional (PegIFN/RBV).

30 Sin embargo, la monoterapia antiviral de acción directa generalmente da como resultado el desarrollo de resistencia al fármaco que reduce considerablemente su eficacia y conduce al fracaso del tratamiento. La resistencia a fármacos es una limitación importante para el uso de AAD. Por ejemplo, la monoterapia con Telaprevir (un inhibidor de proteasa NS3/4) induce una disminución de la carga viral de cerca de 99% en el plazo de dos días desde el inicio de la terapia, pero con frecuencia, a pesar de continuar el tratamiento, hay un rebote en la carga viral en el plazo de diez días (Kieffer T. L. et al.; *Hepatology*; 2007 Septiembre; 46 (3): 631-9) debido a la aparición de resistencia al fármaco (Rong L et al.; *Sci Transl Med*; 5 Mayo 2010; 2(30): 30ra32). La infección crónica se mantiene gracias a una elevada tasa de mutación y un rápido recambio de los virus de la hepatitis C, sobre todo en el hígado. Esta alta variabilidad y diversidad del virus de la hepatitis C causa resistencia a una o múltiples clases de AAD. En consecuencia, la mayoría de los tratamientos fallan debido a la replicación de variantes resistentes a los agentes antivirales. Por otra parte, los fármacos antivirales de acción directa en monoterapia o en terapia combinada han mostrado su potencial para aumentar la tasa de respuesta y/o acortar la duración del tratamiento, pero sólo funcionan como un complemento en la terapia junto con PegIFN/RBV (McHutchison J.G. et al.; *N Engl J Med.* 2009; 360 (18): 1827-38). La eficacia de estas terapias combinadas sólo se ha demostrado para la infección por el genotipo 1. Además, inducen más efectos secundarios y aumentan el coste del tratamiento. Por último, su eficacia sigue siendo incierta en cuanto a los posibles problemas de resistencia a los fármacos.

35 También se encuentran en desarrollo varios agentes inmunomoduladores (entre los que se encuentran los anticuerpos monoclonales, las citoquinas tales como el nuevo interferón lambda, las vacunas, y los agonistas de TLR) capaces de estimular una respuesta inmunológica general y específica contra el VHC.

40 Varios grupos de científicos están trabajando actualmente para desarrollar vacunas basadas tanto en células T como en anticuerpos para prevenir y también para tratar la infección por el VHC, pero no existe ninguna vacuna hasta el momento. Además, no es posible desarrollar una vacuna que se dirija a todos los genotipos del VHC

debido al alto grado de diversidad genética exhibido por el virus.

La IL-7, una citoquina que es crítica para el desarrollo de células T y la homeostasis, ha mostrado una interesante actividad antiviral en modelos preclínicos de LCMV crónica (ratones infectados con el clon 13 de LCMV que presentan viremia persistente de alto nivel), pero esta actividad sólo se desarrolla a muy altas dosis de IL-7 que no son apropiadas para las pruebas en pacientes (Pellegrini M et al.; *Cell* 2011; 144 (4): 601-13).

A pesar del hecho de que las diversas terapias para controlar el virus se han mejorado en la última década, siguen existiendo limitaciones, entre las que se encuentran la duración del tratamiento; la eficacia del tratamiento en la curación de la hepatitis C crónica; la tolerabilidad al tratamiento, el coste excesivo y el acceso inadecuado. No todos los pacientes infectados por el VHC se benefician del tratamiento antiviral. Ninguno de los tratamientos propuestos hasta ahora son capaces de ofrecer una tasa de respuesta más amplia a muy corto plazo (semanas) - junto con un efecto prolongado que proporciona protección frente a las recaídas. Hoy en día, los pacientes infectados por el VHC no respondedores tienen opciones de tratamiento limitadas. Por lo tanto se requiere una terapia mejorada para el tratamiento de la infección por VHC y las enfermedades y muertes relacionadas con el VHC.

Compendio de la invención

15 La invención propone la inmunoterapia con IL-7 para estimular una respuesta inmunológica eficaz contra un virus HCV, combinada con un corto tratamiento antiviral que disminuye la concentración de virus VHC circulante.

La invención proporciona IL-7, para su uso en el tratamiento de la hepatitis C en un paciente infectado con virus de la hepatitis C, combinada o aplicada con posterioridad, con un agente antiviral o una combinación de agentes antivirales.

20 El agente antiviral o la combinación de agentes antivirales se encuentran en una cantidad terapéuticamente eficaz que reduce la carga viral del VHC a menos de 5 Log₁₀ UI/mL, preferiblemente menos de 4 Log₁₀ UI/ml, más preferiblemente menos de 3 Log₁₀ UI/mL.

Se utiliza la IL-7 en un paciente que ha sido tratado con un agente antiviral o una combinación de agentes antivirales, así como para reducir la carga viral, antes de la administración de IL-7.

25 Por lo tanto, se proporciona un nuevo régimen terapéutico para el tratamiento o la inhibición de la infección por hepatitis C en un sujeto humano que lo necesita, que comprende:

- la administración de un tratamiento antiviral para disminuir la carga viral de la hepatitis C y
- la administración de la composición farmacéutica de interleuquina-7 para restaurar las funciones inmunológicas y proporcionar una cura duradera después de la interrupción de la terapia.

30 El agente antiviral o combinación de agentes antivirales reducen la carga viral a menos de 5 Log₁₀ UI/mL, preferiblemente a menos de 4 Log₁₀ UI/mL, más preferiblemente a menos de 3 Log₁₀ UI/mL, antes de la administración de IL-7.

El agente antiviral se selecciona ventajosamente del grupo que consiste en un interferón, un inhibidor de proteasa, un inhibidor de polimerasa, un inhibidor de la entrada del virus, un inhibidor de helicasa, y ribavirina, o combinaciones de los mismos.

En otras palabras, la invención se refiere al uso de interleuquina-7 (IL-7), para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la hepatitis C en un paciente infectado con el virus de la hepatitis C, combinado con o utilizado posteriormente a, un agente antiviral o una combinación de agentes antivirales.

Se describe un método para tratar la hepatitis C en un paciente infectado con el virus de la hepatitis C (VHC), cuyo método comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente antiviral o de una combinación de agentes antivirales para reducir la carga viral del VHC, a la vez que se administra al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de IL-7 con el fin de estimular una respuesta inmunológica eficaz contra el virus residual.

El tratamiento con el agente antiviral o la combinación de agentes antivirales se inicia antes del tratamiento con IL-7, y se mantienen preferiblemente durante al menos parte del tratamiento con IL-7, preferiblemente durante 6 a 12 semanas.

La invención hace posible inducir una respuesta inmunológica antiviral amplia y estable que se dirige a muchas especies casi virales, bloqueando el escape viral por mutación, y previniendo la recaída por VHC después de completar o interrumpir el tratamiento.

50 La invención permite ampliar el repertorio de la respuesta inmunológica específica en los pacientes (es decir, la diversidad del repertorio TCR se amplía). Esto se traduce en la prevención de recaídas.

Se desarrolla una respuesta antiviral rápida y eficaz, y se obtiene el aclaramiento del virus. Además, se consigue una protección sostenida y apoyada por la producción de células T de memoria central de largo plazo específicas para el virus del anfitrión (paciente).

Leyendas de las figuras

5 La FIG. 1 es un gráfico que muestra la evolución de la carga viral del VHC tal como se determina mediante la cuantificación del ARN del VHC con el tiempo (días) en 12 pacientes sometidos a 52 semanas de terapia convencional pegIFN + RBV (ribavirina) (iniciada 9 semanas (mediana) antes de la terapia con IL-7 para confirmar la falta de respuesta a la terapia convencional), a lo que se añadió un ciclo corto de IL-7 (CYT107) (10 µg/kg, una vez a la semana, durante 4 semanas empezando el Día 0).

10 Los pacientes que aclararon el virus VHC disminuyeron su carga viral de VHC en 2 Log₁₀ UI/mL (mediana) entre el escrutinio y el D0 y tuvieron una carga viral inferior a 5 Log₁₀ UI/mL antes de la terapia con IL-7.

15 La FIG. 2 es un gráfico que muestra la evolución de la diversidad de células T en 12 pacientes sometidos a 52 semanas de terapia convencional pegIFN + RBV (ribavirina) (iniciada 9 semanas (mediana) antes de la terapia con IL-7 para confirmar la falta de respuesta a la terapia convencional), a lo que se añadió un ciclo corto de IL-7 (CYT107) (10 µg/kg, una vez por semana, durante 4 semanas empezando el Día 0).

De los pacientes, 5/12 eran divpénicos (con diversidad inferior del repertorio de linfocitos T), lo que implica que mostraban una reducción moderada a severa de la diversidad inmunológica, antes de la terapia con IL-7. Después de la terapia con IL-7, la diversidad normal de las células T fue restaurada en todos los pacientes y se mantuvo estable al menos hasta el D56.

20 Descripción detallada de la invención

En la presente memoria se describe un método para el tratamiento de la hepatitis C en un paciente infectado con un virus HCV, cuyo método comprende la administración de interleuquina-7 (IL-7) como un complemento de la terapia en dicho paciente.

25 Sorprendentemente, sometiendo a ensayo diversas asociaciones en diferentes poblaciones de pacientes, los autores de la presente invención han encontrado que mientras que la terapia con IL-7 parece inactiva en la infección crónica por VHC y no puede aclarar el virus en pacientes con cargas virales altas comúnmente observadas (es decir, el ARN de VHC es mayor que 5 Log₁₀ UI/mL, generalmente entre 5 y 7 Log₁₀ UI/ml), si se utiliza un agente antiviral para disminuir la carga viral a niveles moderados o bajos (es decir, el ARN de VHC es inferior a 5 Log₁₀ UI/mL, preferentemente inferior a 4 Log₁₀ UI/mL) en ese caso una terapia corta adicional con IL-7 puede (1) desarrollar una actividad antiviral interesante y aclarar rápidamente el virus en la mayoría de los pacientes, (2) aumentar el recuento, la diversidad y la funcionalidad las de células T, y, (3) inducir una respuesta inmunológica eficiente y estable, evitando la recaída por VHC después de la interrupción o de la finalización del tratamiento. La terapia con IL-7 adicional también puede prevenir la fibrosis asociada con la hepatitis C y minimizar el riesgo de cirrosis.

35 Esto fue bien demostrado en pacientes con hepatitis C crónica, previamente identificados como no respondedores a la terapia convencional (PegIFN/RBV), que mostraron una disminución moderada de la carga viral después de la reintroducción de la terapia convencional y aclararon el virus con la terapia adicional con IL-7 cuando la carga viral descendió por debajo de 4 Log₁₀ UI/mL.

40 La hepatitis C es una hepatitis viral resultante de una infección por un virus de la hepatitis C (VHC). Cualquier cepa o genotipo (1, 2, 3, 4, 5, 6) de HCV es contemplado en la presente memoria. Preferiblemente, el paciente está infectado con VHC de genotipo 1 o 4.

45 En el contexto de la invención, el término "tratar" o "tratamiento", según se utiliza en la presente memoria, representa la curación, reversión, alivio, inhibición del progreso, o la prevención del trastorno o afección al que se aplica dicho término, o uno o más síntomas de tal trastorno o afección. El término "curación" representa preferiblemente que se observa el aclaramiento del virus.

Por "reducción de la carga viral" se entiende la reducción de la cantidad de virus VHC circulante que se puede medir, por ejemplo, mediante RT-PCR cuantitativa. La carga viral se expresa en Log₁₀ UI/mL.

50 De acuerdo con la invención, el término "paciente" o "paciente que lo necesita" está destinado a un mamífero humano o no humano infectado o con probabilidad de ser infectado por el VHC. El paciente puede ser un hombre o una mujer, de cualquier edad, incluso en niños o adolescentes. El paciente puede ser asintomático, o puede mostrar signos tempranos o avanzados de hepatitis. En una realización particular, el paciente muestra una alta carga viral del VHC cuando se inicia el tratamiento con el agente antiviral. Una "alta carga viral de VHC" significa generalmente mayor de 2 Log₁₀ UI/mL, más preferiblemente mayor de 3 Log₁₀ UI/mL, más preferiblemente mayor de 4 Log₁₀ UI/mL, aún más preferiblemente mayor de 5 Log₁₀ UI/mL.

En otra realización, cualquier paciente, independientemente de su carga viral de VHC, puede beneficiarse del tratamiento de la invención.

Agentes antivirales:

5 La carga viral de VHC se reduce por debajo de aproximadamente 5 Log₁₀ UI/mL, preferiblemente por debajo de aproximadamente 4 Log₁₀ UI/mL, más preferiblemente por debajo de aproximadamente 3 Log₁₀ UI/ mL durante una primera fase de tratamiento con un agente antiviral o una combinación de agentes antivirales.

10 En una realización concreta, el agente antiviral puede incluir interferón, ribavirina, inhibidores de la proteasa de VHC, inhibidores de la polimerasa de VHC (incluyendo inhibidores nucleosídicos, nucleotídicos y no nucleosídicos de la polimerasa), inhibidores de la entrada de virus VHC, inhibidores de helicasa y una combinación de los mismos. El interferón (IFN) incluye, pero no se limita a, pegilado o no: IFN alfa que comprende una variante de IFN alfa tal como IFN alfa-2a o IFN alfa-2b, IFN lambda, o IFN omega, especialmente interferón alfa-2a, e incluso preferiblemente interferón alfa-2a pegilado, combinado o no con ribavirina. El interferón alfa-2a pegilado combinado con ribavirina es actualmente el tratamiento convencional. También se contemplan las combinaciones de interferón, asociado o no con ribavirina, con inhibidores de la proteasa de VHC o inhibidores de la polimerasa de VHC. 15 Alternativamente, las combinaciones de antivirales de acción directa (AAD), preferiblemente al menos un inhibidor de la proteasa de VHC y al menos un inhibidor de la polimerasa de VHC, se pueden usar como agentes antivirales.

20 En términos generales, el tratamiento antiviral puede comprender cualquiera de los fármacos mencionados a continuación, especialmente interferón, ribavirina, inhibidores de la proteasa de VHC, inhibidores de la polimerasa de VHC (incluyendo inhibidores nucleosídicos, nucleotídicos y no nucleosídicos de la polimerasa), inhibidores de la entrada, los inhibidores de helicasa, y otros agentes anti-hepatitis C, o combinaciones de los mismos: (1) de interferón y/o ribavirina; (2) inhibidores de la proteasa NS3 basados en el sustrato (documento WO 98/22496); (3) Inhibidores no basados en el sustrato tales como derivados de 2,4,6-trihidroxi-3-nitro-benzamida (Sudo K. et al., Biochemical and Biophysical Research Communications, 238: 643-647 (1997); Sudo K., et al. Antiviral Chemistry and Chemotherapy, 9: 186 (1998)), incluyendo RD3-4082 y RD3-4078, el primero sustituido en la amida con una 25 cadena de 14 carbonos y el último procesando un grupo para-fenoxifenilo; (4) Derivados de tiazolidina, que muestran la inhibición correspondiente en un análisis de HPLC de fase inversa con una proteína de fusión NS3/4A y un sustrato NS5A/5B (Sudo K. et al., Antiviral Research, 32: 9-18 (1996)), especialmente el compuesto RD-1-6250, que posee un radical cinamoilo fusionado, sustituido con una cadena larga de alquilo, RD4 6205 y RD4 6193; (5) Tiazolidinas y benzanilidas, identificadas en Kakiuchi N. et al. J. FEBS Letters 421, 217-220; y Takeshita N. et al. Analytical Biochemistry, 247: 242-246 (1997); (6) Una fenantrenoquinona, que posee actividad contra la proteasa en un análisis de SDS-PAGE y autorradiografía y se aísla a partir del caldo de cultivo de fermentación de *Streptomyces* sp., Sch 68631 (Chu M. et al., Tetrahedron Letters, 37: 7229-7232 (1996)), y Sch 351633, aislado de los hongos *Penicillium griseofulvum*, que demuestra actividad en un análisis de proximidad de centelleo; (7) 30 Inhibidores de NS3 selectivos basados en la macromolécula elgina c, aislada de la sanguijuela (Qasim M. A. et al., Biochemistry, 36: 1598-1607 (1997)); (8) Inhibidores de la helicasa (Patente de los Estados Unidos Núm. 5.633.358.); (9) Inhibidores de la polimerasa, tales como análogos de nucleótidos, gliotoxina (Ferrari E. et al., Journal of Virology, 73:1649-1654 (1999)), y el producto natural cerulenina (Lohmann V. et al., Virology, 249: 108-118 (1998)); (10) Oligodesoxinucleótidos antisentido de fosforotioato (S-ODN) complementarios a tramos de secuencia en la región 5' no codificante (NCR) del virus, o los nucleótidos 326-348 que comprenden el extremo 3' del NCR y los nucleótidos 371- 388 situados en la región codificante del núcleo del ARN de VHC; (11) Inhibidores de la traducción dependiente de IRES; (12) Ribozimas resistentes a nucleasa; y (13) Compuestos diversos que incluyen 1-amino-alquilciclohexanos (Patente de los Estados Unidos Núm. 6.034.134 de Gold et al.), alquil-lípidos (Patente de los Estados Unidos Núm. 5.922.757 de Chojkier et al.), vitamina E y otros antioxidantes (Patente de los Estados Unidos Núm. 5.922.757 de Chojkier et al.), escualeno, amantadina, ácidos biliares (Patente de los Estados Unidos Núm. 5.846.964 de Ozeki et al.), ácido N-(fosfonoacetil)-L-aspártico, (Patente de los Estados Unidos. Núm. 5.830.905 de Diana et al.), bencenodocarboxamidas (Patente de los Estados Unidos Núm. 5.633.388 de Diana et al.), derivados de ácido poliadenílico (Patente de los Estados Unidos Núm. 5.496.546 de Wang et al.), 2',3'-didesoxiinosina (Patente de los Estados Unidos Núm. 5.026.687 de Yarchoan et al.), y benzimidazoles (Patente de los Estados Unidos Núm. 5.891.874 de Colacino et al.).

50 Más recientemente, se han desarrollado otros fármacos anti-virales, también denominados antivirales de acción directa (AAD), principalmente dependientes de las enzimas proteasa y polimerasa como dianas, y que puedan ser utilizados también como agentes antivirales:

55 (1) Los inhibidores de proteasa tales como telaprevir (VX-950) que es un inhibidor peptidomimético específico de la proteasa NS3/NS4a (Reesink HW Gastroenterology 2006, 131: 997-1002) y boceprevir (SCHS03034) (Sarrazin C Gastroenterology 2007, 132: 1270 -1278). Otros inhibidores de proteasa de interés incluyen danoprevir, vaniprevir.

(2) Los inhibidores de polimerasa de análogos ribonucleosídicos sustituidos en 2' y 3' tales como Valopicitabina, un profármaco del análogo nucleosídico 2-C-metilcitudina (NM283) (Pierra C J Med Chem. 2006, 49: 6614-6620), e inhibidores de ARN polimerasa dependiente de ARN no nucleosídicos, tales como los derivados de bencimidazol JTK-109 y JTK-003 (Tomei L. J Virology 2004, 78 (2): 938-946).

Los inhibidores de polimerasa no nucleosídicos incluyen tegobuvir, filibuvir.

Los inhibidores de polimerasa nucleosídicos o nucleotídicos incluyen RG7128, PSI-7977.

5 También se han desarrollado moduladores inmunológicos capaces de inducir una respuesta antiviral, incluyendo los agonistas de los receptores de tipo Toll tales como isatoribina (TLR7) (Horsmans Y, Hepatology 2005, 42: 724-731), resiquimod (TLR7 y 8) (Pockros P. J., Hepatology 2007, 47: 174-182), y CPG10101 (TLR9) (McHutchison J G, Hepatology 2007, 46: 1341-1349).

10 El agente antiviral preferiblemente es un antiviral de acción directa (AAD) o interferón o ribavirina, utilizados solos, juntos o combinados con otros agentes antivirales. Telaprevir y boceprevir son los inhibidores de proteasa preferidos útiles en la presente invención. Las combinaciones preferidas incluyen (i) interferón y ribavirina, (ii) interferón, ribavirina y uno o varios AAD, (iii) interferón y uno o varios AAD, (iv) ribavirina y uno o varios AAD.

15 Los interferones (IFN) son una familia bien conocida de citoquinas secretadas por una amplia variedad de células eucariotas tras la exposición a diversos mitógenos. Los interferones han sido clasificados por sus características químicas y biológicas en cuatro grupos: IFN-alfa (leucocitos), IFN-beta (fibroblastos), IFN-gamma (linfocitos), e IFN-lambda. Los IFN-alfa y beta son conocidos como interferones de tipo I; el IFN-gamma se conoce como interferón de tipo II o inmunológico y el IFN-Lambda es conocido como interferón de tipo III. El IFN de tipo I y el IFN de tipo III muestran actividades biológicas muy similares. Los IFN de tipo III (interferón lambda (IFN-λ) o interleuquina-28/29), presentan actividades de tipo IFN, aunque ejercen su acción a través de un complejo receptor distinto de los IFN de tipo I. Los IFN exhiben actividades anti-virales, inmunorreguladoras, y antiproliferativas. En la presente invención, el interferón que se utiliza preferiblemente es el interferón-alfa.

20 Los interferones-alfa adecuados típicos incluyen, pero no se limitan a, IFNα-2b recombinante tal como el interferón INTRON A disponible de Schering Corporation, Kenilworth, N.J., el IFNα-2a recombinante tal como el interferón Roferon® disponible de Hoffmann-La Roche, Nutley, N.J., el IFN-α 2c recombinante tal como el interferón alfa-2 Berofer® disponible de Boehringer Ingelheim Pharmaceutical, Inc., Ridgefield, Conn. El IFN-α n1, una mezcla purificada de interferones alfa naturales tal como SUMIFERON® disponible de Sumitomo, Japón o como IFN-α n1 (INS) WELFERON® comercializado por Glaxo-Wellcome Ltd., Londres, Gran Bretaña, o un interferón alfa consenso, tal como los descritos en la Patente de los Estados Unidos. Núms. 4.897.471 y 4.695.623 (especialmente los Ejemplos 7, 8 o 9 de la misma) y el producto específico disponible de Amgen, Inc., Newbury Park, Calif., o IFN-α n3, una mezcla de interferones alfa naturales preparada por Interferon Sciences y disponible de Purdue Frederick Co., Norwalk, Conn., como ALFERON® o interferón alfa recombinante disponible de Fraunhofer Institute, Alemania o que está disponible en Green Cross, Corea del Sur.

Se prefiere el uso de IFN α-2b o IFN α-2a. En una realización más preferida, el interferón se encuentra en forma pegilada. Un interferón PEGilado es un producto conjugado modificado con polietilenglicol de interferón.

Se prefiere un producto conjugado de polietilenglicol-interferón alfa-2a (véase el documento EP 809 996), tal como PEGASYS®.

35 También se puede utilizar interferón lambda PEGilado (como el desarrollado por Bristol Myers Squibb por ejemplo).

Además, el interferón se puede fusionar o conjugar con una proteína tal como albúmina. Por ejemplo, la albúmina-interferón alfa-b (alb-IFN) (Albuferon®) es una molécula de polipéptido que combina la actividad terapéutica del interferón alfa con la larga vida media de la albúmina sérica humana.

40 En una realización más preferida, el interferón se utiliza no más de seis semanas, especialmente el interferón se utiliza no más de tres semanas después del tratamiento con IL-7.

De hecho, en la presente invención, el agente antiviral es preferiblemente un agente antiviral de acción directa (AAD) que se dirige al genotipo viral del VHC del paciente tal como un inhibidor de proteasa o un inhibidor de polimerasa, y preferiblemente una combinación de los mismos.

Interleuquina 7:

45 En el contexto de la presente invención, "IL-7" designa un polipéptido de IL-7 de mamífero (p. ej., humano, de simio, bovino, equino, felino o canino). Más preferiblemente, el polipéptido de IL-7 es un polipéptido de IL-7 humana.

50 Los polipéptidos de IL-7 humana preferidos de esta invención comprenden una secuencia de aminoácidos como se describe en el documento EP 314 415 o en el documento WO2004/018681 A2, así como las variantes naturales y los homólogos de los mismos. La secuencia de la IL-7 humana también está disponible en los bancos de genes. La proteína de tipo salvaje típica comprende 152 aminoácidos y, opcionalmente, un residuo de metionina N-terminal adicional. Las variantes de los mismos incluyen, más preferiblemente, las variantes alélicas naturales resultantes del polimorfismo natural, incluyendo los SNP, las variantes de corte y empalme, etc.

El polipéptido de IL-7 utilizado en la presente invención es, preferiblemente, una IL-7 recombinante. El término "recombinante", según se utiliza en la presente memoria, significa que el polipéptido se obtiene o deriva de un

sistema de expresión recombinante, es decir, de un cultivo de células anfitrionas (p. ej., microbiano o de insecto o planta o de mamífero) o de plantas o animales transgénicos modificados para que contengan una molécula de ácido nucleico que codifique un polipéptido de IL-7. "Microbiano" se refiere a proteínas recombinantes elaboradas en sistemas de expresión bacterianos. "De mamífero" se refiere a glicoproteínas recombinantes elaboradas en sistemas de expresión de mamífero. Todas estas células anfitrionas deberían expresar preferiblemente, de forma natural o después de la transgénesis, un gen de glicosiltransferasa y/o sialiltransferasa apropiado. El polipéptido de IL-7 también puede ser glicosilado a través del uso de moléculas de glicosiltransferasa y/o sialiltransferasa apropiadas in vitro o in vivo, o mediante el injerto de estructuras de oligosacáridos. Se prefieren las células CHO.

Un ejemplo específico de un polipéptido de IL-7 humana es un polipéptido del SEQ ID NO: 1 que comprende los puentes disulfuro Cys2-Cys92; Cys34-Cys129 y Cys47-Cys141, como se describe en el documento EP 1 527 179.

Además, los polipéptidos de IL-7 de la presente invención pueden comprender la secuencia de un polipéptido de IL-7 maduro, o comprender además residuos de aminoácido adicionales, tales como un péptido de secreción, por ejemplo. Los ejemplos preferidos de tales péptidos de secreción incluyen, sin limitación, un péptido señal seleccionado del grupo que consiste en el péptido señal de EPO, el péptido señal de SEAP, el péptido señal de IgGkappa, el péptido señal de Lactotransferrina/vitronectina, el péptido señal de VIP/vitronectina y el péptido señal de citostatina bis.

En una realización preferida, la IL-7 se encuentra en forma hiperglicosilada, como se describe en el documento WO 2007/010401.

En el contexto de la presente invención, el término "IL-7 hiperglicosilada" designa un polipéptido de IL-7 que tiene al menos tres residuos de aminoácido glicosilados, un punto isoeléctrico promedio inferior a 6,5 y un peso molecular medio superior a 27 kDa según se determina mediante electroforesis en gel de SDS.

La estructura y el número de unidades de oligosacárido ancladas a un sitio de glicosilación concreto en el polipéptido de IL-7 hiperglicosilado pueden ser variables. Estos pueden ser, por ejemplo, N-acetilglucosamina, N-acetilgalactosamina, manosa, galactosa, glucosa, fucosa, xilosa, ácido glucurónico, ácido idurónico y/o ácidos siálicos.

Más preferiblemente, los polipéptidos de IL-7 hiperglicosilados comprenden cadenas hidrocarbonadas ligadas a N y/o ligadas a O seleccionadas entre:

- a) una cadena de azúcar de tipo mamífero, preferiblemente del tipo expresado por las células CHO;
- b) una cadena de azúcar que comprende una cadena compleja de N-carbohidrato (p. ej., una estructura triantenaria o biantenaria), que contiene más preferiblemente moléculas con alto contenido de manosa y acetilglucosamina y altas concentraciones de residuos de ácido siálico terminal;
- c) una cadena de azúcar que comprende una cadena de O-carbohidrato sin y preferiblemente con un residuo de ácido siálico terminal;
- d) una cadena de azúcar sialilada por alfa-2,6-sialiltransferasa o alfa-2,3-sialiltransferasa; y/o
- e) una cadena de azúcar sialilada que presenta de 3 a 30 sialil-N-acetilgalactosaminas, preferiblemente de 7 a 23.

Las cadenas de carbohidratos particularmente preferidas comprenden una estructura triantenaria o biantenaria con sialilación terminal parcial o completa. Las cadenas de carbohidratos adicionalmente preferidas comprenden estructuras triantenarias y tri o bi-sialilación, y/o estructuras diantenarias y disialilación.

El polipéptido hiperglicosilado de interleuquina-7 de interés tiene ventajosamente un punto isoeléctrico promedio inferior a 6,5 y un peso molecular aparente superior a 27 kDa, entre 28 kDa y 65 kDa (teórico para una glicosilación $7N+1O$), preferiblemente entre 28 kDa y 35 kDa (como se muestra para una glicosilación $3N+1O$), por electroforesis en gel (confirmado por transferencia Western) que se traduce en 25 kDa mediante análisis de espectrometría de masas.

Un "sitio de glicosilación" designa cualquier residuo de aminoácido o región en un polipéptido que está sujeto a glicosilación, es decir, el anclaje de una estructura de carbohidrato. Tales sitios son típicamente sitios de N-glicosilación (es decir, cualquier residuo de aminoácido o región en un polipéptido que permite el anclaje de una estructura de carbohidrato a través de un enlace a N) y/o sitios de O-glicosilación (es decir, cualquier residuo de aminoácido o región en un polipéptido que permite el anclaje de una estructura de carbohidrato a través de un enlace a O). Las secuencias consenso para sitios de glicosilación se conocen per se en la técnica. A modo de ejemplo, un sitio de N-glicosilación consenso típicamente tiene la siguiente estructura: Asn-X-Ser/Thr, donde X es cualquier aminoácido excepto Prolina. Tales sitios de glicosilación pueden estar presentes de forma natural dentro de una secuencia de polipéptido de IL-7 y/o ser añadidos o creados artificialmente dentro de dicha secuencia.

Una composición de IL-7 preferida útil en la presente invención comprende al menos 80% de polipéptidos recombinantes de IL-7 humana que tienen al menos tres residuos de aminoácido glicosilados, un punto isoelectrico promedio inferior a 6,5 y un peso molecular medio superior a 27 kDa según se determina por electroforesis en gel de SDS, y que comprenden los puentes disulfuro Cys2-Cys92; Cys34-Cys129 y Cys47-Cys141.

5 Los polipéptidos de IL-7 preferiblemente están N-glicosilados en al menos tres residuos de aminoácido distintos.

En otra realización preferida, la IL-7 se fusiona con otra entidad de proteína. Los ejemplos de proteínas de fusión de IL-7 se describen en el documento WO 2005/063820. Por ejemplo, está en forma de una proteína de fusión de IL-7, tal como (1) una IL-7 funcionalmente anclada a una porción Fc de una cadena pesada de IgG, típicamente a través de una región bisagra del péptido, y el radical de IgG es preferiblemente una IgG1 o IgG4 humana como se describe en el documento WO 2007/010401, (2) una proteína de fusión como se describe en las Patentes de los Estados Unidos. Núms. 7.323.549 y 7.589.179, y la Solicitud de Patente 20090010875, (3) una IL-7 funcionalmente asociada a una albúmina de suero humana ("HSA") o una porción de una HSA, como una proteína de fusión, como se describe en el documento WO 2007/010401, o (4) una IL-7 funcionalmente asociada a un Factor de Crecimiento Humano (HGF) o una porción del mismo, como una proteína de fusión.

15 Se incluyen variantes de IL-7, que muestran una identidad de secuencia de aminoácidos sustancial con las IL-7 de tipo salvaje maduras de mamífero y una actividad biológica sustancialmente equivalente, por ejemplo, en los bioanálisis o análisis convencionales de afinidad de unión al receptor de IL-7. Por ejemplo, IL-7 se refiere a una secuencia de aminoácidos de un polipéptido recombinante o no recombinante que tiene una secuencia de aminoácidos de: i) una variante alélica nativa o de origen natural de un polipéptido de IL-7, ii) un fragmento biológicamente activo de un polipéptido de IL-7, iii) un análogo de polipéptido biológicamente activo de un polipéptido de IL-7, o iv) una variante biológicamente activa de un polipéptido de IL-7.

Una "variante" de una proteína de IL-7 se define como una secuencia de aminoácidos que está alterada en uno o más aminoácidos. La variante puede tener cambios "conservativos", en donde un aminoácido sustituido tiene propiedades estructurales o químicas similares, p. ej., sustitución de leucina por isoleucina. Más raramente, una variante puede tener cambios "no conservativos", p. ej., la sustitución de una glicina por un triptófano. Las variaciones menores similares también pueden incluir deleciones o inserciones de aminoácidos, o ambas cosas. Las pautas en la determinación de qué y cuántos residuos de aminoácido pueden ser sustituidos, insertados o suprimidos sin anular la actividad biológica se pueden encontrar usando programas de ordenador bien conocidos en la técnica, por ejemplo el soporte lógico para el modelado molecular o para la producción de alineamientos. Las proteínas de IL-7 variantes incluidas dentro de la invención incluyen proteínas de IL-7 que conservan la actividad de IL-7. Los polipéptidos de IL-7 que también incluyen adiciones, sustituciones o deleciones también se incluyen dentro de la invención siempre que las proteínas conserven una actividad biológica sustancialmente equivalente de IL-7. Por ejemplo, los truncamientos de IL-7 que conservan una actividad biológica comparable con la forma completa de la proteína de IL-7 están incluidos en la invención. La actividad de la proteína de IL-7 se puede medir utilizando análisis de proliferación celular in vitro. La actividad de las variantes de IL-7 de la invención mantiene la actividad biológica de al menos 30%, al menos 40%, 50%, 60%, 70%, preferiblemente al menos 80%, 90%, 95% o incluso 99% en comparación con la IL-7 de tipo salvaje.---

Las proteínas de IL-7 variantes también incluyen polipéptidos que tienen al menos aproximadamente 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% más identidad de secuencia con la IL-7 de tipo salvaje. Para determinar el porcentaje de identidad de dos secuencias de aminoácidos o de dos ácidos nucleicos, las secuencias se alinean con el propósito de una comparación óptima (p. ej., se pueden introducir huecos en la secuencia de una primera secuencia de aminoácidos o de ácido nucleico para un alineamiento óptimo con una segunda secuencia de aminoácidos o de ácido nucleico). El porcentaje de identidad entre las dos secuencias es una función del número de posiciones idénticas compartidas por las secuencias (es decir, porcentaje de homología = $\frac{\text{núm. de posiciones idénticas}}{\text{núm. total de posiciones}} \times 100$). La determinación del porcentaje de homología entre dos secuencias se puede lograr utilizando un algoritmo matemático. Un ejemplo no limitante preferido de un algoritmo matemático utilizado para la comparación de dos secuencias es el algoritmo de Karlin y Altschul (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 2264-68, modificado como en Karlin y Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 5873-77. Semejante algoritmo se incorpora en los programas NBLAST y XBLAST de Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-10. Las búsquedas de nucleótidos BLAST se pueden realizar con el programa NBLAST, puntuación = 100, longitud de palabra = 12. Las búsquedas de proteínas BLAST se pueden realizar con el programa XBLAST, puntuación = 50, longitud de palabra = 3. Para obtener alineamientos con huecos con fines de comparación, se puede utilizar Gapped BLAST como describen Altschul et al., (1997) Nucleic Acids Research 25(17): 3389-3402. Cuando se utilizan los programas BLAST y Gapped BLAST, se pueden utilizar los parámetros por defecto de los programas respectivos (por ejemplo, XBLAST y NBLAST).

Régimen:

De acuerdo con la invención, la IL-7 se va a administrar, preferiblemente una vez o dos veces a la semana, preferiblemente durante un período de dos a seis semanas, preferiblemente de cuatro semanas, que define un ciclo de tratamiento con IL-7. Tal ciclo puede repetirse al menos una vez.

En una realización preferida, la IL-7 se administra una vez a la semana durante cuatro semanas.

5 En una realización preferida, el tratamiento con el agente antiviral o la combinación de agentes antivirales se mantiene durante al menos parte del tratamiento con IL-7, preferiblemente el tratamiento con el agente antiviral o combinación de agentes antivirales no se interrumpe. Más preferiblemente, la IL-7 se va a administrar combinada con el agente antiviral o combinación de agentes antivirales. A continuación, la IL-7 se puede administrar por separado, simultáneamente o secuencialmente con el agente antiviral o combinación de agentes antivirales.

En una realización particular, la IL-7 se administra simultáneamente con el agente antiviral o combinación de agentes antivirales.

10 En un protocolo preferido, se va a administrar al paciente IL-7 antes del agente antiviral o la combinación de agentes antivirales, preferiblemente una semana antes.

En otro protocolo preferido, se va a administrar al paciente IL-7 desde el inicio de la terapia, al mismo tiempo que el agente antiviral o la combinación de agentes antivirales, preferiblemente comenzando entre el D0 y el D10, lo más preferiblemente comenzando entre el D3 y el D7.

15 En otro protocolo preferido, se va a administrar al paciente un agente antiviral o una combinación de agentes antivirales durante una primera fase, que tiene preferiblemente al menos una semana de duración, con el fin de reducir la carga viral, seguido de una segunda fase preferiblemente de 2 a 6 semanas de IL-7, combinada preferiblemente con un agente antiviral o una combinación de agentes antivirales.

20 La administración de IL-7 puede estar seguida por una tercera fase que dura al menos 1 a 3 semanas, o puede prolongarse más allá de 4 o 6 semanas o más de tratamiento con un agente antiviral o una combinación de agentes antivirales. Preferiblemente, esta tercera fase dura de 1 a 9 semanas.

En total, se administra al paciente de manera ventajosa el agente antiviral o la combinación de agentes antivirales durante un período de 6 a 12 semanas.

El agente antiviral o combinación de agentes antivirales son preferiblemente los mismos en todas las fases de tratamiento. Sin embargo, se puede cambiar si se desea.

25 En una realización preferida, el protocolo implica una disminución preliminar pero rápida de la carga viral del paciente, seguido de la adición de una terapia con IL-7 a corto plazo, mientras que los tratamientos antivirales anteriores se mantienen durante este período y durante unas pocas semanas después.

Cuando se detienen los tratamientos, el sistema inmunológico del paciente puede controlar de manera eficiente y estable por sí mismo el virus VHC.

30 La cantidad de agente antiviral tal como interferón puede ser de 2 a 10 millones de UI por semana con una frecuencia semanal, de dos veces o tres veces a la semana, o diaria. En una realización preferida, el interferón alfa administrado es interferón alfa-2b y la cantidad de interferón administrada es de 3 millones de UI dos veces o tres veces a la semana.

35 En una realización particular, el interferón alfa administrado es un interferón alfa-2b pegilado y la cantidad de interferón administrada es de 0,5 a 2,0 microgramos/kg de peso corporal, por semana con una frecuencia semanal, de dos veces o tres veces a la semana, o diaria. Alternativamente, el interferón administrado es un interferón alfa-2a pegilado y la cantidad de interferón administrada es de 20 a 250 microgramos/kilogramo de peso corporal por semana en una semana, dos veces o tres veces a la semana, o diariamente.

40 Otros agentes antivirales tales como ribavirina se pueden administrar desde aproximadamente 400 a aproximadamente 1600 mg por día, preferiblemente de aproximadamente 600 a aproximadamente 1200 mg/día o de aproximadamente 800 a aproximadamente 1200 mg/día y lo más preferiblemente de aproximadamente 1.000 a aproximadamente 1.200 mg/kg día basándose en el peso del paciente.

Otros agentes antivirales tales como telaprevir se pueden administrar a aproximadamente 750 mg tres veces al día (preferiblemente con 7-9 horas de diferencia).

45 Otros agentes antivirales tales como boceprevir se pueden administrar a aproximadamente 800 mg tres veces al día (con 7-9 horas de diferencia).

50 Preferiblemente, la cantidad eficaz de interleuquina-7 que se va a administrar está comprendida entre aproximadamente 3 y 30 mg/kg, preferiblemente entre aproximadamente 5 y 20 mg/kg, y es preferiblemente de aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, más preferiblemente de 20 g/kg peso corporal. Preferiblemente se administra una vez por semana, preferiblemente durante 2 a 6 semanas.

Si se desea, la IL-7 se puede administrar dos veces por semana.

En realizaciones preferidas, la IL-7 se puede administrar una vez a la semana, durante un período cíclico de dos a cuatro semanas. El ciclo puede repetirse al menos una vez.

5 La IL-7 y el agente antiviral se pueden administrar simultáneamente, ya sea por separado o dentro de la misma formulación. Preferiblemente, se administran al mismo tiempo, y ambas terapias pueden ser iniciadas al mismo tiempo o se puede iniciar con la IL-7 una semana antes que el agente antiviral. Más preferiblemente, se administran por separado, de acuerdo con diferentes horarios. La dosis de agente antiviral se administra preferiblemente durante el mismo período de tiempo que el paciente recibe dosis de IL-7.

Composiciones farmacéuticas:

10 Las composiciones farmacéuticas que comprenden IL-7 pueden ser adecuadas para la vía oral, rectal, o parenteral, más concretamente para la vía intravenosa, subcutánea, intradérmica, intra-arterial, intraperitoneal o intra-muscular, así como la vía intranasal. Se prefiere la vía parenteral, especialmente la vía subcutánea. Por ejemplo, el ingrediente activo está asociado con un portador, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable que se puede seleccionar entre soluciones o suspensiones de neutras a ligeramente ácidas, isotónica, salina tamponada, y más preferiblemente entre sacarosa, trehalosa, y aminoácidos. El portador farmacéuticamente compatible está contenido preferiblemente en un tampón apropiado para formar una solución isotónica. Un tampón adecuado tiene preferiblemente un intervalo de pH comprendido entre 4,5 y 7,5, preferiblemente entre 5,0 y 7,0, incluso más preferiblemente aproximadamente 5,5 y es preferiblemente una sal orgánica seleccionada entre un tampón citrato de sodio o un tampón de acetato de amonio. La composición farmacéutica puede estar en forma de una suspensión, solución, gel, polvo, sólido, etc. La composición es preferiblemente una forma líquida.

20 La composición puede comprender agentes estabilizantes, tales como azúcares, aminoácidos, proteínas, tensioactivos, etc. La composición puede comprender cualquier solución salina, incluyendo fosfatos, cloruro, etc.

25 Una composición farmacéutica concreta de acuerdo con la invención comprende, además de la sustancia farmacológica activa, una proteína y/o un agente tensioactivo. Esta presencia de una proteína, o cualquier otra molécula de alto peso molecular de origen natural, reduce la exposición de IL-7 al sistema inmunológico del anfitrión y por lo tanto evita los efectos secundarios. Más preferiblemente, la proteína no es inmunogénica en el sujeto, tal como cualquier proteína de origen humano. Un ejemplo más preferido de proteína es la albúmina de suero humana. El tensioactivo se puede seleccionar entre los tensioactivos conocidos tales como productos de Polisorbato, preferiblemente Tween20® o Tween80®. Una composición específica de esta invención comprende albúmina de suero humana (preferiblemente de 2 a 5 mg/ml) o polisorbato (Tween 20 u 80 (típicamente al 0,005%)) o cualquier otra sustancia tal como una sustancia tensioactiva o aminoácido (p. ej., arginina, glutamato, o una mezcla de arginina y glutamato) o azúcar (p. ej., sacarosa, trehalosa, sorbitol), capaz de prevenir la inmunogenicidad de IL-7 debida a la agregación de proteínas y/o la persistencia local del producto farmacológico en el sitio de inyección después de la administración de la composición.

35 En una realización concreta, la vía de administración es la vía oral. En comparación con otras hormonas polipeptídicas, la vía oral es de hecho aceptable para la IL-7, especialmente en forma hiperglicosilada, debido a la estabilidad excepcional de esta proteína. Las composiciones pueden estar en una forma sólida, tal como un comprimido o un polvo o una cápsula, o en una forma líquida, tal como un jarabe o una emulsión, preparadas en un portador farmacéuticamente aceptable adecuado. Preferiblemente, el propio portador es estable en el tracto gastrointestinal y en el sistema circulatorio y exhibe una vida media en plasma aceptable. Las cápsulas resistentes a los ácidos gástricos, tales como las cápsulas resistentes a los ácidos gástricos que contienen una micro-emulsión o formulación de liposomas de polipéptido de IL-7, son ventajosas.

40 Se pueden utilizar otros ingredientes activos, tales como agentes inmunoestimuladores, preferiblemente seleccionados entre un factor de crecimiento de células hematopoyéticas, una citoquina, una molécula antigénica (o antígeno) y un coadyuvante, para su uso combinado, separado o secuencial.

45 Indicaciones terapéuticas:

La invención permite una reducción drástica en la carga viral del VHC.

La eliminación del virus y el alivio de los síntomas se pueden observar en el plazo de 1 semana a 6 meses, preferiblemente en el plazo de 1 semana a 3 meses después del tratamiento.

50 La invención hace que sea posible inhibir el progreso de la enfermedad, y obtener un aclaramiento sustancialmente completo del virus. En otras palabras el ARN del VHC se convierte en indetectable en el paciente.

La invención es particularmente útil para prevenir o retrasar cualquier evolución perjudicial resultante de la infección por el VHC, en particular, cualquier aparición de fibrosis o cirrosis hepática o hepatocarcinoma.

55 El protocolo de la invención tiene un particular interés en un paciente que no ha respondido a un tratamiento previo. Estos pacientes incluyen pacientes no respondedores (también llamados respondedores parciales o respondedores lentos) o pacientes respondedores nulos. En particular, los pacientes no respondedores (también llamados

pacientes respondedores parciales o respondedores lentos) son pacientes en los que el ARN del VHC se ha reducido en 2 logaritmos en la semana 12, pero no llega a ser indetectable en la semana 24, después del inicio de un tratamiento, especialmente un tratamiento previo con interferón solo, o una combinación de ribavirina e interferón, que es actualmente el tratamiento convencional. Es poco probable que estos pacientes alcancen una RVS (respuesta viral sostenida), incluso cuando se vuelven a tratar con la terapia convencional. Los respondedores nulos son pacientes en los que el ARN del VHC no ha disminuido al menos 1 log (un factor de 10) después de 4 semanas de tratamiento, o 2 logs después de 12 semanas de tratamiento. Estos pacientes tienen muy pocas probabilidades de alcanzar la RVS incluso cuando se vuelven a tratar con la terapia convencional.

La ausencia de respuesta viral a los tratamientos anteriores se define como respuesta nula o ausencia de respuesta viral temprana (RVT), definida por una disminución de las cargas de ARN del VHC inferior a 2 logs después de 12 semanas tal como se mide mediante un ensayo de RT PCR cuantitativa, en comparación con los niveles en el momento inicial medidos por una técnica similar. O, ausencia de respuesta al final del tratamiento definida por ARN de VHC detectable al final del tratamiento.

El protocolo de la invención puede ser también ventajoso para el tratamiento de un paciente no tratado previamente, es decir, un paciente que nunca ha sido tratado por una infección por VHC, más concretamente un paciente que nunca ha sido tratado con ribavirina o cualquier interferón.

Los pacientes con hepatitis C que han sido tratados para la infección, especialmente con ribavirina o cualquier interferón, también pueden ser buenos candidatos para la terapia combinada de la invención.

Estos incluyen los pacientes con hepatitis C que han recaído después de la respuesta inicial a los tratamientos anteriores.

Los pacientes que muestran un rebote viral también se pueden beneficiar del tratamiento de la invención. Un rebote viral se produce cuando un paciente logra una respuesta bajo terapia (especialmente terapia con interferón), pero luego pierde la respuesta a pesar de la terapia continua.

Se incluyen los pacientes que tienen infecciones agudas o crónicas de hepatitis C, incluidos los que presentan recaídas, los no respondedores y respondedores nulos.

En una realización concreta, el paciente ha sido genotipificado para el polimorfismo de un solo nucleótido en el locus del gen IL28b que codifica el interferón lambda-3 (véase Thomson et al., Gastroenterology 2010, 139(1): 120-9, y la Solicitud de Patente Internacional WO 2011/013019). Un genotipo CC en SNP rs12979860 es indicativo de un paciente sensible al tratamiento SOC, especialmente tratamiento con interferón alfa pegilado (PEG-IFN-alfa), más ribavirina (RBV). Un genotipo CT o TT es indicativo de un no respondedor o un respondedor nulo. En una realización preferida, un paciente con un genotipo CT o TT en SNP rs12979860 se puede beneficiar ventajosamente del tratamiento de la presente invención.

El protocolo es útil contra la alta variabilidad y diversidad de los virus de la hepatitis C, evitando la aparición de resistencias al tratamiento, beneficiando a más pacientes, y proporcionando una respuesta más rápida, eficiente y más sostenida.

El protocolo de la invención puede ser adicionalmente útil en un paciente infectado simultáneamente con HCV y otro virus, tal como VIH, VHB, HPV, HSV, o CMV.

Especialmente este método puede ser útil para pacientes coinfectados con VIH/VHC que presentan niveles bajos de células T CD4 (<400 CD4/μl) entre los cuales algunos no pueden ser tratados debido a sus recuentos de células T CD4 muy bajos (<250 CD4/μl), que no es compatible con el tratamiento con interferón.

En este caso el mismo régimen de tratamiento se puede aplicar después de un ciclo de preparación de aproximadamente 2 a 4 semanas de IL-7 o cualquier otro agonista de IL-7 para restaurar los recuentos de células T CD4 adecuados antes de aplicar el protocolo descrito en la presente memoria.

El protocolo de la invención también se podría adaptar a los pacientes coinfectados con VHC/VHB que se presentan con una carga viral detectable de VHB. En este caso se podría obtener una reducción preliminar de la carga viral del VHB mediante un tratamiento previo de 3 a 4 meses con un antiviral directo contra VHB, como entecavir o tenofovir.

Las figuras y ejemplos ilustran la invención sin limitar su alcance.

EJEMPLOS

Ejemplo 1 Evaluación en la enfermedad en el hígado por hepatitis C de IL-7 en un estudio en fase I/IIa

Métodos:

Se diseñó un estudio en fase I/IIa para evaluar la seguridad y los beneficios individuales de dosis semanales de

interleuquina-7 en pacientes adultos infectados con el Genotipo 1 o 4 del virus de la hepatitis C y resistente al "Tratamiento Convencional Actual" (SOC, por sus siglas en inglés) con peg-Interferón y ribavirina después de 12 semanas de esta biterapia convencional.

5 La ausencia de respuesta viral al tratamiento convencional actual con interferón alfa pegilado + ribavirina, identificada como ausencia de respuesta viral temprana (RVT), se define como una disminución de las cargas de ARN de VHC inferior a 2 logs, medida por un ensayo de PCR cuantitativa después de 12 semanas de tratamiento convencional, en comparación con los niveles en el momento inicial medidos por una técnica similar. O, ausencia de respuesta al final del tratamiento definida por el ARN de VHC detectable al final del tratamiento (24 semanas o 48 semanas).

10 En este estudio de diseño abierto, de aumento gradual de la dosis, (3, 10 y 20 µg/kg/semana) CYT107 (IL-7 glicosilada humana recombinante) se administró por vía subcutánea durante 4 semanas (D0 a D21) como un complemento a la terapia SOC de 52 semanas iniciado 9 semanas (mediana) antes de CYT107 para confirmar la falta de respuesta a SOC.

15 Se incluyeron 6 pacientes en cada nivel de dosis y 6 más si al menos 2 pacientes tenían una caída de ARN de VHC > 2 log.

Resultados:

No hubo eventos adversos graves o alteraciones clínicamente relevantes en los parámetros biológicos relacionados con el tratamiento con CYT107.

El D56, CYT107 (10 µg/kg/semana) indujo (valores medios):

- 20
- un aumento de células T +341 CD4/µl (+168%) y +209 CD8/µl (+179%) más que la corrección de la linfopenia inducida por pre-CYT107-SOC inicial (-147/µl CD4).
 - una ampliación de la diversidad del repertorio de RVT (+25%) en los 4 pacientes con baja diversidad en el D0 (45%).
 - un aumento del número de células CD3 que expresan los receptores α4/ β7 (+73%)

25 Estos incrementos en los recuentos de células T, la diversidad y el asentamiento se asociaron con un ritmo acelerado de disminución viral de VHC y un aclaramiento en la semana 12 en 5/12 pacientes. Posteriormente, el ARN de VHC permaneció indetectable (mediana de seguimiento actual: 11 meses). Los pacientes que respondieron tenían una carga viral moderada (<4,52 log/mL) al inicio de CYT107.

30 Como se muestra en la FIG. 1, los 7 pacientes que no logran disminuir su carga viral durante la reintroducción del Tratamiento Convencional no eliminan el virus con la ayuda de IL-7 sobre la terapia (10 µg/kg, una vez por semana, durante 4 semanas, comenzando en el día 0), mientras que los 5 pacientes cuyas cargas virales se redujeron por debajo de 5 Log₁₀ UI/ mL bajo biterapia convencional, aclararon el virus con el mismo tratamiento con IL-7 (proporcionado en el día 0).

35 La FIG. 2 muestra que, después de la terapia con IL-7, la diversidad de las células T normales fue restaurada en todos los pacientes y se mantuvo estable al menos hasta el D56.

Conclusiones

40 En los pacientes con VHC crónico definidos como no respondedores a la biterapia convencional con PEGinterferón y ribavirina, el tratamiento con IL-7 era seguro y se ampliaba a las células T tanto CD4 como CD8, un efecto conocido por proporcionar una respuesta inmunológica eficiente y estable. La IL-7 también contribuyó a un incremento del asentamiento de células T en órganos linfoides, y a la normalización de la diversidad del repertorio de TCR. Este efecto se asoció de manera sistemática con el aclaramiento viral en pacientes en los que la carga viral caía por debajo de 5 Log₁₀ UI/mL bajo la biterapia convencional.

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Cytheris

5 <120> Inmunoterapia para VHC

<130> B1220

<160> 1

10 <170> PatentIn versión 3.1

<210> 1

15 <211> 152

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Asp Cys Asp Ile Glu Gly Lys Asp Gly Lys Gln Tyr Glu Ser Val Leu
 1 5 10 15

Met Val Ser Ile Asp Gln Leu Leu Asp Ser Met Lys Glu Ile Gly Ser
 20 25 30

Asn Cys Leu Asn Asn Glu Phe Asn Phe Phe Lys Arg His Ile Cys Asp
 35 40 45

Ala Asn Lys Glu Gly Met Phe Leu Phe Arg Ala Ala Arg Lys Leu Arg
 50 55 60

Gln Phe Leu Lys Met Asn Ser Thr Gly Asp Phe Asp Leu His Leu Leu
 65 70 75 80

Lys Val Ser Glu Gly Thr Thr Ile Leu Leu Asn Cys Thr Gly Gln Val
 85 90 95

Lys Gly Arg Lys Pro Ala Ala Leu Gly Glu Ala Gln Pro Thr Lys Ser
 100 105 110

Leu Glu Glu Asn Lys Ser Leu Lys Glu Gln Lys Lys Leu Asn Asp Leu
 115 120 125

Cys Phe Leu Lys Arg Leu Leu Gln Glu Ile Lys Thr Cys Trp Asn Lys
 130 135 140

Ile Leu Met Gly Thr Lys Glu His
 145 150

20

REIVINDICACIONES

- 5 1. Interleuquina-7 (IL-7), para su uso en el tratamiento de la hepatitis C en un paciente infectado con el virus de la hepatitis C, en donde el paciente ha sido tratado con un agente antiviral o una combinación de agentes antivirales, con el fin de reducir la carga viral, antes de la administración de IL-7, en donde el agente antiviral o la combinación de agentes antivirales reducen la carga viral a menos de 5 Log₁₀ UI/mL.
2. La IL-7 para su uso en el tratamiento de la hepatitis C de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el agente antiviral o la combinación de agentes antivirales reducen la carga viral a menos de 4 Log₁₀ UI/mL antes de la administración de IL-7.
- 10 3. La IL-7 para su uso en el tratamiento de la hepatitis C de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el agente antiviral o la combinación de agentes antivirales reducen la carga viral a menos de 3 Log₁₀ UI/mL antes de la administración de IL-7.
- 15 4. La IL-7 para su uso en el tratamiento de la hepatitis C de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el agente antiviral se selecciona del grupo que consiste en un inhibidor de proteasa tal como Telaprevir o Boceprevir, un inhibidor de polimerasa, un inhibidor de la entrada del virus, y un inhibidor de helicasa, o combinaciones de los mismos, opcionalmente combinados con interferón y/o ribavirina.
5. La IL-7 para su uso en el tratamiento de la hepatitis C de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el agente antiviral es interferón, tal como interferón alfa o interferón consenso o interferón lambda, preferiblemente IFNalfa-2a o IFNalfa-2b, ya sea solo o combinado con otro agente antiviral, tal como ribavirina, estando preferiblemente el interferón en forma PEGilada.
- 20 6. La IL-7 para su uso en el tratamiento de la hepatitis C de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el tratamiento con el agente antiviral o la combinación de agentes antivirales se inicia antes del tratamiento con IL-7, y se mantiene durante al menos parte del tratamiento con IL-7, preferiblemente durante 6 a 12 semanas.
- 25 7. La IL-7 para su uso en el tratamiento de la hepatitis C de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde la IL-7 se va a administrar una vez por semana, preferiblemente durante un período de dos a seis semanas, preferiblemente cuatro semanas, definiendo de ese modo un ciclo de tratamiento con IL-7, que es opcionalmente repetido al menos una vez.
- 30 8. La IL-7 para su uso en el tratamiento de la hepatitis C de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde se administra al paciente un agente antiviral o una combinación de agentes antivirales durante una primera fase de una semana, con el fin de reducir la carga viral, seguido de una segunda fase de cuatro semanas de IL-7 combinada con un agente antiviral o una combinación de agentes antivirales, en donde el agente antiviral o combinación de agentes antivirales pueden ser preferiblemente los mismos o diferentes durante todas las fases de tratamiento.
- 35 9. La IL-7 para su uso en el tratamiento de la hepatitis C de acuerdo con la reivindicación 8, en donde la administración de IL-7 debe estar seguida de una tercera fase de 1 a 9 semanas de tratamiento con un agente antiviral o una combinación de agentes antivirales, en donde el agente antiviral o combinación de agentes antivirales son los mismos o diferentes durante todas las fases de tratamiento.
- 40 10. La IL-7 para su uso en el tratamiento de la hepatitis C de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde el paciente tiene una infección de hepatitis C crónica de genotipo 1 a 6, preferiblemente de genotipo 1 a 4, preferiblemente de genotipo 1.
- 45 11. La IL-7 para su uso en el tratamiento de la hepatitis C de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para obtener el aclaramiento viral del VHC, la prevención o el retraso del comienzo de la fibrosis y cirrosis hepáticas, y/o la prevención de la recaída de la infección por VHC.
12. La IL-7 para su uso en el tratamiento de la hepatitis C de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde la IL-7 está en forma de una proteína de fusión, preferiblemente en fusión con un fragmento Fc de una inmunoglobulina.
13. La IL-7 para su uso en el tratamiento de la hepatitis C de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde la IL-7 es una IL-7 humana de tipo salvaje o una variante de la misma, preferiblemente en una forma hiperglicosilada.

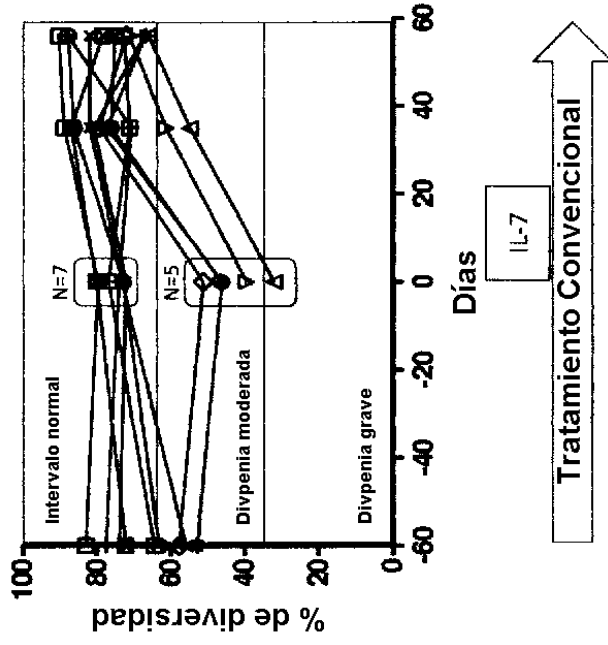


Figura 2

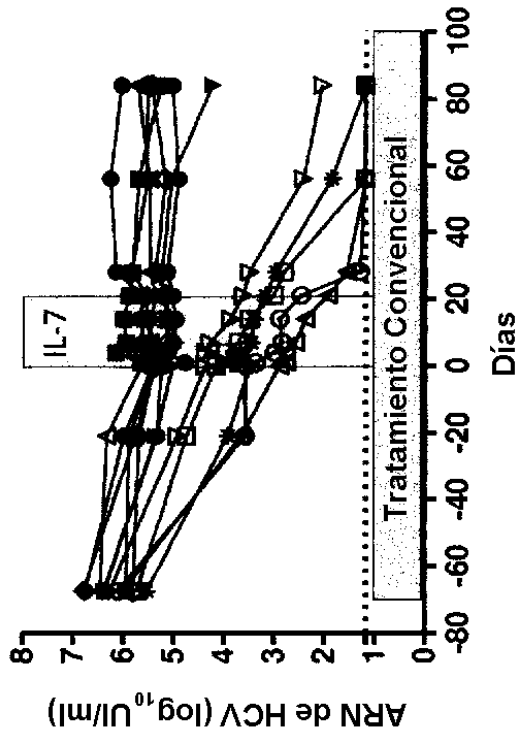


Figura 1