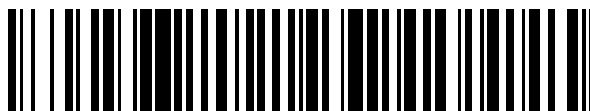


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 602 453**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/45** (2006.01)

**C12N 9/12** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.06.2009 PCT/EP2009/004337**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.01.2010 WO10003520**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.06.2009 E 09776746 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.08.2016 EP 2310044**

54 Título: **Inmunoterapia antitumoral**

30 Prioridad:  
**16.06.2008 US 61778 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**21.02.2017**

73 Titular/es:  
**MEDIOLANUM FARMACEUTICI S.P.A. (100.0%)  
Via S.G. Cottolengo 15  
20143 Milano, IT**

72 Inventor/es:  
**FILACI, GILBERTO;  
INDIVERI, FRANCESCO y  
TRAVERSO, PAOLO**

74 Agente/Representante:  
**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**Observaciones :**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 602 453 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 antitumoral

La presente invención se refiere al uso de péptidos procedentes de la telomerasa para el tratamiento de cualquier paciente con cáncer, en particular para el tratamiento de los pacientes con cáncer de riñón o con cáncer de próstata.

- 5 El carcinoma de células renales (CCR) representa el 3% de los tumores de los adultos y su incidencia se incrementa a una velocidad del 1,5% al 5,9% por año. La tasa de mortalidad de esta enfermedad está incrementándose de forma proporcional al aumento de la incidencia. Aproximadamente del 25% al 30% de los pacientes tiene una enfermedad metastásica avanzada al realizarles el diagnóstico y varios pacientes tienen ya micrometástasis diseminadas en el momento del diagnóstico sin que hubiera indicios clínicos de metástasis. A esto se debe la poca  
10 eficacia de las estrategias terapéuticas existentes y la baja tasa de supervivencia (del 0% al 13% de los pacientes con metástasis sobreviven al cabo de 5 años del diagnóstico).

- El cáncer de próstata es un problema médico importante. En Europa hay 2,6 millones de casos nuevos cada año. Esto constituye el 11% de los casos de tumor en los varones y es responsable del 9% de las muertes debidas al cáncer en Europa. Además, su incidencia en la población masculina es el doble de la del cáncer de pulmón; el  
15 cáncer de próstata constituye el 30% de los casos nuevos de neoplasia en los varones con una elevada tasa de mortalidad.

En el momento del diagnóstico, el 45% de los pacientes tiene ya una enfermedad avanzada con una tasa de supervivencia de <50% a los cinco años, independientemente del tipo de estrategia terapéutica.

- La telomerasa es la transcriptasa inversa de las células eucariotas que se necesita para la síntesis de las regiones teloméricas de los cromosomas. La telomerasa está presente en las células embrionarias, pero no en las células somáticas adultas, y son muy pocas las excepciones, que están constituidas por las células germinales y las células que proliferan activamente. Sin embargo, el nivel de expresión de la telomerasa en estas células es tan bajo que la telomerasa no llega a ser reconocida por los linfocitos T citotóxicos (LTC) que reconocen específicamente la telomerasa. La telomerasa es esencial para la inmortalización de las células: esto explica por qué se expresa en  
25 aproximadamente el 90% de los tumores (con independencia del tipo histológico). Por esta razón, la telomerasa se considera ahora un antígeno tumoral «universal» en potencia. Este punto de vista está además apoyado por el hallazgo de que se hayan identificado en la sangre periférica, tanto de los sujetos sanos como de los pacientes con cáncer, unos linfocitos T citotóxicos (LTC) capaces de destruir las células cancerosas a través del reconocimiento específico de los péptidos derivados de la subunidad catalítica de la transcriptasa inversa telomérica de humano (hTERT, por su nombre en inglés). En particular, aproximadamente el 90% de los pacientes con cáncer tienen LTC  
30 específicos contra la telomerasa.

- Sobre esta base, se han realizado (o están en marcha) ensayos clínicos para analizar la seguridad y los efectos inmunológicos de la inmunización de los pacientes con cáncer con péptidos únicos de la telomerasa o una combinación de 2 péptidos de la telomerasa. Estos ensayos han demostrado que la inmunización de la telomerasa es un procedimiento seguro. En particular, no se ha detectado ninguna toxicidad sobre las células madre hematopoyéticas (Vonderheide R H et al. «Vaccination of cancer patients against telomerase induces functional antitumor CD8+ T lymphocytes». *Clin. Cancer Res.* 2004; 10: 828-839. Danet-Desnoyers G H et al. «Telomerase vaccination has no detectable effect on SCID-repopulating and colony-forming activities in the bone marrow of cancer patients». *Exp. Hematol.* 2005; 33: 1275-1280. Brunsvig P F et al. «Telomerase peptide vaccination: a phase I/II  
40 study in patients with non-small cell lung cancer». *Cancer Immunol Immunother.* 2006; 55: 1553-1564). Se indujeron más respuestas inmunitarias específicas de la telomerasa en varios pacientes con cáncer. Sin embargo, aunque se han aplicado diferentes estrategias experimentales, se han obtenido respuestas clínicas parciales o completas en tan solo una minoría de los pacientes tratados.

- Los presentes inventores han hallado ahora que una selección acertada de los péptidos inmunógenos y un adyuvante eficaz son requisitos indispensables para el desarrollo del protocolo eficaz de inmunoterapia basada en los péptidos de la telomerasa. De acuerdo con la presente invención, se administra una composición que comprende una serie de péptidos procedentes de la telomerasa para que sean presentados por las células presentadoras de antígeno. Esta composición comprende los péptidos restringidos por los sistemas de histocompatibilidad (HLA, por su nombre en inglés) de clase I y II. Tiene gran importancia la disponibilidad de los epítopos de la telomerasa restringidos por moléculas de HLA de clase I o II y, por lo tanto, reconocidos por los linfocitos T CD8+ o CD4+, respectivamente, ya que ofrece la posibilidad de diseñar un protocolo de inmunización activa que pudiera imitar una respuesta inmunitaria totalmente fisiológica. De hecho, se ha demostrado que para conseguir unos efectos antitumorales eficaces resulta esencial que la respuesta inmunitaria se caracterice por la activación no solo de los LTC específicos del tumor, sino también de los linfocitos T CD4+ específicos del tumor. Esto se debe al hecho de  
55 que los linfocitos T CD4+ son responsables de procesos de inducción, regulación y mantenimiento de las respuestas inmunitarias mediadas por los LTC, así como de la destrucción directa del tumor. Una peculiaridad molecular de los epítopos procedentes de la telomerasa restringidos por las moléculas de HLA de clase II es su promiscuidad, esto es, su capacidad para fijarse y ser presentados por diferentes alelos del HLA de clase II. Esto es una gran ventaja a la hora de diseñar un protocolo inmunoterápico, ya que permite que se pueda utilizar con eficacia un único epítipo

peptídico para inmunizar individuos portadores de diferentes haplotipos de HLA. Así pues, un gran número de pacientes podría ser responsable de la inmunización con una combinación idónea de péptidos procedentes de la telomerasa.

La presente invención se define mediante las reivindicaciones.

- 5 En un primer aspecto, la presente descripción se refiere a una composición de al menos 3 péptidos de una telomerasa de mamífero, en particular de la telomerasa de humano, que comprende:
- (i) al menos un péptido restringido por el HLA de clase I y
  - (ii) al menos dos péptidos restringidos por el HLA de clase II.

10 La composición de péptidos de la presente descripción que comprende la invención comprende al menos cuatro péptidos, p. ej., cuatro, cinco o incluso más péptidos. Preferiblemente, la composición comprende cuatro péptidos. Más preferiblemente, la composición comprende un péptido restringido por el HLA de clase I y al menos dos, en particular al menos tres, péptidos restringidos por el HLA de clase II. El péptido restringido por el HLA de clase I es preferiblemente un péptido restringido por el HLA-A2. Los péptidos restringidos por el HLA de clase II son preferiblemente los péptidos restringidos por HLA-DR1, -DR4, -DR7, -DR15, -DP4 y -DQ4. Los péptidos restringidos por el HLA de clase I tienen preferiblemente una longitud de 7 a 11 aminoácidos, p. ej., 9 aminoácidos, y los péptidos restringidos por el HLA de clase II tienen preferiblemente una longitud de 12 a 18 aminoácidos, p. ej., 15 aminoácidos.

15 Preferiblemente, los péptidos de la composición están presentes en un solo contenedor. La cantidad de cada péptido en la composición suele oscilar de 100 µg a 1000 µg, preferiblemente de 200 µg a 800 µg y más preferiblemente de 400 µg a 600 µg. Lo más preferiblemente, cada péptido está presente en aproximadamente la misma cantidad, p. ej., en una cantidad de aproximadamente 500 µg.

20 El péptido restringido por el HLA de clase I (i) comprende preferiblemente la secuencia de aminoácidos **ILAKF LHWL** (SEQ ID n.º 1) que corresponde a los aminoácidos 540 a 548 de la telomerasa de humano. Sin embargo, se considera idóneo para ser usado de la forma específica que se incluye en la presente descripción cualquier péptido procedente de la telomerasa que sea capaz de fijarse a cualquier producto génico de un alelo del HLA de clase I y de inducir la activación de los LTC específicos del péptido. Los péptidos restringidos por el HLA de clase II (i) se seleccionan preferiblemente de los péptidos que comprenden la secuencia de aminoácidos **RPGLL GASVL GLDDI** (SEQ ID n.º 2) que corresponde a los aminoácidos 672 a 686 de la telomerasa de humano, **LTDLQ PYMRQ FVAHL** (SEQ ID n.º 3) que corresponde a los aminoácidos 766 a 780 de la telomerasa de humano, y **EARPA LLTSRLRFIPK** (SEQ ID n.º 4) que corresponde a los aminoácidos 611 a 626 de la telomerasa de humano. Sin embargo, cualquier péptido procedente de telomerasa capaz de fijarse a cualquier producto génico de cualquier alelo de HLA de clase II y que sea capaz de inducir la activación de los linfocitos T CD4+ específicos del péptido se considera idóneo para ser usado de la forma específica que se incluye en la presente descripción.

35 Los péptidos se podrían sintetizar de acuerdo con los métodos conocidos, p. ej., mediante técnicas de síntesis en fase sólida. Si se desea, los péptidos podrían comprender modificaciones en el extremo amino y/o carboxilo, tales como la acilación o la amidación.

40 En una realización de la invención, la composición peptídica se administra en combinación con un adyuvante capaz de interactuar con los receptores de tipo toll (TLR, por su nombre en inglés) y proporcionar un soporte proinflamatorio, en donde el adyuvante es imiquimod. En otro ejemplo de la descripción, el adyuvante es un derivado de la imidazoquinolina que se fija al TLR7 y al TLR8 de la superficie de las células dendríticas humanas, lo que induce la maduración de estas células hacia la presentación del antígeno mediante el incremento de la expresión del HLA y de moléculas coestimulantes, el incremento de la expresión de los receptores de quimiocinas, tales como CCR7, y/o mediante la inducción de la secreción de citocinas de Th1, tales como el IFN-γ, IN12 o el TNF-α. Otros adyuvantes preferidos son los agentes que se fijan a los TLR y/o los activan, tales como los oligonucleótidos que contienen CpG. Además, también forma parte de la descripción el uso adicional de los compuestos, tales como Montanide ISA-51, capaces de reducir la eliminación de los péptidos administrados en el sitio de la inyección y de ejercer la actividad adyuvante.

50 La composición de la presente invención es idónea para ser usada en medicina, en particular en la medicina humana, más en particular como una vacuna contra el cáncer. La composición es útil para la vacunación contra cualquier cáncer que exprese la telomerasa. Los ejemplos preferidos son el cáncer de riñón, p. ej., el carcinoma de células renales, cáncer de próstata, p. ej., adenocarcinoma de próstata, pero también los cánceres de pulmón, de mama y de ovario, y los linfomas. El cáncer puede estar en cualquier etapa, p. ej., en la etapa temprana o en una etapa avanzada, p. ej., al menos en la etapa IV.

55 En una realización preferida, la composición se utiliza para la administración a un paciente humano compatible con el HLA, a saber, un paciente humano que da positivo para los alelos de HLA que corresponden a los alelos de HLA

de clase I y II que restringen la presentación de los péptidos (i) y/o (ii) a los linfocitos T. Se prefiere en especial la administración a un paciente que se ha comprobado que da positivo para el alelo HLA-A2 que corresponde al péptido preferido (i) restringido por el HLA de clase I que comprende la SEQ ID n.º 1.

5 La composición de la presente invención se administra por cualquier vía idónea, p. ej., por inyección, más en particular por inyección intradérmica. Para reforzar la respuesta inmunitaria, la composición de la descripción que comprende la invención se administra junto con un adyuvante, p. ej., imiquimod.

Además, se prefiere administrar la composición mediante un protocolo que comprende una serie de administraciones posteriores, p. ej., cinco o más administraciones posteriores. En un ejemplo especialmente preferido, la composición es para la administración mediante un protocolo que comprende:

- 10
- 1.<sup>a</sup> semana: administrar de 2 a 4 veces, preferiblemente 3 veces, a intervalos de administración de aproximadamente 48 horas,
  - 2.<sup>a</sup> a 4.<sup>a</sup> semana: administrar de 1 a 2 veces a la semana, preferiblemente 1 vez a la semana.
  - 5.<sup>a</sup> a 7.<sup>a</sup> semana: 1 administración, preferiblemente 1 vez en la 6.<sup>a</sup> semana.
  - 9.<sup>a</sup> a 12.<sup>a</sup> semana: 1 administración, preferiblemente 1 vez en la 10.<sup>a</sup> semana.
- 15 Antes y después de cada administración, el adyuvante, p. ej., imiquimod, se extiende preferiblemente por el sitio de administración durante, p. ej., al menos 30 s para permitir su acción.

La dosis administrada comprende preferiblemente cada péptido en cantidades aproximadamente iguales, p. ej., de aproximadamente 500 µg.

Además, la presente invención se explica con más detalle mediante el ejemplo que viene a continuación.

## 20 Ejemplo

Ensayo clínico de fase I/II para el tratamiento de los pacientes con cáncer de riñón o de próstata de etapa IV

1. Criterios de inclusión para los pacientes afectados por el cáncer de próstata
    - Diagnóstico histológico del adenocarcinoma de próstata
    - Resistencia a la terapia hormonal definida como progresión después del tratamiento de 4 semanas
  - 25 - Etapa IV de la enfermedad
    - PSA > 10 µg/ml que se incrementó en el último mes
    - Función hepática aceptable, que se define como: bilirrubina total < LNS («límite normal superior»), AST y ALT < 2,5 × LNS, fosfatasa alcalina < 5 × LNS
    - Función renal aceptable, que se define como: creatinina en el suero < 1,5 × LNS
  - 30 - Función hematopoyética aceptable, que se define como: hemoglobina > 7 g/l, leucocitos > 3 × 10<sup>9</sup>/l, plaquetas > 100 × 10<sup>9</sup>/l
    - Positividad para el alelo HLA-A2
    - Estado de funcionamiento del ECOG < 3
    - Esperanza de vida > 3 meses
  - 35 - Ausencia coexistencia de terapia inmunosupresora o quimioterápica desde 30 días antes del comienzo del estudio
    - Ausencia de enfermedades autoinmunitarias coexistentes
    - El paciente debe ser capaz de seguir los requisitos del protocolo
    - El paciente tiene que proporcionar un consentimiento informado por escrito
  - 40 - Edad > 18 años
2. Criterios de inclusión para los pacientes afectados con el cáncer de riñón

- Diagnóstico histológico del carcinoma de células renales
- Función renal normal del riñón sin afectar
- Función hepática aceptable, que se define como: bilirrubina total < LNS («límite normal superior»), AST y ALT < 2,5 x LNS, fosfatasa alcalina < 5 x
- 5 - Función hematopoyética aceptable, que se define como: hemoglobina > 7 g/l, leucocitos > 3 x 10<sup>9</sup>/l, plaquetas > 100 x 10<sup>9</sup>/l
- Positividad para el alelo HLA-A2
- Estado de funcionamiento del ECOG < 3
- Esperanza de vida > 3 meses
- 10 - Paciente varón
- Paciente mujer que no está embarazada, sin lactancia, y con tratamiento anticonceptivo eficaz
- Ausencia de terapia inmunodepresora o quimioterápica desde 30 días antes del comienzo del estudio
- Ausencia de enfermedades autoinmunitarias coexistentes
- El paciente debe ser capaz de seguir los requisitos del protocolo
- 15 - El paciente tiene que proporcionar un consentimiento informado por escrito
- Edad > 18 años

### 3. Protocolo del tratamiento

#### 3.1. Péptidos procedentes de la telomerasa

En el estudio se emplean los siguientes péptidos inmunógenos procedentes de la telomerasa:

- 20 hTERT540-548 (secuencia: **ILAKFLHWL**; restricción: HLA-A2);
- hTERT672-686 (secuencia: **RPGLLGASVLGLDDI**; restricción: HLA-DR1, -DR7, -DR15);
- hTERT766-780 (secuencia: **LTDLQPYMRQFVAHL**; restricción: HLA-DR4, -DR7, -DR15);
- hTERT611-626 (secuencia: **EARPALLTSRLRFIPK**; restricción: HLA-DP4, DQ4).

#### 3.2. Composición de los grupos

- 25 Se constituirán dos grupos de pacientes, uno para cada tipo histológico de enfermedad. Se incluirán diez pacientes por grupo.

#### 3.3 Tratamiento

- 30 Los pacientes se tratarán mediante inmunoterapia activa a través de inyecciones intradérmicas de los péptidos procedentes de la telomerasa citados más arriba. Se administrará una mezcla de 4 péptidos diferentes con cada inyección (500 µg de cada péptido por inyección). El volumen inyectado total será de 0,4 ml.

La posología del tratamiento será la siguiente:

- 1.ª semana: 3 inyecciones intradérmicas a intervalos de 48 horas;
- 2.ª a 4.ª semana: 1 inyección a la semana;
- 6.ª semana: 1 inyección;
- 35 10.ª semana: 1 inyección.

Antes y después de cada inyección, se extenderá el imiquimod (nombre comercial: Aldara) en el sitio de la inyección durante 30 s para permitir su absorción.

**REIVINDICACIONES**

1. Una composición de 4 péptidos de una telomerasa de mamífero, que comprende:
  - (i) un péptido restringido por el HLA de clase I y
  - (ii) tres péptidos restringidos por el HLA de clase II
- 5 en combinación con un adyuvante, en donde:
  - (a) dicho péptido restringido por el HLA de clase I es **ILAKF LHWL** (SEQ ID n.º 1),
  - (b) dichos tres péptidos restringidos por el HLA de clase II son, respectivamente, **RPGLL GASVL GLDDI** (SEQ ID n.º 2), **LTDLQ PYMRQ FVAHL** (SEQ ID n.º 3) y **EARPA LLTSRLRFIPK** (SEQ ID n.º 4),
  - (c) dicho adyuvante es capaz de interactuar con los receptores de tipo toll (TLR), y en donde dicho adyuvante es imiquimod.
- 10 2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicha telomerasa es humana.
3. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2 para ser usada en medicina.
4. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2 para ser usada en la medicina humana.
- 15 5. La composición para ser usada de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 3 y 4 como una vacuna contra el cáncer de riñón o el cáncer de próstata.
6. La composición para ser usada de acuerdo con la reivindicación 5, en donde dicho cáncer de riñón o de próstata es avanzado.
- 20 7. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, idónea para la administración por inyección intradérmica.