

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 624 879**

51 Int. Cl.:

A61K 38/00 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07K 7/06 (2006.01)

A61P 1/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.09.2008** **E 14169857 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.04.2017** **EP 2801367**

54 Título: **Composición inductora de CTL**

30 Prioridad:

18.09.2007 JP 2007241161

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

17.07.2017

73 Titular/es:

GREEN PEPTIDE CO., LTD. (100.0%)
No. 402, Fukuoka Bio Incubation Center 1-1,
Hyakunen Koen Kurume-shi
Fukuoka 839-0864, JP

72 Inventor/es:

ITOH, KYOGO;
SHICHIJO, SHIGEKI y
YAMADA, AKIRA

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 624 879 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

Composición inductora de CTL

5 Campo técnico

La presente invención se refiere a una composición inductora de CTL que comprende un péptido útil para el tratamiento o la prevención del cáncer en grupos de pacientes supertipo de HLA-A3 o HLA-A24 positivos.

10 Antecedentes de la invención

Los tumores malignos son la causa principal de las muertes japonesas, representando aproximadamente 310.000 muertes al año. En el mundo, el cáncer causa la muerte de aproximadamente seis millones de personas al año. Los tratamientos del cáncer emplean extirpación quirúrgica, agentes anticancerosos, radioterapia y otros. Sin embargo, estos regímenes de tratamiento implican problemas, tales como recurrencia, problemas en la CDV y, además, la falta de opciones de tratamiento en casos de cáncer avanzado al cual no se administran estos tratamientos. Como cuarto régimen de tratamiento, se ha esperado con impaciencia durante un largo tiempo la inmunoterapia para el cáncer (terapia por vacuna). Los estudios clínicos de vacunas peptídicas se comenzaron en el mundo en 1990, cuando péptidos antigénicos de cáncer humano llegaron a ser identificables. Sin embargo, según los resultados resumidos de los estudios clínicos mediante la administración de péptidos solos o en terapias combinadas la tasa de eficacia era de 2,7 % en más de 1.000 casos (*Nature Immunology*, 2004), y está resultando que es difícil formularlos en preparaciones farmacéuticas.

Los presentes inventores, por otro lado, han presentado la terapia con vacuna peptídica hecha a medida, en la cual se examinaron por adelantado el tipo de HLA y las respuestas inmunes específicas de los pacientes para seleccionar una vacuna peptídica a administrar, y establecieron que las vacunas peptídicas son seguras y eficaces. Específicamente, se observaron efectos clínicos contra tumores cerebrales y cáncer cervical mediante la administración de solo vacunas peptídicas hechas a medida (Documentos de No Patente 1 a 3). Además, su uso en combinación con agentes anticancerosos dio como resultado efectos clínicos excelentes y alcanzándose seguridad en cánceres de próstata y páncreas, a niveles que permitían formularlos en preparaciones farmacéuticas (Documentos de No Patente 4 y 5).

La inmunidad celular por linfocitos T específicos que se piensa que son el principal efector en la terapia con vacuna peptídica contra el cáncer está restringida por antígeno de leucocito humano (HLA), y basado en esto, los investigadores en el mundo, incluyendo los presentes inventores, han llevado a cabo el desarrollo de vacunas para ser dadas solamente a los pacientes que tengan tipos específicos de HLA (HLA-A2 y HLA-A24). Sin embargo, el porcentaje de pacientes que tienen estos dos tipos de HLA está en el orden del 40 a 75 % y, por tanto, el resto, 25 a 60 % de los pacientes que tienen tipos de HLA menos frecuentes no se pueden beneficiar de los efectos de las vacunas peptídicas. Por lo tanto, en el mundo hay una necesidad de investigar el desarrollo de vacunas peptídicas que se puedan aplicar a pacientes de cáncer.

Ya se han identificado péptidos que se unen a cualquiera de HLA-A24, -A2, -A26 y supertipos de HLA-A3 (HLA-A3, -A11, -A31, -A33, y -A68.1) y son capaces de inducir CTL restringidos por HLA para los respectivos HLA. Se ha informado que estos péptidos son útiles como vacunas peptídicas contra el cáncer (Documento de Patente 1 a 13, 19 y Documentos de No Patente 1 a 17).

Además, se han descrito péptidos WHSC2 para su uso en el tratamiento de cáncer en general y en paciente HLA-A2 positivo (Documentos de Patente 16 a 18).

En ensayos clínicos, los cuales están siendo presentados por el presente inventor, de vacunas contra el cáncer que usan péptidos hechos a medida, basándose en estos descubrimientos, se examina por adelantado el tipo de HLA de un paciente, y según el tipo de HLA del paciente, se seleccionan un máximo de cuatro péptidos entre los péptidos candidatos y se administran. Por tanto, cuando el tipo de HLA de un paciente es HLA-A2-A24, los péptidos se seleccionan entre conjuntos de 8 péptidos para HLA-A2 y HLA-A24, respectivamente, es decir, 16 péptidos. En el caso donde un paciente es homocigoto para HLA-A24, sin embargo, los péptidos deberían seleccionarse entre 8 péptidos para A24. Es muy difícil introducir tipos adicionales de péptidos que puedan ser vacunas contra el cáncer. Por lo tanto, al determinar si los péptidos pueden inducir CTL restringidos por HLA a través de diferentes grupos, la selección de péptidos se puede ampliar para pacientes que tienen específicos tipos de HLA.

Mientras tanto, aún no se entiende bien el mecanismo patológico de los trastornos hepatocelulares después de infección con virus de la hepatitis C (VHC), pero muchas líneas de evidencia muestran que los linfocitos T citotóxicos (CTL) específicos a virus pueden jugar un papel clave sobre los trastornos del hígado después de la infección con VHC (Documento de No Patente 6). También se sugiere que los CTL son eficaces para limitar la propagación del virus y eliminar el virus durante la infección vírica (Documento de No Patente 7). Por lo tanto, la inducción de los CTL con vacunas sería una estrategia prometedora para controlar enfermedades asociadas a la infección de VHC. Por tanto, hay una necesidad de desarrollar vacunas peptídicas que se pretende que induzcan CTL, debido a su coste

reducido y almacenaje con facilidad.

Los presentes inventores previamente observaron que el péptido C35-44, un péptido derivado de la secuencia de la proteína core de VHC, cuya secuencia es YLLPRRGPR (SEQ ID NO: 25), puede inducir los CTL en pacientes positivos para HLA-A24 o el supertipo -A3 (Documento de Patente 14). Antes de esta observación, también se había informado que este péptido C35-44 es capaz de fuerte inducción de CTL útiles para eliminar el virus de la sangre periférica de individuos HLA-A2 positivos (Documento de No Patente 8 y Documento de Patente 15).

Los documentos citados en la presente invención son como se enumeran a continuación. Los documentos descritos a continuación se incorporan en esta solicitud de patente por referencia.

Documento de Patente 1: Publicación Internacional N° WO 2005/071075.

Documento de Patente 2: Publicación Internacional N° WO 01/011044.

Documento de Patente 3: Publicación de Patente No examinada Japonesa (Kokai) N° 2003-270.

Documento de Patente 4: Publicación Internacional N° WO 2003/050140.

Documento de Patente 5: Publicación de Patente No examinada Japonesa (Kokai) N° Hei 11-318455 (1999).

Documento de Patente 6: Publicación Internacional N° WO 00/12701.

Documento de Patente 7: Publicación Internacional N° WO 02/010369.

Documento de Patente 8: Publicación Internacional N° WO 99/67288.

Documento de Patente 9: Solicitud de Patente Japonesa N° 2007-2127179.

Documento de Patente 10: Publicación de Patente No examinada Japonesa (Kokai) N° 2004-216.

Documento de Patente 11: Publicación Internacional N° WO 2007/000935.

Documento de Patente 12: Publicación Internacional N° WO 2005/075646.

Documento de Patente 13: Publicación Internacional N° WO 2008/007711.

Documento de Patente 14: Publicación Internacional N° WO 2007/083807.

Documento de Patente 15: Publicación Internacional N° WO 2007/049394.

Documento de Patente 16: Publicación Internacional N° WO 2004/035085.

Documento de Patente 17: Publicación Internacional N° WO 2005/041982.

Documento de Patente 18: Publicación Europea N° EP 1 437 564.

Documento de Patente 19: Publicación Europea N° EP 1 712 620.

Documento de No Patente 1: Yajima N. y col., *Clin. Cancer Res.* 15 de agosto de 2005; 11(16):5.900-11.

Documento de No Patente 2: Mochizuki K. y col., *Int. J. Oncol.* julio de 2004; 25(1):121-31.

Documento de No Patente 3: Tsuda N. y col., *J. Immunother.* enero-febrero de 2004; 27(1):60-72.

Documento de No Patente 4: Inoue Y. y col., *J. Urol.* octubre de 2001; 166(4):1.508-13. Fe de erratas en: *J. Urol.* mayo de 2002; 167(5):2.146.

Documento de No Patente 5: Yanagimoto H. y col., *Cancer Sci.* abril de 2007; 98(4): 605-11. *Epub* 19 de febrero de 2007.

Documento de No Patente 6: Chang K.M. y col., *Springer Semin. Immunopathol.* 1997; 19:57-68.

Documento de No Patente 7: Kurokohchi K. y col., *J. Virol.* 1996; 70:232-240.

Documento de No Patente 8: Takao Y. y col., *Microbiol. Immunol.*, 48(7), 507-517, 2004.

Documento de No Patente 9: Yamada A. y col., *Cancer Res.* 1 de septiembre de 2001; 61(17):6.459-66.

Documento de No Patente 10: Kobayashi K. y col., *Cancer Sci.* julio de 2003; 94(7):622-7.

Documento de No Patente 11: Nakao M. y col., *J. Immunol.* 1 de marzo de 2000; 164 (5) :2.565-74.

Documento de No Patente 12: Harashima N. y col., *Eur. J. Immunol.* febrero de 2001; 31(2):323-32.

Documento de No Patente 13: Minami T. y col., *Cancer Immunol. Immunother.* 2007, mayo; 56(5):689-98.

Documento de No Patente 14: Matsueda S. y col., *Clin. Cancer Res.* 1 de octubre de 2005; 11(19 Pt 1):6.933-43.

Documento de No Patente 15: Takedatsu H. y col., *Clin. Cancer Res.* 1 de febrero de 2004; 10(3):1.112-20.

Documento de No Patente 16: Naito M. y col., *Br. J. Cancer*. 17 de diciembre de 2007; 97(12):1.648-54. Epub 27 de noviembre de 2007.

Descripción de la invención

Problemas a resolver por la invención:

Un objeto de la presente invención es proporcionar un péptido capaz de inducir CTL restringidos por HLA así para una pluralidad de tipos de HLA.

Maneras para resolver los problemas

Un objeto de la presente invención es proporcionar una composición inductora de CTL que comprenda un péptido, en donde el péptido es un péptido conocido que se ha informado que tiene la capacidad de inducir CTL restringidos por HLA para HLA-A24, HLA-A2 o supertipo HLA-A3 y en donde el péptido puede inducir CTL restringidos por HLA para dos o más tipos de HLA que incluyen un tipo(s) distinto(s) de los ya informados.

La presente invención se refiere a las realizaciones caracterizadas por las reivindicaciones. Por tanto, la invención se refiere a los siguientes puntos:

(1) una composición inductora de linfocito T citotóxico que comprende un péptido en donde el péptido es WHSC2-103 (SEQ ID NO: 12) para su uso en el tratamiento o la prevención del cáncer en un grupo de pacientes de cáncer supertipo HLA-A3 positivos;

(2) la composición para su uso según (1), en donde el supertipo HLA-A3 es HLA-A31;

(3) una composición inductora de linfocito T citotóxico que comprende un péptido en donde el péptido es WHSC2-103 (SEQ ID NO: 12) para su uso en el tratamiento o la prevención de cáncer en un grupo de pacientes de cáncer HLA-A24 positivos;

(4) la composición para su uso según uno cualquiera de (1) a (3), que es una vacuna peptídica contra el cáncer.

Por lo tanto, en el presente documento se divulga una composición inductora de CTL que comprende uno o más péptidos y se puede usar para el tratamiento o la prevención del cáncer y/o una enfermedad causada por el virus de la hepatitis C en dos o más grupos de pacientes, en donde el uno o más péptidos se selecciona entre el grupo que consiste en EGFR-800 (SEQ ID NO: 1), Lck-208 (SEQ ID NO: 2), Lck-488 (SEQ ID NO: 3), MRP3-1293 (SEQ ID NO: 4), PAP-213 (SEQ ID NO: 5), PSA-248 (SEQ ID NO: 6), SART2-93 (SEQ ID NO: 7), SART3-109 (SEQ ID NO: 8), SART3-302 (SEQ ID NO: 9), Lck-246 (SEQ ID NO: 10), ppMAPkkk-432 (SEQ ID NO: 11), WHSC2-103 (SEQ ID NO: 12), UBE-43 (SEQ ID NO: 13), HNRPL-501 (SEQ ID NO: 14), CypB-129 (SEQ ID NO: 15), Lck-422 (SEQ ID NO: 16), Lck-449 (SEQ ID NO: 17), β -tubulin5-154 (SEQ ID NO: 18), Lck-90 (SEQ ID NO: 19), PSA-16 (SEQ ID NO: 20), PAP-248 (SEQ ID NO: 21), IEX1-47 (SEQ ID NO: 22), SART3-511 (SEQ ID NO: 23), SART3-734 (SEQ ID NO: 24), C35-44 (SEQ ID NO: 25), PAP-155 (SEQ ID NO: 26), y β -tubulina-309 (SEQ ID NO: 27), y en donde los dos o más grupos de pacientes se seleccionan entre el grupo que consiste en un grupo de pacientes HLA-A2 positivos, un grupo de pacientes HLA-A24 positivos, un grupo de pacientes HLA-A26 positivos, y un grupo de pacientes supertipo HLA-A3 positivos.

También se divulga una composición farmacéutica que es una composición que comprende uno o más péptidos y se puede usar para el tratamiento o la prevención del cáncer en dos o más grupos de pacientes, en donde el uno o más péptidos se selecciona entre el grupo que consiste en EGFR-800 (SEQ ID NO: 1), Lck-208 (SEQ ID NO: 2), Lck-488 (SEQ ID NO: 3), MRP3-1293 (SEQ ID NO: 4), PAP-213 (SEQ ID NO: 5), PSA-248 (SEQ ID NO: 6), SART2-93 (SEQ ID NO: 7), SART3-109 (SEQ ID NO: 8), SART3-302 (SEQ ID NO: 9), Lck-246 (SEQ ID NO: 10), ppMAPkkk-432 (SEQ ID NO: 11), WHSC2-103 (SEQ ID NO: 12), UBE-43 (SEQ ID NO: 13), HNRPL-501 (SEQ ID NO: 14), CypB-129 (SEQ ID NO: 15), Lck-422 (SEQ ID NO: 16), Lck-449 (SEQ ID NO: 17), β -tubulin5-154 (SEQ ID NO: 18), Lck-90 (SEQ ID NO: 19), PSA-16 (SEQ ID NO: 20), PAP-248 (SEQ ID NO: 21), IEX1-47 (SEQ ID NO: 22), SART3-511 (SEQ ID NO: 23), SART3-734 (SEQ ID NO: 24), PAP-155 (SEQ ID NO: 26), y β -tubulina-309 (SEQ ID NO: 27), y en donde las dos o más poblaciones de paciente se seleccionan entre el grupo que consiste en un grupo de pacientes HLA-A2 positivos, un grupo de pacientes HLA-A24 positivos, un grupo de pacientes HLA-A26 positivos y un grupo de pacientes supertipo HLA-A3 positivos.

La composición divulgada en el presente documento que comprende uno o más péptidos seleccionados entre el grupo que consiste en EGFR-800 (SEQ ID NO: 1), Lck-488 (SEQ ID NO: 3), SART2-93 (SEQ ID NO: 7), SART3-109 (SEQ ID NO: 8), WHSC2-103 (SEQ ID NO: 12), UBE-43 (SEQ ID NO: 13), HNRPL-501 (SEQ ID NO: 14), CypB-129 (SEQ ID NO: 15), y PAP-155 (SEQ ID NO: 26) puede inducir CTL restringidos por HLA para tanto HLA-A24 como HLA-A2, y se pueden usar para el tratamiento o la prevención de un grupo de pacientes de cáncer HLA-A24 positivos y un grupo de pacientes de cáncer HLA-A2 positivos.

La composición de la presente invención que comprende el péptido WHSC2-103 (SEQ ID NO: 12) puede inducir CTL restringidos por HLA para tanto HLA-A24 como el supertipo HLA-A3, y se puede usar para el tratamiento o la prevención de un grupo de pacientes de cáncer HLA-A24 positivos y un grupo de pacientes de cáncer supertipo HLA-A3 positivos.

La composición divulgada en el presente documento que comprende uno o más péptidos seleccionados entre el grupo que consiste en SART2-93 (SEQ ID NO: 7), SART3-109 (SEQ ID NO: 8), Lck-246 (SEQ ID NO: 10), ppMAPkkk-432 (SEQ ID NO: 11), WHSC2-103 (SEQ ID NO: 12), UBE-43 (SEQ ID NO: 13), HNRPL-501 (SEQ ID NO: 14), Lck-422 (SEQ ID NO: 16), Lck-90 (SEQ ID NO: 19), y SART3-511 (SEQ ID NO: 23) puede inducir CTL restringidos por HLA para tanto HLA-A2 como el supertipo HLA-A3, y se puede usar para el tratamiento o la prevención de un grupo de pacientes de cáncer HLA-A2 positivos y un grupo de pacientes de cáncer supertipo HLA-A3 positivos.

La composición divulgada en el presente documento que comprende uno o más péptidos seleccionados entre el grupo que consiste en SART2-93 (SEQ ID NO: 7), SART3-109 (SEQ ID NO: 8), WHSC2-103 (SEQ ID NO: 12), UBE-43 (SEQ ID NO: 13), y HNRPL-501 (SEQ ID NO: 14) puede inducir CTL restringidos por HLA para HLA-A2, HLA-A24 y el supertipo HLA-A3, y se puede usar para el tratamiento o la prevención de un grupo de pacientes de cáncer HLA-A2 positivos, un grupo de pacientes de cáncer HLA-A24 positivos, y un grupo de pacientes de cáncer supertipo HLA-A3 positivos.

La composición divulgada en el presente documento que comprende uno o más péptidos seleccionados entre el grupo que consiste en EGFR-800 (SEQ ID NO: 1), ppMAPkkk-432 (SEQ ID NO: 11), HNRPL-501 (SEQ ID NO: 14), y SART3-109 (SEQ ID NO: 8) puede inducir CTL restringidos por HLA para HLA-A26, y también se puede usar para el tratamiento y la prevención de un grupo de pacientes de cáncer HLA-A26 positivos, además de los grupos de pacientes anteriormente descritos.

La composición divulgada en el presente documento que comprende el péptido C35-44 (SEQ ID NO: 25) se puede usar para el tratamiento o la prevención de una enfermedad relacionada con el virus de la hepatitis C en pacientes HLA-A24 positivos, pacientes HLA-A2 positivos, pacientes supertipo HLA-A3 positivos y pacientes HLA-A26 positivos, es decir, el tratamiento o la prevención de grupos de pacientes de hepatitis, cirrosis y cáncer de hígado asociados a la infección con VHC.

Efectos de la invención

El péptido contenido en las composiciones inductoras de CTL de la presente divulgación tiene la capacidad de inducir CTL restringidos por HLA para una pluralidad de tipos de HLA y, así, se puede usar para el tratamiento o la prevención del cáncer y una enfermedad relacionada con la infección de la hepatitis C en pacientes que tienen un tipo de HLA distinto de los tipos de HLA para los cuales previamente se sabe que el péptido induce CTL restringidos por HLA. La presente divulgación proporciona un rango más amplio de selección de péptidos para pacientes con los respectivos tipos de HLA, y permite llevar a cabo tratamientos más eficaces en terapia con vacuna contra el cáncer hecha a medida.

Además, una composición inductora de CTL que comprende el péptido representado por C35-44 (SEQ ID NO: 25) es capaz de inducir CTL en cualquiera de un paciente HLA-A24 positivo, un paciente HLA-A2 positivo, un paciente supertipo HLA-A3 positivo y un paciente HLA-A26 positivo y se puede usar para el tratamiento o la prevención de enfermedades relacionadas con el virus de la hepatitis C.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra actividades citotóxicas de CTL obtenidas estimulando PBMCs de pacientes de cáncer HLA-A11 positivos con SART3-109 que se une a HLA-A24.

La Figura 2 muestra actividad de unión de diferentes péptidos que tienen diferentes propiedades de unión para unirse a células HLA-A26 positivas.

La Figura 3 muestra actividades citotóxicas de PBMC estimuladas por péptido de pacientes de cáncer de próstata positivos para alelo de supertipo HLA-A3. Se estimularon PBMC de pacientes de cáncer de próstata positivos para alelo de supertipo HLA-A3 con péptidos y se midieron las actividades citotóxicas de las PBMC contra células diana plurales mediante ensayo de liberación de ⁵¹Cr de 6 horas. Como control, se usó blastos de linfocito T formador de blastos y estimulados por PHA de voluntarios sanos positivos para alelo de supertipo HLA-A3. *p<0,05.

El mejor modo de llevar a cabo la invención

Por "unión a dos o más moléculas de HLA seleccionadas entre el grupo que consiste en HLA-A24, HLA-A2, supertipo HLA-A3, y HLA-A26" se supone que un péptido puede formar un complejo con dos o más moléculas de HLA seleccionadas entre el grupo que consiste en moléculas incluidas en moléculas de HLA-A24, HLA-A2, supertipo HLA-A3, y HLA-A26 y se pueden presentar sobre la superficie celular.

En la presente invención, se puede examinar la capacidad de inducir CTL específicos a péptido, por ejemplo, estimulando células mononucleares de sangre periférica (PBMC) con un péptido y determinando, por medio de métodos de ELISA o similares, si las PBMC estimuladas por péptido responden a células que presentan antígeno pulsadas con el correspondiente péptido y producen citoquinas (por ejemplo, IFN- γ). Además, la actividad citotóxica de los CTL inducidos se puede determinar por métodos de ensayo de liberación de ^{51}Cr y otros.

El péptido de la presente invención se puede producir por síntesis peptídica convencional. Métodos para tales fines incluyen métodos descritos, por ejemplo, en "Peptide Synthesis", Interscience, Nueva York, 1966; "The Proteins", Vol. 2, Academic Press Inc., Nueva York, 1976; "Peptide Synthesis" [en japonés], MARUZEN Co., Ltd., 1975; "Basics And Experiments In Peptide Synthesis" [en japonés], MARUZEN Co., Ltd., 1985; y "Development Of Pharmaceuticals", Segunda Serie, Vol. 14, Peptide Synthesis [en japonés], Hirokawa Shoten Co., 1991.

El péptido contenido en la composición inductora de CTL de la presente invención se puede generar por fragmentación intracelular de un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos del péptido de la presente invención. La presente divulgación también abarca el uso del péptido de la presente invención en tal realización. El número de residuos de aminoácidos y la secuencia de aminoácidos de tal polipéptido se puede seleccionar como se desee, sin ninguna limitación, siempre y cuando el polipéptido pueda proporcionar el péptido de la presente invención.

El péptido contenido en la composición inductora de CTL de la presente invención puede inducir eficazmente y proliferar CTL que matan específicamente células cancerosas en dos grupos de pacientes seleccionados entre el grupo que consiste en grupos de pacientes HLA-A24 y supertipo HLA-A3 positivos y, por tanto, es útil para tratar una amplia diversidad de pacientes de cáncer.

La presente invención proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento o la prevención del cáncer, comprendiendo el péptido como se especificó anteriormente. La composición farmacéutica para el tratamiento o la prevención del cáncer según la presente divulgación puede comprender un péptido único, o dos o más péptidos y/o sus derivados en combinación. Puesto que los CTL de un paciente de cáncer son un subconjunto de células que reconocen diferentes péptidos antigénicos de cáncer, además, es eficaz usar una pluralidad de péptidos antigénicos de cáncer y/o sus derivados en combinación. El péptido de la presente invención también se puede combinar con un péptido antigénico de cáncer distinto del de la presente invención.

La composición farmacéutica para el tratamiento o la prevención del cáncer según la presente divulgación puede comprender preparaciones farmacéuticas que contienen péptidos plurales, por ejemplo, ocho péptidos que incluyen el(los) péptido(s) de la presente divulgación, por separado, para que la composición se pueda usar en terapia hecha a medida.

La composición farmacéutica de la presente invención puede comprender, además del(de los) péptido(s), vehículos farmacéuticamente aceptables y similares. Se puede usar como vehículos: celulosas, aminoácidos polimerizados, albúmina y otros. La composición farmacéutica de la presente invención puede incluir formulaciones de liposoma, formulaciones particuladas unidas a perlas que tienen diámetros de varios micrómetros, formulaciones unidas a lípidos, y similares. La composición farmacéutica de la presente invención también se puede administrar junto con adyuvantes previamente conocidos para usarse para la vacunación, de manera que se establezca eficazmente respuestas inmunes. Métodos para la administración incluyen, por ejemplo, administración intradérmica o subcutánea, y/o similares.

La composición farmacéutica para el tratamiento o la prevención del cáncer según la presente invención se puede usar como una vacuna contra el cáncer. Se pueden ajustar cantidades de dosificación como apropiadas, dependiendo del estado de una enfermedad, la edad y el peso de los pacientes individuales, y similares. Normalmente, la cantidad del péptido en la composición farmacéutica normalmente oscila desde 0,0001 a 1.000 mg, preferiblemente desde 0,001 a 100 mg, más preferiblemente desde 0,01 a 10 mg, incluso más preferentemente desde 0,1 a 5 mg o desde 0,5 a 3 mg, la cual preferentemente se administra repetidamente, una vez por varios días, semanas o meses.

En el presente documento se divulga un método de inducción de CTL reactivos al cáncer, que comprenden poner en contacto células mononucleares de sangre periférica (PBMC) recogidas de un grupo de pacientes de cáncer positivos para HLA-A24, HLA-A2, HLA-A26 o supertipo HLA-A3 con el péptido de la presente invención. El péptido de la presente invención puede inducir CTL de PBMC derivadas de dos o más de los grupos de pacientes de cáncer anteriormente descritos. "Reactivos al cáncer" con respecto a los CTL significa que los CTL reconocen un complejo de un péptido antigénico de cáncer sobre una célula cancerosa diana y una molécula de HLA y son capaces de matar la célula cancerosa. La inducción de los CTL se lleva a cabo, por ejemplo, cultivando *in vitro* PBMC recogidas de un paciente con tumor cerebral maligno positivo para HLA-A24, en presencia de un péptido de la presente invención. El método para inducir los CTL según la presente divulgación es útil para inmunoterapia adoptiva en donde los CTL inducidos se devuelven al paciente del cual se recogieron las PBMC para matar las células cancerosas.

En el presente documento se divulga un kit para inducir CTL, los cuales se usan para llevar a cabo dicho método para inducir CTL. El kit divulgado en el presente documento comprende uno o más de los péptidos de la presente divulgación y, además, puede comprender un tampón, medio, y similares apropiados.

En el presente documento se divulga un método para la preparación de células que presentan antígeno, en donde las células que presentan antígeno pueden inducir CTL que son citotóxicos contra una célula cancerosa selecciona entre el grupo que consiste en una célula cancerosa HLA-A24 positiva, una célula cancerosa HLA-A2 positiva, una célula cancerosa HLA-A26 positiva, y una célula cancerosa supertipo HLA-A3 positiva. El método para preparar células que presentan antígeno según la presente divulgación se lleva a cabo, por ejemplo, cultivando células que tienen la capacidad de presentación de antígeno derivadas de un paciente de cáncer HLA-A24 positivo con el péptido de la presente invención, de manera que se permite que el péptido se una a la molécula de HLA-A24 y se presente. En una alternativa, un vector capaz de expresar tal péptido se puede introducir en células que tienen la capacidad de presentación de antígeno derivadas de un paciente de cáncer HLA-A24 positivo para expresar el péptido. Células que tienen la capacidad de presentación de antígeno incluyen, por ejemplo, las células dendríticas. Las células dendríticas derivadas de un paciente se pueden obtener, por ejemplo, separando células adherentes a placa de cultivo de PBMC recogidas de un paciente y cultivando las células adherentes durante aproximadamente una semana en presencia de IL-4 y GM-CSF. Las células que presentan antígeno preparadas por el método divulgado en el presente documento pueden inducir CTL que específicamente reconocen un complejo de un péptido y una molécula de HLA que está presentada sobre una superficie celular en dos o más células seleccionadas entre el grupo que consiste en una célula cancerosa HLA-A24 positiva, una célula cancerosa HLA-A2 positiva, y una célula cancerosa supertipo HLA-A3 positiva, y cuando se administran a un paciente de cáncer, pueden facilitar la inducción de CTL reactivos a cáncer dentro del paciente de cáncer. Es decir, las células que presentan antígeno preparadas por el método de la presente divulgación se pueden usar como uso farmacéutico para el tratamiento o la prevención del cáncer.

En el presente documento se divulga un kit para preparar células que presentan antígeno, las cuales se usan para llevar a cabo dicho método para preparar células que presentan antígeno. El kit de la presente divulgación comprende uno o más de los péptidos y/o sus derivados de la presente divulgación y puede comprender además un tampón, medio y similares apropiados.

En el presente documento se divulga una composición inductora de CTL que comprende un péptido C35-44 (SEQ ID NO: 25), y es útil para el tratamiento o la prevención de una enfermedad relacionada con el virus de la hepatitis C en un paciente HLA-A24 positivo, un paciente HLA-A2 positivo, y un paciente supertipo HLA-A3 positivo. En el contexto de la presente divulgación, "enfermedad relacionada con el virus de la hepatitis C" se pretende que incluya no solamente hepatitis C, sino también todas las enfermedades causadas debido a la infección con VHC, tal como cirrosis y cáncer de hígado.

La presente invención se describe con más detalle en referencia a los siguientes Ejemplos.

Los presentes inventores examinaron, para la capacidad de unirse a otros tipos de HLA, un total de 34 péptidos conocidos por ser capaces de inducir CTL restringidos por HLA para cualquiera de HLA-A24, HLA-A2, HLA-A26, y supertipo HLA-A3 (13, 9 y 12 péptidos, respectivamente).

La Tabla 1 indica los péptidos examinados por los presentes inventores y sus propiedades de unión a HLA conocido.

Tabla 1

Propiedad de unión a HLA conocido	Nombre	Péptido	SEQ ID NO:	Documento
A24	EGFR-800	DYVREHKDNI	1	Documento de Patente 1
	Lck-208	HYTNASDGL	2	Documento de Patente 2
	Lck-488	DYLRSLVLEDF	3	Documento de Patente 2
A24	MRP3-1293	NYSVRYRPGI	4	Documento de Patente 3
	PAP-213	LYCESVHNF	5	Documento de No patente 4
	PSA-248	HYRKWIKDTI	6	Documento de Patente 4
	SART2-93	DYSARWNEI	7	Documento de Patente 5
	SART3-109	VYDYNCHVDL	8	Documento de Patente 6
	MRP503	LYAWEPSFL	28	Documento de No patente 9
	PSM 624	TYSVSFDSL	29	Documento de No patente 10
	PAP 213	LYCESVHNF	30	Documento de No patente 11
	SART2 161	AYDFLYNYL	31	Documento de No patente 4
	Lck-246	TFDYLRSLV	32	Documento de No patente 12
	SART3-302	LLQAEAPRL	9	Documento de Patente 6
A2	Lck-246	KLVERLGAA	10	Documento de Patente 2
	ppMAPKKK-432	DLLSHAFFA	11	Documento de Patente 7

Propiedad de unión a HLA conocido	Nombre	Péptido	SEQ ID NO:	Documento
	WHSC2-103	ASLDSDPWV	12	Documento de Patente 7
	UBE-43	RLQEWCSVI	13	Documento de Patente 7
	HNRPL-501	NVLHFFNAPL	14	Documento de Patente 7
	CypB-129	KLKHYGPGWV	15	Documento de Patente 8
	Lck-422	DVWSFGILL	16	Documento de Patente 2
	C35-44	YLLPRRGPR	25	Documento de Patente 13
A3	Lck-449	VIQNLERGYR	17	Documento de Patente 9
	β -tublin5-154	KIREEYPDR	18	Documento de Patente 10
	Lck-90	ILEQSGEWWK	19	Documento de Patente 9
	PSA-16	GAAPLILSR	20	Documento de Patente 11
	PAP-248	GIHKQKEKSR	21	Documento de Patente 11
	IEX1-47	APAGRPSASR	22	Documento de Patente 12
	SART3-511	WLEYYNLER	23	Documento de No patente 13
	SART3-734	QIRPIFSNR	24	Documento de No patente 13
	PAP 155	YLPFRNCPR	26	Documento de No patente 14
	β -tublina 309	KIREEYPDR	27	Documento de No patente 15
	Lck 450	IQNLERGYR	33	Documento de No patente 16
	CGI 37	KFTKTHKFR	34	Documento de No patente 15

Péptidos

Se prepararon los péptidos enumerados en la Tabla 1.

- 5 Todos estos péptidos estaban en purezas de >90 % y se compraron a Biologica Co. (Nagoya, Japón). Gag77-85 (SLYNTVATL) (SEQ ID NO: 35) se usó como péptido control que se une al tipo HLA-A2, env-GP (RYLRDQQLL) (SEQ ID NO: 36) como péptido control que se une al tipo HLA-A24, HIV-Gag167-175 (EVIPMFSA) (SEQ ID NO: 37) como péptido control que se une al tipo HLA-A26, y un péptido derivado de VIH (RLRDLILLIVTR) (SEQ ID NO: 38) como péptido control que se une a la molécula de alelo de supertipo HLA-A3. Todos los péptidos se disolvieron a una dosis de 10 μ g/ml usando sulfóxido de dimetilo.

- 10 Cinco alelos de HLA-A incluidos en el supertipo HLA-A3 comparten un motivo de unión, pero individuos japoneses HLA-A3 o HLA-A68,1 positivos son muy raros. En este estudio, por lo tanto, los péptidos se examinaron para la capacidad de unirse a moléculas HLA-A11, -A31 y -A33.

Pacientes (PT)

- 20 Pacientes de cáncer se incluían los que eran positivos para cualquier HLA de HLA-A2, HLA-A24, HLA-A26, HLA-A11, HLA-A31, y HLA-A33.

Donantes sanos (DS)

- 25 Los donantes sanos incluían pacientes HLA-A2 positivos, HLA-A24 positivos, HLA-A26 positivos, HLA-A11 positivos, HLA-A31 positivos, y HLA-A33 positivos.

- 30 Todos los pacientes y donantes sanos de los que se recogieron PBMC no estaban infectados con VIH. Se recogieron veinte mililitros de sangre periférica de un paciente/donante sano para preparar PBMC por centrifugación por gradiente Ficoll-Conray. Todas las muestras se almacenaron a bajas temperaturas hasta que se usaban en los experimentos. La expresión de las moléculas HLA-A2, HLA-A24, HLA-A11, -A31, y -A33 sobre las PBMC se confirmó por citometría de flujo usando los siguientes anticuerpos: anticuerpo monoclonal (mAb) anti-HLA-A24, mAb anti-HLA-A2, mAb anti-HLA-A26, mAb anti-HLA-A11, mAb anti-HLA-A31, mAb anti-HLA-A33 (todos disponibles en One Lambda, CA, EEUU); y mAb anti-inmunoglobulina G (IgG) de ratón conjugado con FITC.

Líneas celulares

- 40 Se obtuvieron células T2 que expresaban HLA-A2 de ATCC (CRL-1992). C1R-A24, C1R-A26, C1R-A11, C1R-A31, y C1R-A33 son células generadas a partir de la línea celular parental C1R sometidas a transfección con los genes de HLA-A24, HLA-A26, HLA-A11, HLA-A31, y HLA-A33 para expresar así las correspondientes moléculas de HLA, respectivamente (Takedatsu y col., *Clin. Cancer Res.* 2004; 10:111220). Las células parentales C1R son linfoblastos B humanos (HMy2.C1R: Linfoblasto B Humano; ATCC CRL-1993) y son de una línea celular obtenida por irradiación por rayo- γ a la línea celular linfoblastoide HMy2.B y selección de una célula que exprese MHC clase I-Cw4 y que carezca de HLA clase I-A y -B por anticuerpos y complementos (Storkus W.J., Alexander J., Payne J.A., Dawson J.R., y Cresswell P., *Proc Natl. Acad. Sci. USA*, 86:2.361-2.364, 1989).

RMA-S-A2601 es una célula transfectante estable generada introduciendo el gen de HLA-A2601 en células RMA-S (una célula separada como célula RMA variante que manifiestan baja expresión de moléculas de MHC clase-I sobre la membrana celular: Karre K., Ljunggren H-G, Piontek G., y Kiessling R. 1986, "Selective rejection of H-2-deficient lymphoma variants suggest alternative immune defence strategy". *Nature* (Lond) 319: 675).

PC-93 es una línea celular de sarcoma de próstata y es negativa para HLA-A11. TSU-PR es una línea celular de cáncer de próstata y es positiva para HLA-A11. SQ-1 es una línea celular de cáncer de pulmón y es negativa para HLA-A11. COLO-201 es una línea celular de cáncer de colon y es positiva para HLA-A11. LC-1 es una línea celular de cáncer de pulmón y es positiva para HLA-A37/HLA-A33. Todas estas líneas celulares tumorales se cultivaron en RPMI 1640 (Invitrogen) que contenía FCS al 10 %.

Inducción de CTL reactivos a péptido de PBMC

Los CTL reactivos a péptido se detectaron mediante el método previamente informado con algunas modificaciones (Hida N., Maeda Y., Katagiri K., Takasu H., Harada M., Itoh K., *Cancer Immunol Immunother* 2002; 51:219-28). PBMC obtenidas en un procedimiento de rutina de cada uno de los pacientes (PT) y donantes sanos (DS) se estimularon *in vitro* con los respectivos péptidos o péptidos control. Las PBMC estimuladas por péptido resultantes se cultivaron conjuntamente con células T2, C1R-A24, -A26, -A11, C1R-A31, o C1R-A33 pulsadas con el mismo péptido que el usado para la estimulación peptídica de PBMC y se midió la cantidad de IFN- γ producido, lo cual se usó como índice de la inducción de CTL.

Específicamente, se incubaron PBMC (1×10^5 células/pocillo) con cada uno de los péptidos (10 μ l/ml), en un conjunto de 4 pocillos, en 200 μ l de medio de cultivo en placas de microcultivo de 96 pocillos con fondo en forma de U (Nunc, Roskilde, Dinamarca). El medio de cultivo estaba compuesto de RPMI 1640 al 45 %, medio AIM-V al 45 % (Gibco-BRL, Gaithersburg, MD), FCS al 10 %, 100 U/ml de interleuquina 2 (IL-2), y una solución 0,1 M de aminoácidos no esenciales MEM (Gibco-BRL). Una mitad del medio cultivado se separaba cada 3 días y se reemplazaba por medio de cultivo fresco que contenía el péptido correspondiente (10 μ g/ml). El día 15 después del cultivo, una mitad de las células cultivadas se mezcló con células T2, C1R-A24, -A26, -A11, C1R-A31, o C1R-A33 pulsadas con el correspondiente péptido y la otra mitad se mezcló con células T2, C1R-A24, -A26, -A11, C1R-A31, o C1R-A33 pulsadas con el correspondiente péptido control. Los respectivos cultivos mezclados se incubaron durante otras 18 horas. Después de eso, los sobrenadantes se recogieron y el nivel de interferón (IFN)- γ en los sobrenadantes se midió mediante ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima (ELISA). La inducción de CTL reactivos a péptidos se decidía que era positiva cuando el valor P era menor de 0,05 y se producía IFN- γ de más de 50 pg/ml en respuesta a las células pulsadas con el correspondiente péptido, en comparación con las células pulsadas con los respectivos péptidos control.

Medida de la actividad citotóxica

Se midió la actividad citotóxica de las PBMC estimuladas por péptido contra una línea celular HLA-A11 positiva TSU-PR y una línea celular HLA-A11 negativa PC93 mediante un ensayo de liberación de ^{51}Cr de 6 horas estándar. Como células control negativo se usaron linfocitos T activados por fitohemaglutinina (PHA) derivados de un donante sano HLA-A11 positivo. En placas de 96 pocillos con fondo redondo, se cultivaron células diana marcadas con ^{51}Cr de 2.000 células por pocillo con células efectoras a relaciones indicadas de células efectoras y células diana. Como células efectoras se usaron células obtenidas aislando, inmediatamente antes del experimento para medir la actividad citotóxica, linfocitos T CD8 positivos de PBMC estimuladas por péptido usando el Kit de Aislamiento Positivo CD8 (Dyna, Oslo, Noruega). Se calculó la liberación de ^{51}Cr específica restando las c.p.m de la liberación espontánea a las c.p.m obtenidas en el experimento. La liberación espontánea se determinó a partir del sobrenadante de una muestra que se incubó sin células efectoras y, posteriormente, la muestra se incubó con Tritón X al 1 % (Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japón) para determinar la liberación total.

Ensayo de unión de péptidos a molécula HLA-A26

Se cultivaron células RMA-S sometidas a transfección con el gen de HLA-A2601 (RMA-S-A2601) a 26 °C durante 20 horas, seguido de cultivo con cada péptido a concentraciones de 0,1 a 100 μ M y β 2-microglobulina humana a 26 °C durante 2 horas y, a continuación, a 37 °C durante otras 3 horas. Después las células se lavaron con PBS, las células se añadieron con un anticuerpo anti-MHC clase-I humano o anticuerpo específico al tipo de HLA de una concentración óptima y se dejaron en hielo durante 30 minutos. Las células se lavaron dos veces con PBS y, a continuación, se añadió anti-IgG de ratón de cabra marcado con Alexa Fluor 488 y se dejó en reposo en hielo durante 30 minutos. Las medidas se realizaron usando una citometría de flujo y se compararon las intensidades de fluorescencia.

Examen de si los péptidos son capaces de inducir CTL restringidos por HLA para plurales tipos de HLA

Entre los péptidos candidatos para las vacunas peptídicas contra el cáncer ya identificadas en el pasado, se seleccionaron los péptidos que se unen a HLA-A2, -A24, y supertipo -A3 en un total de 34 péptidos (9, 13 y 10 péptidos, respectivamente) y se examinaron para la capacidad de inducir CTL restringidos por HLA para HLA

diferentes en el tipo del HLA al cual se había demostrado originalmente que cada péptido se unía. Se estimularon sangres periféricas de pacientes que tenían diferentes tipos de HLA con los respectivos péptidos y se midieron para la capacidad de inducir CTL usando, como diana, células pulsadas con el correspondiente péptido a un transfectante C1R generado por transferencia de un gen de HLA para cada tipo.

- 5 Primero se examinó la reactividad cruzada con los péptidos de SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 8 entre los péptidos de unión a HLA-A24. EGFR-800 (SEQ ID NO: 1), Lck-488 (SEQ ID NO: 3), SART2-93 (SEQ ID NO: 7), y SART3-109 (SEQ ID NO: 8) indujeron CTL restringidos por HLA para HLA-A11, a HLA-A2, a HLA-A2 y -A11, y a HLA-A2, -A11, y -A31, respectivamente (Table 2). En la tabla, las figuras representan el nivel de IFN- γ (ng/ml), considerándose
- 10 significantes con niveles iguales a o mayores de 50 ng/ml. Las entradas en blanco indican que el experimento no se llevó a cabo y el signo menos (-) significa que IFN- γ estaba a niveles por debajo del límite de detección.

Tabla 2

Tabla 2: Capacidad de los péptidos de unión a HLA-A24 de inducir CTL restringidos por HLA para HLA-A2, HLA-A11, HLA-A31, o HLA-A33

A24 Paciente	Tipo de HLA	Diana	EGFR-800	Lck-208	Lck-488	MAP-1293	PAP-213	PSA-248	SART2-93	SART3-109
A2	PT	A2/A31								
	PT	A2/A3	49	-	81	25	17	3	53	234
	PT	A2/A24								19
	PT	A2								57
	DS	A2/A24								-
	DS	A2/A11								-
A11										644
	PT	A11/A33								
	PT	A11	183	5	13	-	-	-	238	-
	PT	A11								265
	PT	A11								17
	PT	A11								-
	PT	A11/A2								376
	DS	A2/A11								202
	DS	A11/A24								-
	DS	A11/A11								650
A31	PT	A2/A31								
	PT	A2/A31	-	-	-	-	15	17	-	26
	DS	A31/A33								49
A33										67
	PT	A11/A33								
	DS	A31/A33	-	-	17	40	-	-	-	-
										29

5 Igualmente, se examinó la reactividad cruzada con los péptidos de SEQ ID NO: 9 a SEQ ID NO: 16 entre los péptidos de unión a HLA-A2. Se encontró que CypB-128 (SEQ ID NO: 15), Lck-246 (SEQ ID NO: 10), Lck-422 (SEQ ID NO: 16), ppMAPkkk (SEQ ID NO: 11), WHSC2-103 (SEQ ID NO: 12), UBE-43 (SEQ ID NO: 13), y HNRPL-501 (SEQ ID NO: 14) eran capaces de inducir CTL restringidos por HLA para HLA-A24, a HLA-A11 y -31, a HLA-A31, a HLA-11 y HLA-A31, a HLA-A24 y -A31, a HLA-A24 y -A31, y a HLA-A24 y -A11, respectivamente (Tabla 3). En la tabla, las figuras representan el nivel de IFN- γ (ng/ml), considerándose significantes con niveles iguales a o mayores de 50 ng/ml.

Tabla 3

Tabla 3: Capacidad de los péptidos de unión a HLA-A2 de inducir CTL restringidos por HLA para HLA-A24, HLA-A11, o HLA-A31

Péptidos A2 Paciente	Tipo de HLA	Diana	SART3-302	CypB-129	Lck-246	Lck-422	MAP-432	WHSC2-103	UBE-43	HNPRL-501
A24	PT	A24/A31	C1R-A24	-	32	-	13	-	-	-
	PT	A24/A31	C1R-A24	-	12	11	10	-	85	9
	PT	A24/A31	C1R-A24	-	-	17	28	91	50	60
	PT	A24/A31	C1R-A24	-	86	29	-	-	-	-
A11	PT	A31/A31	C1R-A11	0	0	146	0	0	0	3
	PT	A11/A24	C1R-A11	-	-	6	-	44	-	130
A31	PT	A24/A31	C1R-A31	-	9	48	21	138	-	73
	PT	A24/A31	C1R-A31	0	0	25	0	0	0	35
	PT	A24/A31	C1R-A31	20	32	115	474	14	32	0

Además, se examinó la reactividad cruzada con los péptidos de SEQ ID NO: 17 a SEQ ID NO: 27 entre los péptidos de unión al supertipo HLA-A3. Se encontró que β -tubulin5-154 (SEQ ID NO: 18), Lck-90 (SEQ ID NO: 19), IEX1-47 (SEQ ID NO: 22), y SART3-511 (SEQ ID NO: 23) eran capaces de inducir CTL restringidos por HLA para A24, A2, A24, y A2, respectivamente (Table 4). En la tabla, las figuras representan el nivel de IFN- γ (ng/ml), considerándose significantes con niveles iguales a o mayores de 50 ng/ml.

Tabla 4
Tabla 4: Capacidad de los péptidos de unión a HLA-A3 de inducir CTL restringidos por HLA para HLA-A2 o HLA-A24

Paciente	Tipo de HLA	Diana	SART3 511	SART3 734	Lck 90	Lck 449	PAP 248	PSA 16	IEX1 47	β t5 154
A2										
1	PT	A2/A24	T2	90	30	1341	-	-	-	-
A24										
1	PT	A24	C1R-A24	-	-	-	-	-	102	128
2	PT	A24	C1R-A24	-	-	40	-	-	-	-
3	PT	A24	C1R-A24	6	44	7	-	4	-	10
4	PT	A24	C1R-A24	-	-	-	-	-	-	-
5	PT	A24	C1R-A24	-	-	-	-	-	-	32
6	PT	A24	C1R-A24	25	12	-	17	-	27	522
7	PT	A2/A24	C1R-A24	11	9	-	41	4	40	14

10 Actividad citotóxica restringida por supertipo HLA-A3 diferente

SART3-109 (SEQ ID NO: 8), un péptido conocido por unirse a HLA-A24, se usó para estimular PBMC de un paciente de cáncer de próstata HLA-A11 positivo para inducir CTL. La actividad citotóxica de los CTL resultantes se determinan en la reacción de liberación de cromo. En cuanto a la actividad citotóxica contra una línea celular HLA-A11 positiva, TSU-PR, se mostró que la tasa de liberación de cromo era significativamente alta contra la línea celular en relación a una línea celular HLA-A11 negativa, PC93, y linfoblastos estimulados por PHA de donantes sanos HLA-A11 positivos (Fig. 1).

20 Ensayo de unión de péptidos a HLA-A26

Se examinó la capacidad de diversos péptidos de unirse a RMA-S-A2601. Los péptidos se disolvieron en DMSO y se usaron. DMSO solo se usó como control negativo. A partir de los resultados de estos experimentos, se reveló que SART3-109 (SEQ ID NO: 8) capaz de inducir CTL restringidos por HLA-A24 se une también a HLA-A26, lo cual pertenece a un supertipo de HLA completamente diferente. También, se sugiere que EGFR-800 (SEQ ID NO: 1), el cual igualmente está restringido por HLA-A24, también se une, aunque, a niveles débiles, a una molécula de HLA-A26 (Fig. 2).

Capacidad de los péptidos Lck-90 y Lck-449 de unirse a alelos de supertipo HLA-A3

Los datos que indican la capacidad de los péptidos Lck-90 (SEQ ID NO: 19) y Lck-449 (SEQ ID NO: 17) de unirse a alelos de supertipo HLA-A3 como se divulga en el Documento de Patente 9 son los siguientes.

Se establece que para los péptidos Lck-90 y Lck-449, se observaron IgG reactivos a péptido de manera altamente frecuente en los plasmas de pacientes de cáncer de próstata HLA-A3 positivos. También, la capacidad de inducir CTL específicos a péptido Lck-90 y Lck-449 de PBMC derivadas de pacientes de cáncer de próstata positivos para alelos de supertipo HLA-A3 se determinó mediante el método anteriormente descrito. Los péptidos Lck-90 y Lck-449 inducían CTL reactivos con los correspondientes péptidos, de las PBMC derivadas de cinco y dos pacientes en siete pacientes de cáncer HLA-A11 positivos, de tres y tres pacientes en cinco pacientes de cáncer HLA-A31 positivos, y de dos y tres pacientes en cinco pacientes de cáncer HLA-A33 positivos, respectivamente.

Se estimularon PBMC de pacientes de cáncer de próstata positivos para alelo de supertipo HLA-A3 *in vitro* con el péptido Lck-90 (SEQ ID NO: 19) o Lck-449 (SEQ ID NO: 17) para examinar si los CTL reactivos a péptido inducidos así manifestaban actividad citotóxica contra células cancerosas. PBMC derivadas de pacientes HLA-A11 positivos que se estimularon con cada uno de los péptidos Lck-90 y Lck-449 mostraron niveles superiores de actividad citotóxica contra células SQ-1 HLA-A11 positivas que contra células COLO 201 HLA-A11 negativas y el control negativo, blastos de linfocito T formadores de blasto estimulados por PHA derivados de donantes sanos HLA-A11 positivos. Igualmente, se encontró que estos péptidos eran capaces de inducir CTL reactivos a LC-1 (HLA-A31+/-A33+) de las PBMC derivadas de pacientes HLA-A31 positivos y pacientes HLA-A33 positivos. Los CTL específicos para cada péptido mostraron una actividad citotóxica más fuerte contra células LC-1 que contra células COLO 201 o linfocitos T formadores de blasto. Por lo tanto, se mostró que PBMC estimuladas *in vitro* con los péptidos Lck-90 y Lck-449 ejercían actividad citotóxica contra células cancerosas de maneras restringidas por HLA-A11, -A31, y -A33.

Medida de la actividad citotóxica

Se estimularon PBMC derivadas de pacientes de cáncer con diversos tipos de HLA con péptidos para examinar la actividad de los pacientes para inducir CTL contra cada uno de los tipos de HLA. Como células diana se usaron líneas celulares cancerosas teniendo cada una un tipo de HLA correspondiente al tipo de HLA de cada paciente y se midió la actividad citotóxica contra las células diana mediante un ensayo de liberación de ^{51}Cr de 6 horas.

Las células diana que se usaron en esta medición eran las siguientes líneas celulares cancerosas: PC93 (A68), KE4 (A24/A26), KE5 (A1101/), PC93-A24 (A24/A68), PC93-A33 (A33/A68), PC93-A31 (A31/A68), COLO 201 (A0101/0201), 11-18 (A0201/A2402), TSU-PR (A11), LC-1 (A3101/A3303), Panc-1 (A0201/A1101), LC-1 (A3101/A3303), LC65A (1101/2402), LNCap-A11 (A11/A0101/0201), KNS42 (A2402/2601), LNCap-A24 (A24/A0101/0201), y LNCap-A31 (A31/A0101/0201). Como controles negativos se usaron QG56 (A2601), PC93 (A68), LNCap (A0101/0201), LC-1 (A3101/A3303), COLO 201 (A0101/0201), COLO 320 (A2402/), y K562. El tipo de HLA de cada una de las líneas celulares está indicado entre paréntesis. En relación a lo anterior, se supone que PC93(WT) expresa HLA-A68 y, por ejemplo, cuando una célula diana está representada como PC93-A24, es un transfectante estable generado por la introducción de un gen codificador de HLA-A24. Todas las líneas celulares tumorales se cultivaron en RPMI 1640 que contenía FCS al 10 % (Invitrogen). En la Tabla 5 que indica los resultados, HLA está descrito solamente para los transfectantes y “(WT)” está descrito para no transfectantes.

En la Tabla 5 que indica los resultados, “+” se marcaba al examinar la actividad citotóxica mediada por PBMC activadas por péptido, de un manera similar usando, como células diana de control negativo, líneas celulares tumorales que tenían un diferente tipo de HLA del tipo de HLA de un paciente de cáncer a partir del cual estaban derivadas las PBMC, y cuando se encontraba una actividad citotóxica estadísticamente significativa contra células diana enfrentadas a HLA en relación a la actividad citotóxica contra las células diana de control negativo, se reconocía que había tenido lugar la inducción de la actividad citotóxica restringida por HLA para dicho tipo de HLA. La Tabla 5 describe las células diana enfrentadas a HLA y las células diana control que se usaron en el ensayo. Cuando tales células no están descritas en la tabla y se da “+”, significa que ya se conoce la actividad del péptido para inducir CTL restringidos por HLA para el tipo de HLA indicado.

Para actividades de CTL específico a péptido de C35-44 (SEQ ID NO: 25), el cual es un péptido derivado del VHC, se midieron sus actividades en la reacción de liberación de cromo según un procedimiento de rutina que emplea células obtenidas estimulando PBMC derivadas de pacientes infectados por VHC con el péptidos C35-55, y usando células C1R sometidas a transfección con cada uno de los correspondientes genes de HLA de manera estable y pulsadas con C35-44 como células diana enfrentadas a HLA, y C1R(WT) como células diana de control negativo.

En placas de 96 pocillos de fondo redondo, se cultivaron células diana marcadas con ^{51}Cr de 2.000 células por pocillo con células efectoras en una relación de célula efectora y célula diana de 40. Se usaron como células efectoras células obtenidas aislando, inmediatamente antes del experimento para medir la actividad citotóxica, linfocitos T CD8 positivos de PBMC activadas por péptido usando Kit de Aislamiento Positivo CD8 (Dyna, Oslo, Noruega). La liberación de ^{51}Cr específica se calculó restando las c.p.m de la liberación espontánea a las c.p.m obtenidas en el experimento. La liberación espontánea se determinó a partir del sobrenadante de una muestra que se incubó sin células efectoras, y posteriormente la muestra se incubó con Tritón X al 1 % (Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japón) para determinar la liberación total.

El tipo de HLA y la especificidad de péptido de los CTL restringidos a HLA inducidos se identificaron en un experimento de supresión específica usando anticuerpos monoclonales dirigidos contra HLA clase I y CD8 y en un experimento de supresión de diana fría que usa células diana no marcadas, respectivamente. Estos experimentos se llevaron a cabo por triplicado, y se consideraron que eran positivos y se indicaron con +, cuando la supresión se observaba con los anticuerpos o la diana fría (células diana que no estaban marcadas con el isótopo) a niveles significantes ($P < 0,05$), en comparación con el control negativo.

ResultadosPéptidos de unión a HLA-A2

Se demostró que C35-44 (SEQ ID NO: 25) tenía la capacidad de inducir CTL restringidos por HLA para HLA-A2402, A2601, A3101, A3303, y A1101.

Se demostró que CypB-129 (SEQ ID NO: 15), Lck-422 (SEQ ID NO: 16), SART3-302 (SEQ ID NO: 9), UBE-43 (SEQ ID NO: 13), y WHSC2-103 (SEQ ID NO: 12) tenían la capacidad de inducir CTL restringidos por HLA para HLA-A3101.

Se demostró que HNRPL-501 (SEQ ID NO: 14) y ppMAPkkk-432 (SEQ ID NO: 11) tenían la capacidad de inducir CTL restringidos por HLA para HLA-A2602.

Péptidos de unión a HLA-A24

5 Se confirmó que SART3-109 (SEQ ID NO:), Lck208, EGRF-800, y SART2-93 tenían la capacidad de inducir CTL restringidos por HLA para HLA-A3101, A3303, y A1101, para HLA-A1101, para HLA-A0201, y para HLA-A0201 y A0207, respectivamente.

Péptidos de unión a HLA-A3

10 Se mostró que PAP-155, β -tubulina-309, y Lck-90 tenían la capacidad de inducir CTL restringidos por HLA para HLA-A0201 y -A2402, y para HLA-A2402, respectivamente. Estos resultados se resumen en la Tabla 5.

Tabla 5-1

Nombre del péptido	SEQ ID NO: de secuencia	Restricción de HLA conocido	HLA-A2	HLA-A24	HLA-A26	Supertipo HLA-A3		
						A3101	A3303	A1101
Célula Diana	YLLPRRGPR	A2	+	+	+	+	+	+
C35-44	25							
Célula diana enfrentada a HLA								
Célula diana control								
SART3-109	VYDYNCHVDL	A24	-	+	nd	+	+	+
Célula diana enfrentada a HLA	8		COLO201 (WT)			LC-1 (WT)	LC-1 (WT)	TSU-PR (WT)
Célula diana control			PC93 (WT)			PC93 (WT)	PC93 (WT)	PC93 (WT)
Lck-208	HYTNASDGL	A24	-	+	nd	nd	nd	+
Célula diana enfrentada a HLA	2		COLO201 (WT)					TSU-PR (WT)
Célula diana control			LC-1 (WT)					PC93 (WT)
EGFR-800	DYVREHKDNI	A24	+	+	nd	nd	-	-
Célula diana enfrentada a HLA	1		11-18 (WT)				PC93-A33	LC65A (WT)
Célula diana control			LNCap (WT)				PC93 (WT)	QG56 (WT)
SART2-93	DYSARWNEI	A24	+	+	nd	nd	-	-
Célula diana enfrentada a HLA	7		Panc-1 (WT)					LNCap-A11
Célula diana control			LNCap (WT)					LNCap (WT)
CypB-129	KLKHYGPGWV	A2	+	-	nd	+	nd	nd
Célula diana enfrentada a HLA	15			PC93-A24		PC93-A31		
Célula diana control				PC93 (WT)		PC93 (WT)		
Lck-422	DVWSFGILL	A2	+	-	nd	+	nd	-
Célula diana enfrentada a HLA	16			PC93-A24		LC-1 (WT)		TSU-PR (WT)
Célula diana control				PC93 (WT)		PC93 (WT)		PC93 (WT)
SART3-302	LLQAEAPRL	A2	+	-	nd	+	nd	-
Célula diana enfrentada a HLA	9			PC93-A24		LC-1 (WT)		KE5 (WT)
Célula diana control				PC93 (WT)		PC93 (WT)		PC93 (WT)
UBE-43	RLQEWCSVI	A2	+	-	nd	+	nd	-
Célula diana enfrentada a HLA	13			LNCap-A24		LNCap-A31		TSU-PR (WT)
Célula diana control				LNCap (WT)		LNCap (WT)		LNCap (WT)

Tabla 5-2

Nombre del péptido	SEQ ID NO: de Secuencia	Restricción de HLA conocido	HLA-A2	HLA-A24	HLA-A26	Supertipo HLA-A3		
						A3101	A3303	A1101
Célula Diana	ASLSDPWV	A2	+	-	nd	+	nd	nd
Célula diana enfrentada a HLA	12			LNCap-A24		LC-1 (WT)		
Célula diana control				LNCap (WT)		PC-93 (WT)		
Célula diana enfrentada a HLA	NVLHFFNAPL	A2	+	nd	+	nd	nd	nd
Célula diana control	14				KNS42 (WT)			
Célula diana control					Panc1			
ppMAPkkk-432	DLLSHAFFA	A2	+	nd	+	nd	nd	nd
Célula diana enfrentada a HLA	11				KNS42 (WT)			
Célula diana control					Panc-1			
PAP-155	YLPFRNCPR	A3	+	+	nd	+	+	+
Célula diana enfrentada a HLA	26		COLO201 (WT)	PC93 (WT)				
Célula diana control			COL0320 (WT)	LNCap (WT)				
Célula diana control	KIREEYPDR	A3	nd	+	nd	+	+	+
Célula diana enfrentada a HLA	27			PC93 (WT)				
Célula diana control				LNCap (WT)				
Lck-90	ILEQSGEWWK	A3	nd	+	nd	+	+	+
Célula diana enfrentada a HLA	19			KE4 (WT)				
Célula diana control				COL0201 (WT)				
+ Inducción de CTL								
- No inducción de CTL								
nd No hecho								

Como se puede entender a partir de los resultados anteriormente descritos, los péptidos de SEQ ID NO: 1 a 27 como se especifica en la presente invención pueden inducir CTL específicos a HLA en pacientes de dos o más grupos de pacientes seleccionados entre el grupo que consiste en un grupo de pacientes HLA-A2 positivos, un grupo de pacientes HLA-A24 positivos, un grupo de pacientes HLA-A26 positivos y un grupo de pacientes supertipo HLA-A3 positivos y, por tanto, se usan adecuadamente para el tratamiento o la prevención de tales pacientes. Los péptidos de SEQ ID NO: 1 a 24 y SEQ ID NO: 26 a 27 de la presente divulgación particularmente se usan de manera adecuada como principio activo de la vacuna peptídica contra el cáncer y el péptido de SEQ ID NO: 25 de la presente divulgación se usa de manera adecuada para el tratamiento o la prevención de enfermedades relacionadas con el virus de la hepatitis C.

La presente divulgación también se refiere a los siguientes puntos:

1. Una composición inductora de CTL que comprende uno o más péptidos y se puede usar para el tratamiento o la prevención del cáncer o una enfermedad relacionada con el virus de la hepatitis C en dos o más grupos de pacientes, en donde el uno o más péptidos se selecciona entre el grupo que consiste en EGFR-800 (SEQ ID NO: 1), Lck-208 (SEQ ID NO: 2), Lck-488 (SEQ ID NO: 3), MRP3-1293 (SEQ ID NO: 4), PAP-213 (SEQ ID NO: 5), PSA-248 (SEQ ID NO: 6), SART2-93 (SEQ ID NO: 7), SART3-109 (SEQ ID NO: 8), SART3-302 (SEQ ID NO: 9), Lck-246 (SEQ ID NO: 10), ppMAPkkk-432 (SEQ ID NO: 11), WHSC2-103 (SEQ ID NO: 12), UBE-43 (SEQ ID NO: 13), HNRPL-501 (SEQ ID NO: 14), CypB-129 (SEQ ID NO: 15), Lck-422 (SEQ ID NO: 16), Lck-449 (SEQ ID NO: 17), β -tubulin5-154 (SEQ ID NO: 18), Lck-90 (SEQ ID NO: 19), PSA-16 (SEQ ID NO: 20), PAP-248 (SEQ ID NO: 21), IEX1-47 (SEQ ID NO: 22), SART3-511 (SEQ ID NO: 23), SART3-734 (SEQ ID NO: 24), C35-44 (SEQ ID NO: 25), PAP-155 (SEQ ID NO: 26), y β -tubulina-309 (SEQ ID NO: 27), y en donde los dos o más grupos de pacientes se seleccionan entre el grupo que consiste en un grupo de pacientes HLA-A2 positivos, un grupo de pacientes HLA-A24 positivos, un grupo de pacientes HLA-A26 positivos y un grupo de pacientes supertipo HLA-A3 positivos.

2. La composición según el punto 1, la cual comprende uno o más péptidos seleccionados entre el grupo que consiste en EGFR-800 (SEQ ID NO: 1), Lck-208 (SEQ ID NO: 2), Lck-488 (SEQ ID NO: 3), MRP3-1293 (SEQ ID NO: 4), PAP-213 (SEQ ID NO: 5), PSA-248 (SEQ ID NO: 6), SART2-93 (SEQ ID NO: 7), SART3-109 (SEQ ID NO: 8), SART3-302 (SEQ ID NO: 9), Lck-246 (SEQ ID NO: 10), ppMAPkkk-432 (SEQ ID NO: 11), WHSC2-103 (SEQ ID NO: 12), UBE-43 (SEQ ID NO: 13), HNRPL-501 (SEQ ID NO: 14), CypB-129 (SEQ ID NO: 15), Lck-422 (SEQ ID NO: 16), Lck-449 (SEQ ID NO: 17), β -tubulin5-154 (SEQ ID NO: 18), Lck-90 (SEQ ID NO: 19), PSA-16 (SEQ ID NO: 20), PAP-248 (SEQ ID NO: 21), TEX1-47 (SEQ ID NO: 22), SART3-511 (SEQ ID NO: 23), SART3-734 (SEQ ID NO: 24), PAP-155 (SEQ ID NO: 26), y β -tubulina-309 (SEQ ID NO: 27), y se puede usar para el tratamiento o la prevención de dos o más grupos de pacientes seleccionados entre el grupo que consiste en un grupo de pacientes de cáncer HLA-A2 positivos, un grupo de pacientes de cáncer HLA-A24 positivos, un grupo de pacientes de cáncer HLA-A26 positivos y un grupo de pacientes de cáncer supertipo HLA-A3 positivos.

3. La composición según el punto 1, la cual comprende uno o más péptidos seleccionados entre el grupo que consiste en EGFR-800 (SEQ ID NO: 1), Lck-488 (SEQ ID NO: 3), SART2-93 (SEQ ID NO: 7), SART3-109 (SEQ ID NO: 8), WHSC2-103 (SEQ ID NO: 12), UBE-43 (SEQ ID NO: 13), HNRPL-501 (SEQ ID NO: 14), y CypB-129 (SEQ ID NO: 15) y PAP-155 (SEQ ID NO: 26), y se puede usar para el tratamiento o la prevención de un grupo de pacientes HLA-A24 positivos y un grupo de pacientes HLA-A2 positivos.

4. La composición según el punto 3, la cual comprende el péptido EGFR-800 (SEQ ID NO: 1) y/o el péptido PAP-155 (SEQ ID NO: 26), y se puede usar para el tratamiento o la prevención de un grupo de pacientes de cáncer HLA-A24 positivos y un grupo de pacientes de cáncer HLA-A2 positivos.

5. La composición según el punto 1, la cual comprende uno o más péptidos seleccionados entre el grupo que consiste en EGFR-800 (SEQ ID NO: 1), SART2-93 (SEQ ID NO: 7), SART3-109 (SEQ ID NO: 8), WHSC2-103 (SEQ ID NO: 12), UBE-43 (SEQ ID NO: 13), HNRPL-501 (SEQ ID NO: 14), β -tubulin5-154 (SEQ ID NO: 18), Lck-90 (SEQ ID NO: 19), y IEX1-47 (SEQ ID NO: 22), PAP-155 (SEQ ID NO: 26), y β -tubulina-309 (SEQ ID NO: 27), y se puede usar para el tratamiento o la prevención de un grupo de pacientes de cáncer HLA-A24 positivos y un grupo de pacientes de cáncer supertipo HLA-A3 positivos.

6. La composición según el punto 5, la cual comprende el(los) péptido(s) Lck-90 (SEQ ID NO: 19), PAP-155 (SEQ ID NO: 26), y/o β -tubulina-309 (SEQ ID NO: 27), y se puede usar para el tratamiento o la prevención de un grupo de pacientes de cáncer HLA-A24 positivos y un grupo de pacientes de cáncer supertipo HLA-A3 positivos.

7. La composición según el punto 1, la cual comprende uno o más péptidos seleccionados entre el grupo que consiste en SART2-93 (SEQ ID NO: 7), SART3-109 (SEQ ID NO: 8), SART3-302 (SEQ ID NO: 9), Lck-246 (SEQ ID NO: 10), ppMAPkkk-432 (SEQ ID NO: 11), WHSC2-103 (SEQ ID NO: 12), UBE-43 (SEQ ID NO: 13), HNRPL-501 (SEQ ID NO: 14), CypB-129 (SEQ ID NO: 15), Lck-422 (SEQ ID NO: 16), Lck-90 (SEQ ID NO: 19), y SART3-511 (SEQ ID NO: 23) y PAP-155 (SEQ ID NO: 26), y se puede usar para el tratamiento o la prevención de un grupo de pacientes de cáncer HLA-A2 positivos y un grupo de pacientes de cáncer supertipo HLA-A3 positivos.

8. La composición según el punto 1, la cual comprende uno o más péptidos seleccionados entre el grupo que consiste en SART3-302 (SEQ ID NO: 9), CypB-129 (SEQ ID NO: 15), y PAP-155 (SEQ ID NO: 26), y se puede usar para el tratamiento o la prevención de un grupo de pacientes de cáncer HLA-A2 positivos y un grupo de pacientes de cáncer supertipo HLA-A3 positivos.

9. La composición según el punto 1, la cual comprende uno o más péptidos seleccionados entre el grupo que consiste en SART2-93 (SEQ ID NO: 7), SART3-109 (SEQ ID NO: 8), WHSC2-103 (SEQ ID NO: 12), OBE-43 (SEQ ID NO: 13) y HNRPL-501 (SEQ ID NO: 14) y PAP-155 (SEQ ID NO: 26), y se puede usar para el tratamiento o la prevención de un grupo de pacientes de cáncer HLA-A2 positivos, un grupo de pacientes de cáncer HLA-A24 positivos y un grupo de pacientes de cáncer supertipo HLA-A3 positivos.

10. La composición según el punto 8, la cual comprende el péptido PAP-155 (SEQ ID NO: 26), y se puede usar para el tratamiento o la prevención de un grupo de pacientes de cáncer HLA-A2 positivos, un grupo de pacientes de cáncer HLA-A24 positivos, y un grupo de pacientes de cáncer supertipo HLA-A3 positivos.

11. La composición según el punto 1, la cual comprende uno o más péptidos seleccionados entre el grupo que consiste en EGFR-800 (SEQ ID NO: 1), ppMAPkkk-432 (SEQ ID NO: 11), HNRPL-501 (SEQ ID NO: 14), y SART3-109 (SEQ ID NO: 8), y se puede usar para el tratamiento o la prevención de al menos un grupo de pacientes de cáncer HLA-A26 positivos.

12. La composición según uno cualquiera de los puntos 1 a 11, que es una vacuna peptídica contra el cáncer.

13. La composición según el punto 1, la cual comprende el péptido C35-44 (SEQ ID NO: 25), y se puede usar para el tratamiento o la prevención de una enfermedad relacionada con el virus de la hepatitis C en un paciente seleccionado entre un grupo de pacientes HLA-A2 positivos, un grupo de pacientes HLA-A24 positivos, grupo de pacientes supertipo HLA-A3 positivos y grupo de pacientes HLA-A26 positivos.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Green Co., Ltd.

<120> Composición inductora de CTL

<130> S1311 EP/1 S3

<150> JP2007-241161

<151> 18-09-2007

<150> PCT/JP2008/066589

<151> 12-09-2008

<150> EP 08 83 2117.9

<151> 12-09-2008

<160> 38

<170> PatentIn versión 3.1

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Péptido EGFR-800

<400> 1

Asp Tyr Val Arg Glu His Lys Asp Asn Ile
1 5 10

<210> 2

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>
 <223> Péptido Lck-208
 <400> 2
 5
 His Tyr Thr Asn Ala Ser Asp Gly Leu
 1 5
 <210> 3
 <211> 10
 10 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Péptido Lck-488
 15 <400> 3
 Asp Tyr Leu Arg Ser Val Leu Glu Asp Phe
 1 5 10
 20 <210> 4
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 25 <220>
 <223> Péptido MRP3-1293
 <400> 4
 Asn Tyr Ser Val Arg Tyr Arg Pro Gly Leu
 30 1 5 10
 <210> 5
 <211> 9
 <212> PRT
 35 <213> Artificial
 <220>
 <223> Péptido PAP-213
 40 <400> 5
 Leu Tyr Cys Glu Ser Val His Asn Phe
 1 5
 45 <210> 6
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 50 <220>
 <223> Péptido PSA-248
 <400> 6
 His Tyr Arg Lys Trp Ile Lys Asp Thr Ile
 55 1 5 10
 <210> 7
 <211> 9
 <212> PRT

<213> Artificial
 <220>
 <223> Péptido SART2-93
 5
 <400> 7

 Asp Tyr Ser Ala Arg Trp Asn Glu Ile
 1 5
 10
 <210> 8
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 15
 <220>
 <223> Péptido SART3-109
 <400> 8

 Val Tyr Asp Tyr Asn Cys His Val Asp Leu
 1 5 10
 20
 <210> 9
 <211> 9
 <212> PRT
 25
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Péptido SART3-302
 30
 <400> 9

 Leu Leu Gln Ala Glu Ala Pro Arg Leu
 1 5
 35
 <210> 10
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 40
 <223> Péptido Lck-246
 <400> 10

 Lys Leu Val Glu Arg Leu Gly Ala Ala
 1 5
 45
 <210> 11
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 50
 <220>
 <223> Péptido ppMAPkkk-432
 <400> 11
 55

 Asp Leu Leu Ser His Ala Phe Phe Ala
 1 5
 <210> 12
 <211> 9

<212> PRT
 <213> Artificial

 <220>
 5 <223> Péptido WHSC2-103

 <400> 12

 Ala Ser Leu Asp Ser Asp Pro Trp Val
 1 5
 10
 <210> 13
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 15
 <220>
 <223> Péptido UBE-43

 <400> 13
 20
 Arg Leu Gln Glu Trp Cys Ser Val Ile
 1 5

 <210> 14
 <211> 10
 25 <212> PRT
 <213> Artificial

 <220>
 <223> Péptido HNRPL-501
 30
 <400> 14

 Asn Val Leu His Phe Phe Asn Ala Pro Leu
 1 5 10
 35
 <210> 15
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 40
 <220>
 <223> Péptido CypB-129

 <400> 15

 Lys Leu Lys His Tyr Gly Pro Gly Trp Val
 1 5 10
 45
 <210> 16
 <211> 9
 <212> PRT
 50 <213> Artificial

 <220>
 <223> Péptido Lck-422
 55
 <400> 16

 Asp Val Trp Ser Phe Gly Ile Leu Leu
 1 5

5	<210> 17 <211> 10 <212> PRT <213> Artificial <220> <223> Péptido Lck-449 <400> 17	Val Ile Gln Asn Leu Glu Arg Gly Tyr Arg 1 5 10
15	<210> 18 <211> 9 <212> PRT <213> Artificial <220> <223> Péptido beta-tubulina 5-154 <400> 18	Lys Ile Arg Glu Glu Tyr Pro Asp Arg 1 5
25	<210> 19 <211> 10 <212> PRT <213> Artificial <220> <223> Péptido Lck-90 <400> 19	Ile Leu Glu Gln Ser Gly Glu Trp Trp Lys 1 5 10
40	<210> 20 <211> 9 <212> PRT <213> Artificial <220> <223> Péptido PSA-16 <400> 20	Gly Ala Ala Pro Leu Ile Leu Ser Arg 1 5
55	<210> 21 <211> 10 <212> PRT <213> Artificial <220> <223> Péptido PAP-248 <400> 21	

ES 2 624 879 T3

		Gly	Ile	His	Lys	Gln	Lys	Glu	Lys	Ser	Arg
		1				5					10
5	<210> 22										
	<211> 10										
	<212> PRT										
	<213> Artificial										
10	<220>										
	<223> Péptido IEX1-47										
	<400> 22										
		Ala	Pro	Ala	Gly	Arg	Pro	Ser	Ala	Ser	Arg
		1				5					10
15	<210> 23										
	<211> 9										
	<212> PRT										
	<213> Artificial										
20	<220>										
	<223> Péptido SART3-511										
	<400> 23										
		Trp	Leu	Glu	Tyr	Tyr	Asn	Leu	Glu	Arg	
25		1				5					
	<210> 24										
	<211> 9										
30	<212> PRT										
	<213> Artificial										
	<220>										
	<223> Péptido SART3-734										
35	<400> 24										
		Gln	Ile	Arg	Pro	Ile	Phe	Ser	Asn	Arg	
		1				5					
40	<210> 25										
	<211> 10										
	<212> PRT										
	<213> Artificial										
45	<220>										
	<223> Péptido C35-44										
	<400> 25										
		Tyr	Leu	Leu	Pro	Arg	Arg	Gly	Pro	Arg	Leu
50		1				5					10
	<210> 26										
	<211> 9										
	<212> PRT										
55	<213> Artificial										
	<220>										
	<223> Proteína PAP-155										

<400> 26

Tyr Leu Pro Phe Arg Asn Cys Pro Arg
1 5

5 <210> 27
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

10 <220>
<223> Péptido Beta-tubulina 309

<400> 27

Lys Ile Arg Glu Glu Tyr Pro Asp Arg
1 5

15 <210> 28
<211> 9
<212> PRT
20 <213> Artificial
<220>
<223> Péptido MRP503

25 <400> 28

Leu Tyr Ala Trp Glu Pro Ser Phe Leu
1 5

<210> 29
<211> 9
30 <212> PRT
<213> Artificial
<220>
<223> Péptido PSM624

35 <400> 29

Thr Tyr Ser Val Ser Phe Asp Ser Leu
1 5

40 <210> 30
<211> 9
<212> PRT
<213> Péptido PAP 213

45 <400> 30

Leu Tyr Cys Glu Ser Val His Asn Phe
1 5

50 <210> 31
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

55 <220>
<223> Péptido SART2 161

<400> 31

Ala Tyr Asp Phe Leu Tyr Asn Tyr Leu
1 5

5 <210> 32
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

10 <220>
<223> Péptido Lck 486

<400> 32

Thr Phe Asp Tyr Leu Arg Ser Val Leu
1 5

15 <210> 33
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

20 <220>
<223> Péptido LCK 450

25 <400> 33

Ile Gln Asn Leu Glu Arg Gly Tyr Arg
1 5

30 <210> 34
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

35 <220>
<223> Péptido CGI 37

<400> 34

Lys Phe Thr Lys Thr His Lys Phe Arg
1 5

40 <210> 35
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

45 <220>
<223> Péptido Gag 77-85

<400> 35

50 Ser Leu Tyr Asn Thr Val Ala Thr Leu
1 5

55 <210> 36
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>

ES 2 624 879 T3

<223> Péptido env-GP

<400> 36

5 Arg Tyr Leu Arg Asp Gln Gln Leu Leu
1 5

<210> 37

<211> 9

<212> PRT

10 <213> Artificial

<220>

<223> Péptido HIV-Gag167-175

15 <400> 37

Glu Val Ile Pro Met Phe Ser Ala Leu
1 5

<210> 38

20 <211> 11

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

25 <223> Péptido MRP503

<400> 38

Arg Leu Arg Asp Leu Leu Leu Ile Val Thr Arg
1 5 10

30

REIVINDICACIONES

1. Una composición inductora de linfocito T citotóxico que comprende un péptido en donde el péptido es WHSC2-103 (SEQ ID NO: 12), para su uso en el tratamiento o la prevención de cáncer en un grupo de pacientes de cáncer supertipo HLA-A3 positivos.
5
2. La composición para su uso según la reivindicación 1, en donde el supertipo HLA-A3 es HLA-A31.
3. Una composición inductora de linfocito T citotóxico que comprende un péptido en donde el péptido es WHSC2-103 (SEQ ID NO: 12) para su uso en el tratamiento o la prevención del cáncer en un grupo de pacientes de cáncer HLA-A24 positivos.
10
4. La composición para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que es una vacuna peptídica del cáncer.
15

Fig. 1

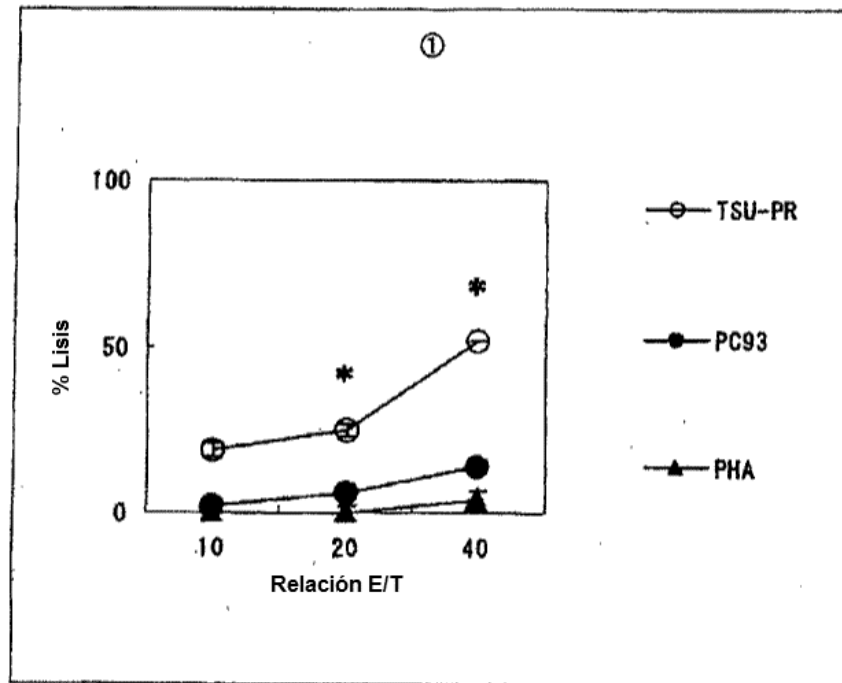


Fig. 2

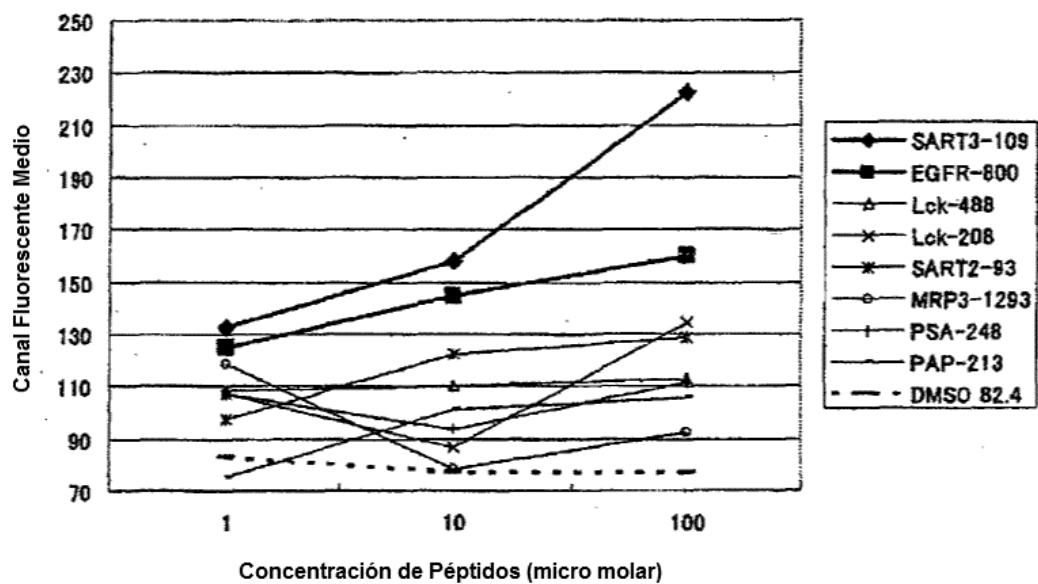


Fig. 3

