

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 777 935**

51 Int. Cl.:

A61K 39/00 (2006.01)

A61K 39/12 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 9/127 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.06.2013 PCT/US2013/045578**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.12.2013 WO13188627**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.06.2013 E 13804165 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.10.2019 EP 2861245**

54 Título: **Composiciones de vacunas de lípidos catiónicos y procedimiento de uso**

30 Prioridad:

15.06.2012 US 201261660172 P

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

06.08.2020

73 Titular/es:

**PDS BIOTECHNOLOGY CORPORATION (50.0%)
300 Connell Drive, Suite 4000
Berkeley Heights, NJ 07922, US y
THE GOVERNMENT OF THE UNITED STATES OF
AMERICA (AS REPRESENTED BY) THE
SECRETARY OF THE DEPARTMENT OF HEALTH
AND HUMAN SERVICES (50.0%)**

72 Inventor/es:

**MKRTICHYAN, MIKAYEL;
KHLEIF, SAMIR N.;
JOHNSON, KENYA;
JACOBSON, ERIC y
BEDU-ADDO, FRANK**

74 Agente/Representante:

SALVÀ FERRER, Joan

ES 2 777 935 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

Composiciones de vacunas de lípidos catiónicos y procedimiento de uso

5 REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

[0001] La presente solicitud reivindica el beneficio bajo 35 USC § 119 (e) de la Solicitud Provisional de Estados Unidos Nº de Serie 61/660.172, presentada el 15 de junio de 2012.

10 DERECHOS DEL GOBIERNO

[0002] Una parte del trabajo que lleva a esta invención se llevó a cabo con el apoyo del Gobierno de los Estados previsto en los Institutos Nacionales de Salud CRADA Nº 2644. Por lo tanto, el Gobierno de los Estados Unidos tiene ciertos derechos en y para la presente invención.

15 CAMPO TÉCNICO

[0003] El desarrollo de inmunoterapias y vacunas terapéuticas seguras y eficaces para uso humano sigue siendo una necesidad médica importante para los pacientes en todo el mundo. Típicamente, una formulación de vacuna incluye un antígeno para estimular una respuesta inmunitaria dirigida. Sin embargo, algunas vacunas de desarrollo son ineficaces debido a que son estimuladores débiles de una respuesta inmunitaria en una amplia población de mamíferos. Por ejemplo, el antígeno en la formulación de vacuna puede ser poco inmunogénica en el mamífero. Además, algunas vacunas pueden no suministrar eficientemente los antígenos a las células presentadoras de antígenos ("APC") del sistema inmunitario del mamífero.

[0004] Las células supresoras derivadas de mieloides (MDSC) son una población heterogénea de progenitores mieloides tempranos que tienen la capacidad de suprimir la respuesta inmunitaria adaptativa en pacientes, tal como la respuesta mediada por células T CD4⁺ y CD8⁺. Las MDSC son conocidas por secretar citoquinas inmunosupresoras e inducir el desarrollo de células T reguladoras. Además, las MDSC son inducidas por citoquinas proinflamatorias y se encuentran en mayor número en afecciones patológicas infecciosas y e inflamatorias.

[0005] Las MDSC se acumulan en la sangre, la médula ósea y los órganos linfoides secundarios de ratones portadores de tumor y su presencia en el microambiente tumoral se ha sugerido que tiene un papel causal en la promoción de la supresión inmunitaria asociada al tumor. Es importante destacar que se ha descrito que la tolerancia de células T específicas de antígeno tumoral son un elemento crítico de escape de tumor. Además, se ha encontrado que las MDSC están presentes en la mayoría de los pacientes con cáncer. Actualmente se llevan a cabo importantes investigaciones dentro de la industria para identificar un medio de inhibición de células supresoras inmunitarias, por ejemplo MDSC y células T reguladoras, como un medio para mejorar las respuestas de células T para atacar y destruir las células infectadas. La práctica actual en la industria se centra en explorar el uso de anticuerpos bloqueantes para bloquear e inhibir factores inmunosupresores relevantes. Una vacuna, tal como el anticuerpo humano Ipilimumab, se puede utilizar para bloquear los antígenos-4 asociados a linfocitos T citotóxicos (CTLA-4), conocidos por desempeñar un papel en la regulación de respuestas inmunes como una vacuna terapéutica para tratar el melanoma.

45 ANTECEDENTES Y CARACTERÍSTICAS DE LA INVENCION

[0006] Las vacunas también incluyen típicamente adyuvantes en un intento de mejorar la eficacia de los antígenos en la formulación de vacuna. Por ejemplo, los adyuvantes, tales como emulsiones de agua en aceite, alumbre (por ejemplo, sales de aluminio) y otros productos químicos, se utilizan típicamente para mejorar la respuesta al antígeno en un mamífero. Además de los adyuvantes tradicionales, se pueden usar otros adyuvantes con efectos inmunitarios intrínsecos (por ejemplo, virosomas de la gripe y MF59 de Chiron). Sin embargo, estos adyuvantes son también indeseables porque las pruebas en modelos animales (de acuerdo con los informes de ensayos clínicos sobre vacunas contra HSV y la gripe) sugieren que simplemente mejoran la producción de anticuerpos neutralizantes en lugar de mejorar las respuestas de células T en los animales.

[0007] El documento US20110110972 describe una composición y un procedimiento para la activación de células inmunitarias ex-vivo o para inducir una respuesta inmunitaria en un sujeto que incluye una composición que comprende al menos un lípido catiónico quiral.

[0008] El documento EP2167480 describe adyuvantes, composiciones inmunogénicas, y procedimientos útiles para la vacunación y la respuesta inmunitaria. En particular, la descripción proporciona una clase de adyuvantes que comprenden mezclas de lípidos catiónicos-lípidos y procedimientos para el suministro de composiciones formuladas.

[0009] El documento US20120148622 describe la adición de citoquinas para mejorar la efectividad de la vacuna.

[0010] Por lo tanto, existe una necesidad de nuevas composiciones de vacunas que liberen eficazmente antígenos o promuevan la captación de antígenos por células presentadoras de antígenos con el fin de estimular una respuesta

inmunitaria en un mamífero, así como inhibir células inmunosupresoras para mejorar la respuesta inmunitaria en un mamífero. Además, también son muy deseables procedimientos nuevos y eficaces de estimulación de respuestas inmunitarias mediadas por células en mamíferos, posiblemente mediante la inclusión de un modificador inmunológico ("inmunomodulador") seguro y eficaz en una composición de vacuna junto con un factor terapéutico. Por consiguiente, la presente invención se refiere a una composición de vacuna para utilizar, tal como se define en las reivindicaciones.

[0011] La presente descripción proporciona composiciones de vacuna y un procedimiento de uso de las composiciones que exhiben propiedades deseables y proporcionan ventajas relacionadas de mejora en la reducción de una población de células inmunosupresoras inmune y el aumento de una respuesta inmunitaria en un mamífero.

[0012] La presente descripción proporciona composiciones de vacuna que comprenden al menos un adyuvante y al menos un factor terapéutico. La descripción también proporciona procedimientos para reducir una población de células inmunosupresoras en un mamífero, procedimientos para aumentar una respuesta inmunitaria en un mamífero, y procedimientos de tratamiento de una enfermedad en un mamífero utilizando las composiciones de vacuna.

[0013] Las composiciones de vacuna y procedimientos de acuerdo con la presente descripción proporcionan varias ventajas en comparación con otras composiciones y procedimientos en la técnica. En primer lugar, las formulaciones de vacunas incluyen un adyuvante que es un inmunomodulador para mejorar, dirigir o promover una respuesta inmunitaria apropiada en un mamífero. Los inmunomoduladores tienen el potencial de reforzar de manera eficaz la respuesta inmunitaria de un mamífero a antígenos si se incluyen en una formulación de vacuna. Por ejemplo, un inmunomodulador puede lograr ventajosamente uno o más de los siguientes: (1) mejorar la liberación y/o el procesamiento de antígenos en la APC, (2) inducir la producción de citoquinas inmunomoduladoras que favorecen el desarrollo de la respuesta inmunitaria al antígeno, promoviendo así la inmunidad mediada por células, incluyendo linfocitos T citotóxicos ("CTL"), (3) reducir el número de inmunizaciones o la cantidad de antígeno requerida para una vacuna eficaz, (4) aumentar la vida media biológica o inmunológica del antígeno de la vacuna y (5) superar la tolerancia inmunitaria a antígeno mediante la inhibición de factores inmunosupresores. En algunas realizaciones, los adyuvantes a base de lípidos catiónicos se pueden utilizar como adyuvantes inmunomodificadores potentes y pueden provocar respuestas inmunitarias superiores de células T y anticuerpos en formulaciones de vacunas.

[0014] En segundo lugar, las composiciones de vacuna de la presente descripción incluyen un factor terapéutico, tal como una citoquina, que como una combinación, pueden reducir una población de células inmunosupresoras en un mamífero, lo que puede mejorar la respuesta inmunitaria de un mamífero en respuesta a la enfermedad. La investigación actual para identificar medios para inhibir células inmunosupresoras, tales como células MDSC y T-reguladoras, utiliza anticuerpos bloqueantes complejos. En consecuencia, la administración de una composición de vacuna potente que incluye un factor terapéutico, tal como una citoquina, puede ser más fácil de administrar a un paciente y para mejorar la respuesta inmunitaria, particularmente en tumores.

[0015] En tercer lugar, las composiciones de vacuna de la descripción actual, que incluyen un factor terapéutico, pueden causar una reducción en las MDSC con y sin un antígeno específico de la enfermedad, lo que resulta en un enfoque único y potente para el tratamiento de enfermedades, tales como el cáncer, al facilitar la activación natural de células T específicas de antígeno, al mismo tiempo que se reduce la población de células inmunosupresoras. Las composiciones de vacuna que incluyen un factor terapéutico dan lugar a la generación de respuestas inmunitarias específicas de enfermedad superiores, que no se observan cuando el adyuvante o el factor terapéutico solos se formulan con el antígeno.

[0016] Por último, el factor terapéutico, cuando se combina con el adyuvante de lípido catiónico para formar la composición de vacuna, da lugar a una mejora sinérgica única en la respuesta inmunitaria en un mamífero. Las combinaciones de factor terapéutico (por ejemplo, GM-CSF) con otros adyuvantes (por ejemplo, adyuvante incompleto de Freund (IFA) o anti-CD40 + IFA) no dan lugar a una mejora sinérgica similar en la respuesta inmunitaria. Por lo tanto, la combinación del adyuvante lípido catiónico y el factor terapéutico específicamente y de manera significativa dan como resultado una mejora sinérgica en la respuesta inmunitaria que no se puede replicar utilizando otros adyuvantes utilizados habitualmente.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0017] La Figura 1 muestra el efecto de diversas composiciones de vacuna sobre la respuesta inmunitaria específica de antígeno en ratones portadores de tumor. El número de puntos de IFN- α observadas por cada 10^6 esplenocitos de ratones se presentan como el número de puntos de cultivo reestimulado con E7₄₉₋₅₇ menos cultivo reestimulado con antígeno de control por millón de esplenocitos \pm SD. El péptido E7 en la figura se refiere a GM-CSF-E7 + Cd40 + IFA. (***) $P < 0,001$).

La Figura 2 muestra el efecto de diversas composiciones de vacuna en el número de MDSC infiltradas en el tumor (definidas como células CD1⁺ 1b⁺ Cr-1⁺ dentro de la población de células CD44⁺) usando un ensayo de citometría de flujo. El número de células infiltradas en el tumor están estandarizado por 1×10^6 de células tumorales totales y se presentan como valores medios \pm SD. (* $P < 0,05$ en comparación con los grupos no tratados y con GM-CSF sólo).

La Figura 3 muestra el efecto de diversas composiciones de vacuna en el número de células T CD8⁺ infiltrantes de tumor después de la administración a los ratones. Se analizó el número de células T CD8⁺ infiltradas en el tumor dentro

de la población de células CD44⁺ usando el ensayo de citometría de flujo. El número de células infiltradas en el tumor se estandarizó por 1x10⁶ de células tumorales totales y se presentan como valores medios ± SD. (P * <0,05).

La figura 4 muestra el efecto de diversas composiciones de vacuna en la respuesta inmunitaria específica de antígeno. La actividad de IFN γ en la presencia de los antígenos de melanoma péptidos TRP-2 y gp-100 péptidos frente a péptido de control (10 μ g/ml de cada uno) se ensayó mediante ELISPOT. Los valores se presentan como el número de puntos de cultivo reestimulado con TRP-2 y gp100 menos cultivo reestimulado con antígeno de control por millón de esplenocitos. (*P <0,01).

[0018] La presente invención se refiere a una composición de vacuna para usar, tal como se define en el conjunto de reivindicaciones.

[0019] A continuación, se describen en el presente documento diversas realizaciones de la descripción. En una realización descrita en el presente documento, se proporciona una composición de vacuna. La composición de vacuna comprende un adyuvante y un factor terapéutico.

[0020] En otra realización, se proporciona un procedimiento para reducir una población de células inmunosupresoras en un mamífero. El procedimiento comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de una composición de vacuna al mamífero, en el que la composición de vacuna comprende un adyuvante y un factor terapéutico.

[0021] En aún otra realización, se proporciona un procedimiento de aumentar una respuesta inmunitaria en un mamífero. El procedimiento comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de una composición de vacuna al mamífero, en el que la composición de vacuna comprende un adyuvante y un factor terapéutico.

[0022] En aún otra realización, se proporciona un procedimiento de tratamiento de una enfermedad en un mamífero. El procedimiento comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de una composición de vacuna al mamífero, en el que la composición de vacuna comprende un adyuvante y un factor terapéutico.

[0023] En las diversas realizaciones, la composición de vacuna comprende un adyuvante y un factor terapéutico. Tal como se utiliza en el presente documento, el término "adyuvante" se refiere a una sustancia que mejora, aumenta y/o potencia la respuesta inmunitaria de un mamífero a un antígeno. Tal como se utiliza en el presente documento, el término "factor terapéutico" se refiere a cualquier agente asociado con el tratamiento de una enfermedad mediante la inducción, mejora o supresión de una respuesta inmunitaria. Tal como se usa en este documento, un factor terapéutico incluye, pero no se limita a, un estimulante del sistema inmunitario, un agente de destrucción celular, un potenciador de la penetración tumoral, un agente quimioterapéutico, o una célula inmunitaria citotóxica. Se contempla que la composición de vacuna incluye formulaciones en las que el adyuvante y el factor terapéutico se administran juntos, así como formulaciones en las que el adyuvante y el factor terapéutico se administran por separado. Las dosis del adyuvante y el factor terapéutico son conocidos por los expertos en la técnica.

[0024] En algunas realizaciones descritas en el presente documento, el adyuvante es un inmunomodulador. Tal como se utiliza en el presente documento, el término "inmunomodulador" se refiere a un modificador inmunológico que mejora, dirige y/o promueve una respuesta inmunitaria en un mamífero.

[0025] En algunas realizaciones descritas en el presente documento, el adyuvante es una nanopartícula. Tal como se utiliza en el presente documento, el término "nanopartícula" se refiere a una partícula que tiene un tamaño medido a escala nanométrica. Tal como se utiliza en el presente documento, la "nanopartícula" se refiere a una partícula que tiene una estructura con un tamaño de menos de aproximadamente 1000 nanómetros. En algunas realizaciones, la nanopartícula es un liposoma.

[0026] En algunas realizaciones descritas en el presente documento, el adyuvante es un lípido catiónico. Tal como se utiliza en el presente documento, el término "lípido catiónico" se refiere a cualquiera de un número de especies de lípidos que llevan una carga neta positiva a pH fisiológico o que tienen un grupo protonable y están cargados positivamente a un pH más bajo que el pKa.

[0027] Los lípidos catiónicos adecuados de acuerdo con la presente descripción incluyen, pero no se limitan a: 3-beta [⁴N - (¹N,⁸-diguandino espermidina) carbamoyl]colesterol (BGSC); 3-beta [N,N-diguandinoetil-aminoetano)-carbamoyl]colesterol (BGTC); N,N¹N²N³Tetra-metil tetrapalmitilespermina (Cellfectin); N-t-butyl-N'-tetradecil-3-tetradecil-aminopropion-amidina (CLONfectin); bromuro de dimetildioctadecil amonio (DDAB); bromuro de 1,2-dimiristiloxipropil-3-dimetil-hidroxi etil amonio (DMRIE); 2,3-dioleoiloxi-N-[2-(esperminacarboxamido) etil]-N,N-dimetil-1-p-trifluoracetato de ropanaminio (DOSPA); 1,3-dioleoiloxi-2-(6-carboxiespermil)-propil amida (DOSPER); 4-(2,3-bis-palmitoiloxi-propil)-1-metil-1H-imidazol (DPIM) yoduro de N,N,N',N'-tetrametil-N,N'-bis(2-hidroxi-etil)-2,3-dioleoiloxi-1,4-butano-diamonio (Tfx-50); cloruro de N-1-(2,3-dioleoiloxi)propil-N,N,N-trimetil amonio (DOTMA) u otros tensoactivos de amonio N-(N, N-1-dialcoxi)-alquil-N,N,N-trisustituidos; 1,2 dioleoil-3-(4'-trimetilamonio)butanol-sn-glicerol (DOBT) o butanoato de colesteril (4' trimetilamonio) (ChOTB), en el que el grupo trimetilamonio está conectado a través de un brazo espaciador de butanol a la doble cadena (para DOTB) o el grupo colesterilo (para ChOTB); DORI (DL-1,2-dioleoil-3-dimetilaminopropil-beta-hidroxi-etilamonio) o DORIE (DL-1,2-O-dioleoil-3-dimetilaminopropil-beta-hidroxi-etilamonio) (DORIE) o análogos de los mismos, tal como se describe en el documento WO 93/03709; éster de colina de 1,2-dioleoil-3-succinil-sn-glicerol

- (DOSC); éster de colesteril hemisuccinato (ChOSC); lipopoliaminas, tales como dioctadecilamidoglicilespermina (DOGS) y dipalmitoil fosfatidiletanolamilespermina (DPPEs), yoduro de colesteril-3beta-carboxil-amido-etiltrimetilamonio, yoduro de 1-dimetilamino-3-trimetilamonio-DL-2-propil-colesteril carboxilato, colesteril-3- O-carboxiamidoetilenamina, yoduro de colesteril-3-beta-oxisuccinamido-etiltrimetilamonio, yoduro de 1-dimetilamino-3-trimetilamonio-DL-2-propil-colesteril-3-beta-oxisuccinato, yoduro de 2-(2-trimetilamonio)-etilmetilamino etil-colesteril-3-beta-oxisuccinato, 3-beta-N-(N', N'-dimetilaminoetano)carbamoil colesterol (DC-Chol) y 3-beta-N-(polietilenimina)-carbamoilcolesterol; O,O'-dimiristil-N-lisil aspartato (DMKE); O,O'-dimiristil-N-lisil-glutamato (DMKD); bromuro de 1,2-dimiristiloxipropil-3-dimetil-hidroxi etil amonio (DMRIE); 1,2-dilauroil-sn-glicero-3-etilfosfocolina (DLEPC); 1,2-dimiristil-sn-glicero-3-etilfosfocolina (DMEPC); 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-etilfosfocolina (DOEPC); 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-etilfosfocolina (DPEPC); 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-etilfosfocolina (DSEPC); 1,2-dioleoil-3-trimetilamonio propano (DOTAP); dioleoil dimetilaminopropano (DODAP); 1,2-palmitoil-3-trimetilamonio propano (DPTAP); 1,2-diestearoil- 3-trimetilamonio propano (DSTAP), 1,2-miristoil-3-trimetilamonio propano (DMTAP); y dodecil sulfato sódico (SDS). Además, también se contemplan variantes estructurales y derivados de la cualquiera de los lípidos catiónicos descritos.
- 15 **[0028]** En alguna realización, el lípido catiónico se selecciona del grupo que consiste en DOTAP, DOTMA, DOEPC, y combinaciones de los mismos. En otras realizaciones, el lípido catiónico es DOTAP. En aún otras realizaciones, el lípido catiónico es DOTMA. En otras realizaciones, el lípido catiónico es DOEPC. En algunas realizaciones, el lípido catiónico está purificado.
- 20 **[0029]** En algunas realizaciones, el lípido catiónico es un enantiómero de un lípido catiónico. El término "enantiómero" se refiere a un estereoisómero de un lípido catiónico que es una imagen especular no superponible de su estereoisómero homólogo, por ejemplo enantiómeros R y S. En diversos ejemplos, el enantiómero es R-DOTAP o S-DOTAP. En un ejemplo, el enantiómero es R-DOTAP. En otro ejemplo, el enantiómero es S-DOTAP. En algunas realizaciones, el enantiómero está purificado. En diversos ejemplos, el enantiómero es R-DOTMA o S-DOTMA. En un ejemplo, el enantiómero es R-DOTMA. En otro ejemplo, el enantiómero es S-DOTMA. En algunas realizaciones, el enantiómero está purificado. En diversos ejemplos, el enantiómero es R-DOPEC o S-DOPEC. En un ejemplo, el enantiómero es R-DOPEC. En otro ejemplo, el enantiómero es S-DOPEC. En algunas realizaciones, el enantiómero está purificado.
- 25 **[0030]** En diversas realizaciones descritas en este documento, el factor terapéutico se selecciona del grupo que consiste en las interleucinas 1-18, factor de células madre, FGF básico, EGF, G-CSF, GM-CSF, ligando FLK-2, HILDA, MIP-1 α , TGF- β , TGF- α , M-CSF, IFN- γ , IFN- α , IFN- β , CD23 soluble, LIF y combinaciones de los mismos. Otros factores terapéuticos son conocidos por los expertos en la técnica y también se pueden usar en las composiciones de vacuna de la presente descripción.
- 30 **[0031]** En diversas realizaciones descritas en el presente documento, el factor terapéutico es una citoquina. En algunas realizaciones, la citoquina es GM-CSF. En otras realizaciones descritas en el presente documento, el factor terapéutico es un factor de crecimiento celular inmune.
- 35 **[0032]** En diversas realizaciones descritas en el presente documento, la composición comprende uno o más antígenos. Tal como se utiliza en el presente documento, el término "antígeno" se refiere a cualquier agente (por ejemplo, proteína, péptido, polisacárido, glicoproteína, glicolípido, ácido nucleico, o combinación de los mismos) que, cuando se introduce en un mamífero que tiene un sistema inmunitario (directamente o después de la expresión como en, por ejemplo, vacunas de ADN), es reconocido por el sistema inmunitario del mamífero y es capaz de provocar una respuesta inmunitaria. Tal como se define en el presente documento, la respuesta inmunitaria inducida por el antígeno puede ser humoral o mediada por células, o ambos. Un agente se denomina "antigénico" cuando es capaz de interactuar específicamente con una molécula de reconocimiento de antígeno del sistema inmunitario, tal como una inmunoglobulina (anticuerpo) o receptor de antígeno de células T (TCR).
- 40 **[0033]** En algunas realizaciones, uno o más antígenos es un antígeno basado en proteína. En otras realizaciones, uno o más antígenos es un antígeno basado en péptidos. En diversas realizaciones, uno o más antígenos se seleccionan del grupo que consiste en un antígeno de cáncer, un antígeno viral, un antígeno bacteriano y un antígeno patógeno. Un "antígeno microbiano", tal como se usa en el presente documento, es un antígeno de un microorganismo e incluye, pero no se limita a, virus infecciosos, bacterias infecciosas, parásitos infecciosos y hongos infecciosos. Los antígenos microbianos pueden ser microorganismos intactos y aislados naturales, fragmentos o derivados de los mismos, compuestos sintéticos que son idénticos o similares a antígenos microbianos naturales y, preferiblemente, inducen una respuesta inmunitaria específica para el microorganismo correspondiente (del que se produce el antígeno microbiano natural). En una realización, el antígeno es un antígeno de cáncer. En una realización, el antígeno es un antígeno viral. En otra realización, el antígeno es un antígeno bacteriano. En diversas realizaciones, el antígeno es un antígeno patógeno. En algunas realizaciones, el antígeno patógeno es un antígeno sintético o recombinante.
- 45 **[0034]** En algunas realizaciones, el antígeno es un antígeno de cáncer. Un "antígeno de cáncer", tal como se usa en el presente documento, es una molécula o compuesto (por ejemplo, una proteína, péptido, polipéptido, lipoproteína, lipopéptido, glicoproteína, glicopéptidos, lípidos, glicolípidos, carbohidratos, ARN y/o ADN) asociado con una célula tumoral o cancerosa y que es capaz de provocar una respuesta inmunitaria (humoral y/o celular) cuando se expresa en la superficie de una célula presentadora de antígenos en el contexto de una molécula MHC. Por ejemplo, un antígeno
- 50
- 55
- 60
- 65

de cáncer puede ser un antígeno asociado a tumor. Los antígenos asociados a tumores incluyen antígenos propios, así como otros antígenos que pueden no estar asociados específicamente con un cáncer, pero no obstante potencian una respuesta inmunitaria a y/o reducen el crecimiento de una célula tumoral o cancerosa cuando se administran a un mamífero. En una realización, al menos un antígeno es una proteína o péptido de VPH.

5 **[0035]** En algunas realizaciones de la presente descripción, al menos un antígeno comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en RAHYNIVTF (SEQ ID NO: 1), GQAEPDRAHYNIVTF (SEQ ID NO: 2), KSSGQAEPDRAHYNIVTF (SEQ. ID NO: 3.), YMLDLQPETT (SEQ ID NO: 4), KSSYMLDLQPETT (SEQ ID NO: 5), MHGDTPTLHEYMLDLQPETT (SEQ ID NO: 6), LLMGTLGIVCPICSQKP (SEQ ID NO: 7), KVPRNQDWL (SEQ ID NO: 8), SYVDFVWL (SEQ ID NO: 9), KYICNSSCM (SEQ ID NO: 10), KSSKVPRNQDWL (SEQ ID NO: 11), KSSMHGDTPTLHEYMLDLQPETT (SEQ ID. NO: 12), y KSSLLMGTLGIVCPICSQKP (SEQ ID NO: 13). En una
10 realización, al menos un antígeno comprende la secuencia RAHYNIVTF (SEQ ID NO: 1). En otra realización, al menos un antígeno comprende la secuencia GQAEPDRAHYNIVTF (SEQ ID NO: 2). En todavía otra realización, al menos un antígeno comprende la secuencia KSSGQAEPDRAHYNIVTF (SEQ ID NO: 3). En algunas realizaciones,
15 KSSGQAEPDRAHYNIVTF (SEQ ID NO: 3) se modifica para comprender además un grupo hidrófobo. En una realización, el grupo hidrófobo es un grupo palmitoilo.

[0036] En otras realizaciones, al menos un antígeno comprende la secuencia YMLDLQPETT (SEQ ID NO: 4). En otra
20 realización, al menos un antígeno comprende la secuencia KSSYMLDLQPETT (SEQ ID NO: 5). En aún otra realización, KSSYMLDLQPETT (SEQ ID NO: 5) se modifica para comprender además un grupo hidrófobo. En una realización, el grupo hidrófobo es un grupo palmitoilo.

[0037] En otras realizaciones, al menos un antígeno comprende la secuencia MHGDTPTLHEYMLDLQPETT (SEQ ID
25 NO: 6). En otra realización, MHGDTPTLHEYMLDLQPETT (SEQ ID NO: 6) se modifica para comprender además un grupo hidrófobo. En una realización, el grupo hidrófobo es un grupo palmitoilo.

[0038] En otras realizaciones, al menos un antígeno comprende la secuencia LLMGTLGIVCPICSQKP (SEQ ID NO:
30 7). En algunas realizaciones, LLMGTLGIVCPICSQKP (SEQ ID NO: 7) se modifica para comprender además un grupo hidrófobo. En una realización, el grupo hidrófobo es un grupo palmitoilo.

[0039] En algunas realizaciones, al menos un antígeno comprende la secuencia KVPRNQDWL (SEQ ID NO: 8). En
otras realizaciones, al menos un antígeno comprende la secuencia SYVDFVWL (SEQ ID NO: 9). En todavía otras
realizaciones, al menos un antígeno comprende la secuencia KYICNSSCM (SEQ ID NO: 10). En otra realización, al
35 menos un antígeno comprende la secuencia KSSKVPRNQDWL (SEQ ID NO: 11). En algunas realizaciones, KSSKVPRNQDWL (SEQ ID NO: 11) se modifica para comprender además un grupo hidrófobo. En una realización, el grupo hidrófobo es un grupo palmitoilo.

[0040] En otras realizaciones, al menos un antígeno comprende la secuencia KSSMHGDTPTLHEYMLDLQPETT
40 (SEQ ID NO: 12). En otra realización, KSSMHGDTPTLHEYMLDLQPETT (SEQ ID NO: 12) se modifica para comprender además un grupo hidrófobo. En una realización, el grupo hidrófobo es un grupo palmitoilo.

[0041] En otras realizaciones, al menos un antígeno comprende la secuencia KSSLLMGTLGIVCPICSQKP (SEQ ID
45 NO: 13). En algunas realizaciones, KSSLLMGTLGIVCPICSQKP (SEQ ID NO: 13) se modifica para comprender además un grupo hidrófobo. En una realización, el grupo hidrófobo es un grupo palmitoilo.

[0042] En una realización, el antígeno comprende la secuencia seleccionada del grupo que comprende gp100
(KVPRNQDWL [SEC. ID. N° 8]), TRP2 (SYVDFVWL [SEQ. ID. N° 9]), y p53 (KYICNSSCM [SEC. ID. N° 10]), y
combinaciones de los mismos.

50 **[0043]** En una realización, los antígenos comprenden uno o más de la secuencia de gp100 (KVPRNQDWL [SEQ. ID. N° 8]) y la secuencia de TRP2 (SYVDFVWL [SEQ. ID. N° 9]).

[0044] En diversas realizaciones, se selecciona al menos un antígeno del grupo que consiste en una lipoproteína, un
55 lipopéptido, y una proteína o péptido modificado con una secuencia de aminoácidos que tiene una mayor hidrofobicidad o una menor hidrofobicidad. En algunas realizaciones, uno o más antígenos es un antígeno modificado para aumentar la hidrofobicidad del antígeno. En una realización, al menos un antígeno es una proteína o péptido modificado. En algunas realizaciones, la proteína o péptido modificado está unido a un grupo hidrófobo. En otras realizaciones, la proteína o péptido modificado unido a un grupo hidrófobo comprende además una secuencia de enlace entre el antígeno y el grupo hidrófobo. En algunas realizaciones, el grupo hidrófobo es un grupo palmitoilo. En todavía otras realizaciones, al menos
60 un antígeno es una proteína o péptido no modificado.

[0045] En diversas realizaciones descritas en el presente documento, la formulación de vacuna induce una respuesta
inmunitaria en un mamífero mediante la activación de la vía de señalización de proteína quinasa activada por mitógeno
(MAP). Se describe la inducción de una respuesta inmunitaria por adyuvantes, tales como lípidos catiónicos, por
ejemplo, en el documento PCT/US2008/057678 (WO/2008/116078; "Stimulation of an Immune Response by Cationic
Lipids") y PCT/US2009/040500 (WO/2009/129227; " Stimulation of an Immune Response by Enantiomers of Cationic
65 Lipids")

Lipids"). En algunas realizaciones, la vía de señalización de MAP quinasa se activa mediante la estimulación de al menos una de quinasa extracelular regulada por señal ("ERK")-1, ERK-2, y p38. En otras realizaciones, la formulación mejora la respuesta de los linfocitos T CD8 + específicos de antígeno funcional. El término "mamífero" es bien conocido por los expertos en la técnica. En una realización, el mamífero es un ser humano.

[0046] En una realización descrita en el presente documento, se proporciona un procedimiento para reducir una población de células inmunosupresoras en un mamífero. El procedimiento comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de una composición de vacuna al mamífero, en el que la composición de vacuna comprende un adyuvante y un factor terapéutico. Las realizaciones anteriormente descritas de la composición de vacuna son aplicables al procedimiento de reducción de una población de células inmunosupresoras en un mamífero que se describe en el presente documento.

[0047] En algunas realizaciones, la célula inmunosupresora es una célula supresora derivada de mielóide (MDSC). En otras realizaciones, la célula inmunosupresora es una célula T reguladora.

[0048] En diversas realizaciones, la reducción da lugar a un aumento de la respuesta de células T en el mamífero. En algunas realizaciones, la célula T es una célula T infiltrada en tumor. En algunas realizaciones, la respuesta de células T es una respuesta de células T CD4+. En ciertas realizaciones, la célula T CD4+ es una célula T CD4+ infiltrada en tumor. En algunas realizaciones, la respuesta de células T es una respuesta de células T CD8+. En ciertas realizaciones, la célula T CD8+ es una célula T CD8+ infiltrada en tumor.

[0049] En diversas realizaciones, el mamífero es un humano. En algunas realizaciones, la administración activa una respuesta inmunitaria a través de la vía de señalización de MAP quinasa en las células del sistema inmunitario del mamífero. En diversas realizaciones, la vía de señalización de la MAP quinasa se activa mediante la estimulación de al menos una de ERK-1, ERK-2, y p38.

[0050] En otras realizaciones, la respuesta inmunitaria activa los linfocitos T citotóxicos en el mamífero. En una realización, los linfocitos T citotóxicos son células T CD8+. En otra realización, la administración mejora la respuesta de los linfocitos T CD8+ específicos de antígeno funcional. En aún otra realización, la respuesta inmunitaria activa una respuesta de anticuerpos en el mamífero. En otras realizaciones, la respuesta inmunitaria activa interferón-gamma (IFN- γ) en el mamífero.

[0051] En una realización descrita en el presente documento, se proporciona un procedimiento para aumentar una respuesta inmunitaria en un mamífero. El procedimiento comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de una composición de vacuna al mamífero, en el que la composición de vacuna comprende un adyuvante y un factor terapéutico. Las realizaciones anteriormente descritas de la composición de la vacuna y del procedimiento de reducción de una población de células inmunosupresoras en un mamífero son aplicables al procedimiento de aumentar una respuesta inmunitaria en un mamífero descrito en el presente documento.

[0052] En una realización descrita en el presente documento, se proporciona un procedimiento de tratamiento de una enfermedad en un mamífero. El procedimiento comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de una formulación de vacuna al mamífero, en el que la formulación de vacuna comprende un adyuvante y un factor terapéutico. Las realizaciones anteriormente descritas de la formulación de la vacuna y del procedimiento de reducción de una población de células inmunosupresoras en un mamífero son aplicables al procedimiento de tratamiento de una enfermedad en un mamífero descrito en el presente documento.

[0053] En algunas realizaciones, "tratamiento", "tratar" y "que trata", tal como se usan en el presente documento, con referencia a patógenos infecciosos, se refieren a un tratamiento profiláctico que aumenta la resistencia de un sujeto a la infección con un patógeno o disminuye la probabilidad de que el sujeto sea infectado con el patógeno; y/o el tratamiento después de que el sujeto se haya infectado con el fin de luchar contra la infección, por ejemplo, reducir o eliminar la infección o prevenir que empeore. En una realización, el procedimiento es un tratamiento profiláctico. En algunas realizaciones, la enfermedad es un cáncer.

EJEMPLO 1

Preparación de adyuvante y adyuvantes que incorporan un antígeno

[0054] Los adyuvantes se pueden preparar utilizando lípidos catiónicos solos. Alternativamente, los adyuvantes se pueden preparar usando mezclas de lípidos catiónicos y otros inmunomoduladores. Las composiciones de vacuna se pueden preparar utilizando una composición a base de lípidos catiónicos que incorpora un antígeno. En el presente ejemplo, DOTAP fue utilizado como un lípido catiónico de ejemplo y el antígeno de péptido E7 de proteína de VPH se usó como un antígeno de ejemplo.

[0055] Se usó agua estéril para inyección (WFI) o un tampón en todos los procedimientos en los que se prepararon lípidos catiónicos en liposomas. En este ejemplo, los liposomas se prepararon utilizando películas lipídicas. El antígeno de E7 utilizado para la incorporación en los liposomas fue un epítipo de CTL restringido a H-2D^b (aminoácido 49-57,

RAHYNIVTF [SEQ. ID. NO. 1]) derivado de proteína E7 de VPH 16. Las películas lipídicas se realizaron en viales de vidrio mediante (1) disolución de los lípidos en un disolvente orgánico, tal como cloroformo, y (2) evaporación de la solución de cloroformo bajo una corriente constante de gas nitrógeno seco. Las trazas de disolvente orgánico se eliminaron manteniendo las películas bajo vacío durante la noche. Las películas lipídicas se hidrataron a continuación mediante la adición de la cantidad requerida de WFI o tampón para obtener una concentración final de 4-10 mg/ml. Las suspensiones se extruyeron a continuación a un tamaño de 200 nm y se almacenaron a 4°C.

[0056] Para la preparación de lípido catiónico que incorpora un antígeno, la película lipídica de DOTAP se rehidrató por una solución acuosa de péptido E7. También se pueden utilizar otros procedimientos usados en la preparación general de liposomas que son bien conocidos para los expertos en la técnica.

EJEMPLO 2

Efecto de las composiciones de vacuna en la respuesta inmunitaria específica de antígeno en ratones portadores de tumores

[0057] Se pueden comparar varias composiciones de vacuna de acuerdo con la presente descripción y se evaluaron por sus efectos sobre la respuesta inmunitaria específica de antígeno en ratones portadores de tumor. En este ejemplo, se usó R-DOTAP como un lípido catiónico de ejemplo, se usó el péptido E7 como un antígeno de ejemplo y se usó la citoquina GM-CSF como factor terapéutico de ejemplo. Además, se usaron Ab anti-CD40 y el adyuvante incompleto de Freund (IFA) como adyuvantes comparativos.

[0058] En este ejemplo, se prepararon composiciones de vacuna de acuerdo con la descripción y se evaluaron los siguientes grupos:

- Grupo 1: R-DOTAP-péptido E7 (20 µg/ratón) y GM-CSF (5 µg/ratón)
- Grupo 2: R-DOTAP-péptido E7 (20 µg/ratón)
- Grupo 3: GM-CSF (5 µg/ratón), péptido E7 (100 µg/ratón), Ab anti-CD40 (20 µg/ratón), e IFA (50 µg/ratón)
- Grupo 4: R-DOTAP solo
- Grupo 5: GM-CSF solo
- Grupo 6: R-DOTAP y GM-CSF
- Grupo 7: Control no tratado

[0059] Se implantaron en ratones hembra C57BL6 de 6-8 semanas de edad (5 ratones por grupo) 50.000 células TC-1/ratón por vía subcutánea en el flanco derecho en el día 0. En el día 8, cuando todos los ratones tenían tumores de ~3-4 mm de diámetro, los sujetos de cada grupo fueron administrados con la composición de vacuna del grupo apropiado.

[0060] El tratamiento se repitió en el día 15. Seis días más tarde (es decir, día 21 después de la implantación del tumor), se sacrificaron los ratones. Los bazo de los ratones se recogieron y se procesaron para los linfocitos totales. La actividad de IFN γ en presencia de péptido E7₄₉₋₅₇ frente a péptido de control irrelevante (10 µg/ml de cada uno) se ensayó mediante ELISPOT. Se evaluó el número de puntos de cultivo reestimulado con E7₄₉₋₅₇ menos cultivo reestimulado con antígeno irrelevante por millón de esplenocitos.

[0061] Tal como se muestra en la Figura 1, el Grupo 1 (es decir, R-DOTAP-péptido E7 y GM-CSF) mostró un aumento estadísticamente significativo en la respuesta inmunitaria específica de antígeno en ratones portadores de tumor en comparación con los otros grupos. La combinación de R-DOTAP-péptido E7 y GM-CSF mostró un efecto sinérgico en la respuesta inmunitaria específica de antígeno en comparación con los componentes individuales. Se administró el grupo 3 (es decir, GM-CSF, péptido E7, Ab anti-CD40 e IFA) con factor de crecimiento y un adyuvante de lípido no catiónico, pero no mostró un efecto sinérgico sobre la respuesta inmunitaria, tal como se observa con el Grupo 1.

EJEMPLO 3

Efecto de las composiciones de vacuna en MDSC en el microambiente tumoral de ratones portadores de tumores

[0062] Se pueden comparar varias composiciones de vacuna de acuerdo con la presente descripción y se evaluaron por sus efectos en el número de MDSC en el microambiente tumoral en ratones portadores de tumor. En este ejemplo, se usó R-DOTAP como un lípido catiónico de ejemplo, se usó el péptido E7 como un antígeno de ejemplo y se usó la citoquina GM-CSF como factor terapéutico de ejemplo.

[0063] En este ejemplo, se prepararon composiciones de vacuna de acuerdo con la descripción y se evaluaron los siguientes grupos:

- Grupo 1: R-DOTAP-péptido E7 (20 µg/ratón) y GM-CSF (5 µg/ratón)
- Grupo 2: R-DOTAP-péptido E7 (20 µg/ratón)
- Grupo 3: R-DOTAP solo
- Grupo 4: GM-CSF solo

Grupo 5: R-DOTAP y GM-CSF

Grupo 6: Control no tratado

5 **[0064]** Se implantaron en ratones hembra C57BL6 de 6-8 semanas de edad (5 ratones por grupo) 50.000 células TC-1/ratón por vía subcutánea en el flanco derecho en el día 0. En el día 8, cuando todos los ratones tenían tumores de ~3-4 mm de diámetro, los sujetos de cada grupo fueron administrados con la composición de vacuna del grupo apropiado.

10 **[0065]** El tratamiento se repitió en el día 15. Seis días más tarde (es decir, día 21 después de la implantación del tumor), el tejido tumoral se recogió de los ratones. Las muestras tumorales fueron procesadas utilizando GentleMACS Dissociator (Miltenyi Biotec, Auburn, CA) y el protocolo de homogeneización de tumor sólido, tal como se sugiere el fabricante.

15 **[0066]** Se analizaron las MDSC (definidas como células CD11b⁺Cr-1⁺) infiltradas en el tumor dentro de la población de células CD44⁺ (marcador de células hematopoyéticas) usando el ensayo de citometría de flujo. El número de células infiltradas en el tumor se estandarizó por 1x10⁶ de células tumorales totales y se presentó como valores promedio.

20 **[0067]** Como se muestra en la Figura 2, tanto el grupo 1 (es decir, R-DOTAP-péptido E7 y GM-CSF) como el grupo 5 (es decir, R-DOTAP-E7 y GM-CSF) mostraron una disminución estadísticamente significativa en el número de MDSC en ratones portadores de tumores en comparación con ratones no tratados y ratones tratados sólo con GM-CSF. La combinación de R-DOTAP-péptido E7 y GM-CSF exhibió un efecto sinérgico para reducir el número de MDSC en comparación con los componentes individuales. Además, la combinación de R-DOTAP y GM-CSF (es decir, sin la administración de un antígeno) exhibió un efecto sinérgico similar para reducir el número de MDSC en comparación con los componentes individuales.

25 EJEMPLO 4

Efecto de las composiciones de vacuna en células T CD8⁺ infiltradas en tumores de ratones portadores de tumores

30 **[0068]** Se pueden comparar varias composiciones de vacuna de acuerdo con la presente descripción y se evaluaron por sus efectos en el número de células T Cd8⁺ infiltradas en tumores en ratones portadores de tumor. En este ejemplo, se usó R-DOTAP como un lípido catiónico de ejemplo, se usó el péptido E7 como un antígeno de ejemplo y se usó la citoquina GM-CSF como factor terapéutico de ejemplo.

35 **[0069]** En este ejemplo, se prepararon composiciones de vacuna de acuerdo con la descripción y se evaluaron los siguientes grupos:

Grupo 1: R-DOTAP-péptido E7 (20 µg/ratón) y GM-CSF (5 µg/ratón)

Grupo 2: R-DOTAP-péptido E7 (20 µg/ratón)

Grupo 3: R-DOTAP solo

Grupo 4: GM-CSF solo

40 Grupo 5: R-DOTAP y GM-CSF

Grupo 6: Control no tratado

45 **[0070]** Se implantaron en ratones hembra C57BL6 de 6-8 semanas de edad (5 ratones por grupo) 50.000 células TC-1/ratón por vía subcutánea en el flanco derecho en el día 0. En el día 8, cuando todos los ratones tenían tumores de ~3-4 mm de diámetro, los sujetos de cada grupo fueron administrados con la composición de vacuna del grupo apropiado.

50 **[0071]** El tratamiento se repitió en el día 15. Seis días más tarde (es decir, día 21 después de la implantación del tumor), el tejido tumoral se recogió de los ratones. Las muestras tumorales fueron procesadas utilizando GentleMACS Dissociator (Miltenyi Biotec, Auburn, CA) y el protocolo de homogeneización de tumor sólido, tal como se sugiere el fabricante.

55 **[0072]** Se analizó el número de células T CD8⁺ infiltradas en el tumor dentro de la población de células CD44⁺ (marcador de células hematopoyéticas) usando el ensayo de citometría de flujo. El número de células infiltradas en el tumor se estandarizó por 1x10⁶ de células tumorales totales y se presentó como valores promedio.

60 **[0073]** Tal como se muestra en la Figura 3, tanto el grupo 1 (es decir, R-DOTAP-péptido E7 y GM-CSF) como el Grupo 2 (es decir, R-DOTAP-E7) mostraron un aumento estadísticamente significativo en el número de células T CD8⁺ infiltradas en el tumor en ratones portadores de tumor en comparación con los otros grupos. La combinación de R-DOTAP-péptido E7 y GM-CSF exhibió un efecto sinérgico para aumentar el número de células T CD8⁺ infiltradas en el tumor en comparación con los componentes individuales.

EJEMPLO 5

Efecto de composiciones de vacuna en la respuesta inmunitaria específica de antígeno en ratones

65

[0074] Se pueden comparar varias composiciones de vacuna de acuerdo con la presente descripción y se evalúan por sus efectos sobre la respuesta inmunitaria específica de antígeno en ratones. En este ejemplo, se usó R-DOTAP como un lípido catiónico de ejemplo, se utilizaron los péptidos TRP-2 y gp100 como un antígeno de ejemplo y se usó la citoquina GM-CSF como un factor terapéutico de ejemplo.

[0075] En este ejemplo, se prepararon composiciones de vacunas de acuerdo con la descripción y se evaluaron los siguientes grupos:

Grupo 1: R-DOTAP/péptidos TRP-2/gp100 (190 ug/ 160 ug)

Grupo 2: R-DOTAP/péptidos TRP-2/gp100/GM-CSF (190 ug/160 ug/0,5 ug)

[0076] Se utilizaron ratones hembra C57BL6 de 6-8 semanas de edad (4 ratones por grupo) en el estudio. En los días 0 y 8, los sujetos de cada grupo fueron administrados con la composición de vacuna del grupo apropiado.

[0077] Siete días más tarde (es decir, día 14 después de la primera administración), los ratones se sacrificaron y sus bazos se recogieron y se procesaron para los linfocitos totales. La actividad de IFN γ en presencia de los péptidos TRP-2 y gp-100 vs. péptido de control irrelevante (10 μ g/ml de cada uno) se ensayó mediante ELISPOT. Los valores se presentaron como el número de puntos de cultivo reestimulado con TRP-2 y gp100 menos cultivo reestimulado con antígeno irrelevante por millón de esplenocitos.

[0078] Tal como se muestra en la Figura 4, el Grupo 2 (es decir, R-DOTAP/péptido TRP-2/gp100/GM-CSF) exhibió un aumento estadísticamente significativo en la respuesta inmunitaria específica de antígeno en comparación con el Grupo 1, que no incluía GM-CSF.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> JOHNSON, Kenya
 JACOBSON, Eric
 BEDU-ADDO, Frank
 MKRTICHYAN, Mikayel
 KHLEIF, Samir N

<120> COMPOSICIONES DE VACUNAS DE LÍPIDOS CATIÓNICOS Y PROCEDIMIENTOS DE UTILIZACIÓN

<130> 50165-225611

<150> 61/660172
 <151> 2012-06-15

<160> 13

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 1

Arg Ala His Tyr Asn Ile Val Thr Phe
 1 5

<210> 2
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 2

Gly Gln Ala Glu Pro Asp Arg Ala His Tyr Asn Ile Val Thr Phe
 1 5 10 15

<210> 3
 <211> 18

ES 2 777 935 T3

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 5 <223> Péptido alargado

 <400> 3

 10 Lys Ser Ser Gly Gln Ala Glu Pro Asp Arg Ala His Tyr Asn Ile Val
 1 5 10 15

 Thr Phe

 15

 <210> 4
 <211> 10
 <212> PRT
 20 <213> Homo sapiens

 <400> 4

 Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr Thr
 25 1 5 10

 <210> 5
 <211> 13
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Péptido alargado
 35
 <400> 5

 Lys Ser Ser Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr Thr
 40 1 5 10

 <210> 6
 <211> 20
 <212> PRT
 45 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Péptido alargado
 50
 <400> 6

 Met His Gly Asp Thr Pro Thr Leu His Glu Tyr Met Leu Asp Leu Gln
 55 1 5 10 15

 Pro Glu Thr Thr
 20

 60 <210> 7
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 65 <220>
 <223> Péptido alargado

 <400> 7

ES 2 777 935 T3

Leu Leu Met Gly Thr Leu Gly Ile Val Cys Pro Ile Cys Ser Gln Lys
 1 5 10 15

5
 Pro

10
 <210> 8
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15
 <220>
 <223> Péptido alargado
 <400> 8

20
 Lys Val Pro Arg Asn Gln Asp Trp Leu
 1 5

25
 <210> 9
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 9

30
 Ser Tyr Val Asp Phe Phe Val Trp Leu
 1 5

35
 <210> 10
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40
 <220>
 <223> Péptido alargado
 <400> 10

45
 Lys Tyr Ile Cys Asn Ser Ser Cys Met
 1 5

50
 <210> 11
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Péptido alargado
 <400> 11

60
 Lys Ser Ser Lys Val Pro Arg Asn Gln Asp Trp Leu
 1 5 10

65
 <210> 12
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>

ES 2 777 935 T3

<223> Péptido alargado

<400> 12

5 Lys Ser Ser Met His Gly Asp Thr Pro Thr Leu His Glu Tyr Met Leu
1 5 10 15

10 Asp Leu Gln Pro Glu Thr Thr
20

<210> 13

<211> 20

15 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido alargado

20

<400> 13

25 Lys Ser Ser Leu Leu Met Gly Thr Leu Gly Ile Val Cys Pro Ile Cys
1 5 10 15

25

Ser Gln Lys Pro
20

30

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición de vacuna que comprende un lípido catiónico y un factor terapéutico, en el que el factor terapéutico es GM-CSF, para usar en el tratamiento o la prevención del cáncer mediante la reducción de una población de células supresoras derivadas de mieloides (MDSC) en un mamífero.
2. Composición de vacuna para usar, según la reivindicación 1, en la que el lípido catiónico se selecciona del grupo que consiste en DOTAP, DOTMA, DOEPC, y combinaciones de los mismos.
- 10 3. Composición de vacuna para usar, según la reivindicación 1, en el que el lípido catiónico es DOTAP.
4. Composición de vacuna para usar, según la reivindicación 1, en el que el lípido catiónico es un enantiómero y en el que el enantiómero es R-DOTAP o S-DOTAP.
- 15 5. Composición de vacuna para usar, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la composición comprende además uno o más antígenos para inducir una respuesta de células T.
- 20 6. Composición de vacuna para usar, según la reivindicación 5, en el que uno o más antígenos es un antígeno basado en proteína.
7. Composición de vacuna para usar, según la reivindicación 5, en el que uno o más antígenos es un antígeno basado en péptido.
- 25 8. Composición de vacuna para usar, según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en el que dicho uno o más antígenos es un antígeno de cáncer.
9. Composición de vacuna para usar, según la reivindicación 5, en el que la respuesta de células T es una respuesta de células T CD8+, preferiblemente en el que la célula T CD8+ es una célula T CD8+ infiltrada en tumor.
- 30

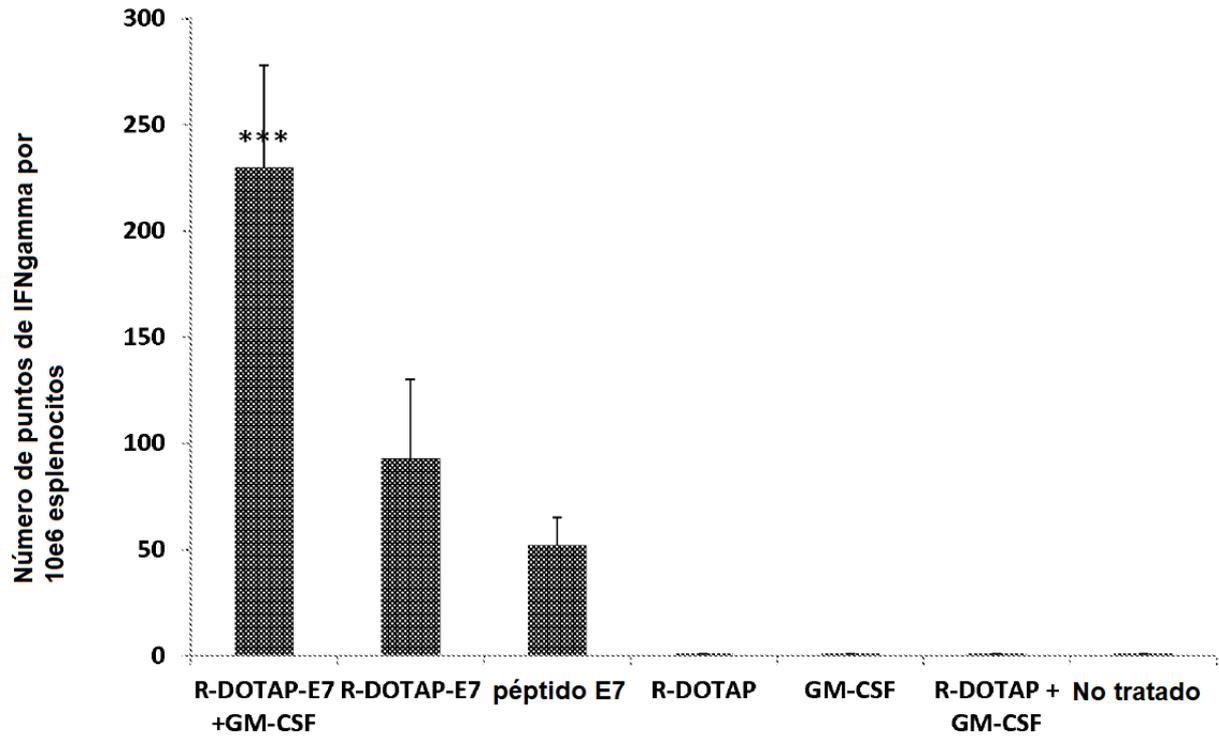


Figura 1

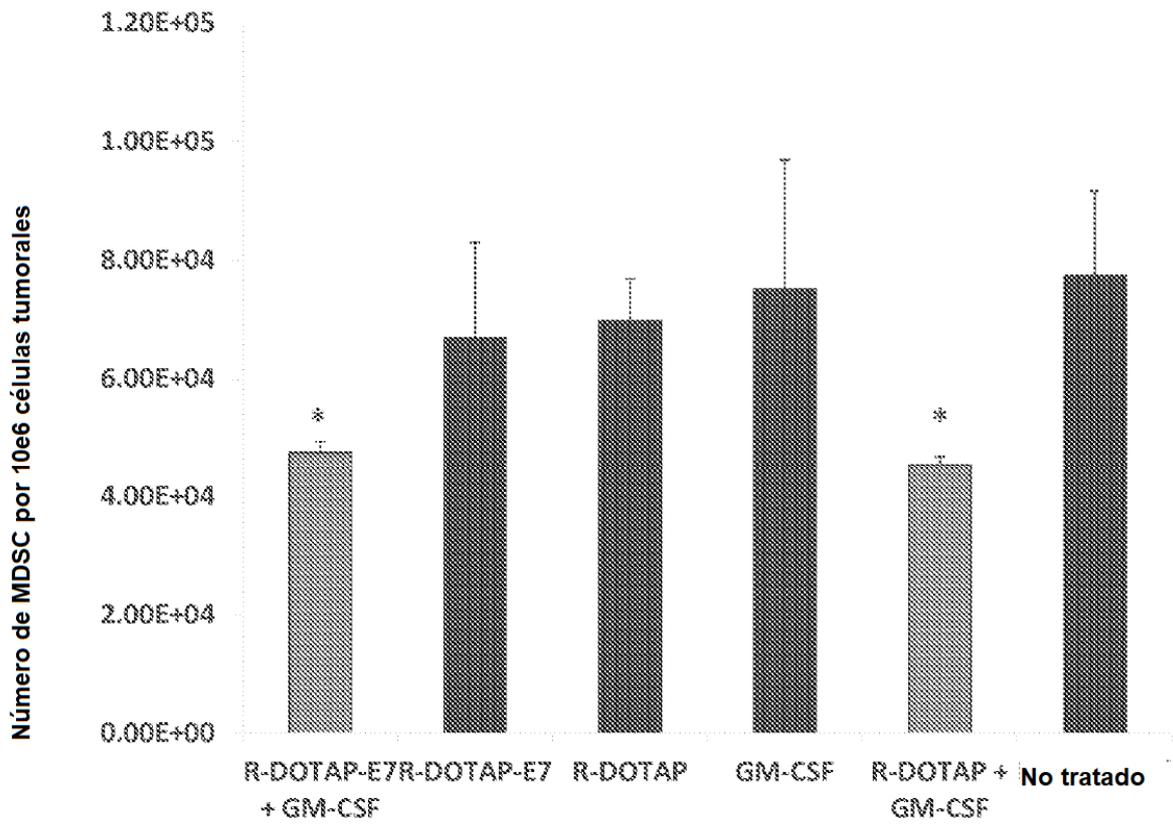


Figura 2

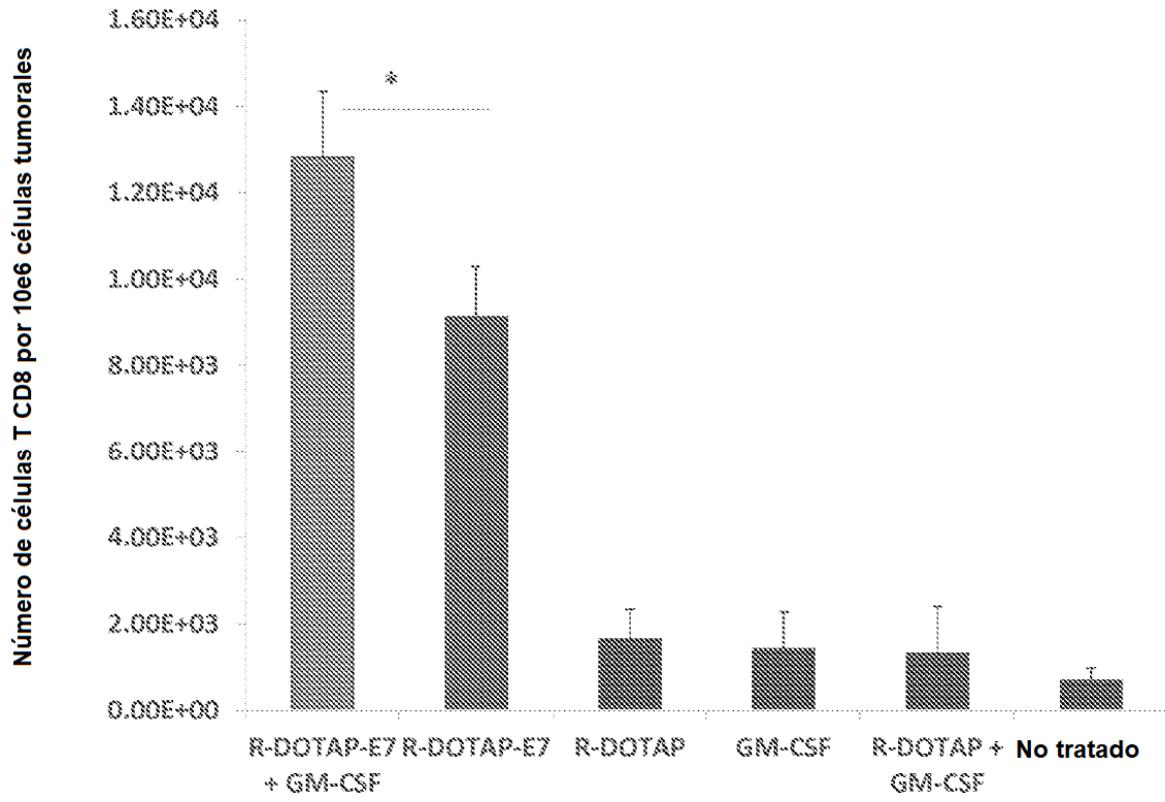


Figura 3

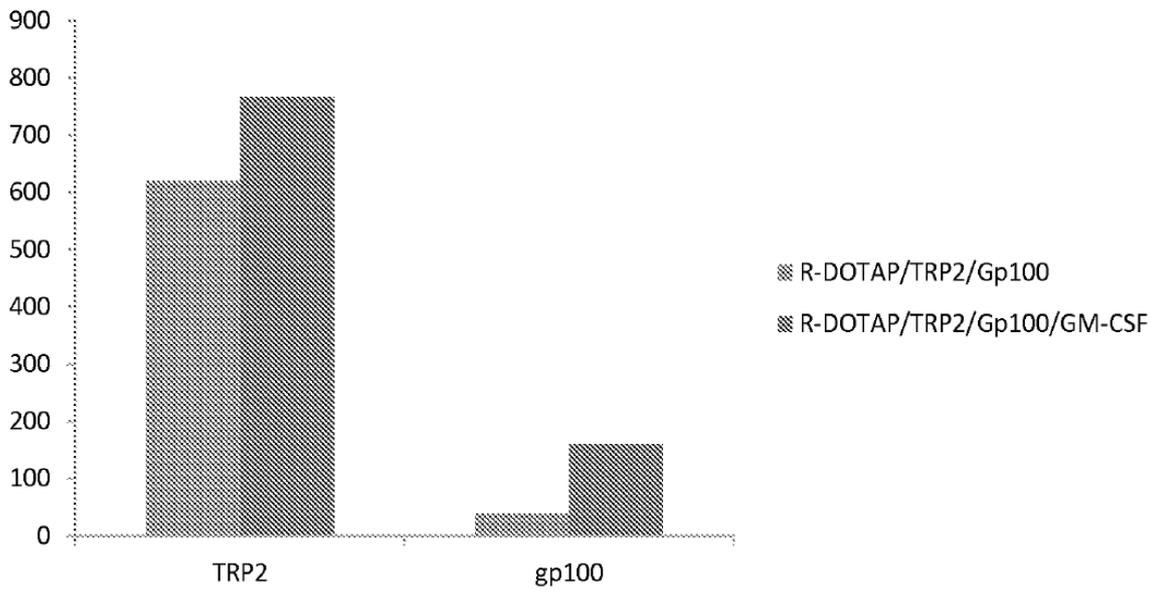


Figura 4