



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 697 37 393 T2** 2007.06.14

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 0 943 014 B1**

(51) Int Cl.⁸: **C12Q 1/68** (2006.01)

(21) Deutsches Aktenzeichen: **697 37 393.2**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US97/21054**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **97 947 569.6**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 1998/024932**

(86) PCT-Anmeldetag: **14.11.1997**

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: **11.06.1998**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **22.09.1999**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **21.02.2007**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **14.06.2007**

(30) Unionspriorität:

33227 P 05.12.1996 US

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI,
LU, MC, NL, PT, SE**

(73) Patentinhaber:

**Alcon Manufacturing Ltd., Fort Worth, Tex., US;
The University of North Texas Health Science
Center, Fort Worth, Tex., US**

(72) Erfinder:

**Clark, Abbot, F., Arlington, Tex., US; Wordinger,
Robert, J., Euless, Tex., US**

(74) Vertreter:

Lederer & Keller, 80538 München

(54) Bezeichnung: **VERFAHREN FÜR DIE DIAGNOSE VON GLAUKOM UND FÜR DIE ERKENNUNG VON MEDIZINEN
FÜR SEINE BEHANDLUNG**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die Priorität wird von der Provisional Application, US Patent Application Serial Nr. 60/033227, eingereicht am 5. Dezember 1996, beansprucht.

Hintergrund der Erfindung

[0002] Glaukom wird gewöhnlich diagnostiziert, indem der Sehfeldverlust, Veränderungen im Aussehen des Discus und des Intraokularsdrucks des Patienten überwacht werden. Glaukom wird derzeit behandelt, indem eine oder mehr von drei Strategien verwendet werden, um den erhöhten intraokularen Druck, der mit der Krankheit verbunden ist, abzusenken: mit Pharmazeutika (z.B. Betablocker, Carboanhydrasehemmer und Miotika), mit Lasertrabekuloplastie und/oder Glaukomfiltrationschirurgie. All diese Therapien senken indirekt den Intraokularsdruck, behandeln jedoch nicht den zugrunde liegenden Krankheitsprozess, der im Trabekelnetzwerk auftritt. Es wäre vorteilhaft, wenn Glaukom diagnostiziert werden könnte, bevor ein Patient einen Verlust des Gesichtsfeldes und die Zerstörung seines Discus feststellen würde.

[0003] Es gibt sehr viele Hinweise, die darauf hindeuten, dass Glucocorticoide an der Entstehung von Augenhochdruck und Glaukom beteiligt sind. Siehe A.F. Clark, *Journal of Glaucoma*, "Steroids, Ocular Hypertension, and Glaucoma", 4:354–369, 1995. Verschiedene Forscher haben gezeigt, dass das menschliche Trabekelnetzwerk (TM) den klassischen Glucocorticoidrezeptor (GR α) enthält. Siehe Weinreb et al., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, "Detection of Glucocorticoid Receptors in Cultured Human Trabecular Cells", 21:3, 403–407, 1981 und Hernandez et al., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, "Glucocorticoid Target Cells in Human Outflow Pathway: Autopsy and Surgical Specimens", 24:1612–1616, 1983. Kürzlich wurde die Expression einer alternativ gespleißten Form des menschlichen Glucocorticoidrezeptors (GR β) in Nicht-Augengewebe und Zellen entdeckt. Siehe Bamberger et al., *The Journal of Clinical Investigation*, "Glucocorticoid Receptor β , a Potential Endogenous Inhibitor of Glucocorticoid Action in Humans", 95:2435–2441, 1995, und Oakley et al., *The Journal of Biological Chemistry*, "The Human Glucocorticoid Receptor β Isoform", 271:16, 9550–9559, 1996. Diese alternativ gespleißte Form des Glucocorticoidrezeptors (GR) wird als Protein exprimiert, das Glucocorticoide nicht mehr bindet, aber mit der aktivierten Form des normalen Glucocorticoidrezeptors wechselwirken kann und physiologische Funktionen des Glucocorticoidrezeptors blockieren oder verändern kann.

[0004] WO 96/14411 offenbart ein Verfahren zum Diagnostizieren von Glaukom bei einem Patienten, das umfasst, dass bestimmt wird, ob die Menge eines

im Trabekelnetzwerk induzierten Glucocorticoidantwortproteins, das im Trabekelnetzwerk eines Auges eines Patienten vorhanden ist, die Menge an diesem im Trabekelnetzwerk induzierten Glucocorticoidantwortprotein übersteigt, die im Trabekelnetzwerk eines Auges eines Einzelnen vorhanden ist, der nicht unter Glaukom leidet, wobei der Nachweis einer überschüssigen Menge des durch Trabekelnetzwerk induzierten Glucocorticoidantwortproteins auf Glaukom hinweist.

Zusammenfassung der Erfindung

[0005] Die vorliegende ist auf Methoden gerichtet, um Glaukom zu diagnostizieren, indem eine Person auf eine abweichende bzw. aberrante GR β -Expression getestet wird. Es werden auch Methoden zum Screenen nach therapeutischen Mitteln, die zur Behandlung von Glaukom nützlich sind, angegeben.

Beschreibung bevorzugter Ausführungsformen

[0006] Überraschenderweise wurde gefunden, dass gezüchtete Zelllinien von menschlichem Trabekelnetzwerk, die aus glaukomatösen Spendern stammen, mRNA sowohl für die andere Spleißform des menschlichen Glucocorticoidrezeptors (GR β) als auch den normalen Glucocorticoidrezeptor (GR α) exprimieren, wohingegen normale TM-Zelllinien nur die mRNA für GR α exprimieren. Es wird angenommen, dass der erhöhte Intraokularsdruck, der mit dem primären Weitwinkelglaukom assoziiert ist, auf einer aberranten Expression von GR β im Trabekelnetzwerk beruhen kann. Daher kann die Feststellung, dass jemand GR β im Trabekelnetzwerk oder anderen Geweben anormal exprimiert, zur Diagnose von Glaukom führen. Diese Erkenntnis kann auch verwendet werden, um zu bestimmen, ob Mittel bei der Behandlung von Glaukom therapeutischen Wert haben, indem bestimmt wird, ob sie mit GR β wechselwirken oder die Expression von GR β verändern. Dies kann erfolgen unter Verwendung von Ligandenbindungsassays oder funktionellen Assays für GR β .

[0007] Die Diagnostizierung einer aberranten GR β -Expression oder von Schäden in dem GR-Gen, das GR β codiert, kann erfolgen unter Verwendung von Verfahren, die dem Fachmann auf diesem Gebiet wohl bekannt sind. Siehe C.T. Caskey, J.A.M.A., "Molecular Medicine. A Spin-off From the Helix", 269:15, 1986–1992, 1993. Z.B. könnten Personen gescreent werden auf die Gegenwart eines genetischen Defekts in GR β , indem die DNA, die aus peripheren Blutleukozyten stammt, analysiert wird. Arten von DNA-Analysen könnten, ohne darauf beschränkt zu sein, einschließen: Restriktionsfragmentlänge-Polymorphismus (RFLP), Einzelstrang-Konformations-Polymorphismen (SSCP), Polymerase-Kettenreaktion (PCR), denaturierende Gradientengele, allelspezifische Oligonucleotidligierungsassays und allel-

spezifische Hybridisierungsassays. Zusätzlich könnten das Trabekelnetzwerk oder andere relevante Zellen von Personen auf die GR β -Expression analysiert werden mit einer Anzahl von Techniken, wie reverse Transkription-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR), Immunoassays, funktionelle GR-Assays etc.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Diagnose eines Glaukoms, umfassend den Nachweis einer aberranten Expression einer alternativen Spleißform des menschlichen Glucocorticoidrezeptors (GR β), oder von Defekten in einem GR β codierenden GR-Gen.

2. Verfahren nach Anspruch 1, bei dem GR-Gendefekte durch ein Verfahren nachgewiesen werden, ausgewählt aus der Gruppe von Tests, bestehend aus: Restriktionsfragmentlänge-Polymorphismus (RFLP), Einzelstrang-Konformations-Polymorphismus (SSCP), Polymerasekettenreaktion (PCR), denaturierendem Gradientengel, allel-spezifischer Oligonucleotidligation sowie allel-spezifischer Hybridisierung.

3. Verfahren zur Diagnose eines Glaukoms, umfassend den Nachweis genetischer Veränderungen im GR-Gen, die zu einer veränderten GR β -Expression führen.

4. Verfahren zur Diagnose eines Glaukoms, umfassend den Nachweis genetischer Veränderungen außerhalb des GR-Gens, die zu einer veränderten GR β -Expression führen.

5. Verfahren zur Bestimmung, ob ein Mittel brauchbar zur Behandlung eines Glaukoms ist, durch Bestimmung, ob es mit GR- β interagiert oder die Expression von GR β verändert.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen