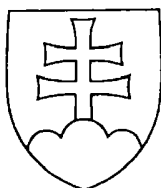


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ
PATENTOVÁ PRIHLÁŠKA

(11), (21) Číslo dokumentu:

1885-2001

- (22) Dátum podania prihlášky: **21. 6. 2000**
(31) Číslo prioritnej prihlášky: **199 29 488.7**
100 04 447.6
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **28. 6. 1999**
3. 2. 2000
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **DE, DE**
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **3. 12. 2002**
Vestník ÚPV SR č.: **12/2002**
(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **PCT/EP00/05738**
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **WO01/00228**

(13) Druh dokumentu: **A3**

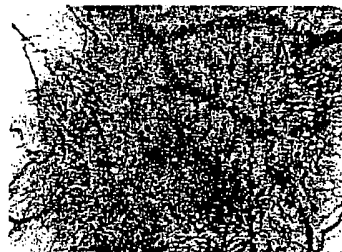
(51) Int. Cl.7 :

A61K 38/17,
A61P 29/00,
A61P 35/00,
A61P 37/06

- (71) Prihlasovateľ: **BASF AKTIENGESELLSCHAFT, Ludwigshafen, DE;**
(72) Pôvodca: **Männel Daniela N., Schönhofen-Nittendorf, DE;**
Hehlgans Thomas, Wenzenbach, DE;
Seitz Carola, Regensburg, DE;
(74) Zástupca: **Žovicová Viera, Mgr., Bratislava, SK;**

(54) **Názov Použitie látok potláčajúcich LTBR-sprostredkovanú aktiváciu**

- (57) **Anotácia:**
Je opísané použitie látok, ktoré potláčajú LTBR-sprostredkovanú aktiváciu na prípravu cytostatických a zápal inhibujúcich liečiv na prevenciu zápalov, autoimunitných ochorení a rastu nádorov.



BFS-1-p55TNFR-Ig:Fc



BFS-1-LTβR-Ig:Fc

deň 9; x 1.25

SK 1885-2001 A3

Použitie látok potláčajúcich LTBR-sprostredkovanú aktiváciu

Oblasť techniky

Predložený vynález sa týka použitia látok, ktoré potláčajú LTBR-sprostredkovanú aktiváciu, na prípravu cytostatických a zápal-inhibujúcich liečiv na prevenciu zápalov, autoimunitných ochorení a rastu nádorov.

Doterajší stav techniky

Membránový proteín lymfotoxín- β (Browning a kol., Cell. Vol. 72, 847 – 856, 1993) viaže v homomérskej a heteromérskej forme ku špecifickému lymfotoxín- β receptoru (LTBR) (Crowe a kol., Science Vol. 264, 29. apríl 1994, 707 – 709).

Browning a kol. (J. Exp. Med. Vol. 183, marec 1996, 867 – 878) uvádzajú, že signalizácia prostredníctvom LTBR systému spôsobuje bunkovú smrť niektorých nádorových buniek adenokarcinómu. Preto navrhujú aktiváciu LTBR ako možnú protirakovinovú terapiu.

Degli-Esposti a kol. (Journal of Immunology, 1997, 158, 1756 – 1762) uvádzajú, že rast buniek melanómu by mohol inhibovaný aktiváciou LTBR systému. Preto taktiež navrhujú liečenie tuhých nádorov s lymfotoxínom- β .

Naopak, naše výskumy ukázali, že rast nádorov sa môže spomaliť alebo zamedziť potlačením aktivácie LTBR.

Podstata vynálezu

Predmetom predloženého vynálezu je preto použitie látok, ktoré potláčajú alebo najmenej znižujú LTBR-sprostredkovanú aktiváciu, na prípravu cytostatických a zápal-inhibujúcich liečiv na prevenciu zápalov, autoimunitných ochorení a rastu nádorov.

Použitie je predovšetkým vhodné pri akútnych a chronických zápaloch, ako je reumatoidná artritída alebo kolitída a tuhé nádory.

Systém LTBR sa môže potláčať pri rozličných hladinách.

Napríklad, expresia LTBR génu sa môže potlačiť s použitím nezmyselných (antisense) molekúl. Ďalšia možnosť špecifického potlačenia expresie LTBR génu spočíva v eliminácii mRNA receptora lymfotoxínu- β (LTBR), napríklad špecifickou hydrolyzou pomocou vhodných ribozýmov.

Ďalšia možnosť potlačenia expresie LTBR génu spočíva v blokovaní zodpovedajúcej transkripcie signálnych sekvencií, napríklad promótorovej oblasti LTBR génu.

Iná možnosť potlačenia aktivácie LTBR systému spočíva v použití antagonistov lymfotoxínu- β , t.j. molekúl, ktoré sú schopné viazať sa ku LTBR, ale nemôžu ovplyvniť žiadnu aktiváciu systému receptora. Takéto látky sa dajú nájsť preskúšaním látok, ktoré sa majú testovať v bunkovom testovacom systéme, pokiaľ ide o ich schopnosť znižovať aktiváciu LTBR systému v prítomnosti pridania lymfotoxínu- β .

Pozorovalo sa, že potlačenie aktivácie LTBR má vplyv na inhibíciu angiogenézy nádorov, pričom vykazuje inhibičný účinok na rast tuhých nádorov.

Z toho dôvodu, prevencia aktivácie LTBR s použitím vyššie uvedených činidiel je predovšetkým vhodná na inhibíciu angiogenézy nádorov.

Nasledujúce príklady objasňujú predložený vynález.

Prehľad obrázkov na výkresoch

Obrázky znázorňujú fotografie kontrolných nádorov (horná časť) a nádorov transfekovaných s inhibítorom LT β -receptora (spodná časť) na deň 2 (Obrázok 2) a na deň 9 (Obrázok 3) po aplikácii nádorových buniek.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad 1

Nádorové bunky (BFS-1) sa transfekovali s fúznym proteínom LTBR a imunoglobulínom (BFS-LTR). Tento fúzny proteín LTBR a imunoglobulín pôsobil ako inhibítor LTBR. V porovnaní s divým typom nádorových buniek, tieto

transfekované nádorové bunky vykazovali inhibovaný rast nádoru, ak sa zaviedli do syngénnych myší (obrázok).

Príklad 2

Ak sa v druhom pokuse tieto nádorové bunky zaviedli do ligandovo-deficitných myší (t.j. „double-knockout“ myší, ktoré neprodukujú ani lymfotoxín-alfa ani lymfotoxín-beta), nezistili sa žiadne významné rozdiely v raste nádorov transfekovaných nádorových buniek, ktoré by boli vyššie ako pri „divom-type“ nádorovej bunke (obrázok).

Príklad 3

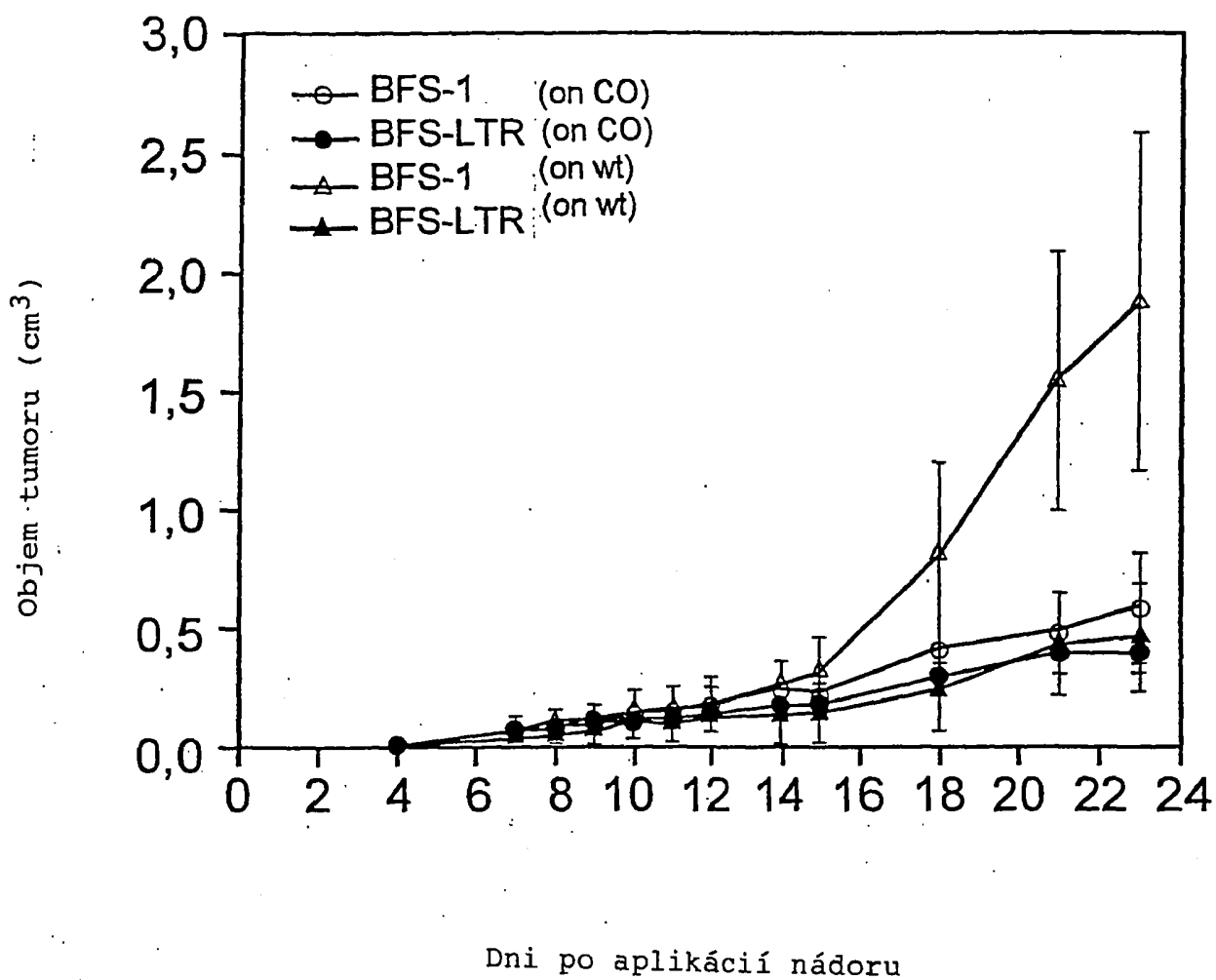
Pozorovanie rastu nádorov u myší pomocou intravitálnej mikroskopie

Normálne nádorové bunky alebo nádorové bunky, ktoré sa transfekovali s inhibítorom $LT\beta$ -receptora (BSF-1- $LT\beta$ R-Ig:Fc) alebo s kontrolným plazmidom (p55TNF-receptor-Ig:Fc) sa subkutánne aplikovali myšiam (C57BL/6) do kožnej komory a pomocou intravitálnej mikroskopie sa skúmala rast nádorových buniek alebo angiogenéza. Vznik edému na druhý deň po aplikácii nádorových buniek bol už značne menší u zvierat, ktoré dostávali transfekované nádorové bunky inhibítora $LT\beta$ -receptora, než pri kontrole. Zatiaľ čo normálne nádorové bunky a nádorové bunky transfekované s kontrolným konštruktom vyvolávali výraznú angiogenézu po piatich až deviatich dňoch a potom rástli obdobne ako nádory, žiadna angiogenéza v nádorovej oblasti a okolitých oblastiach kože sa nepozorovala pri nádoroch transfekovaných s inhibítorom $LT\beta$ -receptora. Tieto nádory už nebudú rásť ani ďalej.

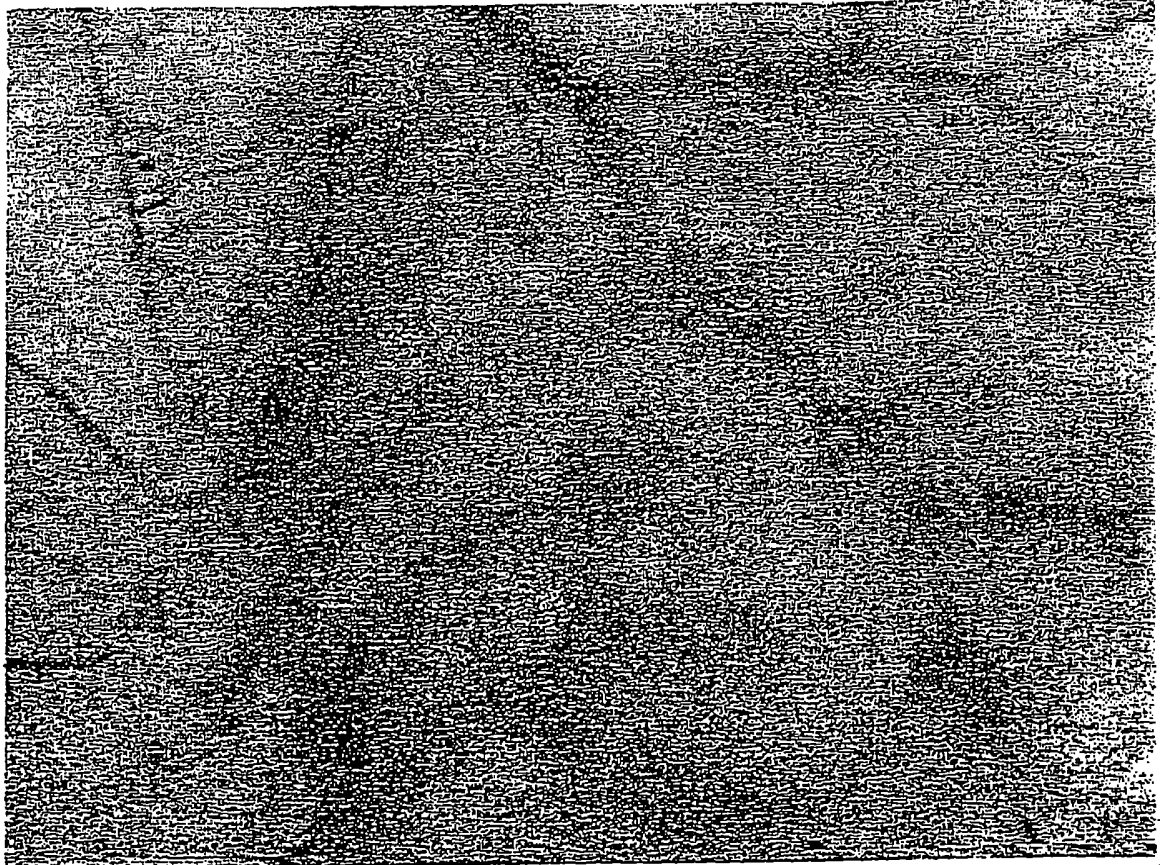
PATENTOVÉ NÁROKY

1. Použitie látok, ktoré potláčajú LTBR-sprostredkovanú aktiváciu, na prípravu cytostatických a zápal-inhibujúcich liečiv na prevenciu zápalov, autoimunitných ochorení a rastu nádorov.
2. Použitie podľa nároku 1, kde sa potláča expresia LTBR génu.
3. Použitie podľa nároku 2, kde sa použijú LTBR nezmyselné molekuly.
4. Použitie podľa nároku 2, kde LTBR mRNA sa špecificky hydrolyzuje.
5. Použitie podľa nároku 2, kde sa špecificky blokujú LTBR transkripčné signálne sekvencie.
6. Použitie podľa nároku 2, kde sa špecificky blokujú transkripčné faktory pôsobiace na LTBR transkripčné signálne sekvencie.
7. Použitie podľa nároku 1, kde sa použijú antagonisty LTBR.
8. Použitie podľa nároku 1, kde sa zachytia endogénne LTBR ligandy.
9. Použitie podľa nároku 1 na inhibíciu angiogenézy nádorov.

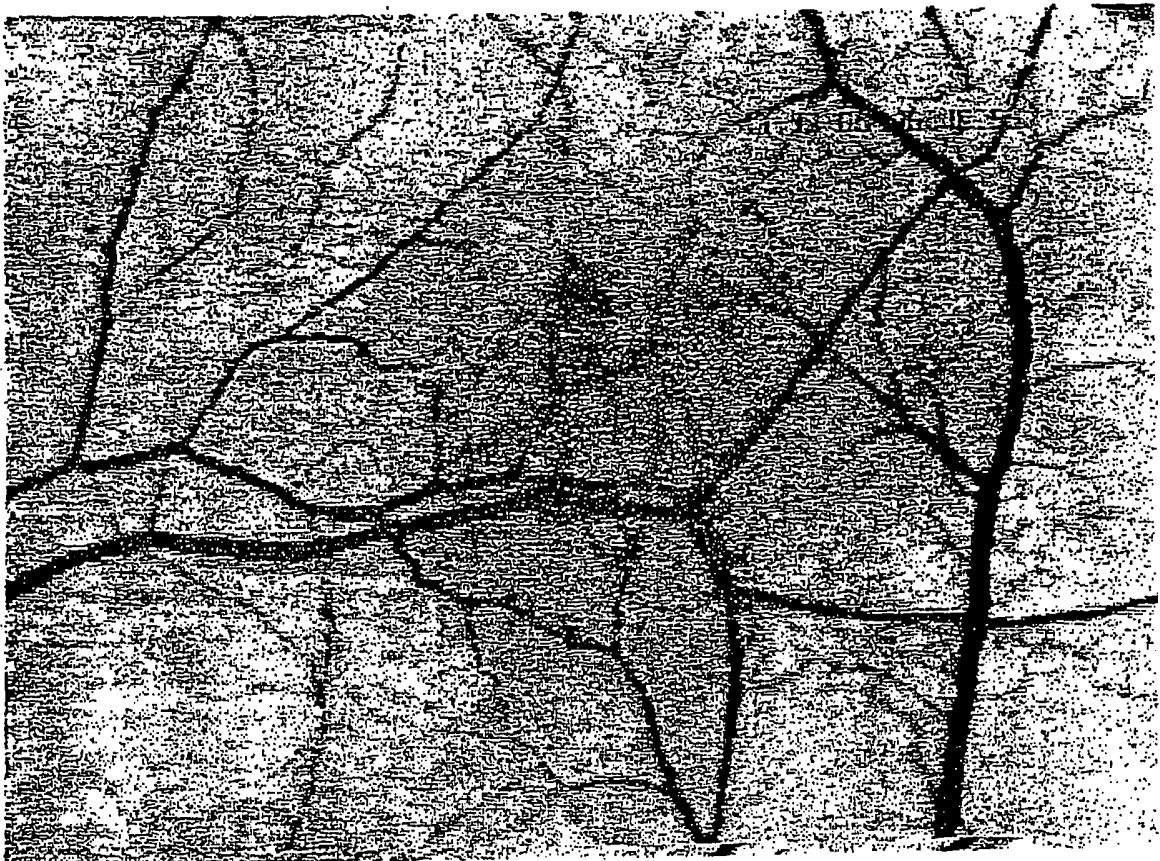
Obr. 1



Obr. 2

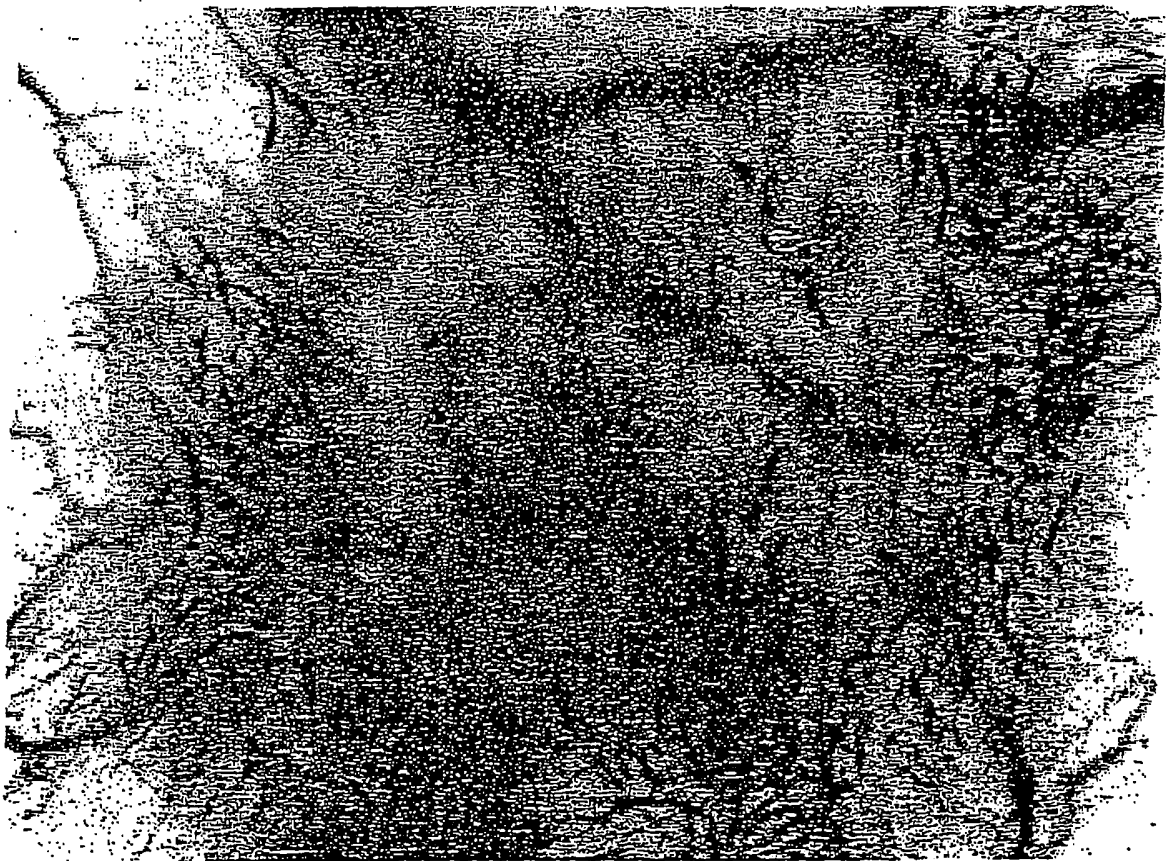


BFS-1-p55TNFR-Ig:Fc

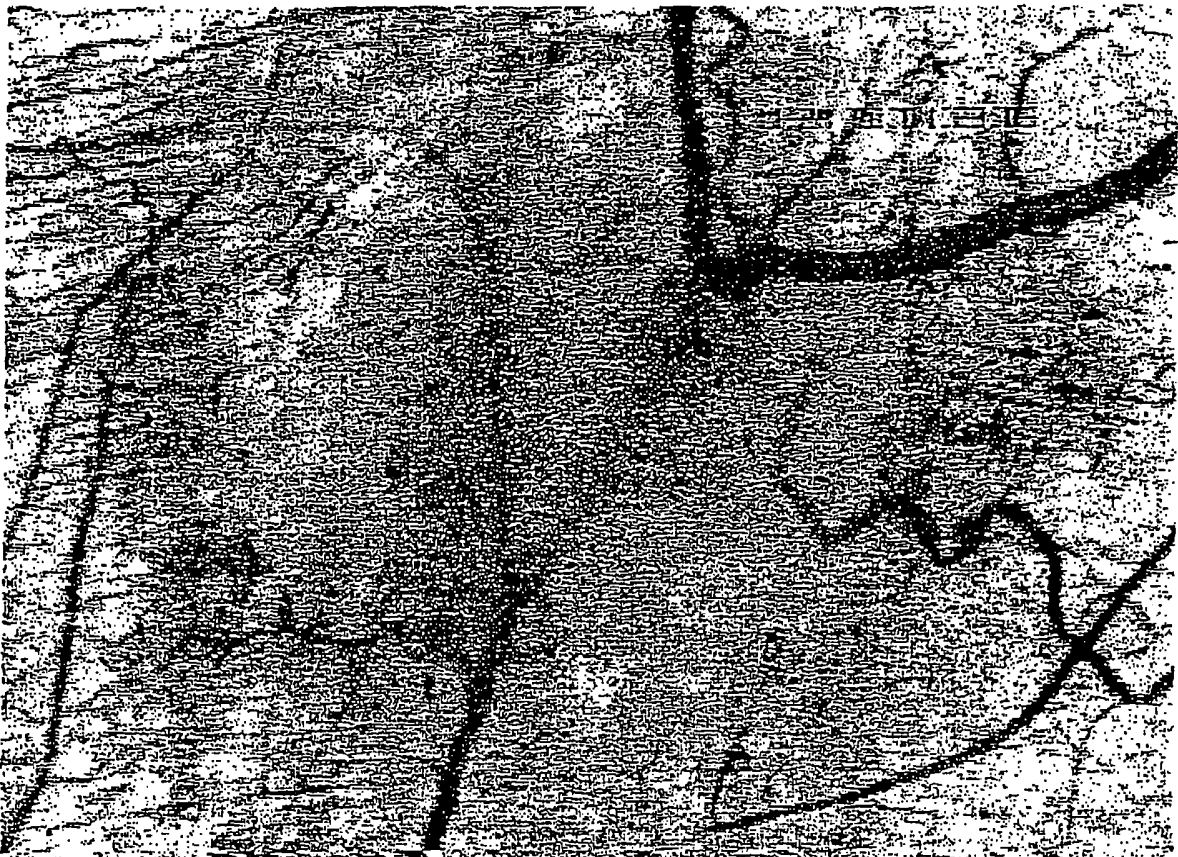


BFS-1-LTβR-Ig:Fc

Obr. 3



BFS-1-p55TNFR-Ig:Fc

BFS-1-LT β R-Ig:Fc