



(12) **PATENT**

(19) NO

(11) **328116**

(13) **B1**

NORGE

(51) Int Cl.

A61K 38/17 (2006.01)
A61K 35/12 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20003848	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	1999.01.29 PCT/US99/01928
(22)	Inng.dag	2000.07.27	(85)	Videreføringsdag	2000.07.27
(24)	Løpedag	1999.01.29	(30)	Prioritet	1998.01.30, US, 73112 1998.02.02, US, 73410
(41)	Alm.tilgj	2000.10.02			
(45)	Meddelt	2009.12.14			
(83)	Biol.mat. dep	ATCC HB11798			
(73)	Innehaver	Biogen Idec MA Inc, 14 Cambridge Center, MA02142 CAMBRIDGE, US New York University, 550 First Avenue, New York, NY 10016, US			
(72)	Oppfinner	Jeffrey L Browning, 250 Concord Avenue, MA02138 CAMBRIDGE, US Jeanette Thorbecke, Douglaston, NY, US Vincent Tsiagbe, Mount Vernon, NY, US			
(74)	Fullmektig	Oslo Patentkontor AS, Postboks 7007 Majorstua, 0306 OSLO			

(54)	Benevnelse	Anvendelse av inhibitorer for lymfotoksin-beta for fremstilling av farmasøytiske sammensetninger mot follikulært lymfom.
(56)	Anførte publikasjoner	BROWNING, J.L. et al., Signaling through the Lymphotoxin beta Receptor Induces the Death of Some Adenocarcinoma Tumor Lines, J. Exp. Med., 1996, Vol. 183, side 867-878. WO 97/03687 A1
(57)	Sammendrag	

Terapeutiske anvendelser av inhibitorer av lymfotoksin- veien for å behandle tumorer, spesielt for å behandle follikulære lymfomer.

Foreliggende oppfinnelse angår sammensetninger som inhiberer interaksjonen mellom lymfotoksin- β (LT- β) og deres reseptor for fremstilling av en farmasøytisk sammensetning for å stanse eller redusere forløpet, alvoret eller effektene av follikulære lymfomer.

5 Bakgrunn for oppfinnelsen

De tumor-nekrosefaktor (TNF)-relaterte cytokiner er mediatorer for vertsforsvar og immunregulering. Medlemmer av denne familie eksisterer i membranforankrede former, som virker lokalt via celle-til-celle kontakt, eller som utskilte proteiner som er i stand til å diffudere til mer fjerntliggende mål. En parallell familiereseptor signaliserer tilstedeværelse av disse molekyler, noe som fører til initiering av celledød eller cellulær proliferasjon og differensiering i målvevet. For tiden har TNF-familien av ligander og reseptorer minst 11 gjenkjente reseptor-ligandpar, innbefattende: TNF:TNF-R; LT- α :TNF-R; LT- α/β :LT- β -R; FasL:Fas; CD40L:CD40; CD30L:CD30; CD27L:CD27; OX40L:OX40 og 4-1BBL:4-1BB.

15 Medlemmer av TNF-familien kan best bli beskrevet som hovedbrytere i immunsystemet som kontrollerer både celleoverlevelse og differensiering. Kun TNF og LT α blir for tiden gjenkjent som utskilte cytokiner som begge står i kontrast til de andre i hovedsak membranforankrede medlemmer av TNF-familien. Selv om en membranform av TNF har blitt godt karakterisert og er sannsynlig å ha enestående biologiske roller, virker utskilt TNF som en generell alarm som signaliserer til celler mer fjerntliggende fra området for den igangsettende hendelse. Således kan TNF-utskillelse forsterke en hendelse som fører til de vel beskrevne endringer i den vaskulære føring og den inflammatoriske tilstand hos celler. I motsetning til dette sender de membranbundede medlemmer av familien signaler via TNF-typereseptorene kun til celler i direkte kontakt. For eksempel gir T-celler CD40-mediert "hjelp" kun til de B-celler som bringes i direkte kontakt via kognate TCR-interaksjoner. Lignende celle-celle-kontaktbegrensninger på egenskapen å inducere celledød gjelder det velstuderte Fas-system.

De fleste membranassosierte LT α/β -komplekser ("overflate LT") har en LT $\alpha 1/\beta 2$ støkiometri. (Browning et al., Cell, 72, s. 847-56 (1993); Browning et al., J. Immunol., 154, s. 33-46 (1995)). Overflate LT-ligander binder ikke TNF-R med høy affinitet og aktiverer ikke TNF-R-signalisering. LT β -reseptoren (LT β -R) binder imidlertid disse overflate lymfotoksin-komplekser med høy affinitet (Crowe et al., Science, 264, s. 707-10 (1994)).

LT β -R-signalisering har, lik TNF-R-signalisering, anti-proliferative effekter og kan være cytotoksiske overfor tumorceller. I søkeres samtidige amerikanske søknad serienummer 08/378,968, er sammensetninger og fremgangsmåter for selektivt å stimulere LT β -R ved å bruke LT β -R-aktiverende midler beskrevet. LT β -R-aktiverende midler er anvendelige for å inhibere tumorcellevekst uten å ko-aktivere TNF-R-induserte proinflammatoriske eller immunoregulatoriske veier.

Nylige gen-målrettende studier antyder en rolle for LT α/β i utvikling av sekundære lymfoidorganer. (Banks et al., J. Immunol., 155, s. 1685-1693 (1995); De Togni et al., Science, 264, s. 703-706 (1994).) Faktisk mangler LT α -defisient mus lymfeknuter (LN) og Peyers pudder (PP). Videre har milten hos disse mus ødelagt arkitektur og ekspresjonen av funksjonelle markører på celler hos den marginale sone av milten er endret. (Banks et al., 1995; De Togni et al., Science, 264, s. 703-706 (1994), Matsumoto et al., Science, 271, s. 1289-1291 (1996).) Ingen av disse karakteristika har blitt beskrevet for noen av TNF-reseptor utslagningsmusene. (Erickson et al., Nature, 372, s. 560-563 (1994); Pfeffer et al., Cell, 73, s. 457-467 (1993); Rothe et al., Nature, 364, s. 798-802 (1993).) Søkere har nylig definert en rolle for LT α/β -membrankomplekser i sekundær lymfoid organutvikling ved å vise at avkommet fra mus som hadde blitt injisert under drektighet med en oppløselig form av muse-LT β -R fusert til det humane IgG1 Fc-del (LT β -R-Ig) manglet de fleste lymfeknuter og viste ødelagt milt-arkitektur. (Rennert et al., 1996, "Surface Lymphotoxin alpha/beta complex is required for the development of peripheral lymphoid organs." J. Exp Med., 184; 1999-2006.) I et annet studium ble mus som var transgene for en lignende LT β -R-Ig-konstruksjon som starter å bli uttrykt tre dager etter fødsel, vist å ha LN. Imidlertid var deres miltarkitektur ødelagt og flere markører for marginale soneceller hos milt ble ikke uttrykt (Ettinger et al., "Disrupted splenic architecture, but normal lymph node development in mice expressing a soluble LT β -R/IgG1-fusjonprotein", Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 93:13102-7). Sammen indikerer disse data at det finnes et temporalt krav for membran LT-funksjoner å overbringe effekter på utviklingen av sekundære lymfoidorganer, men ikke for effekter på miltarkitektur.

TNF-systemet kan også virke ved utvikling av milten. Marginale sonemiltceller hos TNF-defisiente mus uttrykker ikke makrofage markører eller MAdCAM-1 (Alexopoulou et al., 60th Int. TNF Congress, Eur. Cytokine Network, s. 228 (1996); Pasparakis et al., 60th Int. TNF Congress, Eur. Cytokine Network, s. 239 (1996)). TNF-R55-defisiente mus mangler også MAdCAM-1 (men ikke MOMA-1)-farging i den marginale miltsonen. (Neumann et al., J. Exp. Med., 184, s. 259-264 (1996), Matsumoto et al., Science, 271, s. 1289-1291 (1996).) Ekspresjonen av disse markører som

observerert i milten hos TNF-R75-defisiente mus, synes normal. (Matsumoto et al., Science, 271, s. 1289-1291 (1996).)

Lymfoid-lignende vev oppstår ikke bare som en del av utviklingsprosesser, men opptrer også under enkelte patologiske tilstander så som kronisk inflammasjon, som er en prosess nylig betegnet neolymfoorganogener. (Picker og Butcher, Annu. Rev. Immunol., 10, s. 561-591 (1992), Kratz, et al., J. Exp. Med., 183, s. 1461-1471 /1996).) Medlemmer av TNF-familien innvirker tydeligvis på slike prosesser. Mus som var transgene for LT α -genet drevet av rotte insulinpromoterer (RIP-LT) utviklet LT-induserte kroniske inflammatoriske lesjoner med karakteristika for organisert lymfoidvev. (Kratz, et al., J. Exp. Med., 183, s. 1461-1471 (1996); Picarella et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 89, s. 10036-10040 (1992).)

Vurderingen av LT-funksjon i løpet av en T-celle-avhengig immunrespons, ved å bruke LT α -defisient mus, viste nødvendigheten av LT for GC-dannelse, muligens for å opprettholde en organisert follikulær dendrittcelle (FDC)-struktur, og for humorale responser. (Banks et al., J. Immunol., 155, s. 1685-1693 (1995); Matsumoto et al., Science, 271, s. 1289-1291 (1996); Matsumoto et al., Nature, 382, s. 462-466 (1996).) TNF-R55-defisiente mus mangler også FDC, klarer ikke å utvikle GC og klarer ikke å utvikle en optimal antistoffrespons overfor røde blodceller på sau (SRBC). Dette antyder at TNF-R55 kan bli slått på ved oppløselige LT- eller TNF-signaler for de fleste av disse responser (Le Hir et al., J. Exp. Med., 183, s. 2367-2372 (1996); Alexopoulou et al., 60th Int. TNF Congress, Eur. Cytokine Network, s.228 (1996); Pasparakis et al., 60th Int. TNF Congress, Eur. Cytokine Network, s. 239 (1996)).

LT β -reseptoren, som er et medlem av TNF-reseptor-familien, bindes spesifikt til LT-overflate-ligander . LT β -R binder LT-heteromere komplekser (i hovedsak LT LT α 1/ β 2 og LT α 2/ β 1), men binder ikke TNF eller LT α (Crowe et al., Science, 264, s. 707-10 (1994)). LT β -R mRNA blir funnet i den humane milt, tymus og i større organer med involvering av immunsystemet. Selv om studier på LT β -R-ekspresjon er i sine tidlige stadier, synes LT β -R-ekspresjonsmønstre å være lik dem rapportert for TNF-R55 bortsett fra at LT β -R mangler på perifere T- og B-blodceller og T- og B-cellelinjer.

Celleoverflate lyfotoksin (LT)-komplekser har blitt karakterisert i CD4⁺T-celle hybridomceller (II-23.D7) som uttrykker høyere nivåer av LT. (Browning et al., J. Immunol., 147, s. 1230-37 (1991); Androlewicz et al., J. Biol. Chem., 267, s. 2542-47 (1992), hvorav begge er inkorporert heri per referanse.) Ekspresjonen og de biologiske roller av LT β -R, LT-subenheter og LT-overflatekomplekser har blitt omtalt av C.F.

Ware et al. "The ligands and receptors of the lymphotoxin system", in Pathways for Cytolysis, Current Topics Microbiol. Immunol., Springer-Verlag, s. 175-218 (1995) spesielt inkorporert heri per referanse.

5 LT α -ekspressjon induseres og LT α skilles ut i hovedsak av aktiverte T- og B-lymfocytter og naturlige dreper (NK)-celler. Blant T-hjelpecellene synes LT α å bli produsert av Th1- men ikke Th2-celler. LT α har også blitt påvist i melanocytter. Mikrogliia og T-celler i lesjoner hos multippelsklerosepasienter kan også bli farget med anti-LT α -antiserum (Selmaj et al., J. Clin. Invest., 87, s. 949-954 (1991)).

10 Lymfotoksin β (også kalt p33) blir uttrykt på overflaten av humane og muse T-lymfocytter, T-cellelinjer, B-cellelinjer og lymfokin-aktiverte dreper (LAK)-celler. LT β er gjenstanden for søkerens samtidig internasjonale søknader PCT/US91/04588, publisert 9. januar 1992 som WO 92/00329; og PCT/US93/11669, publisert 23. juni 1994 som WO 94/13808.

15 LT-overflatekomplekser blir i hovedsak uttrykt av aktiverte T-celler (hjelper, Th1, og dreperceller) og B-lymfocytter samt naturlige dreper (NK)-celler som funnet ved FACS-analyse eller immunohistologi ved å bruke anti-LT-antistoff eller oppløselige LT β -R-Ig fusjonsproteiner. I søkerens samtidig US søknad serie nr. 08/505,606, innlevert 21. juli, 1995, er sammensetninger og fremgangsmåter for å bruke oppløselige LT β -reseptorer og anti-LT β -reseptorer samt ligandspesifikke antistoff som terapeutika for behandling
20 av immunologiske sykdommer fremmet av Th1-celler, beskrevet. Overflate-LT har også blitt beskrevet på humane cytotoksiske T-lymfocyt (CTL)-kloner, aktiverte mononukleære lymfocytter (PML), IL-2-aktiverte perifere blodlymfocytter (LAK-celler), pokeweed mitogen-aktiverte eller anti-CD40-aktiverte perifer B-lymfocytter (PBL) og forskjellige lymfoide tumorer av T- og B-cellelinjer. Igangsetning av
25 alloantigen-bærende målceller inducerer spesifikt overflate LT-ekspressjon av CD8⁺ og CD4⁺ CTL-kloner.

Det er beskrevet heri flere immunologiske funksjoner for overflate LT, og viser effektene av LT α/β -bindende reagenser på dannelsen og karakteren av immunoglobulin-responser, opprettholdelse av den cellulære organisasjon av sekundært
30 lymfoidevev innbefattende effekter på differiseringstilstanden av follikulære dendrittceller og dannelse av germinale senter, samt addressin-ekspressjonsnivå som påvirker cellebevegelse. Søkerne beskriver således terapeutiske anvendelser for overflate LT α/β - og LT α -reseptorbindende midler.

Studier har vist at B-celler blir aktivert i lymfeknuter (LN) og milt etter å ha støtt på forskjellige antigener. I en spesialisert struktur kalt et germinalt senter som danner seg i de B-celle-rike områder av LN og milten, utvikler B-celler seg og B-hukommelsesceller dannes ¹. B-celler er i stand til å undergå transformasjon til svulster ved de fleste punkter under sin utvikling ². Transformasjon av B-celler fører til lymfomer og dem avledet fra B-celler i germinale sentrer blir ofte kalt follikulære lymfomer. Den nøyaktige avstamning av de forskjellige subset av lymfomer undersøker fremdeles ettersom flere overflatemarkører er funnet som tillater en mer presis angivelse av den opprinnelige cellen. Follikulære lymfomer kan bli oppdelt i et antall subgrupper basert på stadium eller type B-celler som er den voksende og prognosen varierer avhengig av celletypen. Konvensjonelle kjemoterapiregimer er i stand til å oppnå en kurering i mange av pasientene med lavgrads celletype. Ikke desto mindre er en del av disse pasienter resistente overfor kjemoterapi og har en dårlig prognose.

Følgelig, til tross for fremgangen ved behandling av svulster, eksisterer et behov for en behandling av de svulster som er spesielle for de follikulære lymfomer som typisk er resistente overfor kjemoterapi, så vel som for behandlingsregimer med mindre bieffekter enn eksisterende behandlinger.

Oppsummering av oppfinnelsen

Foreliggende oppfinnelse fremskaffer anvendelse av sammensetninger som inhiberer interaksjonen mellom LT- β og dens reseptor for fremstilling av medikamenter til behandling av svulster så som follikulære lymfomer. Slike medikamenter overvinner visse problemer som eksisterer med gjeldende behandlinger, og gir en alternativ terapi for dem med svulster som er resistente overfor tradisjonell kjemoterapi.

Foretrukne sammensetninger innbefatter oppløselige lymfotoksin- β -reseptorer, antistoff rettet mot LT- β -reseptoren, og antistoff rettet mot overflate LT β -ligand. Mer foretrukket er oppløselige lymfotoksin- β -reseptorer som har et ligandbindende domene som selektivt kan binde til en overflate LT-ligand, så som for eksempel en oppløselig LT β -R-form fusert til et humant immunoglobulin Fc-domene. I tillegg innbefatter foretrukne sammensetningene monoklonalt antistoff som er rettet mot LT- β -reseptoren, innbefattende antistoff som er humaniserte, chimeriske eller på annen måte endret.

I visse tilfeller blir de blokkerende midler administrert i kombinasjon med andre midler som er kjent for å være anvendelige til å behandle svulster, så som, for eksempel

kjemoterapiregimer. I tillegg kan individet behandles med stråling eller benmargstransplantasjon.

LT β -R-blokkerende midler kan også administreres i sammenheng med blokkerende midler for veier av andre medlemmer av TNF-familien. For eksempel kan TNF-
5 blokkerende midler blir administrert i forbindelse med, samtidig eller etterfølgende, et blokkerende middel som er fremstilt ifølge den krevde oppfinnelse.

Detaljert beskrivelse av oppfinnelsen

Foreliggende oppfinnelse fremskaffer sammensetninger til behandling av follikulære lymfomer.

10 Uttrykkene “immunoglobulinrespons” eller “humoral respons” som benyttet heri, refererer til den immunologiske respons hos et dyr overfor et fremmed antigen hvorved dyret danner antistoff overfor det fremmede antigen. Th2-klassen av T-hjelpeceller er viktig for effektivt produksjon av høy affinitetsantistoff.

15 Uttrykket “germinalt senter” som benyttet heri, refererer til en sekundær B-cellefollikel som dannes etter antigenimmunisering. Tilsynekomsten av dette histologiske sete korrelerer med optimal hukommelsesdannelse, isotype endring, somatisk hypermutering og således affinitets utviklingen av en antistoff-respons.

20 Uttrykkene “marginal sone” eller “marginalsonetype område” refererer til histologisk beskrevne rom hos det sekundære lymfoid ved som bestod i hovedsak av marginal sone makrofager (MZM), metallofile makrofager (MM), marginal sone B-celler og retikulære celler, samt også T-celler og dendrittceller. Den arterielle blodstrøm åpner til de marginale sinuser for sålede å gi antigener direkte tilgang til disse celler og fremme cellulære reaksjoner mot antigener ved dette sted.

25 Uttrykket “T-hjelpe (Th) celler” som benyttet heri, refererer til en funksjonell subklasse av T-celler som hjelper til med å danne cytotoksiske T-celler og som samvirker med B-celler til å stimulere antistoffproduksjon. Hjelper-T-celler gjenkjenner antigen i assosiasjon med klasse II MHC-molekyler og gir kontaktavhengige og kontaktuavhengige (cytokine) signaler til effektor-celler.

Uttrykket “Fc-domene” hos et antistoff refererer til en del av molekylet som omfatter hengsler, CH2- og CH3-domener, og som mangler de antigenbindende seter. Uttrykket er også ment å innbefatte de tilsvarende områder av IgM eller annet antistoff-isotype.

5 Uttrykket “anti-LT β -reseptor antistoff” refererer til ethvert antistoff som spesifikt binder til minst en epitop av LT β -reseptoren.

Uttrykket “anti-LT-antistoff” refererer til ethvert antistoff som spesifikt binder til minst en epitop av LT α , LT β eller et LT α/β -kompleks.

Uttrykket “LT β -R-signalisering” refererer til molekylære reaksjoner assosiert med LT β -R veien og etterfølgende molekylære reaksjoner som stammer fra denne.

10 Uttrykket “LT β R-blokkerende middel” refererer til et middel som kan minske ligandbinding til Lt β -R, celleoverflate LT β -R aggregering eller LT β -R-signalisering, eller som kan påvirke hvordan LT β -R-signalet blir tolket inne i cellen.

Et LT β -R-blokkerende middel som virker ved trinnet ved ligandreseptorbinding, kan inhibere LT-ligandbinding til LT β -R med minst 20%. Eksempler på LT β -R-
15 blokkerende midler innbefatter oppløselige LT α -R-Fc-molekyler, og anti-LT α , anti-LT β , anti-LT α/β og anti-LT β -R Abs. Foretrukket kryss-reagerer antistoffene ikke med den utskilte form av LT α .

Uttrykket “LT β -R-biologisk aktivitet” refererer til: 1) egenskapen av LT β -R-molekylet eller -derivatet til å konkurrere om oppløselig eller overflate LT-ligand binding med
20 oppløselige eller overflate LT β -R-molekyler; eller 2) nativ LT-aktivitet så som egenskapen å stimulere en regulatorisk immunrespons eller cytotoxisk aktivitet.

Uttrykket “LT-ligand” refererer til et LT α/β -heteromert kompleks eller derivat derav som spesifikt kan binde til LT β -reseptoren.

25 Uttrykket “LT β -R-ligandbindende domene” refererer til en del eller deler av LT β -R som er involvert i spesifikk gjenkjennelse av og interaksjon med en LT-ligand.

Uttrykkene “overflate LT” og “overflate LT-kompleks” refererer til et kompleks omfattende LT α og membran-bundede LT β -subenheter – innbefattende mutante, endrede og chimeriske former av en eller flere subenheter – som er oppvist på

celleoverflaten. "Overflate LT-ligand" refererer til et overflate LT-kompleks eller et derivat derav som spesifikt kan binde til LT β -reseptoren.

Uttrykket "individ" refererer til et dyr, eller til en eller flere celler avledet fra et dyr. Fortrinnsvis er dyret et pattedyr. Celler kan være i enhver form, innbefattende celler opprettholdt i vev, celleaggregater, immortaliserte, transfekterte eller transformerte celler, og celler avledet fra et dyr som har blitt fysisk eller fenotypisk endret.

Som beskrevet ovenfor fører transformasjon av B-celler til lymfomer, og transformasjonen av B-celler avledet fra germinale sentrer, som er de spesialiserte strukturer funnet i B-cellerrike områder av lymfeknute og milten, blir referert til som follikulære lymfomer. Den germinale B-sentercelle krever et spesielt miljø til å utvikle seg og proliferere og follikulære dendritiske celler gir både antigen og høyst sannsynlig spesifikke signaler for de germinale center B-celler som starter utvikling, overlevelse og proliferasjon. Studier i SJL-mus som spontant danner retikulære cellesarkomer (RCS, en tidlig betegnelse for disse typer svulster) har ført til transplanterbare som vel som in vitro-cellelinjer av RCS (CRCS) som virker som en modell for interaksjonene mellom vertsorganismen og svulsten^{3,4}. Disse RCS oppstår ofte i LN av SJL-mus og er heterogene inneholdende en mengde hematopoietiske celler. Mange tegn indikerer at disse lymfomer er avledet fra germinale sentrer og krever forskjellige signaler eller faktorer tilført av vertsorganismen for å overleve og proliferere^{5,6}. Egenskapen for å manipulere disse overlevelsessignaler gir en mulighet for å kontrollere veksten av disse svulster.

En celletype kalt den follikulære dendritiske celle (FDC) er antatt å være av særskilt viktighet ved dannelsen og funksjonen av det germinale senter. Mange forskjellige faktorer har vært implikert i overlevelsen og opprettholdelsen av germinal senter B-celler. Spesielt er medlemmer av TNF-familien av cytokiner som overflatesignaliserende ligander involvert både fra B-cellesiden, for eksempel CD40, og på FDC-siden, for eksempel TNF og lymfotoksin (LT) reseptorer. Mus som mangler enten LT eller TNF-aksen har defekter i FDC og mangler således germinale sentrer⁷. TNF-aksen er antatt å være kritisk for utviklingen av FDC selv om nedstrømsroller sannsynligvis kan eksistere. LT-aksen synes å være mer kritisk for opprettholdelsen av FDC i en funksjonell tilstand. LT-systemet involverer signaliseringen fra forskjellige ligandpositive lymfocytter til reseptorpositive celler som er mest sannsynlig av en ikke-benmarg avstamning, dvs. muligens FDC-avledet, for å opprettholde FDC i sin fullstendig funksjonelle ferdig utviklete tilstand. Søkerne har funnet at blokkering av denne vei med for eksempel enten antistoff overfor LT-ligander eller et oppløselig

reseptor-immunoglobulin fusjonsprotein, fører til tap av ferdig utviklet FDC (Mackay and Browning, 1998 Nature, V. 395, s. 26-27, "Turning Off Follicular Dendritic Cells"). Videre fører inhibering av LT-veien til tap av dannelsen av germinale senter og en viss disorganisering av milten ⁸.

5 Søkerne har beskrevet heri at inhibitorer for LT-veien kan forstyrre interaksjonene mellom et follikulært B-cellelymfom og dets miljø, dvs. FDC og fører til forsinket eller stoppet vekst av tumorer. Således er slike inhibitorer anvendelige ved behandling av intraktible lymfomer eller som en primær behandling, eller i tillegg til konvensjonelle kjemoterapiregimer. Spesielt selv om det har blitt antydnet innen faget at aktiveringen av
10 LT-veien kunne være implikert i tumorbehandlingene, har søkerne overraskende funnet at den transiente blokkering av LT-veien kan føre til forsinkelse eller stopping av veksten av follikulære lymfomer.

Spesifikke inhiberende sammensetninger som kan anvendes ved fremstilling av sammensetninger som inhiberer interaksjonen mellom LT- β og dens reseptor kan
15 omfatte oppløselige LT- β -reseptor, fusjonsproteiner som omfatter LT β -R, antistoff overfor LT β -R, og antistoff overfor LT-ligand. Slike inhiberende sammensetninger innbefatter fortrinnsvis et farmasøytisk akseptabelt bæreremiddel. Individet som behandles kan være et pattedyr, mest foretrukket, mennesker.

De aktuelle sammensetningene kan administreres til individet inntil en viss
20 tumorregresjon, eller stansing, er merket. Behandlingstiden kan variere i stor grad, og behandling kan fortsette over forløpet av flere uker, til flere måneder, eller i enkelte tilfeller enda lenger. Fagmannen er i stand til å bestemme når tumorregresjon eller opphør har inntruffet, og enhver av de kjente metoder kan bli brukt. Anvendelsen av FACS-markører til å dele opp B-lymfomer har i vesentlig grad blitt bedre, og det kan
25 være ventet at lymfomer av visse subtyper vil vise seg å være mest behandlingsmottakelige for denne type terapi.

Det er også sannsynlig at andre immunsystem-regulatoriske molekyler så som andre medlemmer av TNF-familien kan være involvert i opprettholde immunorganarkitekturen og følgelig hjelpe til med å fremskaffe et gunstig miljø for
30 lymfom-proliferasjon. Følgelig kan kombinert inhibering av LT og andre veier være en effektiv behandling for visse individer. For eksempel kan det bli benyttet inhibitorer for LT-veien i kombinasjon med, for eksempel, blokkerende midler for CD40/CD40 ligandveien. Enhver sammensetning som blokkerer den ønskede vei kan bli brukt, så som, for eksempel antistoff, oppløselige ligander eller reseptorer. Det kan være

foretrukket å administrere antistoff mot CD40-ligand i kombinasjon med inhibitorer for LT-veien. Når det administreres mer enn et blokkerende middel for en TNF-medlemsvei, kan sammensetningene bli administrert i hovedsak samtidig, eller alternativt, et blokkerende middel kan bli administrert etter det andre. Fagmannen kan
5 lett bestemme den mest effektive behandling for et spesielt individ basert på den spesielle svulst som bli behandlet, og tilstanden hos individet.

Konvensjonelle kjemoterapeutiske metoder kan bli benyttet for å eliminere gjenværende tumorbelastning etter behandling, eller kan i enkelte tilfeller bli brukt samtidig med, eller på forhånd. LT-vei inhibitorer kan bli brukt for å stoppe lymfom-vekst før det
10 startes et konvensjonelt kjemoterapiregime. Det er sannsynlig at tap av veksts/overlevelses-fremmende signaler kan gi et lymfom som er mer mottakelig overfor kjemoterapeutiske midler, og det er følgelig foretrukket å administrere LT-vei inhibitoren før administrasjon av tradisjonelle kjemoterapeutiske midler.

Eksempel 1: Behandling av SJL RCS-svulster med LT-vei inhibitor reduserer total
15 LN/svulststørrelse

SJL-mus ble behandlet enten 3 dager før svulsttransplantasjonen (D-3), ved transplantasjonstiden (D0), eller 3 dager etter transplantasjon (D3) med 0,3-0,4 mg av muse LTBR-hIgG1-fusjonsprotein via den intraperitoneale rute. Tumortransplantasjon ble utført i hovedsak som beskrevet ⁹. 5×10^6 T-celle-fattige RCS-celler ble injisert iv
20 og tillat å spre seg til organene og vokse. Etter 5-7 dager ble den mesenteriske, brakiale og aksillære LN dissekert og deres vekt som en prosentdel av total kroppsvekt ble funnet. Tabell I viser at LN-størrelse var redusert i alle forsøk. Miltstørrelse var også redusert i 1 av 3 forsøk, men reduksjonen i miltvekt var ikke imponerende. Reduksjonene i LN-vekt lå i området fra omkring 50% med en enkel behandling til 80-90%
25 med flere doser.

Tabell I: Inhibitorisk effekt av LTBR-Ig på RCS-vekst i normale SJL-mus

Mus injisert med (Dag: dose mg)	LN Wt ^a (n) p	Milt Wt ^a (n) p
5 Forsøk 1		
huIgG-kontroll (avlivet D5)	2,70+/-0,37(7)	3,18+/-0,37(7)
mLTβR-Ig ^c (D 0,+3:0,4, 0,3)	1,42+/-0,15(4)<0001	3,29+/-0,18(4)NS ^b
10 Forsøk 2		
huIgG-kontroll (avlivet D7)	3,35+/-0,21(3)	4,04+/-0,34(3)
mLTβR-Ig ^c (D 0,+3:0,3, 0,2)	2,37+/-0,24(4)<0,0024	3,29+/-0,18(4)0,004↓
15 Forsøk 3		
huIgG-kontroll (avlivet D6)	2,34+/-0,11(5)	2,93+/-0,57(5)
mLTβR-Ig (D-3:0,4)	1,10+/-0,38(3)0,0024	2,27+/-1,39(3)NS
20 mLTβR-Ig (D-3,0:0,4, 0,3)	0,78+/-0,02(3)<0,0001	3,95+/-0,53(3)0,046↑
mLTβR-Ig (D0:0,3)	0,92+/-0,10(3)<0,0001	3,25+/-0,15(3)NS

^aOrganvekt som prosentdel av total kroppsvekt. Ubehandlet LN-vekt er typisk 0,5% av total

kroppsvekt.

25 ^bNS = ikke signifikant.

^cmLTBR-Ig er et fusjonsprotein mellom mLTBR ekstracellulær domene og CH2 og CH3 områdene av hIgG1.

30 Alternativt kan det være ønskelig å administrere inhibitorene for LT-veien samtidig med, eller før eller etter administrasjon av stråleterapi. Det vil være innlysende for fagmannen hvilken terapi som er foretrukket basert på individuelle variabler så som pasienters tilstand og svulsten som blir behandlet.

Inhibitoriske anti-LTβ-R Abs og andre LT-β-R blokkerende midler kan bli identifisert ved å bruke metoder som tidligere er beskrevet innen faget. (samtidig amerikansk søknad serie nummer 08/378,968).

35 De LTβ-R blokkerende midler omfatter i en utførelsesform av foreliggende oppfinnelse oppløselig LT-β-reseptormolekyler. Sekvensen av den ekstracellulære del av den humane LTβ-R, er kjent for å kode for det ligandbindende domene (se SEQ ID No. 1).

Ved å bruke sekvensinformasjonen i figur 1 og rekombinante DNA-teknikker som er velkjent innen faget, kan funksjonelle fragmenter som koder for det LT β -R ligandbindende domene bli klonet i en vektor og uttrykt i en passende vertsorganisme for å danne et oppløselig LT β -R-molekyl.

- 5 En oppløselig LT- β -reseptor omfattende aminosyresekvenser valgt fra dem vist i SEQ ID No. 1 kan bli festet til ett eller flere heterologe proteindomener (“fusjonsdomene”) for å øke in vivo stabilitet av reseptor fusjonsprotein, eller for å modulere dets biologiske aktivitet eller beliggenhet.

10 Fortrinnsvis blir stabile plasmaproteiner – som typisk har en halveringstid som er større enn 20 timer i blodomløpet – brukt for å konstruere reseptor fusjonsproteinene. Slike plasmaproteiner innbefatter, men er ikke begrenset til: immunoglobuliner, serumalbumin, lipoproteiner, apolipoproteiner og transferrin. Sekvenser som kan målrette det oppløselige LT β -R-molekyl til en spesiell celle eller vevstype kan også bli festet til det LT β -R-ligandbindende domene for å danne et spesifikt-lokalisert
15 oppløselige LT β -R-fusjonsprotein.

Alt eller en funksjonell del av det LT β -R ekstracellulære område (SEQ ID No. 1) omfattende det LT β -R-ligand bindende domene kan bli fusert til et immunoglobulin konstantområde lik Fc-domene av en human IgG1-tungkjede (Browning et al., J. Immunol., 154, s. 33-46 (1995)). Oppløselige reseptor-IgG-fusjonsproteiner er
20 foretrukket, og er vanlige immunologiske reagenser, og fremgangsmåter for deres fremstilling er kjent innen faget (se for eksempel amerikansk patent nr. 5.225.538).

Et funksjonelt LT β -R-ligandbindende domene kan bli fusert til et immunoglobulin (Ig) Fc-domene avledet fra en immunoglobulinklasse eller -subklasse som er forskjellig fra IgG1. Fc-domenene av antistoff som tilhører forskjellige Ig-klasser eller subklasser, kan
25 aktivere forskjellige sekundære effektor-funksjoner. Aktivering inntreffer når Fc-domenet blir bundet av en kognat Fc-reseptor. Sekundære effektor-funksjoner innbefatter egenskapen å aktivere komplementsystemet til å krysse placenta, og å binde forskjellige mikrobielle proteiner.

Hvis det ville være fordelaktig å skade eller drepe den LT-ligand-bærende målcelle,
30 kunne det bli valgt et spesielt aktivt Fc-domene (IgG1) for å danne et LT β -R-Fc-fusjonsprotein. Alternativt, om det ville være ønskelig å målrette LT β -R-Fc-fusjonen til en celle uten å sette i gang komplementsystemet, kunne et inaktivt IgG4-Fc-domene bli valgt.

Mutasjoner i Fc-domener som reduserer eller eliminerer binding til Fc-reseptorer og komplementaktivering, har blitt beskrevet (S. Morrison, Annu. Rev. Immunol., 10, s. 239-65 (1992)). Disse eller andre mutasjoner kan bli brukt, alene eller i kombinasjon, for å optimalisere aktiviteten av Fc-domenet benyttet for å konstruere LT β -R-Fc-fusjonsproteinet.

Forskjellige aminosyreresiduer som danner sammenknytningspunktet av reseptor-Ig-fusjonsproteinet kan endre strukturen, stabiliteten og til syvende og sist biologisk aktivitet av det oppløselige LT- β -reseptor fusjonsprotein. En eller flere aminosyrer kan bli tilsatt til C-terminalen av det utvalgte LT β -R-fragment for å modifisere tilknytningspunktet med det utvalgte fusjonsdomenet.

N-terminalen av LT β -R-fusjonsproteinet kan også bli variert ved å endre posisjonen hvor det utvalgte LT β -R DNA-fragment spaltes ved sin 5'-ende for innsetning i den rekombinante ekspressjonsvektor. Stabiliteten og aktiviteten av hvert LT β -R-fusjonsprotein kan bli undersøkt og optimalisert ved å bruke rutinemessige forsøk og assayene for å velge ut LT β -R-blokkerende midler beskrevet heri.

Ved å bruke de LT β -R-ligandbindende domenesekvenser innen i det ekstracellulære domene vist i SEQ ID No. 1, kan aminosyre sekvensvarianter også bli konstruert for å modifisere affiniteten av den oppløselige LT- β -reseptor eller fusjonsprotein for LT-ligand. De oppløselige LT β -R-molekyler kan konkurrere for overflate LT-ligandbinding med endogene celleoverflate LT- β -reseptorer. Det er påtenkt at ethvert oppløselig molekyl omfattende et LT β -R-ligandbindende domene som kan konkurrere med celleoverflate LT- β -reseptorer for LT-ligandbinding, er et LT- β -R blokkerende middel.

Alternativt kan antistoff rettet mot den humane LT- β -reseptor (anti-LT- β -R Abs) virke som LT β -R blokkerende middel. De aktuelle anti-LT- β -R Abs kan være polyklonale eller monoklonale (mAbs) og kan bli modifisert til å optimalisere sin egenskap til å blokkere LT β -R-signalisering, deres in vivo tilgjengelighet, stabilitet, eller andre ønskelige egenskaper.

Polyklonalt antistoffserum rettet mot den humane LT- β -reseptor fremstilles ved å bruke konvensjonelle teknikker ved å injisere dyr så som geiter, kaniner, rotter, hamstrer eller mus subkutan med et humant LT- β -reseptor-Fc-fusjonsprotein (Eksempel 1) i fullstendig Freund's adjuvant, fulgt av forsterkende intraperitoneal eller subkutan injeksjon i ufullstendig Freund's. Polyklonale antisera inneholdende de ønskede antistoff

rettet mot LT- β -reseptoren blir undersøkt med konvensjonelle immunologiske prosedyrer.

5 Monoklonale museantistoff (mAbs) rettet mot et humant LT- β -reseptor-Fc-fusjonsprotein fremstilles som beskrevet i US søknad serienummer 08/378.968. En hybridom-cellelinje (BD.A8.AB9) som danner muse anti-humant LT- β -R mAb BDA8 ble deponert 12. januar 1995 hos the American Type Culture Collection (ATCC) (Rockville, MD) i henhold til bestemmelsene i Budapest konvensjonen, og ble gitt ATCC-tilgangsnummer HB11798.

10 Forskjellige former av anti-LT β -R-antistoff kan også bli dannet ved å bruke standard rekombinante DNA-teknikker (Winter og Milstein, Nature, 349, s. 293-99 (1991)). For eksempel kan "chimeriske" antistoff bli konstruert hvor det antigenbindende domene fra et animalsk antistoff er bundet til et humant konstant domene (f.eks. Cabilly et al., US 4,816,567; Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 81, s. 6851-55 (1984)). Chimeriske antistoff kan anvendes for å redusere de observerte immunogene responser fremskaffet av animalske antistoff når benyttet i humane kliniske behandlinger.

20 I tillegg kan rekombinante "humaniserte antistoff" som gjenkjenner LT- β -R bli syntetisert. Humaniserte antistoff er chimeriske materialer omfattende for meste humane IgG-sekvenser innen hvilke områdene som er ansvarlige for spesifikk antigenbinding har blitt satt inn (for eksempel WO 94/04679). Dyr immuniseres med det ønskede antigen, de tilsvarende antistoff isoleres, og delen av de variable regionsekvenser som er ansvarlige for spesifikk antigenbinding fjernes. De animalskavledete antigenbindende områder blir så klonet i den passende posisjon av humane antistoffgener hvor de antigen bindende områder har blitt fjernet. Humaniserte antistoff minimaliserer bruken av heterologe (inter-artede) sekvenser i humane antistoff, og er mindre sannsynlig å fremskaffe immunresponser i det behandlede individ.

30 Konstruksjon av forskjellige klasser rekombinantete anti- LT- β -R-antistoff kan også bli utført ved å danne chimeriske eller humaniserte antistoff omfattende det anti-LT- β -R variable domener og humane konstante domener (CH1, CH2, CH3) isolert fra forskjellige klasser immunoglobuliner. For eksempel kan anti-LT- β -R IgM-antistoff med økede antigenbindende setevalenser bli rekombinant fremstilt ved å klonet det antigenbindende sete i vektorer som bærer de humane T-kjede konstante områder (Arulanandam et al., J. Exp. Med., 177, s. 1439-50 (1993); Lane et al., Eur. J. Immunol., 22, s. 2573-78 (1993); Traunecker et al., Nature, 339, s. 68-70 (1989)).

I tillegg kan standard rekombinante DNA-teknikker bli brukt for å endre bindingsaffinitetene av rekombinante antistoff med deres antigener ved å endre aminosyre-residuer i nærheten av de antigenbindende seter. Den antigenbindende affinitet av et humanisert antistoff kan bli øket ved mutagenese basert på molekylær modulering (Queen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 86, s. 10029-33 (1989); WO 94/04679).

Det kan være ønskelig å øke eller å minke affiniteten av anti-LT β -R Abs for LT β -R avhengig av vevsmåltypen eller den spesielle behandlingsmetode som er påtenkt. For eksempel kan det være fordelaktig å behandle en pasient med konstante nivåer av anti-LT β -R Abs med redusert egenskap å signalisere via LT- β -veien for semi-profylaktiske behandlinger. Likeledes kan inhibitoriske anti-LT β -R Abs med øket affinitet for LT β -R være fordelaktige for kort-tids behandlinger.

Anti-LT- β -R antistoff som LT- β -R blokkerende midler

Anti-LT- β -R antistoff som virker som LT β -R blokkerende midler kan bli valgt ved å undersøke deres egenskap å inhibere LT β -R-indusert cytotoxicitet i tumorceller. Ved å undersøke andre antistoff rettet mot den humane LT β -reseptor, er det ventet at ytterligere anti-LT- β -R antistoff som virker som LT β -R blokkerende midler i mennesker, kan bli identifisert ved å bruke rutinemessige forsøk og assayene beskrevet heri.

Anvendelsen ifølge foreliggende oppfinnelse involverer sammensetninger som omfatter antistoff rettet mot LT-ligand som virker som LT- β -R blokkerende midler. Som beskrevet ovenfor for anti-LT β -R Abs, kan anti-LT-ligand antistoff som virker som LT β -R blokkerende midler være polyklonale eller monoklonale, og kan bli modifisert i henhold til rutinemessige fremgangsmåter for å modulere deres antigenbindende egenskaper og deres immunogenisitet.

De aktuelle anti-LT-antistoffene kan bli fremstilt mot hver av de to LT-subenheter individuelt, innbefattende oppløselige, mutante, endrede og chimeriske former av LT-subenheten. Dersom LT-subenheter blir brukt som antigenet, er de fortrinnsvis LT- β -subenheter. Dersom LT- α -subenheter blir brukt, er det foretrukket at de resulterende anti-LT- α -antistoff binder til overflate LT-ligand og ikke kryss-reagerer med utskilt LT- α eller modulerer TNF-R-aktivitet.

Alternativt kan antistoff rettet mot et homomert (LT- β) eller et heteromert (LT- α/β) kompleks omfattende en eller flere LT-subenheter bli fremstilt og utvalgt for aktivitet som LT- β -R-blokkerende midler. Foretrukket blir LT- α 1/ β 2-komplekser benyttet som antigenet. Som beskrevet ovenfor er det foretrukket at de resulterende anti-LT- α 1/ β 2-antistoff binder til overflate LT-ligand uten å binde til utskilt LT- α og uten å påvirke TNF-R-aktivitet.

Produksjon med polyklonale anti-humane LT- α -antistoff er beskrevet i søkernes samtidige søknad (WO 94/13808). Monoklonale anti-LT- α og anti-LT- β -antistoff har også blitt beskrevet (Browning et al., *J. Immunol.*, 154, s. 33-46 (1995)).

10 Forbindelser

Terapeutiske forbindelser som kan benyttes i de aktuelle behandlinger innbefatter enhver forbindelse som blokkerer interaksjonen av LT- β med LT- β -reseptor og følgelig inhiberer LT-veien. Anti-LT-forbindelser som spesielt er påtenkt innbefatter polyklonale antistoff og monoklonale antistoff (mAbs), så vel som antistoffderivater så som chimeriske molekyler, humaniserte molekyler, molekyler med reduserte effektor-funksjoner, bispesifikke molekyler, og konjugater av antistoff.

Det kan også anvendes anti-LT- β og anti-LT- β -reseptormolekyler av andre typer, så som fullstendig Fab-fragmenter, F(ab')₂-forbindelser, V_H-områder, F_V-områder, enkelkjedede antistoff (se, for eksempel WO 96/23071), polypeptider, fusjonskonstruksjoner av polypeptider, fusjoner av LT- β -reseptor, og små-molekylære forbindelser så som små semi-peptidiske forbindelser eller ikke-peptidforbindelser, som alle er i stand til å blokkere LT-veien.

Forskjellige former av antistoff kan også bli fremstilt ved å bruke standard rekombinante DNA-teknikker (Winter and Milstein, *Nature* 349;293-99, 1991). For eksempel kan "chimeriske" antistoff blir konstruert hvor det antigenbindende domene fra et animalsk antistoff er bundet til et humant konstant domene (et antistoff avledet i utgangspunktet et ikke-humant pattedyr hvor rekombinant DNA-teknologi har blitt brukt for å erstatte alt eller deler av hengslet og de konstante områder av den tunge kjede og/eller det konstante område av den lette kjede, med tilsvarende områder fra en human immunoglobulin lett kjede eller tung kjede) (se for eksempel Cabilly et al., amerikansk patent 4,816,567; Morrison et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81;6851-55, 1984). Chimeriske antistoff reduserer immunogene responser fremskaffet av animalske antistoff når de benyttes i humane kliniske behandlinger.

I tillegg kan rekombinante “humaniserte” antistoff bli syntetisert. Humaniserte antistoff er antistoff som i utgangspunktet er avledet fra et ikke-humant pattedyr, hvor rekombinant DNA-teknologi har blitt brukt for å skifte ut enkelte eller alle av aminosyrene som ikke er nødvendige for antigenbinding med aminosyrer fra tilsvarende områder av en human immunoglobulin lett eller tung kjede (chimeriske materialer omfatter for det meste humane IgG-sekvenser hvor områdene som er ansvarlige for spesifikk antigenbinding har blitt satt inn) (se, for eksempel, PCT-patentsøknad WO 94/04679). Dyr immuniseres med det ønskede antigen, de tilsvarende antistoff isoleres og den delen av de variable områdesekvenser som er ansvarlige for spesifikk antigenbinding, fjernes. De animalskavlede antigenbindende områder blir så klonet i den passende posisjon av de humane antistoff-gener hvor de antigenbindende områder har blitt fjernet. Humaniserte antistoff minimaliserer bruken av heterologe (inter-artede) sekvenser i humane antistoff og er mindre sannsynlige til å fremskaffe immune responser i det behandlede individ.

Også anvendelige er primate eller primatiserte antistoff.

Antistoff-fragmenter og univalente antistoff kan også bli brukt i de aktuelle sammensetningene. Univalente antistoff omfatter en tung kjede/lett kjede dimer bundet til Fc (eller stamme) område av en andre tung kjede. Fab-områder refererer til de deler av kjedene som er relativt ekvivalente, eller analoge, med sekvensene som omfatter Y-forgreningsdelene av den tunge kjede og til den lette kjede i sin helhet, og kollektivt (i aggregater) har blitt vist å oppvise antistoffaktivitet. Et Fab-protein innbefatter aggregater av en tung og en lett kjede (vanligvis kjent som “Fab”), så vel som tetramerer som tilsvarer de to forgreningssegmenter av antistoffet Y, (vanligvis kjent som F(ab)₂), uansett om noen av de ovennevnte er kovalent aggregert eller ikke, så lenge aggregeringen er i stand til selektivt å reagere med et spesielt antigen eller antigenfamilie.

I tillegg kan standard rekombinante DNA-teknikker bli brukt for å endre bindingsaffinitetene av rekombinante antistoff med deres antigener ved å endre aminosyreresiduer i nærheten av de antigenbindende seter.

30 Individer

Individene for hvilke de aktuelle medikamentene er ment, har follikulære lymfomer.

Administrasjonsruter

De aktuelle medikamentene kan bli administrert på enhver måte som er medisinsk akseptabel. Dette kan innbefatte injeksjoner, via parenterale ruter så som intravenøs, intravaskulær, intraarteriell, subkutan, intramuskulær, intratumore, intraperitoneal, intraventrikulær, intraepidural, eller andre så vel som oral, nasal, oftalmi, rektal, eller topisk. Vedværende frigjøringsadministrasjon er også egnet, ved slike metoder som depotinjeksjoner. Enkelte former av LT-blokkerende forbindelser kan være egnet for oral administrasjon, og kan bli formulert som suspensjoner eller piller.

Doser og hyppighet ved behandling

Mengden og hyppigheten for dosering av enhver spesiell forbindelse som skal administreres til en pasient for en gitt immunkomplekssykdom, er en vurdering foretatt av pasientens lege, basert på et antall faktorer. Den generelle dose blir etablert med prekliniske og kliniske forsøk, som involverer utstrakte forsøk for å bestemme de gunstige og uheldige effekter på pasienten ved forskjellige doser av forbindelsen. Selv etter at slike anbefalinger er foretatt, vil legen ofte variere disse doser for forskjellige pasienter basert på et antall vurderinger, så som pasientens alder, medisinske status, vekt, kjønn, og samtidig behandling med andre farmasøytika. Det å bestemme den optimale dose for hver LT-blokkerende forbindelse benyttet for å behandle follikulært lymfom er en rutemessig sak for fagmannen innen det farmasøytiske og medisinske felt.

Generelt vil hyppigheten ved dosering bli bestemt av den behandlede lege, og kan være enten som en enkel dose, eller gjentatt daglig, ved intervaller på 2-6 dager, ukentlig, hver annen uke, eller månedlig.

Kombinasjonsbehandlinger for behandling av follikulære lymfomer sammen med andre midler satt inn mot slike lymfomer, innbefatter for eksempel, bestråling, kjemoterapi, eller andre behandlinger som er kjent for fagmannen.

En LT-blokkerende forbindelse kan administreres til en pasient i en farmasøytisk akseptabel sammensetning som kan innbefatte et farmasøytisk akseptabelt bæreremiddel. Et slikt bæreremiddel er relativt ikke-toksisk og ufarlig for en pasient ved konsentrasjoner som er konsistente med effektiv aktivitet av den blokkerende forbindelse eller andre aktive bestanddeler, slik at alle bieffekter som kan tilskrives bæreremidlet, ikke senker de gunstige effekter av de aktive bestanddeler av sammensetningen. Sammensetningen kan innbefatte andre kompatible substanser; hvor kompatible, som benyttet heri, betyr at

komponentene av den farmasøytiske sammensetning er i stand til å bli blandet med den LT-blokkerende forbindelse, og med hverandre, på en måte slik at det ikke er noe interaksjon som vesentlig ville redusere den terapeutiske effekt av medisinen.

5 Formuleringsene som er egnet for oral administrasjon, kan bli presentert som diskrete enheter så som kapsler, poser, tabletter, piller eller pastiller, hvor hver inneholder en forhåndsbestemt mengde av den forsterkende forbindelse, som et pulver eller granuler; som liposomer; eller som en suspensjon i en vandig væske ikke-vandig væske så som en sirup, en elixir, en emulsjon eller et avtrekk.

10 Sammensetningene kan bli presentert i beholdere som er egnet for å opprettholde sterilitet, beskytte aktivitet av de aktive bestanddeler under passende fordeling og lagring, og å gi passende og effektiv tilgjengelighet av sammensetningen for administrasjon til en pasient. For en injiserbar formulering av en LT-blokkerende forbindelse, kan sammensetningen bli presentert i en korket flaske som er egnet for å trekke ut innholdet ved å bruke en nål og sprøyte. Flasken vil være tiltenkt enten enkel
15 bruk eller flere anvendelser. Sammensetningen kan også bli tilført som en på forhånd fylt sprøyte. I enkelte tilfeller vil innholdet bli tilført i flytende form, mens i andre vil dem bli tilført i en tørr eller frysetørket tilstand, som ville kreve rekonstituering med et standard eller tilført fortynningsvæske til en flytende tilstand. Hvor forbindelsen blir tilført som en væske for intravenøs administrasjon, kan den bli presentert i en steril pose
20 eller beholder som er egnet for tilknytning til en intravenøs administrasjonslinje eller kateter. I tilfeller hvor den blokkerende forbindelse blir administrert oralt i tablett eller pillerform, kan forbindelsen blitt tilført i en flaske med fjernbart lokk. Beholderne kan være merket med informasjon så som typen av forbindelse, navn på fremstilling eller forhandler, indikasjonen, den antydende dose, instruksjoner som passende lagring, eller
25 instruksjoner for administrasjon.

Referanser:

1. Tsiagbe, V.K., Inghirami, G. & Thorbecke, G.J. The physiology of germinal centers. *Crit Rev Immunol* **16**, 381-421 (1996).
2. Freedman, A.S. & Nadler, L.M. in *Cancer Medicine 3rd Ed.* (ed. Holland, J.F.e.a.) 2028-2068 (Lea & Febiger, London, 1994).
3. Lasky, J.L., Ponzio, N.M. & Thorbecke, G.J. Characterization and growth factor requirements of SJL lymphomas. I. Development of a B cell growth factor-dependent in vitro cell line, cRCS-X [published erratum appears in *J Immunol* 1988 Apr 1; 140(7);2478]. *J Immunol* **140**, 679-87 (1988).
4. Lasky, J.L. & Thorbecke, G.J. Characterization and growth factor requirements of SJL lymphomas. II. Interleukin 5 dependence of the in vitro cell line, cRCS-X, and influence of other cytokines. *Eur J Immunol* **19**, 365-71 (1989).
5. Ponzio, N.M., Brown, P.H. & Thorbecke, G.J. Host-tumor Interactions in the SJL lymphoma model. *Intern. Rev. immunol.* **1**, 273-301 (1986).
6. Tsiagbe, V.K., *et al.* Syngeneic response to SJL follicular center B cell lymphoma (reticular cell sarcoma) cells is primarily in V beta 16+ CD4+ T cells. *J Immunol* **150**, 5519-28 (1993).
7. Matsumoto, M., *et al.* Distinct roles of lymphotoxin alpha and the type I tumor necrosis factor (TNF) receptor in the establishment of follicular dendritic cells from non-bone marrow-derived cells. *J Exp Med* **186**, 1997-2004 (1997).
8. Mackay, F., Majeau, G.R., Lawton, P., Hochman, P.S. & Browning, J.L. Lymphotoxin but not tumor necrosis factor functions to maintain splenic architecture and humoral responsiveness in adult mice. *Eur J Immunol* **27**, 2033-42 (1997).
9. Katz, I.R., Chapman-Alexander, J., Jacobson, E.B., Lerman, S.P. & Thorbecke, G.J. Growth of SJL/J derived transplantable reticulum cell sarcoma as related to its ability to induce T-cell proliferation in the host. III. Studies on thymectomized and congenitally athymic SJL mice. *Cellular Immunol.* **65**, 84-92 (1981).

P A T E N T K R A V

1. Anvendelse av en sammensetning som inhiberer interaksjonen mellom LT- β og dens reseptor ved fremstilling av en farmasøytisk sammensetning for å stanse eller redusere forløpet, alvorret eller effektene av en tumor, hvor nevnte tumor er follikulært lymfom.
5
2. Anvendelse ifølge kravene 1, hvor nevnte sammensetning og/eller nevnte inhibitor for interaksjonen mellom LT- β og dens reseptor skal administreres til et individ.
3. Anvendelse ifølge krav 2, hvor nevnte individ er mottaker av strålings-
10 behandling eller benmargstransplantasjon.
4. Anvendelse ifølge krav 2 eller 3, hvor minst et kjemoterapeutisk middel og/eller en inhibitor for en annen TNF-vei skal administreres i kombinasjon til nevnte individ.
5. Anvendelse ifølge krav 4, hvor nevnte TNF-vei er CDF40/CD40-ligand-veien.
6. Anvendelse ifølge krav 4 eller 5, hvor nevnte inhibitor for TNF-veien er et anti-
15 CD40-ligand-antistoff.
7. Anvendelse ifølge ethvert av kravene 1 til 6, hvor nevnte sammensetning og/eller nevnte inhibitor for interaksjonen mellom LT- β og dens reseptor er valgt fra gruppen omfattende en oppløselig LT- β -reseptor, anti-LT- α -antistoff, anti-LT- β -antistoff og anti-LT- β -R-antistoff.
- 20 8. Anvendelse ifølge krav 7, hvor nevnte oppløselige LT- β -reseptor omfattende et ligandbindende domene, selektivt kan binde til en LT-overflateligand og/eller et humant immunoglobulin Fc-domene.
9. Anvendelse ifølge krav 7, hvor nevnte anti-LT- β -R-antistoff er et monoklonalt, et humanisert og/eller et chimerisk antistoff.
- 25 10. Anvendelse ifølge ethvert av kravene 2 til 9, hvor nevnte individ er et pattedyr.
11. Anvendelse ifølge krav 10, hvor nevnte individ er et menneske.