



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**(21), (22) Заявка: **2006136011/13**, 14.03.2005(30) Конвенционный приоритет:
12.03.2004 US 60/552,523
27.10.2004 US 60/622,559(43) Дата публикации заявки: **20.04.2008 Бюл. № 11**(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную фазу:
12.10.2006(86) Заявка РСТ:
US 2005/008423 (14.03.2005)(87) Публикация РСТ:
WO 2005/090573 (29.09.2005)Адрес для переписки:
129010, Москва, ул. Б.Спаская, 25, стр.3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры", пат.пов. Г.Б. Егоровой

(71) Заявитель(и):

ДЗЕ БРИХЭМ ЭНД УИМЕН`З ХОСПИТАЛ, ИНК.
(US),
БЕТ ИЗРЕЙЭЛ ДИКОНИСС МЕДИКАЛ СЕНТЕР
(US)

(72) Автор(ы):

КУЧРУ Виджей К. (US),
ЧАКРАВАРТИ Сьюмон (US),
СТРОМ Терри (US),
ЧЖЕН Синь Сяо (US),
МЕЙЕРЗ Дженифер (US)(54) **СПОСОБЫ МОДУЛЯЦИИ ИММУННЫХ ОТВЕТОВ ПУТЕМ МОДУЛЯЦИИ ФУНКЦИЙ tim-1, tim-2 И tim-4**

(57) Формула изобретения

1. Способ лечения или профилактики Th1-опосредованного заболевания у пациента, где способ предусматривает введение пациенту терапевтически эффективного количества агента, который снижает экспрессию или активность tim-1, tim-2 или tim-4 у пациента.

2. Способ по п.1, где Th1-опосредованное заболевание представляет собой аутоиммунное заболевание.

3. Способ по п.2, где аутоиммунное заболевание выбрано из группы, состоящей из рассеянного склероза, диабета I типа, тиреоидита Хошимото, болезни Крона, ревматоидного артрита, системной красной волчанки, гастрита, аутоиммунного гепатита, гемолитической анемии, аутоиммунной гемофилии, аутоиммунного лимфопролиферативного синдрома (ALPS), аутоиммунного увеоретинита, гломерулонефрита, синдрома Гийена-Барре, псориаза и миастении гравис.

4. Способ по п.1, где Th1-опосредованное заболевание представляет собой реакцию «хозяин против трансплантата» (HVGD).

5. Способ по п.1, где Th1-опосредованное заболевание представляет собой реакцию «трансплантат против хозяина» (GVHD).

6. Способ по п.4, где пациентом является реципиент трансплантируемого органа.

7. Способ по п.4, где пациентом является реципиент аллогенных клеток.

8. Способ по п.1, где агент представляет собой антисмысловой олигонуклеотид РНКи, специфичный для полинуклеотида tim-1, tim-2 или tim-4.

9. Способ по п.1, где агент снижает связывание tim-1 с tim-4.

10. Способ по п.9, где агент конкурентно ингибирует связывание tim-1 с tim-4.
11. Способ по п.9, где агент содержит
 - (i) антитело, или
 - (ii) его фрагмент,способные специфически связываться с tim-1 или tim-4.
12. Способ по п.9, где агент не содержит
 - (i) антитело, или
 - (ii) его фрагмент,способные специфически связываться с tim-1 или tim-4.
13. Способ по п.9, где агент содержит полипептид, включающий
 - (i) аминокислоты 31-133 последовательности SEQ ID NO: 3;
 - (ii) аминокислоты 31-134 последовательности SEQ ID NO: 4;
 - (iii) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотам 31-133 последовательности SEQ ID NO: 3;
 - (iv) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотам 31-134 последовательности SEQ ID NO: 4; или
 - (v) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична полипептиду tim-4, содержащему аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12.
14. Способ по п.13, где агент также содержит
 - (a) сывороточный альбумин человека, или
 - (b) домен Fc иммуноглобулина.
15. Способ по п.9, где агент содержит полипептид, включающий
 - (i) аминокислоты 21-126 последовательности SEQ ID NO: 1;
 - (ii) аминокислоты 21-129 последовательности SEQ ID NO: 2;
 - (iii) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотам 21-126 последовательности SEQ ID NO: 1; или
 - (iv) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотам 21-129 последовательности SEQ ID NO: 2.
16. Способ по п.1, где агент конкурентно ингибирует связывание tim-2 с семафорином-4A.
17. Способ по п.16, где агент содержит полипептид, включающий
 - (i) аминокислоты 25-127 последовательности SEQ ID NO: 13; или
 - (iii) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотам 25-127 последовательности SEQ ID NO: 13.
18. Способ по п.17, где агент также содержит
 - (a) сывороточный альбумин человека, или
 - (b) домен Fc иммуноглобулина.
19. Способ лечения или профилактики Th2-опосредованного заболевания у пациента, где способ предусматривает введение пациенту терапевтического эффективного количества агента, который повышает экспрессию или активность tim-1, tim-2 или tim-4 у пациента.
20. Способ по п.19, где Th2-опосредованное заболевание представляет собой atopическое заболевание.
21. Способ по п.19, где Th2-опосредованное заболевание представляет собой астму, аллергию, аллергический ринит, аллергическую реакцию со стороны желудочно-кишечного тракта, пищевую аллергию, эозинофилию, конъюнктивит или гломерулонефрит.
22. Способ по п.19, где агент содержит полипептид, включающий
 - (i) аминокислоты 31-133 последовательности SEQ ID NO: 3;
 - (ii) аминокислоты 31-134 последовательности SEQ ID NO: 4;
 - (iii) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотам 31-133 последовательности SEQ ID NO: 3;
 - (iv) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотам 31-134 последовательности SEQ ID NO: 4; или

(v) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична полипептиду tim-4, содержащему аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12.

23. Способ по п.22, где агент также содержит

(a) сывороточный альбумин человека, или

(b) домен Fc иммуноглобулина.

24. Способ по п.19, где агент повышает фосфорилирование внутриклеточного домена tim-1.

25. Способ повышения иммунного ответа Th1 у пациента, где способ предусматривает введение пациенту терапевтически эффективного количества агента, который повышает активность tim-1, tim-2 или tim-4.

26. Способ по п.25, где пациент поражен гиперплазией.

27. Способ по п.26, где гиперплазия представляет собой рак почки, саркому Капоши, хронический лейкоз, рак предстательной железы, рак молочной железы, саркому, рак поджелудочной железы, лейкоз, карциному яичников, рак прямой кишки, рак горла, меланому, рак ободочной кишки, рак мочевого пузыря, лимфому, мастоцитому, рак легкого, аденокарциному молочной железы, фарингеальную плоскоклеточную карциному, рак яичка, рак желудочно-кишечного тракта или рак желудка или их сочетания.

28. Способ повышения трансплантационной толерантности у пациента, предусматривающий введение пациенту терапевтически эффективного количества агента, который снижает активность tim-1, tim-2 или tim-4, что приводит к повышению трансплантационной толерантности у пациента.

29. Способ по п.28, где агент содержит полипептид, включающий

(i) аминокислоты 31-133 последовательности SEQ ID NO: 3;

(ii) аминокислоты 31-134 последовательности SEQ ID NO: 4;

(iii) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотам 31-133 последовательности SEQ ID NO: 3;

(iv) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотам 31-134 последовательности SEQ ID NO: 4; или

(v) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична полипептиду tim-4, содержащему аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12.

30. Способ по п.21, где агент также содержит

(a) сывороточный альбумин человека, или

(b) домен Fc иммуноглобулина.

31. Способ идентификации агента, который модулирует связывание полипептидом tim-1 и полипептидом tim-4, предусматривающий

(a) приведение в контакт полипептида tim-1 и полипептида tim-4 в присутствии исследуемого агента; и

(b) определение эффекта исследуемого агента на связывание полипептида tim-1 и полипептида tim-4,

что позволяет идентифицировать агент, который модулирует связывание между полипептидом tim-1 и полипептидом tim-4.

32. Способ идентификации агента, который модулирует иммунный ответ, где способ предусматривает

(a) приведение в контакт полипептида tim-1 и полипептида tim-4 в присутствии исследуемого агента; и

(b) определение эффекта исследуемого агента на связывание полипептида tim-1 и полипептида tim-4,

что позволяет идентифицировать агент, который модулирует иммунный ответ.

33. Способ по п.31 или 32, где стадия (b) предусматривает сравнение уровня образования комплекса tim-1/tim-4 в присутствии исследуемого агента с соответствующим контролем.

34. Способ по п.33, где соответствующий контроль предусматривает образование комплекса между первым полипептидом и вторым полипептидом в отсутствие исследуемого агента.

35. Способ по п.31 или 32, где агент повышает связывание между tim-1 и tim-4.

36. Способ по п.31 или 32, где агент снижает связывание между tim-1 и tim-4.

37. Способ по п.31 или 32, где агент представляет собой малое соединение, антитело или полипептид.

38. Способ по п.31 или 32, где первый полипептид, или второй полипептид, или оба полипептида экспрессируются в клетке.

39. Способ по п.38, где выявление образования комплекса предусматривает детекцию экспрессии репортерного гена, где экспрессия репортерного гена зависит от образования комплекса.

40. Способ по п.31 или 32, где первый полипептид, или второй полипептид, или оба полипептида метят флуоресцентной молекулой.

41. Способ по п.31 или 32, где полипептид tim-4 содержит

(i) аминокислоты 31-133 последовательности SEQ ID NO: 3;

(ii) аминокислоты 31-134 последовательности SEQ ID NO: 4;

(iii) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотам 31-133 последовательности SEQ ID NO: 3;

(iv) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотам 31-134 последовательности SEQ ID NO: 4; или

(v) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична полипептиду tim-4, содержащему аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12.

42. Способ по п.31 или 32, где полипептид tim-1 содержит

(i) аминокислоты 21-126 последовательности SEQ ID NO: 1;

(ii) аминокислоты 21-129 последовательности SEQ ID NO: 2;

(iii) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотам 21-126 последовательности SEQ ID NO: 1;

(iv) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотам 21-129 последовательности SEQ ID NO: 2.

43. Способ идентификации аминокислотного остатка в tim-4, который способствует связыванию tim-4 с tim-1, где способ предусматривает

(a) приведение в контакт

(i) полипептида, предусматривающего IgV домен tim-4, где IgV домен tim-4 содержит от одной до десяти аминокислотных замен, по сравнению с IgV доменом tim-4, на участке остатков 31-134 последовательности SEQ ID NO: 4; и

(ii) полипептида tim-1, где полипептид tim-1 способен связываться с tim-4;

(b) выявление образования комплекса между полипептидом и полипептидом tim-1, и

(c) сравнение уровня образования комплекса с соответствующим контролем, где аминокислота идентифицируется как способствующая связыванию с tim-1, если уровень образования комплекса отличается от соответствующего контроля.

44. Способ по п.43, где соответствующий контроль предусматривает образование комплекса между (i) полипептидом tim-4 и (ii) контрольным полипептидом, содержащим аминокислоты 31-133 последовательности SEQ ID NO: 3 или аминокислоты 31-134 последовательности SEQ ID NO: 4.

45. Способ по п.43, где полипептид tim-1 содержит

(i) аминокислоты 21-126 последовательности SEQ ID NO: 1;

(ii) аминокислоты 21-129 последовательности SEQ ID NO: 2;

(iii) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотам 21-126 последовательности SEQ ID NO: 1; или

(iv) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотам 21-129 последовательности SEQ ID NO: 2.

46. Способ определения, связывается ли исследуемый полипептид с полипептидом tim-

1, где исследуемый полипептид содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотам 31-133 последовательности SEQ ID NO:

3, где способ предусматривает

(a) приведение в контакт исследуемого полипептида с полипептидом tim-1; и

(b) выявление наличия образования комплекса между исследуемым полипептидом и полипептидом tim-1,

где исследуемый полипептид определяется как способный связываться с полипептидом tim-1, если выявляется образование комплекса.

47. Способ по п.46, где полипептид tim-1 содержит

(i) аминокислоты 21-126 последовательности SEQ ID NO: 1;

(ii) аминокислоты 21-129 последовательности SEQ ID NO: 2;

(iii) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотам 21-126 последовательности SEQ ID NO: 1; или

(iv) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотам 21-129 последовательности SEQ ID NO: 2.

48. Способ определения, связывается ли исследуемый полипептид с полипептидом tim-4, где исследуемый полипептид содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотам 21-126 последовательности SEQ ID NO:

1, где способ предусматривает

(a) приведение в контакт исследуемого полипептида с полипептидом tim-4; и

(b) выявление образования комплекса между исследуемым полипептидом и полипептидом tim-4;

где исследуемый полипептид определяется как способный связываться с полипептидом tim-4, если выявляется образование комплекса.

49. Способ по п.48, где полипептид tim-4 содержит

(i) аминокислоты 31-133 последовательности SEQ ID NO: 3;

(ii) аминокислоты 31-134 последовательности SEQ ID NO: 4;

(iii) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотам 31-133 последовательности SEQ ID NO: 3;

(iv) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотам 31-134 последовательности SEQ ID NO: 4; или

(v) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична полипептиду tim-4, содержащему аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12.

50. Способ профилактики atopического заболевания у пациента, где способ предусматривает введение пациенту терапевтически эффективного количества полипептида, где полипептид содержит

(i) аминокислоты 31-133 последовательности SEQ ID NO: 3;

(ii) аминокислоты 31-134 последовательности SEQ ID NO: 4;

(iii) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислоте 31-133 последовательности SEQ ID NO: 3;

(iv) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислоте 31-134 последовательности SEQ ID NO: 4; или

(v) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична полипептиду tim-4, содержащему аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12.

51. Способ лечения или профилактики инфекции гепатитом А у пациента, при наличии такой необходимости, где способ предусматривает введение пациенту терапевтически эффективного количества полипептида, который содержит

(i) аминокислоты 31-133 последовательности SEQ ID NO: 3;

(ii) аминокислоты 31-134 последовательности SEQ ID NO: 4;

(iii) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотам 31-133 последовательности SEQ ID NO: 3;

(iv) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотам 31-134 последовательности SEQ ID NO: 4;

(v) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична полипептиду tim-4, содержащему аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12.

52. Способ по п.51, где пациент не был поражен гепатитом А.

53. Способ по п.51, где пациент не был инфицирован вирусом гепатита А.

54. Способ по п.51, где пациент является серонегативным по антителам к гепатиту А.

55. Способ по п.51, где пациент является ребенком.

56. Способ по п.51, где atopическое заболевание выбрано из группы, состоящей из астмы, ринита, экземы и сенной лихорадки.

57. Выделенный полипептид, содержащий IgV домен tim-4, внутриклеточный домен tim-4 и усеченный муциновый домен tim-4, где полипептид не содержит трансмембранный домен tim-4.

58. Полипептид по п.57, где полипептид представляет собой полипептид человека или мыши.

59. Полипептид по п.57, где IgV домен tim-4 содержит аминокислоты 31-133 последовательности SEQ ID NO: 3.

60. Полипептид по п.57, где IgV домен tim-4 содержит аминокислоты 31-134 последовательности SEQ ID NO: 4.

61. Выделенный полипептид по п.57, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9.

62. Выделенный полипептид по п.57, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11.

63. Выделенный полипептид по п.57, дополнительно содержащий домен Fc иммуноглобулинового или альбуминового полипептида.

64. Композиция, содержащая выделенный полипептид по п.57 и фармацевтически приемлемый носитель.

65. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая полипептид по п.57.

66. Выделенный полипептид, содержащий IgV домен tim-4 и усеченный муциновый домен tim-4, где полипептид не содержит трансмембранный домен tim-4 или внутриклеточный домен tim-4.

67. Выделенный полипептид по п.66, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10.

68. Выделенный полипептид по п.66, содержащий также домен Fc иммуноглобулинового или альбуминового полипептида.

69. Композиция, содержащая выделенный полипептид по п.66 и фармацевтически приемлемый носитель.

70. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая полипептид по п.66.

71. Способ усиления экспансии Т-клеток у пациента, где способ предусматривает введение пациенту полипептида tim-4 в количестве, достаточном для усиления экспансии Т-клеток.

72. Способ по п.71, где пациент поражен патогеном.

73. Способ подавления экспансии Т-клеток у пациента, где способ предусматривает введение пациенту полипептида tim-4 в количестве, достаточном для подавления экспансии Т-клеток.

74. Способ по п.73, где пациент поражен Th1-опосредованным или Th2-опосредованным заболеванием.