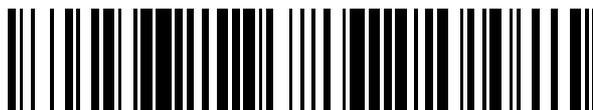


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 370 035**

51 Int. Cl.:
G01N 33/564 (2006.01)
G01N 33/50 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06724680 .1**
96 Fecha de presentación: **02.05.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1880219**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **23.01.2008**

54 Título: **GRP18 COMO BIOMARCADOR PARA LA RESPUESTA INMUNE MEDIADA POR TH1.**

30 Prioridad:
03.05.2005 GB 0508988

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
12.12.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
12.12.2011

73 Titular/es:
Novartis AG
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH

72 Inventor/es:
WERNER, Gudrun;
LAMETTSCHWANDTNER, Günther;
GUENTHER, Claudia y
CARBALLIDO HERRERA, José, M.

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 370 035 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

GPR18 como biomarcador para la respuesta inmune mediada por Th1

La presente invención hace referencia a un receptor, tal como la utilización del receptor GPR18 acoplado a proteínas G.

- 5 Los receptores acoplados a proteínas G (GPRs, por sus siglas en inglés) constituyen una clase principal de proteínas responsables de la transducción de una señal dentro de una célula y representan una de las mayores familias de proteínas con más de 350 genes revelados en el genoma humano.

10 Los GPR tienen 3 dominios estructurales: un dominio extracelular amino terminal, un dominio transmembranal que contiene 7 segmentos transmembranales, 3 bucles extracelulares y 3 bucles intracelulares y un dominio intracelular carboxi-terminal. Ante la unión de un ligando con una parte extracelular de un GPR, se transduce una señal dentro de la célula que da como resultado un cambio en una propiedad biológica o fisiológica de la célula. Los GPR, junto con las proteínas G y efectores tales como por ejemplo enzimas intracelulares y canales modulados por proteínas G, son los componentes de un sistema de señalización modular que conecta el estado de segundos mensajeros intracelulares con entradas extracelulares.

15 Por lo tanto, los GPR son una diana principal para la acción y desarrollo de fármacos. Por ello, es valioso para el campo del desarrollo farmacéutico identificar y caracterizar los GPR antes desconocidos. Como un GPR nuevo, se identificó el receptor GPR18 acoplado a proteínas G (véase por ejemplo, Gantz I. et al., Genomics 1997, 42:462-466). Poco se sabe de la función del GPR18, por ejemplo, además de no tener evidencias, tampoco se conoce su ligando.

20 La patente US 20040018522 informa sobre diferencias en la expresión del gen en células de sangre periférica medida con micromatrices de ADN entre voluntarios saludables o pacientes no autoinmunes (ELA) y pacientes que padecen esclerosis múltiple. El gen GPR18 aparece en la Tabla 4 como un gen (entre muchos otros) con sensibilización de receptores en muestras de pacientes con esclerosis múltiple.

25 La patente WO 03088808 revela la utilización de los llamados polipéptidos TAT, entre ellos se encuentran los polipéptidos derivados de GPR18 revelados, en particular para el tratamiento del cáncer. La asociación de la expresión del gen GPR18 y el cáncer deriva de los perfiles de expresión del gen en tejido normal y tumores.

La patente EP1121431 revela receptores acoplados a proteína G humana (GPR) que han sido modificados de modo tal que los GPCR ahora se expresan de manera constitutiva. También se revela la utilización de los GPCR modificados para la evaluación de compuestos terapéuticos. En los ejemplos se hace referencia a GPR18.

30 De manera sorprendente, encontramos una correlación importante entre la expresión de GPR18 y el fenotipo Th1 de linfocitos T humanos y por lo tanto una correlación importante entre GPR18 y trastornos autoinmunes impulsados por Th1. También encontramos que GPR18 se expresa mucho menos en células Th2 que en células Th1. Por lo tanto, GPR18 puede utilizarse como diana para la inhibición específica de respuestas inmunes mediadas por Th1, por ejemplo asociadas a Th1, por ejemplo como un biomarcador para controlar específicamente la infiltración de
35 células Th1 en la piel inflamada.

Por ejemplo, la psoriasis es una enfermedad cutánea inflamatoria mediada por respuestas Th1 exacerbadas. Por lo tanto, la inhibición específica de la activación celular por Th1 y producción de citocina producirá una mejora del fenotipo psoriásico. Sin embargo, una inhibición general de respuestas de linfocitos T haría a un paciente vulnerable a todo tipo de agentes infecciosos. Por lo tanto, un fármaco seguro y efectivo contra enfermedades mediadas por
40 Th1 inhibiría de manera específica las respuestas de Th1 incrementadas.

El papel dominante de T-bet que induce la diferenciación de células Th1 hace de esta molécula, y de sus dianas de vía descendente, excelentes candidatas para la intervención terapéutica en la psoriasis y en enfermedades autoinmunes. Con este fin, T-bet, el factor de transcripción clave para la función celular de Th1, (véase por ejemplo, Szabo et al., Cell. 2000 Mar 17;100(6):655-69) se expresa de manera ectópica en células Th2 derivadas de piel que
45 no expresan T-bet. A los cambios transcripcionales, que son directa o indirectamente (a través de una respuesta incrementada a IL-12) inducidos por T-bet les sigue la comparación de los niveles de ARNm de genes mediante análisis en micromatriz (micromatrices U133A y B Affymetrix) de células Th2 transfectadas por T-bet con células de control transfectadas (Lametschwandtner et al., J Allergy Clin. Immunol. 2004, 113(5):987-94).

De manera sorprendente, encontramos que el gen que codifica el receptor GPR18 acoplado a proteínas G es
50 inducido por la estimulación de T-bet y TCR.

La inducción específica de GPR18 en linfocitos T derivados de células Th1 polarizadas de la piel se verifica mediante PCR en tiempo real. Los resultados se exponen en la Figura 1 y en la Tabla 1 a continuación. Además, el GPR18 puede ser inducido específicamente por condiciones de polarización de Th1 en linfocitos T coadyuvantes generados por precursores no activados.

- 5 Por lo tanto, encontramos una correlación importante entre la expresión de GPR18 y el fenotipo Th1 de linfocitos T humanos y la psoriasis como enfermedad autoinmune impulsada por Th1. Se encontró que GPR18 es un biomarcador para el control específico de la infiltración de células Th1 en piel inflamada y generalmente como una diana para la inhibición específica de respuestas inmunes mediadas por Th1.

En varios aspectos, la presente aplicación revela

- 10 1. GPR18 para la utilización, por ejemplo, o la utilización de GPR18
- 1.1 como diana para, por ejemplo, la inhibición específica de respuestas inmunes mediadas por Th1;
 - 1.2 como diana para, por ejemplo, la inhibición específica de la activación de células Th1;
 - 1.3 para el diagnóstico de trastornos mediados, por ejemplo asociados con, por ejemplo, impulsados por, por ejemplo, exacerbados por la activación de células Th1;
 - 15 1.4 para el diagnóstico de trastornos inmunes mediados, por ejemplo asociados con, por ejemplo, impulsados por, por ejemplo, exacerbados por la activación de células Th1;
 - 1.5 para el diagnóstico de trastornos autoinmunes mediados, por ejemplo asociados con, por ejemplo, impulsados por, por ejemplo, exacerbados por la activación de células Th1;
 - 20 1.6 para el diagnóstico de trastornos inflamatorios asociados con enfermedades inmunes, tales como autoinmunes, mediados, por ejemplo asociados con, por ejemplo, impulsados por, por ejemplo, exacerbados por la activación de células Th1;
 - 1.7 para el diagnóstico de psoriasis mediada por, por ejemplo asociada con, por ejemplo, impulsada por, por ejemplo, exacerbada por la activación de células Th1;
 - 1.8 para el control de la infiltración de células Th1 en piel inflamada.

25 En varios otros aspectos, la presente aplicación revela

2. GPR18, por ejemplo o la utilización de GPR18, para cualquiera de las utilizaciones que se indican en 1.1 a 1.8, 2.1 como biomarcador,

por ejemplo en una muestra de un individuo,

por ejemplo en una muestra de un fluido corporal o una muestra de un tejido de un individuo,

30 por ejemplo en una muestra para biopsia de un individuo,

por ejemplo en una muestra para biopsia de piel de un individuo.

GPR18, como se indica en cualquiera de los puntos anteriores 1 ó 2, incluye GPR18 en cualquier forma, por ejemplo, en la forma de

35 - un ácido nucleico que codifica GPR18, por ejemplo, incluyendo un ácido nucleico que codifica un derivado de GPR18,

- proteína GPR18, por ejemplo incluyendo una proteína que es un derivado de GPR18, o

- células que secretan GPR18, por ejemplo, o un derivado de células que secretan GPR18.

40 "Un derivado" de un ácido nucleico o proteína GPR18, por ejemplo, en células que secretan, según la presente invención, incluye un fragmento, mutante, variante, homólogo o modificación de una proteína GPR18, o de un ácido nucleico que codifica GPR18, que retiene, por ejemplo, esencialmente, la función biológica de GPR18, por ejemplo,

que retiene, por ejemplo esencialmente, la función biológica de GPR18 como mediador en respuestas inmunes mediadas por Th1. Las células que secretan GPR18, por ejemplo, incluyendo las células que producen GPR18, incluyen células que presentan antígeno (APC, por sus siglas en inglés), tales como, por ejemplo, monocitos y células dendríticas (DC, por sus siglas en inglés).

5 Por lo tanto, GPR18 para su utilización como se revela en la presente aplicación incluye variantes derivadas de un empalme ("splice variants") codificadas por ARNm generadas mediante el empalme alternativo de una transcripción primaria, mutantes de aminoácidos, modificaciones postraslacionales, tales como variantes de glicosilación y fosforilación, y modificaciones que son derivados covalentes de GPR18 y que retienen la función biológica de GPR18. Derivados de GPR18, a modo de ejemplo, incluyen modificaciones en donde la proteína GPR18 es
10 modificada, de manera covalente, por sustitución, por ejemplo, sustitución originada mediante los medios apropiados, por ejemplo, medios químicos o enzimáticos, por una fracción en la proteína GPR18. Tal fracción incluye por ejemplo uno o más aminoácidos, por ejemplo aminoácidos naturales y otros aminoácidos no naturales, y/o una fracción detectable. Una fracción detectable incluye una enzima, un radioisotopo, etiquetas, toxinas y genes tales como oncogenes y genes supresores de tumor. Los derivados de GPR18 también incluyen variantes naturales
15 de GPR18, por ejemplo que se generan dentro de una especie en particular. Tal variante puede estar codificada por un gen relacionado de la misma familia del gen, por una variante alélica de un gen particular, o representar una variante derivada de empalme alternativa del gen GPR18.

Un derivado de GPR18 como se revela en la presente también incluye fragmentos de un ácido nucleico que codifica GPR18, o de una proteína GPR18, y comprende dominios individuales de GPR18 y polipéptidos más pequeños
20 derivados de dominios GPR18. De modo preferente, polipéptidos más pequeños derivados de GPR18 según la invención definen una sola actividad funcional que es característica de GPR18. Los fragmentos pueden ser en teoría de casi cualquier tamaño, siempre que retengan la característica biológica de GPR18. De modo preferente, los fragmentos tendrán entre 12 y 210 ácidos nucleicos de longitud o entre 4 y 70 aminoácidos respectivamente. Los fragmentos más largos son denominados truncamientos del GPR18 completo.

25 Los derivados de GPR18 tal como se revela en la presente patente, también comprenden mutantes del mismo, que pueden contener deleciones de aminoácidos, adiciones o sustituciones, siempre que cumplan con el requisito de conservar la función biológica del GPR18. Las sustituciones conservadoras de aminoácidos pueden realizarse de manera sustancial sin modificar la naturaleza del GPR18, por ejemplo mediante truncamientos de los extremos 5' o 3'. Las deleciones o sustituciones también incluyen deleciones y sustituciones en los fragmentos de GPR18. Los
30 mutantes de GPR18 pueden producirse a partir de ADN que codifica GPR18 que ha sido sometido a mutagénesis in vitro dando como resultado, por ejemplo una adición, intercambio y/o deleción de uno o más aminoácidos en GPR18. Por ejemplo, las variantes por sustitución, deleción o inserción de GPR18 pueden prepararse mediante métodos recombinantes y evaluarse para detectar similitud funcional con las formas nativas de GPR18.

Los derivados de GPR18 como se revelan en la presente también incluyen homólogos de GPR18, preferentemente
35 homólogos de GPR18 que retienen homología sustancial con GPR18. Como se utiliza en la presente patente, "homología" significa que GPR18 y un homólogo de GPR18 comparten suficientes características para retener la función biológica del GPR18. De manera preferente, la homología se utiliza para hacer referencia a la identidad de secuencia. Por lo tanto, los derivados de GPR18 retienen preferentemente la identidad de secuencia sustancial con la secuencia de ácido nucleico como se indica en Gantz I. et al., Genomics 42, 462-466, 1997 o la secuencia de
40 proteína trasladada de la misma.

"Homología sustancial", donde homología indica la identidad de secuencia, significa más del 50% de identidad de secuencia, preferentemente más del 75% de identidad de secuencia, más preferentemente una identidad de secuencia del 80% y más, por ejemplo 90% y más, tal como 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99%.

45 Preferentemente, GPR18 proviene de un mamífero.

El ácido nucleico que codifica GPR18 preferentemente tiene la secuencia de ácido nucleico que se describe en Gantz I. et al., Genomics 42, 462-466, 1997 y código de acceso de GenBank N° L42324.

La proteína GPR18 preferentemente corresponde a la secuencia de proteína traducida del ácido nucleico mencionado con anterioridad.

50 Biomarcador, tal como se revela en la presente patente, significa que la determinación (= detección y/o cuantificación) de una molécula GPR18 en una muestra de un individuo es un indicador de un trastorno o enfermedad en sí y/o es útil para el control del estado de un trastorno o enfermedad asociado con respuestas inmunes mediadas por Th1, por ejemplo respuestas autoinmunes, por ejemplo respuestas autoinmunes relacionadas con inflamación, tales como enfermedades cutáneas inflamatorias, por ejemplo, incluyendo psoriasis.

En otro aspecto, la presente solicitud revela un método para el diagnóstico de un trastorno o enfermedad que es mediado, por ejemplo asociado con, por ejemplo, impulsado por, por ejemplo, exacerbado por la activación de células Th1, que comprende

a) proporcionar una muestra de un individuo,

5 b) determinar el nivel de GPR18 en dicha muestra,

c) comparar el nivel de GPR18 determinado en el paso b) con un nivel de referencia de una muestra de un individuo de control sano, y

10 d) diagnosticar un trastorno o enfermedad que es mediado, por ejemplo asociado con, por ejemplo, impulsado por, por ejemplo, exacerbado por la activación de células Th1 mediante la determinación de si el nivel de GPR18 determinado en el paso b) es, por ejemplo, significativamente diferente de dicho nivel de referencia.

En otro aspecto la presente aplicación revela un método para el control de la eficacia terapéutica en el tratamiento de un individuo con una sustancia que se espera que tenga un efecto en la reducción o cura de un trastorno o enfermedad que es mediado, por ejemplo asociado con, por ejemplo, impulsado por, por ejemplo, exacerbado por la activación de células Th1, cuyo método comprende la determinación del nivel de GPR18 en una muestra de dicho individuo y la comparación de ese nivel con el nivel de GPR18 previo a la administración de dicha sustancia.

Una muestra de un individuo según una utilización o un método de la presente aplicación incluye una muestra de un fluido corporal o una muestra de tejido. Un fluido corporal puede ser derivado de por ejemplo la sangre, por ejemplo, incluyendo células mononucleares aisladas, o de una fracción de sangre, por ejemplo, incluyendo plasma o suero, preferentemente suero. Una muestra de tejido puede ser una biopsia, por ejemplo tal como una biopsia de la piel.

20 En otro aspecto, la presente aplicación revela una utilización o un método de la presente invención en donde una muestra es un fluido corporal o una muestra de tejido de un individuo, por ejemplo, un fluido corporal puede ser derivado de la sangre, por ejemplo células mononucleares aisladas, o de una fracción de sangre, por ejemplo, plasma o suero, por ejemplo la muestra de tejido puede ser una biopsia, por ejemplo tal como una biopsia de la piel.

25 Los medios de detección del nivel de GPR18 incluyen medios como los convencionales, por ejemplo, inmunoensayos, tales como un método de inmunodiagnóstico, un inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés); un ensayo basado en fluorescencia, tal como fluoroinmunoensayo por disociación incrementada con lantánida (DELFI, por sus siglas en inglés), un ensayo radiométrico o mediante una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) específica de GPR18; específicamente los medios de detección incluyen una molécula que reconoce específicamente GPR18, por ejemplo, una molécula que es detectable directa o indirectamente, preferentemente que comprende un anticuerpo, que incluye derivados del anticuerpo o fragmentos del mismo, por ejemplo, un anticuerpo que reconoce GPR18, por ejemplo, una etiqueta que tiene un anticuerpo que reconoce GPR18. Tal etiqueta puede ser una etiqueta convencional, por ejemplo, biotina o una enzima tal como fosfatasa alcalina (FA), peroxidasa de rábano (HRP) o peroxidasa (POD) o una molécula fluorescente, por ejemplo, un tinte fluorescente, tal como por ejemplo, isotiocianato de fluoresceína. Preferentemente, la etiqueta es biotina. La molécula que lleva la etiqueta, por ejemplo, el anticuerpo que lleva la etiqueta, puede ser detectado según métodos convencionales, por ejemplo, a través de métodos de medición de fluorescencia o detección de enzimas.

Un fragmento de anticuerpo o derivado de anticuerpo incluye un fragmento o un derivado, por ejemplo, química o enzimáticamente modificado, de un anticuerpo que todavía es capaz de reconocer GPR18.

40 Las células que secretan GPR18 en una muestra de un fluido corporal de un individuo, por ejemplo, sangre, pueden determinarse mediante un método convencional, por ejemplo, mediante el siguiente método:

45 Las células pueden purificarse, por ejemplo, separarse por un gradiente de densidad, de la muestra, por ejemplo, sangre, y las células purificadas obtenidas son teñidas. Los anticuerpos anti-GPR18, por ejemplo, anticuerpos anti-GPR18 etiquetados con fluorescencia, son agregados a la preparación de células teñidas, de manera opcional después de la estimulación de las células, por ejemplo con interleucina-4, y se determina el nivel de células que secretan GPR18.

50 De manera opcional, GPR18 comprendido en la muestra o la molécula que reconoce el GPR18, por ejemplo, detectable, comprendido en los medios de detección se inmoviliza en una fase sólida. Una fase sólida apropiada incluye, por ejemplo, fases sólidas convencionales utilizadas para la inmovilización, por ejemplo, una placa plástica como una placa de poliestireno o polivinilo, en especial una placa de microtitulación. También pueden utilizarse microperlas como una fase sólida, por ejemplo microperlas recubiertas. La fase sólida puede ser recubierta con un material de recubrimiento cuya naturaleza depende, por ejemplo, de la etiqueta comprendida en los medios de detección. El material de recubrimiento debería poder unirse a la etiqueta, por ejemplo, si la etiqueta es biotina un

material de recubrimiento incluye estreptavidina, por ejemplo, unión covalente a la fase sólida. Preferentemente, la determinación de GPR18 se realiza utilizando una molécula que reconoce específicamente el GPR18, por ejemplo, un anticuerpo, un derivado de anticuerpo, o un fragmento de anticuerpo, tal como un anticuerpo anti GPR18, por ejemplo un anticuerpo específico de GPR18 disponible comercialmente. La detección de la formación del anticuerpo GPR18 se realiza preferentemente mediante un método de ensayo de inmunodiagnóstico.

En otro aspecto la presente aplicación revela un método para el diagnóstico de una enfermedad o trastorno que es mediado, por ejemplo asociado con, por ejemplo, impulsado por, por ejemplo, exacerbado por la activación de células Th1, según la presente invención en donde el nivel de GPR18 se determina mediante la utilización de un anticuerpo específico de GPR18.

Trastornos y enfermedades mediados, por ejemplo asociados con, por ejemplo, impulsados por, por ejemplo, exacerbados por la activación de células Th1 para los cuales puede utilizarse GPR18 según la presente invención, por ejemplo, para los cuales GPR18 puede utilizarse como se establece en 1.1 a 1.8 con anterioridad, incluye trastornos y enfermedades del sistema inmune, por ejemplo trastornos y enfermedades autoinmunes, por ejemplo trastornos y enfermedades asociados con inflamación, que son mediados por la activación de células Th1, tales como enfermedades cutáneas inflamatorias, psoriasis, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad de Crohn, esclerosis múltiple, diabetes, lupus, por ejemplo lupus eritematoso sistémico, trastornos asociados con trasplantes, por ejemplo, incluyendo crisis de rechazo de trasplante y otros trastornos posteriores al trasplante, tales como rechazo de trasplante de órgano o tejido, por ejemplo, para el tratamiento de receptores de por ejemplo corazón, pulmón, corazón-pulmón combinados, hígado, riñón, páncreas, piel, trasplante de córnea, enfermedad de huésped contra injerto, tales como después del trasplante de médula ósea, y cáncer y enfermedades asociadas con ellos, por ejemplo, cáncer asociado a la activación de células Th1.

Trastornos y enfermedades para los cuales puede utilizarse GPR18 según la presente invención incluyen específicamente psoriasis y condiciones que surgen en un paciente que padece psoriasis, por ejemplo artritis psoriásica.

La psoriasis es una enfermedad autoinmune que está asociada con la activación de células Th1 y que está asociada con enfermedad cutánea inflamatoria en la cual las células de la piel se replican a una tasa extremadamente rápida. Las nuevas células de la piel son producidas unas 8 veces más rápido que las normales - durante varios días en lugar de un mes - pero la tasa a la cual las células viejas se desprenden sigue siendo la misma. Esto hace que las células se acumulen en la superficie de la piel, forman parches gruesos, o placas, de marcas rojas (lesiones) cubiertas de células de la piel muertas escamosas blanco-plateadas.

La psoriasis, que raramente pone en peligro la vida, en su forma leve, puede producir picazón y dolor. En su forma más grave, es dolorosa y debilitante y puede desfigurar. Aproximadamente 2/3 de las personas con psoriasis tienen una forma leve de la enfermedad. Aproximadamente 1/3 padecen psoriasis moderada o severa. La psoriasis puede afectar a personas a cualquier edad, pero es más frecuente en personas de 15 a 35 años.

Existen 5 formas de psoriasis. Las placas de psoriasis son la psoriasis más común, y afectan a 4 de cada 5 personas que padecen psoriasis. Las placas de psoriasis pueden comenzar con pequeños hinchazones rojos y progresan a lesiones más grandes.

Las placas de psoriasis se producen con más frecuencia en los codos, rodillas, otras partes de las piernas, cuero cabelludo, espalda, cara, palmas y plantas de los pies. La psoriasis también puede afectar las uñas de los pies y de las manos, y provocar marcas, decoloración o acumulación de tejido alrededor de las uñas.

Según el Instituto Nacional de Artritis y Enfermedades Musculo-esqueléticas y de la Piel, aproximadamente el 15% de las personas que padecen psoriasis también tienen artritis psoriásica, que puede ser progresivamente inhabilitante si no se trata.

Se cree que los linfocitos T (células T) juegan un papel importante en la psoriasis y se encontró que la activación de las células Th1 juega un papel muy importante. La psoriasis también tiene un componente genético: en casi 1/3 de los casos de psoriasis hay antecedentes familiares de la enfermedad.

Los linfocitos T circulan en todo el cuerpo, coordinando la respuesta del sistema inmune contra invasores foráneos como bacteria y virus. En personas con psoriasis, los linfocitos T defectuosos son hiperactivos y migran a la piel como si fueran a curar una herida o proteger contra una infección. Este proceso lleva al rápido crecimiento de células de la piel, produciendo inflamación y desarrollo de lesiones. Hasta ahora, no existe una prueba para diagnosticar psoriasis, pero un dermatólogo, habitualmente, puede determinarla por la apariencia de la piel y revisando la historia clínica personal y familiar de un individuo.

Un dermatólogo habitualmente puede determinar un caso de psoriasis por la apariencia de la piel y revisando la historia clínica personal y familiar de un individuo, pero, hasta ahora, no existe una prueba para el diagnóstico de psoriasis.

5 En otro aspecto la presente aplicación revela un kit para la detección de un agente para el tratamiento de un trastorno o enfermedad mediado, por ejemplo asociado con, por ejemplo, impulsado por, por ejemplo, exacerbado por la activación de células Th1, por ejemplo psoriasis, en una muestra de un individuo que comprende

a) una molécula que reconoce GPR18, opcionalmente en una forma etiquetada,

b) instrucciones de uso,

c) opcionalmente medios de detección, y

10 d) opcionalmente una fase sólida.

En otro aspecto la presente aplicación revela un kit para el diagnóstico de un trastorno o enfermedad mediado, por ejemplo asociado con, por ejemplo, impulsado por, por ejemplo, exacerbado por la activación de células Th1 en una muestra de un individuo que comprende

a) una molécula que reconoce GPR18, opcionalmente en una forma etiquetada,

15 b) instrucciones de uso,

c) opcionalmente medios de detección,

d) opcionalmente una fase sólida.

Tal kit también comprende un componente sustancial, por ejemplo, que incluye un entorno apropiado de una muestra a ser testada y por ejemplo medios apropiados para determinar GPR18 en una muestra a ser testada.

20 En otro aspecto la presente invención proporciona un ensayo para la identificación de un agente que modula la activación de células Th1 que comprende

a) determinar el nivel de GPR18 en células Th1, en ausencia y presencia de un compuesto candidato que se espera que module el nivel de GPR18,

25 b) identificar un compuesto candidato que modula el nivel de GPR18 como se determina en el paso a) como un agente, por ejemplo y

utilizar tal agente como producto farmacéutico en el tratamiento de trastornos o enfermedades mediados, por ejemplo asociados con, por ejemplo, impulsados por, por ejemplo, exacerbados por la activación de células Th1.

Un sistema de prueba específico para GPR18 puede comprender células que secretan GPR18 o puede ser un sistema que tiene una actividad específica de GPR18.

30 El nivel de GPR18 se determina según corresponda, por ejemplo, como se describe en la presente.

Un compuesto candidato como se describe en la presente es un compuesto que puede esperarse que module el nivel de actividad de células Th1 a través de la modulación del nivel de GPR18, por ejemplo, la actividad de GPR18 o células que secretan GPR18, e incluye el compuesto/librerías de compuestos cuya influencia sobre GPR18 puede determinarse. El compuesto/librerías de compuestos incluye por ejemplo oligopéptidos, polipéptidos, proteínas, anticuerpos, miméticos, moléculas pequeñas, por ejemplo, compuestos de bajo peso molecular (BPM).

35 Un agente es un compuesto candidato que modula, por ejemplo, reduce el nivel de activación de Th1 mediante inhibición de GPR18, por ejemplo, en una muestra de un paciente, por ejemplo, una muestra de sangre, tal como suero, o una biopsia de la piel. Un agente incluye oligopéptidos, polipéptidos, proteínas, anticuerpos, miméticos, moléculas pequeñas, por ejemplo, compuestos de bajo peso molecular (BPM).

40 En otro aspecto la presente invención proporciona un agente identificado mediante un ensayo o un método de la presente invención.

Un agente de la presente invención puede exhibir actividad farmacológica y por lo tanto es útil como producto farmacéutico. Un agente de la presente invención puede mostrar actividad terapéutica, por ejemplo, en trastornos o enfermedades mediados, por ejemplo asociados con, por ejemplo, impulsados por, por ejemplo, exacerbados por la activación de células Th1.

5 En otro aspecto la presente invención proporciona un inhibidor de GPR18 de la presente invención para la utilización en el tratamiento de trastornos mediados, por ejemplo asociados con, por ejemplo, impulsados por, por ejemplo, exacerbados por la activación de células Th1, en donde dicho inhibidor de GPR18 es un anticuerpo que reduce el nivel de activación células Th1 a través de la inhibición de GPR18.

10 Para la utilización farmacéutica un agente de la presente invención para el tratamiento incluye uno o más, preferentemente un, anticuerpo de la presente invención, por ejemplo, una combinación de dos o más anticuerpos de la presente invención.

En otro aspecto la presente invención proporciona la utilización de un anticuerpo de la presente invención para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de trastornos o enfermedades mediados, por ejemplo asociados con, por ejemplo, impulsados por, por ejemplo, exacerbados por la activación de células Th1.

15 En otro aspecto la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el inhibidor de GPR18 de la presente invención además de al menos un excipiente farmacéutico, por ejemplo un portador y/o diluyente apropiado, por ejemplo incluyendo rellenos, ligantes, desintegradores, acondicionadores de flujo, lubricantes, azúcares y edulcorantes, fragancias, conservantes, estabilizadores, agentes humectantes y/o emulsionantes, sales para regular la presión osmótica y/o tampones, para su utilización en el tratamiento de trastornos mediados por la activación de células Th1, en donde dicho inhibidor de GPR18 es un anticuerpo que reduce el nivel de activación de células Th1 mediante la inhibición del GPR18.

El tratamiento de trastornos o enfermedades mediados, por ejemplo asociados con, por ejemplo, impulsados por, por ejemplo, exacerbados por la activación de células Th1 puede lograrse mediante la administración de una cantidad efectiva de un anticuerpo de la presente invención a una persona que necesita tal tratamiento.

25 Para tal tratamiento, la dosis apropiada variará, por supuesto, según, por ejemplo, la naturaleza química y los datos farmacocinéticos de un compuesto de la presente invención utilizado, el individuo huésped, el modo de administración y la naturaleza y gravedad de las condiciones tratadas. Sin embargo, en general, para obtener resultados satisfactorios en mamíferos grandes, por ejemplo humanos, una dosis diaria indicada incluye un rango de

- entre aproximadamente 0,001g y aproximadamente 1,5g, tal como de 0,001g a 1,5g;

30 - entre aproximadamente 0,01mg/kg de peso corporal y aproximadamente 20mg/kg de peso corporal, tal como de 0,01mg/kg de peso corporal a 20mg/kg de peso corporal,

por ejemplo administrada en dosis divididas hasta cuatro veces por día.

35 Un anticuerpo de la presente invención puede administrarse por una vía convencional, por ejemplo por vía enteral, por ejemplo, incluyendo administración nasal, bucal, rectal, oral; parenteral, por ejemplo, incluyendo administración intravenosa, intramuscular, subcutánea; o tópica, por ejemplo, incluyendo administración epicutánea, intranasal, intratráqueal; a través de dispositivos médicos para la administración local, por ejemplo, stents, por ejemplo, en forma de tabletas recubiertas o no recubiertas, cápsulas, soluciones (inyectables), soluciones sólidas, suspensiones, dispersiones, dispersiones sólidas; por ejemplo, en la forma de ampollas, viales, en la forma de cremas, geles, pastas, polvo inhalador, espumas, tinturas, barras labiales, gotas, rociadores, o en la forma de supositorios.

40 Para uso tópico, por ejemplo, incluyendo administración al ojo, pueden obtenerse resultados satisfactorios con administración tópica de una concentración de 0,5-10 %, tal como 1-3%, de sustancia activa varias veces al día, por ejemplo de 2 a 5 veces por día.

45 Un anticuerpo de la presente invención puede administrarse en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable, por ejemplo un sal o sal metálica de adición de ácido; opcionalmente en la forma de un solvato. Un agente de la presente invención en la forma de una sal puede exhibir el mismo orden de actividad que un agente de la presente invención en forma libre; opcionalmente en la forma de un solvato.

Un anticuerpo de la presente invención puede utilizarse para el tratamiento farmacéutico según la presente invención solo, o en combinación con uno o más agentes farmacéuticamente activos.

50 Las combinaciones incluyen combinaciones fijas, en las cuales dos o más agentes farmacéuticamente activos se encuentran en la misma formulación; kits, en los cuales dos o más agentes farmacéuticamente activos se venden en

formulaciones separadas en el mismo paquete, por ejemplo, con instrucción de coadministración; y combinaciones libres en las cuales los agentes farmacéuticamente activos son empaquetados por separado pero se dan instrucciones de administración simultánea o secuencial.

Descripción de las figuras

5 **Figura 1**

En la figura 1 se muestra la expresión de GPR18 en células Th1 no estimuladas, Th1 estimuladas, Th2 no estimuladas y Th2 estimuladas.

EJEMPLO 1

PCR en tiempo real

10 Los linfocitos T CD4 no son estimulados o son estimulados como se describe (Lametschwandtner et al., J Allergy Clin Immunol 2004: 113 (5), p987-994). El ARN celular total se prepara utilizando el Mini-kit Qiagen RNeasy. El PCR cuantitativo en tiempo real se realiza en un Termociclador Gene Amp 9600 (Perkin Elmer) utilizando cebadores y sondas específicos para genes, que están diseñados con el software PrimerExpress (Applied Biosystems). La
 15 amplificación se realiza utilizando los siguientes parámetros: 2 minutos a 50°C, 30 minutos a 60°C y 5 minutos a 95°C, seguidos de 40 ciclos de 20 segundos a 94°C y 1 minuto a 62°C. Los niveles de GPR18 ARN se calculan utilizando el método deltaCt (Detector de secuencia 3.1, Applied biosystems) y se expresan como porcentaje del gen de mantenimiento HPRT.

Los resultados se exponen en la TABLA 1 a continuación y en la Figura 1.

TABLA 1

20	GPR18	Th1_no est.	Th1_estim.	Th2_ no est.	Th2_estim.
	0	41,90	41,90	32,36	32,36
	1	33,45	177,15	18,56	51,23
	2	36,86	212,14	28,72	51,94
	4	37,50	139,47	23,73	12,63
25	6	29,32	141,91	22,53	10,29
	8	42,04	97,94	24,32	10,33
	24	50,00	34,99	34,03	12,07

30 A partir de la TABLA 1 es evidente que el GPR18 en células TH1 no estimuladas y en células Th2 estimuladas y no estimuladas prácticamente no se expresa mientras que el GPR18 se expresa en altos niveles en células Th1 estimuladas. Estos resultados también se muestran en la Figura 1.

REIVINDICACIONES

1. Inhibidores de GPR18 para su utilización en el tratamiento de trastornos mediados por la activación de células Th1, en donde dicho inhibidor de GPR18 es un anticuerpo que reduce el nivel de activación de células Th1 a través de la inhibición de GPR18.
- 5 2. Inhibidores de GPR18 según la reivindicación 1 para la utilización según la reivindicación 1 en donde dichos trastornos mediados por la activación de células Th1 se seleccionan entre enfermedades inflamatorias, psoriasis, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, esclerosis múltiple, diabetes, lupus, trastornos asociados con trasplantes, cáncer asociado con la activación de células Th1.
- 10 3. Inhibidores de GPR18 según la reivindicación 1 ó 2 para la utilización según la reivindicación 1 y 2, en donde dicho trastorno mediado por la activación de células Th1 es psoriasis.
4. Composición farmacéutica que comprende un inhibidor de GPR18 según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, junto con al menos un excipiente farmacéutico para la utilización en el tratamiento de trastornos mediados por la activación de células Th1, en donde dicho inhibidor de GPR18 es un anticuerpo que reduce el nivel de la activación de células Th1 mediante la inhibición de GPR18.
- 15 5. Un ensayo para la identificación de un agente que modula la activación de células Th1 que comprende
- a) determinar el nivel de GPR18 en células Th1, en la ausencia y presencia de un compuesto candidato que se espera que module el nivel de GPR18,
 - b) identificar un compuesto candidato que modula el nivel de GPR18 como se determina en el paso a) como un agente.

20

