

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 415 138**

51 Int. Cl.:

A61K 31/404 (2006.01)

A61K 31/4439 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.05.2008 E 08750333 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.03.2013 EP 2146710**

54 Título: **p38 alfa como diana terapéutica en carcinoma de vejiga**

30 Prioridad:

18.05.2007 EP 07301049

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

24.07.2013

73 Titular/es:

**INSTITUT CURIE (25.0%)
26, RUE D'ULM
75248 PARIS CEDEX 05, FR;
ASSISTANCE PUBLIQUE - HÔPITAUX DE PARIS
(25.0%);
UNIVERSITE PARIS 12 (25.0%) y
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (25.0%)**

72 Inventor/es:

**BERNARD-PIERROT, ISABELLE;
RADVANYI, FRANÇOIS y
ALLORY, YVES**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 415 138 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

p38 alfa como diana terapéutica en carcinoma de vejiga

Campo de la invención.

- 5 La presente invención se refiere al campo de la medicina, en particular a composiciones y métodos para el tratamiento de carcinoma o tumor de vejiga especialmente relacionado con la mutación del FGFR3.

Antecedentes de la invención.

10 El receptor 3 del factor de crecimiento de fibroblastos (abreviadamente FGFR3 por la expresión inglesa *fibroblast growth factor receptor 3*) pertenece a una familia de receptores de tirosina quinasa relacionados estructuralmente (FGFR1-4) implicados en muchos aspectos de la embriogénesis y la homeostasis de tejidos. Estos receptores regulan diversos procesos biológicos, incluyendo la proliferación, la diferenciación, la migración y la apoptosis. También están implicados en estados patológicos y muchos estudios han subrayado su importancia en enfermedades genéticas del desarrollo y tumores benignos o malignos. Los FGFR tienen un dominio extracelular de unión al ligando compuesto de dos o tres dominios similares a inmunoglobulinas, una región transmembrana y un dominio citoplásmico con actividad tirosina quinasa. El ligando que se une al dominio extracelular conduce a la dimerización del FGFR, induciendo la activación del receptor por transfosforilación de las tirosinas intracelulares. El dominio intracelular interacciona luego con varias proteínas de señalización intracelular que fosforila. Los cortes y empalmes alternativos de mRNA afectan a diferentes regiones de los FGFR. La segunda parte del dominio yuxtamembrana similar a Ig de FGFR1-3 está codificada por dos exones mutuamente excluyentes que dan como resultado dos isoformas diferentes, b y c, que tienen diferente especificidad de ligando y distribución en tejidos. El FGFR3b se expresa principalmente en células epiteliales, mientras que el FGFR3c se encuentra predominantemente en células procedentes del mesénquima, incluyendo los condrocitos.

15 Las mutaciones puntuales específicas de la línea germinal en el FGFR3 están asociadas con diversos trastornos óseos humanos autosómicos dominantes. Todas estas mutaciones generan receptores auto-activados por diversos mecanismos, dependiendo de la posición y naturaleza de la sustitución de nucleótidos.

20 Las mismas mutaciones activadoras del FGFR3 se han identificado en tumores benignos y malignos (WO 00/68424). Los tumores benignos incluyen tumores de la piel (queratosis seborreicas y nevos epidérmicos) (WO 2006/053788) y de la vejiga (papiloma de vejiga). Los tumores malignos incluyen cáncer hematológico, mieloma múltiple y carcinomas de vejiga y de cuello uterino. La frecuencia de mutaciones del FGFR3 es baja en mielomas múltiples y carcinomas de cuello uterino (menos de 2% de los tumores presentan estas mutaciones), pero mucho más alta en carcinomas de vejiga (alrededor de 50%). Se han demostrado claramente las propiedades transformadoras del FGFR3c mutado, la principal isoforma del FGFR3 expresada en el mieloma múltiple. A pesar del hecho de que la isoforma mutada del FGFR3b se encuentra principalmente en tumores benignos o en tumores de bajo potencial maligno, los inventores demostraron recientemente con claridad las propiedades oncogénicas del FGFR3b mutado en células NIH-3T3 y en una línea de células de carcinoma de vejiga. En efecto, el FGFR3b-S249C, la forma mutada más común de FGFR3 en tumores de vejiga, fue capaz de transformar células NIH-3T3, induciendo su crecimiento independiente del anclaje y la formación de tumores cuando se inyectaba por vía subcutánea a ratones atímicos y la desactivación del FGFR3b-Y375C en células MGH-U3 utilizando siRNA disminuyó el crecimiento celular e inhibió el crecimiento independiente del anclaje (Bernard-Pierrot, 2006, *Carcinogenesis*, 4:740-747). Sin embargo, no se esclarecieron los mecanismos moleculares asociados a (responsables de) estas propiedades oncogénicas de los receptores FGFR3 mutados.

25 El cáncer de vejiga es el cuarto tipo de cáncer en los hombres en términos de incidencia y el noveno en las mujeres. Por paciente, es el cáncer más costoso para la sociedad. Sin embargo, el número de tratamientos disponibles de patologías relacionadas con mutaciones del FGFR3 es muy limitado y se necesitan nuevos tratamientos.

30 Un resumen de AACR de abril de 2005 de los inventores describe un resultado *in vitro* que relaciona una línea de células de laboratorio NIH-3T3 transfectadas por un FGFR3-S249C mutado. El FGFR3-S249C activa ERK1/2 y la quinasa P13 y activa específicamente la vía de la MAP quinasa p38. El tratamiento de la línea de células transfectadas por LY294002 o SB203580, inhibidores de la quinasa p13 y la MAP quinasa p38, respectivamente, inhibe el fenotipo transformado de las células y sus capacidades para formar colonias en agar-agar blando. En consecuencia, los autores llegaron a la conclusión de que se requieren las vías tanto de la quinasa p13 como de la p38 para conseguir la transformación celular inducida por FGFR3-S249C. El objetivo de los autores fue el descubrimiento de los mecanismos de la oncogénesis. No hay ninguna sugerencia sobre la utilización de uno de estos inhibidores para cualquier tratamiento. Además, estos datos sólo se refieren a resultados *in vitro* en un modelo de línea celular de laboratorio y el experto en la técnica sabe que es imposible deducir cualquier posible eficacia terapéutica a partir de tales resultados *in vitro*. Por último, no existe información sobre la isoforma de la p38.

Sumario de la invención.

Los inventores establecieron que p38 α es una diana terapéutica para patologías relacionadas con mutaciones del FGFR3, más generalmente para carcinoma o tumor de vejiga, por las siguientes razones:

- la isoforma p38 α es la única isoforma implicada en la proliferación inducida por FGFR3 mutado.

5 - parece que los inhibidores de p38 α son específicos del FGFR3 mutado. En efecto, no bloquean la proliferación inducida por FGFR3 de tipo natural activado en las células 3T3.

10 - usando muestras humanas, se ha demostrado que la mayoría de las muestras de tumores de vejiga expresaron una forma fosforilada de p38 α , que es la forma activada de p38 α . Todas las muestras de tumores de vejiga que alojan la mutación del FGFR3 expresaron una forma fosforilada de p38 α . Curiosamente, algunas muestras humanas con FGFR3 no mutado expresaron también una forma fosforilada de p38 lo que sugiere que, en tumores de vejiga humanos, el papel de p38 α no está limitado a los tumores con mutación del FGFR3. Por ejemplo, todos los tumores de vejiga humanos que presentan mutación de RAS también presentaron una fuerte fosforilación de p38 α .

- los inhibidores de p38 α bloquean la proliferación y capacidad para formar colonias en agar-agar blando inducidas por FGFR3 mutado en una línea de células de tumores de vejiga.

15 - los inhibidores de p38 α bloquean la proliferación *in vivo*, en particular reducen el desarrollo de xenoinjertos de tumores de vejiga en ratón atímico y también la proliferación de células tumorales en un modelo de tumor de piel en ratón.

- los inhibidores de p38 α son eficaces para diversas mutaciones del FGFR3, en particular, S249C e Y375C.

20 Por lo tanto, los inhibidores de p38 α son un tratamiento atractivo contra patologías relacionadas con las mutaciones del FGFR3, debido a su efecto dirigido a las células afectadas. En particular, los inhibidores de p38 α son un tratamiento atractivo contra tumores de vejiga, debido a que podría utilizarse un fármaco contra los tumores con FGFR3 mutado para tratar 50% de los tumores de vejiga, mientras que podría utilizarse por tanto un fármaco contra p38 α para tratar 75% de los tumores de vejiga, incluyendo los tumores con FGFR3 mutado.

25 En consecuencia, la presente invención se refiere al uso de un inhibidor de p38 α para preparar un medicamento para el tratamiento de un carcinoma o tumor de vejiga, relacionado opcionalmente con las mutaciones del FGFR3 o de RAS. La descripción también se refiere a un método para tratar un sujeto que padece un carcinoma o tumor de vejiga, relacionado opcionalmente con las mutaciones del FGFR3 o de RAS, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de p38 α .

30 En una realización particular, el inhibidor de p38 α se selecciona del grupo que consiste en AMG 548, ARQ 101, ARRY-371797, ARRY-614, AR00182263, AZD6703, RPR200765A, RPR203494, BIRB796, SB242235, SB239063, SB681323, R04402257, R03201195, RWJ67657, RWJ67671, RWJ67568, RWJ67411, RWJ66430, KC706, L-167307, SC-80036, SCIO-469, SCIO-323, SD-282, SCI-496, TAK715, VX-702, VX-850, VX-745, SB202190, SB203580, SB220025, SB239063, SC68376, Compuesto 37 (657417 de Amgen), SX-011 y SKF-86002. En una realización preferida, el inhibidor de p38 α es específico de p38 α . Por ejemplo, el inhibidor específico de p38 α se puede seleccionar del grupo que consiste en AMG 548, ARRY-371797, ARRY-614, AR00182263, el Compuesto 37 (657417 de Amgen), SX-011, BIRB796, VX-745, SCIO-469 y SD -282.

En otra realización particular, el inhibidor de p38 α es un siRNA dirigido contra p38 α .

En otra realización particular, el inhibidor de p38 α es una molécula antisentido, una ribozima o un anticuerpo.

40 En una realización preferida, se detecta una p38 α fosforilada en una muestra del sujeto que se ha de tratar. En particular, una muestra del carcinoma o tumor de vejiga presenta una p38 α fosforilada. En una realización más específica, el carcinoma o tumor de vejiga está relacionado con las mutaciones del FGFR3 o de RAS.

En una realización preferida, el sujeto que se ha de tratar tiene un FGFR3 mutado, preferiblemente en el tejido afectado por la patología.

45 En una realización particular, la mutación del FGFR3 se selecciona del grupo que consiste en R248C, S249C, G372C, S373C, Y375C, K652E, K652M, J809G, J809C, J809R, J809L, P250R, G377C, G382R, A393E y N542K, preferiblemente R248C, S249C, G372C, K652E e Y375C, más preferiblemente S249C o Y375C (la numeración de los codones corresponde a la isoforma FGFR3b).

En una realización preferida, el inhibidor de p38 α se administra por vía oral, tópica o parenteral.

50 La descripción se refiere también a un método para seleccionar un sujeto que padece un carcinoma o tumor de vejiga adecuado para ser tratado por un inhibidor de p38 α , que comprende determinar en una muestra de un sujeto si un FGFR3 o RAS tiene una mutación, o si se puede detectar la forma fosforilada de p38 α y seleccionar el sujeto que tiene un FGFR3 o RAS mutado o en el que se puede detectar una forma fosforilada de p38 α .

Descripción de las Figuras.

Figura 1: La transformación de células NIH-3T3 inducida por FGFR3b-S249C es dependiente de p38. Fig. 1A)

Células NIH-3T3 de control (Neo1.5, Neo2.3), células que expresan FGFR3-S249C (S249C1.1, S249C1.2) y células que expresan FGFR3 de tipo natural (R3b1.1, R3b1.3) se privaron de suero durante 24 h y se estimularon, cuando se indicó, con 20 ng/mL de FGF1 en presencia de 50 µg/ml de heparina. Se sometieron a inmunotransferencia 75 µg de proteínas completas de lisados celulares utilizando los siguientes anticuerpos específicos: anticuerpos anti-fosfo-p38 (Pp38), anti-p38, anti-fosfo-Akt (PAkt), anti-Akt, anti-fosfo-p42/p44 (ERK1/2) (Pp42/p44) y anti-p42/p44. Fig. 1B) Lisados celulares (75 µg de proteína) de células S249C1.2 tratadas durante 24 horas con SU5402 30 µM (inhibidor de FGFR) y células no tratadas se sometieron a inmunotransferencia con anticuerpos anti-fosfo-p38 (Pp38) y anti-p38. Fig. 1C) Análisis morfológico de células NIH-3T3 de control (neo1.5) y de células NIH-3T3 que expresan FGFR3-S249C (clon S249C1.2) tratadas durante 48 horas con SU5402 30 µM o SB203580 20 µM (inhibidor de p38). Fig. 1D) Ensayo en agar-agar blando de células que expresan FGFR3-S249C (S249C1.2) en presencia o ausencia de SU5402 30 µM o SB203580 20 µM. Después de 21 días, se contaron las colonias con diámetros mayores de 50 µm. Los datos son los valores medios de dos experimentos independientes realizados por triplicado y se indican los errores típicos.

Figura 2: El empobrecimiento o la inhibición de p38 inhibe la proliferación de células MGH-U3 y su transformación *in vitro* e *in vivo*. Fig. 2A)

La inhibición o el empobrecimiento de FGFR3 inhibe la activación de p38 en las células MGH-U3. Los lisados celulares (75 µg de proteína) de células MGH-U3 tratadas durante 24 horas con SU5402 30 µM (inhibidor de FGFR), las células no tratadas y las células transfectadas con siRNA (72 h después de la transfección) se sometieron a inmunotransferencia con anticuerpos anti-fosfo-p38 (Pp38) y anti-p38. Fig. 2B) Recuadro, lisados celulares (50 µg) de células MGH-U3 transfectadas con siRNA (72 h después de la transfección) se sometieron a inmunotransferencia con anticuerpos anti-p38 o anticuerpos anti-Akt. La inhibición o el empobrecimiento de p38 inhibió la proliferación de células MGH-U3. Se evaluó la incorporación de MTT 72 horas después del tratamiento con SB203580 o de la transfección con siRNA de p38α 200 nM. Fig. 2C) La inhibición de p38 utilizando SB203580 o el empobrecimiento de p38α utilizando siRNA, inhibió el crecimiento independiente del anclaje de las células MGH-U3. Los resultados son los valores medios de dos experimentos independientes realizados por triplicado y se indican los errores típicos. Fig. 2D) La inhibición de p38 inhibe el crecimiento de xenoinjertos de MGH-U3. Se trataron ratones (n = 5 por grupo) diariamente por vía intratumoral con SB203580 o PBS. El día 0 corresponde a 6 días después de la inoculación de las células cuando el volumen del tumor era aproximadamente 50 mm³. Los diámetros de los tumores se midieron a intervalos regulares con calibradores y se calculó el volumen del tumor. Al final del experimento se pesaron los tumores. Los resultados son los valores medios +/- error típico (SE) (n = 10 tumores). Se realizaron análisis estadísticos utilizando la prueba de Wilcoxon para datos independientes. *, p<0,05; ** p <0,01, *** p <0,001.

Figura 3: Se requiere la activación de p38 por FGFR3b-S249C para inducir la proliferación de células epidérmicas tumorales del hocico en ratones transgénicos K5-FGFR3-S249C. Fig. 3A)

Fenotipos de ratones transgénicos K5-FGFR3-S249C (T) y ratones de control compañeros de camada (C). Fig. 3B) Análisis por inmunotransferencia de 75 µg de lisados totales de hocico usando anticuerpos de fosfo-p38 (Pp38) y de p38. T, ratón transgénico, C, ratón control compañero de camada. Fig. 3C) Hocico de ratones transgénicos (T) fueron tratados diariamente durante 2 semanas con acetona o SU5402 100 µM. 75 µg de lisados totales de hocico se sometieron a inmunotransferencia usando fosfo-p38 (Pp38). Fig. 3D) Hocico de ratones transgénicos (T) o ratones de control compañeros de camada (C) se trataron diariamente con acetona o SB203580 100 µM durante 2 semanas. Se evaluó la proliferación de células epidérmicas basales por marcado con BrdU. Se representan el marcado típico de un hocico de ratón transgénico tratado con SB203580 o no tratado, 100 aumentos. Los resultados son los valores medios +/- desviación típica (SD) (n = 5 ratones). Se realizó un análisis estadístico utilizando la prueba t de Student para datos independientes, *** p <0,001.

Figura 4: Activación de p38 en tumor de vejiga humano. Se analizó la fosforilación de p38 por inmunotransferencia de Western en tumores de vejiga humano en diferentes estadios y grados, estado de mutación de FGFR3 y de RAS. Se sometieron a inmunotransferencia 50 µg de lisados completos de tumores de vejiga humanos con anticuerpos anti-fosfo-p38 (Pp38) y anti-p38 (tecnologías de señalización celular). Se muestra (Fig. 4A) una inmunotransferencia de Western típica y todos los resultados se resumen en una tabla (Fig. 4B). El estado de las mutaciones de FGFR3 y de RAS se indican tanto en la Figura 4A (+ = mutado, - = no mutado) como en la Figura 4B (negro = no mutado, gris claro = mutado).

Descripción detallada de la invención.

Definiciones

Cuando se usa "que comprende", se puede sustituir preferiblemente por "que consiste esencialmente en", más preferiblemente por "que consiste en".

Siempre que a lo largo de esta memoria se mencione "tratamiento de un carcinoma o tumor de vejiga" o similar con referencia a un inhibidor de p38α, se entiende que significa:

a) un método de tratamiento (= para tratar) de un carcinoma o tumor de vejiga, comprendiendo dicho método la etapa de administrar (durante al menos un tratamiento) un inhibidor de p38 α (preferiblemente en un material vehículo farmacéuticamente aceptable) a un sujeto, especialmente un ser humano, que necesite dicho tratamiento, en una dosis que permita el tratamiento de dicho carcinoma o tumor de vejiga (= una cantidad terapéuticamente eficaz);

5 b) el uso de un inhibidor de p38 α para el tratamiento de un carcinoma o tumor de vejiga; o un inhibidor de p38 α para el uso en dicho tratamiento (especialmente en un ser humano);

c) el uso de un inhibidor de p38 α para la fabricación de una preparación farmacéutica para el tratamiento de un carcinoma o tumor de vejiga;

10 d) una preparación farmacéutica que comprende una dosis de un inhibidor de p38 α que sea apropiada para el tratamiento de un carcinoma o tumor de vejiga; y/o

e) un producto que contiene un inhibidor de p38 α y otro fármaco en forma de una preparación combinada para uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de un carcinoma o tumor de vejiga.

Siempre que a lo largo de esta memoria se mencione "tratamiento de una patología relacionada con la mutación de FGFR3" o similar con referencia a un inhibidor de p38 α , se entiende que significa:

15 a) un método de tratamiento (= para tratar) de una patología relacionada con la mutación de FGFR3, comprendiendo dicho método la etapa de administrar (durante al menos un tratamiento) un inhibidor de p38 α (preferiblemente en un material vehículo farmacéuticamente aceptable) a un sujeto, especialmente un ser humano, que necesite dicho tratamiento, en una dosis que permita el tratamiento de dicha patología (= una cantidad terapéuticamente eficaz);

20 b) el uso de un inhibidor de p38 α para el tratamiento de una patología relacionada con la mutación de FGFR3; o un inhibidor de p38 α para uso en dicho tratamiento (especialmente en un ser humano);

c) el uso de un inhibidor de p38 α para la fabricación de una preparación farmacéutica para el tratamiento de una patología relacionada con la mutación de FGFR3;

25 d) una preparación farmacéutica que comprende una dosis de un inhibidor de p38 α que sea apropiada para el tratamiento de una patología relacionada con la mutación de FGFR3; y/o

e) un producto que contiene un inhibidor de p38 α y otro fármaco en forma de una preparación combinada para uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de una patología relacionada con la mutación de FGFR3.

30 Por lo tanto, la descripción se refiere al uso de un inhibidor de p38 α para la preparación de un medicamento para tratar una patología relacionada con mutaciones de FGFR3, en particular, un carcinoma o tumor de vejiga. La descripción se refiere también a un método para tratar un sujeto que padece una patología relacionada con mutaciones de FGFR3, en particular un carcinoma o tumor de vejiga, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de p38 α . En un aspecto preferido, el inhibidor de p38 α es específico de p38 α . El inhibidor de p38 α es preferiblemente un inhibidor como se detalla a continuación.

35 En un aspecto preferido, la patología se selecciona del grupo que consiste en mieloma múltiple, carcinomas (tumores epiteliales malignos), tumores epiteliales benignos y condrodisplasias congénitas. En un aspecto particular, el tumor epitelial se selecciona del grupo que consiste en tumores de vejiga, cuello uterino, pulmón, mama, colon y piel, preferiblemente carcinoma de vejiga y tumores de piel benignos. En un aspecto preferido, el tumor de piel benigno es una queratosis seborreica o un nevo epidérmico. En un aspecto particular, la condrodisplasia congénita se selecciona del grupo que consiste en hipocondrodisplasia, acondroplasia, acondroplasia grave con retraso del desarrollo y acantosis pigmentaria, y displasia tanatófica. En un aspecto preferido, la condrodisplasia congénita es acondroplasia. En un aspecto más preferido, la patología es un carcinoma de vejiga.

40 En un aspecto preferido, el sujeto que ha de ser tratado que padece una patología relacionada con mutaciones de FGFR3, en particular un carcinoma o tumor de vejiga, presenta una mutación de FGFR3, en particular una mutación de FGFR3 activante. En un aspecto particular, la mutación de FGFR3 se detecta en un tejido afectado por la patología. Las mutaciones de FGFR3 se detallan más adelante. Alternativamente, la mutación de FGFR3 se puede detectar indirectamente, en particular por medio de la activación de p38 α , por ejemplo detectando p38 α fosforilada.

45 En consecuencia, la descripción se refiere a un método para tratar un sujeto que padece una enfermedad que puede estar relacionada con mutaciones de FGFR3, en particular un carcinoma o tumor de vejiga, que comprende: determinar en una muestra del sujeto si FGFR3 tiene una mutación y administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de p38 α al sujeto que tiene un FGFR3 mutado. Alternativamente, la descripción se refiere a un método para tratar un sujeto que padece una enfermedad que puede estar relacionada con mutaciones de FGFR3, en particular un carcinoma o tumor de vejiga, que comprende: determinar en una muestra del sujeto si p38 α está activada y administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de p38 α al sujeto que tiene una p38 α activada. La

p38 α activada es una p38 α fosforilada. Se puede detectar con un anticuerpo específico contra la p38 α fosforilada, por ejemplo, como se detalla en los ejemplos.

5 La descripción se refiere además al uso de un inhibidor de p38 α para preparar un medicamento para tratar una patología relacionada con mutaciones de FGFR3, en particular un carcinoma o tumor de vejiga, en un sujeto que tiene un FGFR3 mutado. En un aspecto particular, la presente invención se refiere al uso de un inhibidor de p38 α para preparar un medicamento para tratar un carcinoma de vejiga en un sujeto que tiene un FGFR3 mutado. La descripción se refiere al uso de un inhibidor de p38 α para preparar un medicamento para tratar un cáncer de piel benigno en un sujeto que tiene un FGFR3 mutado.

10 La descripción se refiere también a un método para seleccionar un sujeto adecuado para ser tratado por un inhibidor de p38 α que comprende: determinar en una muestra de un sujeto si el FGFR3 tiene una mutación y seleccionar el sujeto que tiene un FGFR3 mutado.

En un aspecto preferido de los métodos y usos de la presente descripción, la mutación de FGFR3 es una mutación activante.

15 En un aspecto preferido, la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en mieloma múltiple, carcinomas (tumores epiteliales malignos), tumores epiteliales benignos y condrodisplasias congénitas. En un aspecto particular, el tumor epitelial se selecciona del grupo que consiste en tumores de vejiga, cuello uterino, pulmón, mama, colon y piel, preferiblemente carcinoma de vejiga y tumores de piel benignos. En un aspecto preferido, el tumor de piel benigno es una queratosis seborreica o un nevo epidérmico. En un aspecto particular, la condrodisplasia congénita se selecciona del grupo que consiste en hipocondrodisplasia, acondroplasia, acondroplasia grave con retraso del desarrollo y acantosis pigmentaria, y displasia tanatófica. En un aspecto preferido, la condrodisplasia congénita es acondroplasia. En un aspecto más preferido, la enfermedad es un carcinoma de vejiga.

20 La etapa de determinación de la presencia de una mutación de FGFR3 se realiza por cualquier método bien conocido por los expertos en la técnica. La mutación de FGFR3 se puede detectar a nivel de ácidos nucleicos con sonda(s) y/o cebador(es) apropiado(s) o a nivel de polipéptidos con un anticuerpo apropiado. Por ejemplo, dicho método está descrito en la solicitud de patente WO 00/68424.

25 La muestra se puede seleccionar de un grupo que consiste en un tejido, médula ósea y un fluido, tal como sangre y orina. En caso de un tumor de piel, la muestra es preferiblemente una biopsia de piel o una muestra de sangre. En caso de un carcinoma de vejiga, la muestra es preferiblemente una biopsia del tumor de vejiga, una muestra de sangre o una muestra de orina. En caso de una acondrodisplasia, la muestra es una muestra de sangre.

30 El sujeto puede ser un animal, preferiblemente un mamífero, más preferiblemente un ser humano.

35 Además, la presente invención se refiere al uso de un inhibidor de p38 α para preparar un medicamento para tratar un carcinoma o tumor de vejiga, opcionalmente relacionado con mutaciones de FGFR3 o de RAS. La descripción se refiere también a un método para tratar un sujeto que padece un carcinoma o tumor de vejiga, opcionalmente relacionado con las mutaciones de FGFR3 o de RAS, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de p38 α . En una realización preferida, el inhibidor de p38 α es específico de p38 α . El inhibidor de p38 α es preferiblemente un inhibidor como se detalla a continuación.

40 En un aspecto preferido, el sujeto que ha de ser tratado presenta una p38 α fosforilada. En particular, una muestra del carcinoma o tumor de vejiga presenta una p38 α activada (es decir, fosforilada). La activación de p38 α se puede detectar, por ejemplo, mediante la detección de p38 α fosforilada. En una realización más particular, el carcinoma o tumor de vejiga presenta o está relacionado con mutaciones de FGFR3 o de RAS. Las mutaciones de FGFR3 se detallan más adelante. La mutación de FGFR3 o de RAS se puede detectar indirectamente, en particular por medio de la activación de p38 α , por ejemplo mediante la detección de p38 α fosforilada.

45 En consecuencia, la descripción se refiere a un método para tratar un sujeto que padece un carcinoma o tumor de vejiga, que comprende: determinar en una muestra del sujeto si FGFR3 o RAS tiene una mutación, o si se puede detectar una forma fosforilada de p38 α , y administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de p38 α al sujeto que tiene un FGFR3 o RAS mutado. Alternativamente, la descripción se refiere a un método para tratar un sujeto que padece un carcinoma o tumor de vejiga, que comprende: determinar en una muestra del sujeto si p38 α está fosforilada, y administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de p38 α al sujeto que tiene una p38 α fosforilada. La p38 α activada es una p38 α fosforilada. Se puede detectar con un anticuerpo específico contra la p38 α fosforilada, por ejemplo, como se detalla en los ejemplos.

50 La presente invención se refiere además al uso de un inhibidor de p38 α para preparar un medicamento para tratar un carcinoma o tumor de vejiga, en un sujeto que tiene un FGFR3 o RAS mutado. En una realización particular, la presente invención se refiere al uso de un inhibidor de p38 α para preparar un medicamento para tratar un carcinoma o tumor de vejiga en un sujeto que tiene un FGFR3 mutado. También se refiere al uso de un inhibidor de p38 α para preparar un medicamento para tratar un carcinoma o tumor de vejiga en un sujeto que tiene una p38 α activada.

- La descripción se refiere también a un método para seleccionar un sujeto que padece un carcinoma o tumor de vejiga adecuado para ser tratado por un inhibidor de p38 α que comprende: determinar en una muestra de un sujeto si FGFR3 o RAS tiene una mutación y seleccionar el sujeto que tiene un FGFR3 o RAS mutado. Alternativamente, la descripción se refiere a un método para seleccionar un sujeto que padece un carcinoma o tumor de vejiga adecuado para ser tratado por un inhibidor de p38 α que comprende: determinar en una muestra de un sujeto si p38 α está fosforilada y seleccionar el sujeto que tiene una p38 α fosforilada.
- En unos aspectos preferidos de los métodos y usos de la presente invención, la mutación de FGFR3 es una mutación activante.
- La etapa de determinación de la presencia de una mutación de FGFR3 o de RAS se realiza por cualquier método bien conocido por los expertos en la técnica. La mutación de FGFR3 o de RAS se pueden detectar a nivel de ácidos nucleicos con sonda(s) y/o cebador(es) apropiado(s) o a nivel de polipéptidos con un anticuerpo apropiado. Por ejemplo, dicho método está descrito en la solicitud de patente WO 00/68424.
- La muestra se puede seleccionar de un grupo que consiste en un tejido de vejiga y un fluido, tal como sangre y orina. La muestra es preferiblemente una biopsia de tumor de vejiga, una muestra de sangre o una muestra de orina.
- El sujeto puede ser un animal, preferiblemente un mamífero, más preferiblemente un ser humano.
- Un tumor de vejiga puede ser un carcinoma de vejiga o un adenoma de vejiga.
- El sistema de estadificación más común para los tumores de vejiga es el sistema TNM (tumor, ganglios linfáticos, metástasis). Este sistema de estadificación tiene en cuenta la profundidad del tumor que se ha desarrollado en la vejiga, si hay cáncer en los ganglios linfáticos y si el cáncer se ha extendido a otras partes del cuerpo. En una realización preferida, el tumor de vejiga es un carcinoma de vejiga. En una realización preferida, el carcinoma de vejiga que se ha de tratar está en un estadio T. Además, los carcinomas de vejiga en estadio T pueden tener sub-estadios:
- CIS - se detectan células cancerosas muy tempranas sólo en la capa más interna del revestimiento de la vejiga;
 - Ta - el cáncer se encuentra justo en la capa más interna del revestimiento de la vejiga;
 - T1 - el cáncer ha comenzado a desarrollarse en el tejido conjuntivo debajo del revestimiento de la vejiga;
 - T2 - el cáncer se ha desarrollado a través del tejido conjuntivo en el músculo;
 - T2a - el cáncer se ha desarrollado en el músculo superficial;
 - T2b - el cáncer se ha desarrollado en el músculo más profundo;
 - T3 - el cáncer se ha desarrollado a través de los músculos en la capa adiposa;
 - T3a - el cáncer en la capa adiposa sólo se puede ver con un microscopio;
 - T3b - el cáncer en la capa adiposa se puede ver en las pruebas, o ser palpado por el médico;
 - T4 - el cáncer se ha extendido fuera de la vejiga;
 - T4a - el cáncer se ha extendido a la próstata, al útero o a la vagina;
 - T4b - el cáncer se ha extendido a la pared de la pelvis y al abdomen.
- En consecuencia, el tumor o carcinoma de vejiga que se puede tratar por la presente invención pueden ser superficial (Ta, T1) o invasivo (T2 a T4). En un aspecto particular, el carcinoma de vejiga se puede tratar en cualquiera y todos los sub-estadios T.
- Sin embargo, los otros estadios de carcinoma de vejiga también son considerados por la presente invención, en particular los estadios N y M.
- La descripción se refiere además a un método para identificar/escrutar un compuesto adecuado para tratar una patología relacionada con mutaciones del FGFR3 que comprende poner en contacto una célula que expresa un FGFR3 mutado con un compuesto candidato, y seleccionar el compuesto candidato que reduce o inhibe la proliferación de la célula y/o la capacidad de formar colonias en agar-agar blando.
- La descripción también se refiere a un método para identificar/escrutar un compuesto adecuado para tratar una patología relacionada con mutaciones del FGFR3 que comprende administrar un compuesto candidato a un ratón atímico que tiene un tumor xenoinjertado con células que expresan un FGFR3 mutado, evaluar el tamaño del tumor xenoinjertado después de un período de tiempo y seleccionar el compuesto candidato que reduce o bloquea el desarrollo del tumor.

La descripción se refiere además a un método para identificar/escrutar un compuesto adecuado para tratar una patología relacionada con mutaciones del FGFR3 que comprende administrar un compuesto candidato a un animal no humano transgénico que expresa un FGFR3 mutado y seleccionar el compuesto candidato que reduce o inhibe la proliferación de la célula tumoral.

5 Inhibidores de p38

La proteína quinasa p38 activada por mitógenos es una serina/treonina quinasa aislada originalmente de monocitos estimulados por lipopolisacáridos (LPS). Existen cuatro isoformas, a saber, p38 α , p38 β , p38 γ y p38 δ . La p38 α también puede ser denominada MAPK14 (proteína quinasa 14 activada por mitógenos), CSBP o SAPK2A (GenelD: 1432; Uniprot Q16539). Esta isoforma es una diana terapéutica para la inflamación. Por lo tanto, se han desarrollado muchos inhibidores de p38 α .

Los inhibidores de p38 α pueden ser moléculas pequeñas, siRNA (por ejemplo, documentos US2005/0239731; WO 04/097020; WO 03/072590), moléculas antisentido, ribozimas o anticuerpos.

En un aspecto preferido, los inhibidores de p38 α son siRNA, tal como se describe en los ejemplos.

En un aspecto preferido, los inhibidores de p38 α son moléculas pequeñas. Ejemplos de inhibidores de p38 α que se pueden utilizar en la presente invención, sin limitación, se seleccionan del grupo que consiste en AMG 548 (Amgen); ARQ 101 (Arqule); ARRY-371797, ARRY-614 y AR00182263 (ARRAY BIO-PHARMA); AZD6703 (Astrazeneca); RPR200765A y RPR203494 (Aventis); BIRB796 (Boehringer Ingelheim); SB242235, SB239063 y SB681323 (GlaxoSmithkline); R04402257 y R03201195 (Hoffman-Laroche); RWJ67657, RWJ67671, RWJ67568, RWJ67411 y RWJ66430 (Johnson & Johnson Pharmaceutical); KC706 (Kemia); L-167307 (Merck); SC-80036 (Pfizer); SCIO-469, SCIO-323, SD-282 y SCI-496 (Scios); TAK715 (Takeda); VX-702, VX-850 y VX-745 (Vertex); y SB202190, SB203580, SB220025, SB239063, SC68376, SKF-86002, el Compuesto 37 (657417 de Amgen), SX-011, inhibidor III de la MAP quinasa p38 (N° de ref. en cat. 506121) e inhibidor de la MAP quinasa p38 (N° cat. 506126) (Calbiochem). Otros inhibidores de p38 α se describen en las siguientes patentes y solicitudes de patente US 5.716.972, US 5.686.455, US 5.656.644, US 5.593.992, US 5.593.991, US 5.663.334, US 5.670.527, US 5.559.137, 5.658.903, US 5.739.143, US 5.756.499, US 6.277.989, US 6.340.685, US 5.716.955, US 7.071.198, WO 92/12154, WO 94/19350, WO 95/09853, WO 95/09851, WO 95/09847, WO 95/09852, WO 97/25048, WO 97/25047, WO 97/33883, WO 97/35856, WO 97/35855, WO 97/36587, WO 97/47618, WO 97/16442, WO 97/16441, WO 97/12876, WO 98/25619, WO 98/06715, WO 98/07425, WO 98/28292, WO 98/56377, WO 98/07966, WO 98/56377, WO 98/22109, WO 98/24782, WO 98/24780, WO 98/22457, WO 98/52558, WO 98/52559, WO 98/52941, WO 98/52937, WO 98/52940, WO 98/56788, WO 98/27098, WO 98/47892, WO 98/47899, WO 98/50356, WO 98/32733, WO 99/58523, WO 99/01452, WO 99/01131, WO 99/01130, WO 99/01136, WO 99/17776, WO 99/32121, WO 99/58502, WO 99/58523, WO 99/57101, WO 99/61426, WO 99/59960, WO 99/59959, WO 99/00357, WO 99/03837, WO 99/01441, WO 99/01449, WO 99/03484, WO 99/15164, WO 99/32110, WO 99/32111, WO 99/32463, WO 99/64400, WO 99/43680, WO 99/17204, WO 99/25717, WO 99/50238, WO 99/61437, WO 99/61440, WO 00/26209, WO 00/18738, WO 00/17175, WO 00/20402, WO 00/01688, WO 00/07980, WO 00/07991, WO 00/06563, WO 00/12074, WO 00/12497, WO 00/31072, WO 00/31063, WO 00/23072, WO 00/31065, WO 00/35911, WO 00/39116, WO 00/43384, WO 00/41698, WO 00/69848, WO 00/26209, WO 00/63204, WO 00/07985, WO 00/59904, WO 00/71535, WO 00/10563, WO 00/25791, WO 00/55152, WO 00/55139, WO 00/17204, WO 00/36096, WO 00/55120, WO 00/55153, WO 00/56738, WO 01/21591, WO 01/29041, WO 01/29042, WO 01/29042, WO 01/62731, WO 01/05744, WO 01/05745, WO 01/05746, WO 01/05749, WO 01/05751, WO 01/27315, WO 01/42189, WO 01/00208, WO 01/42241, WO 01/34605, WO 01/47897, WO 01/64676, WO 01/37837, WO 01/38312, WO 01/38313, WO 01/36403, WO 01/38314, WO 01/47921, WO 01/27089, WO 02/46158, WO 03/002542, WO 03/097062, WO 03/103590, WO 03/099796, WO 03/084539, WO 03/097062, WO 03/104223, WO 04/099156, WO 04/110990, WO 04/092144, WO 04/022712, WO 04/016267, WO 04/113348, WO 04/004725, WO 04/032874, WO 04/076450, WO 04/020440, WO 04/078116, US2004092547, WO 04/020438, WO 04/014900, WO 04/014920, WO 04/091625, WO 05/077945, WO 05/100338, WO 05/061486, WO 05/060967, WO 05/105743, WO 05/000405, WO 05/073232, WO 05/073189, WO 05/073217, WO 05/073219, WO 05/033102, WO 05/012241, WO 05/030151, WO 05/105790, WO 05/032551, WO 05/075478, WO 05/076990, WO/05009973, WO 05/075425, WO 05/000298, WO 05/080380, WO 05/009367, WO 05/033086, WO 05/034869, WO 05/033072, WO 05/042540, WO 05/082862, WO 05/063766, WO 05/120509, WO 05/097758, WO 06/127678, WO 06/118914, WO 06/071456, US2006234911, WO 06/055302, EP1707205, WO 06/099495, WO 06/116355, WO 06/122230, WO 06/084017, WO 06/067168, WO 06/104915, WO 06/062982, WO 06/112828, WO 06/028836, WO 06/018842, WO 06/047354, WO 06/020904, WO 06/040056, WO 06/006691, WO 06/009741, WO 06/044869, WO 06/018727, WO 06/018735, WO 06/052810, US2006058296, WO 06/010082, WO 06/003517, WO 06/020365, US2006079461, WO 06/104889, WO 06/018718, WO 06/128268, WO 06/110173, WO 06/039718, WO 06/040666, WO 06/040649, WO 06/013095, US2006052390, WO 07/015877, WO 07/015866, WO 07/000340, WO 07/000339, WO 07/000337, WO 07/016392, DE 19842833 y JP 2000 86657.

En la presente invención se prefieren inhibidores de p38 α selectivos contra la isoforma α . Tal especificidad de p38 α evita cualquier efecto secundario potencial debido a la inhibición de otras isoformas de p38. Por "selectivos contra" en la presente memoria se pretende que el inhibidor sea más eficaz para inhibir p38 α que al menos una de las otras isoformas de p38, preferiblemente las otras tres isoformas. Más preferiblemente, los inhibidores selectivos de p38 α no tienen casi ningún efecto inhibitorio contra las otras isoformas, y todavía más preferiblemente ningún efecto inhibi-

5 dor en absoluto, en particular, en la cantidad terapéuticamente eficaz utilizada para el tratamiento. En una realización particular, la CI_{50} del inhibidor es al menos 5, 10, 50, 100, 500, 1.000, 5.000 o 10.000 veces mayor para las otras isoformas de p38 en comparación con la CI_{50} para p38 α (siendo la CI_{50} la dosis necesaria para tener una inhibición de 50% de la actividad quinasa de p38 α). Ejemplos de inhibidores de p38 α que se pueden utilizar en la presente invención, se seleccionan del grupo que consiste en AMG 548 (Amgen); ARRY-371797, ARRY-614 y AR00182263 (ARRAY BIO-PHARMA); el compuesto 37 (657417 de Amgen) y SX-011 (Lee & Domínguez, *Curr. Med. Chem.*, 2005, 12, 2979-2994); BIRB796 (Boehringer Ingelheim), VX-745 (Vertex) y SCIO-469 y SD-282 (Scios).

10 La cantidad terapéuticamente eficaz de los inhibidores de p38 α varía dependiendo del modo de administración, la edad, el peso corporal, el sexo y la salud general del sujeto. Se apreciará que habrá muchos modos conocidos en la técnica para determinar la cantidad terapéuticamente eficaz para una aplicación dada.

La cantidad terapéuticamente eficaz de inhibidores de p38 α es preferiblemente la cantidad suficiente para inhibir la proliferación celular, preferentemente la proliferación de células cancerosas y/o para reducir o bloquear el desarrollo de tumores y/o para reducir o inhibir el fenotipo transformado y/o para reducir o inhibir la capacidad de las células para formar colonias en agar-agar blando.

15 La dosis apropiada puede ser de 0,01 a 1000 mg/día. Por ejemplo, la dosis de AMG 548 puede ser de 0,1 mg a 1000 mg/día, preferiblemente entre 1 y 500 mg/día por administración oral. La dosis de BIRB796 puede ser de 0,1 mg a 500 mg/día, preferiblemente entre 10 y 200 mg/día por administración oral.

20 La cantidad terapéuticamente eficaz de los inhibidores de p38 α se puede administrar una vez, dos veces, tres veces o cuatro veces al día. Alternativamente, la cantidad terapéuticamente eficaz de los inhibidores de p38 α se puede administrar cada día, cada dos días, o uno, dos o tres veces a la semana.

25 El inhibidor de p38 α se puede administrar por vía oral, parenteral, por pulverización, por inhalación, por vía tópica, rectal, nasal, bucal, vaginal o mediante un reservorio implantado. El término "parenteral" como se usa en la presente memoria incluye las vías subcutánea, intravenosa, intramuscular, intra-tumoral, intra-articular, intra-sinovial, intra-esternal, intratecal, intrahepática e intralesional. Preferiblemente, el inhibidor de p38 α se administra por vía oral, intraperitoneal, intratumoral, intra-articular, intra-sinovial, tópica o intravenosa.

30 El inhibidor de p38 α utilizado en la presente descripción se puede formular como una composición farmacéutica que comprende generalmente un vehículo farmacéuticamente aceptable. Por un vehículo farmacéuticamente aceptable se entiende un vehículo que es fisiológicamente aceptable para el mamífero tratado al mismo tiempo que conserva las propiedades terapéuticas del fármaco con el que se administra. Por ejemplo, un vehículo farmacéuticamente aceptable puede ser solución salina fisiológica. Otros vehículos farmacéuticamente aceptables son conocidos por los expertos en la técnica y se describen por ejemplo en Remington: *The Science and Practice of Pharmacy* (20th ed, ed.. AR Gennaro AR., 2000, Lippincott Williams & Wilkins).

35 Para los cánceres de piel benignos, se prefiere una administración tópica. Para la aplicación tópica a la piel, el inhibidor de la p38 α se formulará con una pomada adecuada que contenga los componentes activos en suspensión o disueltos en un vehículo. Los vehículos para administración tópica de los compuestos de esta descripción incluyen, pero sin limitación: aceite mineral, vaselina líquida, vaselina blanca, propilenglicol, compuesto de polioxietileno-polioxipropileno, cera emulsionante y agua. Alternativamente, el inhibidor de p38 α se puede formular con una loción o crema adecuada que contenga el compuesto activo en suspensión o disuelto en un vehículo. Los vehículos adecuados incluyen, pero sin limitación: aceite mineral, monoestearato de sorbitán, polisorbato 60, cera de ésteres de cetilo, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua. También se incluyen en esta descripción parches transdérmicos para la vía tópica y administración iontoforética.

40 El inhibidor de p38 α adecuado para la administración oral pueden presentarse como unidades individuales, tales como cápsulas, sobres o comprimidos conteniendo cada uno una cantidad predeterminada del ingrediente activo; como un polvo o gránulos; como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o un líquido no acuoso; o como una emulsión líquida del tipo aceite-en-agua o una emulsión líquida del tipo agua-en-aceite, o envasados en liposomas y como un bolo, etc. Las cápsulas de gelatina blanda pueden ser útiles para contener tales suspensiones, que pueden aumentar beneficiosamente la velocidad de absorción del compuesto.

45 Las composiciones adecuadas para administración parenteral incluyen soluciones para inyección estériles, acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, agentes bacteriostáticos y solutos que hacen la formulación isotónica con la sangre del receptor previsto; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de puesta suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones pueden presentarse en envases unidos o multidosis, por ejemplo, ampollas y viales sellados, y pueden conservarse en un estado secado por congelación (liofilizado) que requiere sólo la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Se pueden preparar soluciones y suspensiones para inyección extemporáneas a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles.

Patologías relacionadas con mutaciones de FGFR3

5 FGFR3 se refiere al receptor 3 del factor de crecimiento de fibroblastos. En particular, el FGFR3 es la isoforma FGFR3b en carcinomas y tumores de piel benignos, mientras que en patologías óseas la isoforma preferida es FGFR3c. La secuencia de nucleótidos de la isoforma FGFR3-IIIb se describe en la patente europea 1208231B1. La secuencia de nucleótidos de la isoforma FGFR3-IIIc es la secuencia mencionada en GenBank como NM_000142.

La mutación del FGFR3 es preferiblemente una mutación activante. Por "mutación activante" se entiende en la presente memoria una función activante de una mutación, que se puede determinar por la observación de señales activantes, tales como la fosforilación del receptor o efectos indirectos como el influjo de calcio o la fosforilación de secuencias diana. En una realización particular, la secuencia diana es p38 α

10 Las mutaciones activantes del FGFR3 están generalmente en el exón 7, que codifica la unión entre los dominios II y III de FGFR3 similares a inmunoglobulina, en el exón 10, que codifica el dominio transmembrana, en el exón 15, que codifica el dominio I de tirosina quinasa y/o en el exón que codifica la parte C-terminal. Preferiblemente, dichas mutaciones se seleccionan del grupo que consiste en R248C, S249C, G372C, S373C, Y375C, K652E, K652M, J809G, J809C, J809R, J809L, P250R, G377C, G382R, A393E y N542K. El codón y el nucleótido mutado (posición nt) se numeran de acuerdo con el marco de lectura abierto del cDNA del FGFR3-IIIb, que es la forma predominante en las células epiteliales. Más preferiblemente, la mutación del FGFR3 se selecciona del grupo que consiste en R248C, S249C, G372C, K652E e Y375C. Aún más preferiblemente, la mutación del FGFR3 es S249C o Y375C.

Proteína RAS

20 RAS se refiere a una familia de proteínas (HRAS, KRAS, NRAS) implicadas en la transducción de señales, en particular, la transducción de señales de los receptores de tirosina quinasa, incluyendo los receptores de FGF (Eswarakumar VP, Lax I, Schlessinger J, 2005, *Cellular signaling by fibroblast growth factor receptors*. *Cytokine Growth Factor Rev.* 16:139-49). Existen en dos estados diferentes, un estado activo cuando están unidas a GTP y un estado inactivo cuando el GTP se ha convertido a GDP debido a la actividad de GTPasa de RAS. En el cáncer, incluyendo cáncer de vejiga, se ha descrito la forma mutada de los tres genes RAS. Estas formas mutadas tienen menos actividad de GTPasa por lo que permanecen en un estado activo. Se puede deducir una tasa estimada de 17% de las mutaciones de RAS (mutaciones *HRAS*, *KRAS* y *NRAS*) en el cáncer de vejiga de la base de datos Cosmic del Sanger Institute (www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic/). Por ejemplo, las mutaciones de RAS se pueden seleccionar entre las mutaciones G12S y G13V de HRAS, las mutaciones G12C y G12D de KRAS y las mutación M72I de NRAS. Sin embargo, además de las mutaciones, también se contempla una sobreexpresión de RAS.

30 Las proteínas RAS se pueden ilustrar por las siguientes secuencias:

Ensamblajes genómicos RefSeq:

HRAS: NC_000011.8 NT_035113.6

KRAS: NC_000012.10 NT_009714.16

NRAS: NC_000001.9 NT_019273.18

35 Los mRNA de RefSeq:

HRAS: NM_005343.2, NM_176795.2

KRAS: NM_004985.3, NM_033360.2

NRAS: NM_002524.2

40 Las referencias de las diferentes mutaciones activantes de HRAS, KRAS y NRAS se pueden encontrar en www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic/ y en la revisión de Schubbert et al., (2007) (Schubbert S, Shannon K, Bollag G, 2007. *Hiperactive Ras in developmental disorders and cancer*. *Nat. Rev. Cancer.* 7:295-308).

Ejemplos.

Los siguientes ejemplos servirán para ilustrar adicionalmente la presente invención.

Materiales y métodos

45 **Cultivo y transfección de células**

Se establecieron previamente células NIH-3T3 transfectadas que expresaban la isoforma FGFR3b de tipo natural (clones R3b1.1, R3b1.3) o que expresaban el receptor FGFR3b-S249C mutado (clones S249C1.1, S249C1.2) o las transfectadas con el plásmido de control pcDNA1-Neo (clones Neo1.5, Neo2.1) {Bernard-Pierrot, 2006, *Carcinogenesis* 4, 740-747} y se cultivaron en DMEM con suero de ternero fetal al 10%, glutamina 2 mM, 100 μ g/mL de penicili-

na, 100 µg/mL de estreptomycin y 400 µg/mL de G418. La línea de células de carcinoma de vejiga humano MGH-U3 {Lin, 1985 N° 96} se cultivó en DMEM/F12 con suero de ternera fetal (FCS) al 10% y glutamina 2 mM. Todas las células se cultivaron a 37°C bajo una atmósfera que contenía 5% de CO₂.

5 Para la transfección de siRNA, se sembraron células MGH-U3 a una densidad de 8000 células/cm² en placas de 6 pocillos o de 24 pocillos y se transfectaron con siRNA 200 nM, utilizando el reactivo Oligofectamine® (Invitrogen, Cergy Pontoise, Francia) de acuerdo con el protocolo del fabricante. Se sintetizaron químicamente los siRNA de FGFR3, los siRNA de p38α (MAPK14) y siRNA sin sentido utilizado como control (Ambion, Huntingdon, Reino Unido). En cuanto al siRNA de p38α, los inventores usaron siRNA validado silencer® (Ambion): siRNA1 de p38α (siRNA ID: 1312) y siRNA2 de p38α (siRNA ID: 1217). Para el otro siRNA, las secuencias de las cadenas con sentido fueron: siRNA de control, 5'-GGCAAGAUUCUUCUGUUGTT-3' (SEQ ID NO: 1); siRNA1 del FGFR3, 5'-GCCUUUACCUUUUAUGCAATT-3' (SEQ ID NO: 2); siRNA2 del FGFR3, 5'-GGGAAGCCGUGAAUUCAGUTT-3' (SEQ ID NO: 3). Los inventores han demostrado previamente que ambos siRNA del FGFR3 conducen a un empobrecimiento de 80-90% de la proteína FGFR3 en las células MGH-U3 {Bernard-Pierrot, 2005}. Se midió la incorporación de MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio) 72 horas después de la transfección (placas de 24 pocillos) para evaluar la proliferación/viabilidad celular o se lisaron con tampón de lisis (placas de 6 pocillos).

Análisis morfológico

Se cultivaron células NIH-3T3 durante 48 horas en presencia de diferentes inhibidores, SB203580 y SU5402 (Calbiochem, Merck Eurolab, Fontenay Sous Bois, Francia) y se tomaron imágenes con un microscopio de contraste de fases.

20 Análisis por inmunotransferencia

Células NIH-3T3 transfectadas se lavaron una vez con PBS y privadas de suero durante 24 horas. Cuando se requirió, las células se estimularon durante 5 minutos con 20 ng/mL de FGF1 en presencia de 50 µg/mL de heparina a 37°C. Luego se lisaron en tampón de lisis (Tris-HCl 50 mM (pH 7,4), NaCl 150 mM, NP-40 al 1%, desoxicolato sódico al 0,25%, EDTA 1 mM, Na₃VO₄ 1 mM, NaF 5 mM, 1 µg/mL de aprotinina, 1 µg/mL de leupeptina y 1 µg/mL de pepstatina) y los lisados se clarificaron por centrifugación. Las concentraciones de proteína de los líquidos sobrenadantes se determinaron con el kit de análisis BioRad Bradford Protein (BioRad, Ivry-sur-Seine, Francia). Las proteínas de los lisados celulares totales (75 µg de proteína) se resolvieron por SDS-PAGE en geles de poliacrilamida al 10%, se electrotransfirieron a una membrana Immobilon-P en Tris 25 mM, pH 8,3, glicina 200 mM, etanol al 10% y se analizaron usando anticuerpos contra p38 (N° 9212), Akt (N° 9272), p42/p44 (N° 9102) y las formas fosforiladas de estas proteínas (fosfo AKT (Thr308) N° 9275; fosfo p42/p44 (thr202/tyr204) N° 9101; fosfo p38 (thr180/tyr182) (Tecnología de señalización celular, Ozyme, Montigny-le-Bretonneux, Francia)

Los lisados celulares totales de MGH-U3 (75 µg) se analizaron de manera similar utilizando anticuerpos contra p38, fosfo-p38 y Akt.

Ensayo en agar-agar blando

35 Para NIH-3T3, se añadieron 30.000 células transfectadas, por triplicado, a cada pocillo de una placa de 12 pocillos que contenía DMEM complementado con NCS al 10% y se solidificó con agar-agar. Para MGH-U3, se añadieron 20.000 células no transfectadas o transfectadas con siRNA, a pocillos por triplicado de placas de 12 pocillos que contenían MEM complementado con FCS al 10% y agar-agar. Cuando fue necesario, los dos tipos de células se cultivaron en presencia o ausencia de diferentes inhibidores en agar-agar y en medio de cultivo. La misma cantidad de inhibidor se añadió semanalmente al medio de cultivo.

Las placas se incubaron durante 21 o 14 días para células NIH-3T3 y MGH-U3, respectivamente, y las colonias con diámetros mayores de 50 µm se puntuaron luego como positivas, usando un microscopio de contraste de fases equipado con una rejilla de medición.

Formación de tumores en ratones atímicos

45 Se criaron ratones Swis nu/nu hembras de dieciséis semanas, en las instalaciones de animales del Curie Institute en condiciones libres de patógenos especificadas. Su cuidado y alojamiento estaban de conformidad con las directrices institucionales de la Comisión Nacional Francesa de Ética (*Ministère de l'Agriculture et de la Forêt, Direction de la Santé et de la Protection Animale*, París, Francia) y fueron supervisados por investigadores autorizados. A cada ratón se inyectó subcutáneamente en cada flanco (región dorsal) 4 x 10⁶ células/sitio. Cuando los tumores alcanzaron 50 mm³ (+/- 10), los ratones se separaron al azar en dos grupos de 5 ratones. Se administró diariamente en los tumores 100 µL de SB203580 20 µM o igual volumen de PBS. La formación de tumores se monitorizó durante un máximo de 25 días y se midió el tamaño de los tumores con calibres Vernier: se utilizaron dos diámetros perpendiculares para estimar los volúmenes de los tumores por la fórmula $ab^2/2$, donde *a* es el diámetro más grande y *b* el más pequeño.

55

Ratones transgénicos

Se establecieron previamente ratones transgénicos (K5-FGFR3-S249C) que expresaban el receptor mutado FGFR3b-S249C en células basales de la epidermis (Logié et al., 2005, *Hum. Mol. Genet.* 14, 1153-1160). Se aplicaron diariamente durante 2 semanas 40 µl de SU5402 100 µM o de SB203580 100 µM o de vehículo (acetona) en el hocico de ratones transgénicos de 3 a 4 meses que habían desarrollado tumores epidérmicos en el hocico o de ratones compañeros de camada de control. Dos horas antes de sacrificarlos se inyectaron (i.p.) a los ratones 0,25 mg/g de peso corporal de BrdU (Sigma, Saint-Quentin Falavier, Francia). La inmunohistoquímica de BrdU se realizó en tejido del hocico incrustado en parafina con BrdU en el kit de detección *in situ* (BD Pharmingen, San Diego, CA, EE.UU.) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se determinó, para cada ratón, el número de células marcadas con BrdU entre 500 células de la capa basal de la epidermis. El lisado total de las células del hocico (75 µg) se analizó como se ha descrito anteriormente, utilizando anticuerpos contra p38 y fosfo-p38 (Pp38).

Resultados**La transformación de células NIH-3T3 inducida por FGFR3b-S249C es dependiente de la activación de la MAP quinasa p38**

Los inventores han demostrado previamente que, contrariamente al FGFR3b mutado, el FGFR3b de tipo natural incluso activado por uno de sus ligando no transformaba las células NIH-3T3 a pesar de que el nivel de fosforilación de ambos receptores era similar {Bernard-Pierrot, 2005}. Los inventores plantearon la hipótesis de que los dos receptores (mutado y estimulado por ligando) pueden ser capaces de activar diferentes vías de transducción dando cuenta de las diferencias observadas en la actividad de transformación.

Los inventores examinaron primero la activación de tres vías de señalización en las células NIH-3T3 que expresaban el mutante FGFR3-S249C (S249C1.1 y S249C1.2) y en clones estimulados por FGF1 que expresaban el receptor de tipo natural (R3b1.1 y R3b1.3) (Figura 1A).

Ambos clones que expresaban el mutante FGFR3-S249C (S249C1.1 y S249C1.2) y los clones estimulados por FGF1 que expresaban el receptor de tipo natural (R3b1.1 y R3b1.3) fueron capaces de fosforilar Akt y ERK1/2 (p42/p44), pero hay que advertir que el receptor mutado indujo una activación permanente de estas vías, mientras que el receptor estimulado indujo una activación transitoria de estas vías (datos no mostrados). Esta discrepancia podría explicar la diferencia observada en la capacidad de transformación de los dos receptores. Por otra parte, curiosamente, los inventores detectaron una fuerte fosforilación de p38 sólo en los clones que expresaban el receptor mutante y no en los clones que expresaban FGFR3 estimulados por FGF1 (Figura 1A) (incluso cuando los clones fueron estimulados por FGF1 durante 48 horas para imitar una activación permanente de FGFR3 (datos no mostrados)), lo que sugiere una activación específica de la vía de la MAP quinasa p38 por FGFR3 mutado y la implicación de esta vía en la transformación celular inducida por FGFR3-S249C.

Para confirmar que la activación de p38 fue debida a la activación por FGFR3 en clones de NIH-3T3 que expresaban FGFR3-S249C establemente establecidos, los inventores estudiaron la fosforilación de p38 en los dos clones que expresaban FGFR3-S249C (S249C1.1 y S249C1.2) tratados con SU5402, un inhibidor de FGFR3 tirosina quinasa. Como era de esperar, la fosforilación de p38 en los clones que expresaban FGFR3-S249C fue inhibida en presencia de SU5402 30 µM lo que demostró que la activación de p38 dependía de la activación de FGFR3-S249C (Figura 1B).

Para evaluar el significado funcional de la fosforilación de p38 inducida por FGFR3-S249C en la transformación celular, se evaluó el efecto de SB203580, un inhibidor químico específico de la MAP quinasa p38, sobre la morfología y el crecimiento independiente del anclaje del clon S249C1.2. Como control, los inventores también evaluaron el efecto de SU5402, un inhibidor de la actividad de FGFR3 tirosina quinasa. El tratamiento de células que expresaban FGFR3-S249C con SB203580 30 µM o con SU5402 30 µM revertió su fenotipo transformado (Figura 1C), mientras que ambos fármacos no tuvieron efecto sobre el fenotipo de las células de control (datos no mostrados). Ambos tratamientos también inhibieron la capacidad de las células que expresaban FGFR3-S249C para formar colonias en un ensayo en agar-agar blando (Figura 1D). Estos resultados demuestran que la transformación de las células NIH-3T3 que expresaban FGFR3-S249C es debida a la actividad de FGFR3 tirosina quinasa y que es dependiente de la p38.

La activación de p38 por FGFR3b-Y375C es requerida para la proliferación y transformación de células MGH-U3.

Los inventores se preguntaron luego si esta implicación de la MAP quinasa p38 en la transformación celular inducida por FGFR3 mutado era específica de las células NIH-3T3 o de significado más biológico en una línea de células epiteliales. Puesto que habían demostrado previamente que las propiedades tumorales de las células MGH-U3, células de carcinoma de vejiga, dependían de la actividad del receptor mutado (FGFR3b-Y375C) {Bernard-Pierrot, 2005}, investigaron si el FGFR3 mutado inducía la activación de p38 en esta línea celular.

El análisis por inmunotransferencia mostró una fuerte fosforilación de p38 en las células MGH-U3 (Figura 2A) y demostró que esta activación de p38 fue debida a la actividad de FGFR3-Y375C, puesto que la inhibición de FGFR3

tirosina quinasa con SU5402 o la disminución de la expresión de FGFR3 que seguía al tratamiento con siRNA suprimía la fosforilación de p38 (Figura 2A).

Para investigar el papel de la activación de p38 por FGFR3b-Y375C, los inventores evaluaron el efecto de SB203580, un inhibidor de la MAP quinasa p38, sobre la proliferación y el crecimiento independiente del anclaje de las células MGH-U3. Como control, también evaluaron el efecto de SU5402, un inhibidor de la actividad de FGFR3 tirosina quinasa. La incorporación de MTT demostró una inhibición del crecimiento de 40 a 50% en las células de cáncer de vejiga con ambos inhibidores (Figura 2B), y las células tratadas con SB203580 formaron un tercio más de colonias en agar-agar blando que las células de control (Figura 2C). Sin embargo, incluso si SB203580 debe inhibir específicamente la p38 α (MAPK14) y la p38 β (MAPK11), podrían plantearse dudas sobre esta especificidad. Por lo tanto, para confirmar los efectos observados de la inactivación de p38, los inventores evaluaron el efecto de empobrecimiento de p38 α (MAPK14) utilizando siRNA sobre la proliferación y la transformación de células MGH-U3. En efecto, puesto que las células MGH-U3 no expresan el mRNA de p38 β (MAPK11) (datos no mostrados), se pensó que los efectos observados utilizando SB203580 fueron debidos a la inhibición de la actividad de p38 α (MAPK14). El análisis por inmunotransferencia mostró que 48 horas después de la transfección, ambos siRNA de p38 α indujeron una inhibición de la expresión de p38 α de 90 a 100% (recuadro, la Figura 2B). Se observaron una inhibición del crecimiento de 50 a 60% (Figura 2B) y un crecimiento independiente del anclaje del 70 a 80% (Figura 2C) de las células transfectadas con siRNA de p38 α . Por lo tanto, las disminuciones de la expresión o actividad de p38 α conducen a la inhibición del crecimiento celular y a la transformación celular en células MGH-U3 de cáncer de vejiga *in vitro*.

Por otra parte un tratamiento intratumoral con SB203580 redujo significativamente el crecimiento de xenoinjertos de MGH-U3 en ratones atímicos, demostrando por lo tanto, la implicación de la activación de p38 en la transformación de células MGH-U3 *in vivo* (Figura 2D).

Se requiere la activación de p38 por FGFR3b-S249C para inducir la hiper-proliferación de células epiteliales basales en tumores de hocico epidérmicos en ratones transgénicos K5- FGFR3-S249C.

Los inventores han establecido anteriormente un modelo de ratón transgénico en el que dirigieron la expresión de FGFR3b mutado, FGFR3b-S249C, a las células basales de la epidermis usando el promotor 5 de queratina {Logie, 2005, *Hum. Mol. Genet.* 14, 1153-1160}. Estos ratones desarrollaron tumores epidérmicos benignos particularmente en el hocico (Figura 3A). Los inventores se preguntaron por tanto si en este modelo, la proliferación de células tumorales también podría ser debida a la activación de p38 por el FGFR3b mutado. En primer lugar, los inventores mostraron por análisis de inmunotransferencia que p38 se fosforiló en el lisado de hocicos de ratones transgénicos, mientras que no se observó fosforilación en el lisado de hocicos de ratones compañeros de camada de control, lo que sugería que la expresión de FGFR3-S249C conducía a la activación de p38 en hocicos de ratones transgénicos (Figura 3B). Para validar este resultado, se trataron hocicos de ratones transgénicos con SU5402, un inhibidor de FGFR3 tirosina quinasa, y se evaluó el estado de fosforilación de p38. El análisis por inmunotransferencia mostró una disminución de la fosforilación de p38 por inhibición de FGFR3, demostrando por tanto que el FGFR3 mutado activaba la vía de p38 en células del hocico de ratones transgénicos (Figura 3C). Luego, los inventores demostraron que el tratamiento del hocico con SB203580, un inhibidor de la MAP quinasa p38, indujo una significativa disminución de la proliferación de células tumorales de ratones transgénicos como se evaluó por marcado con BrdU, mientras que no tuvo efecto sobre la proliferación de células epidérmicas basales en ratones de control (Figura 3D). Tomados en conjunto estos resultados indican claramente la activación de la vía de la MAP quinasa p38 por FGFR3b mutado en las células epidérmicas basales y su implicación en la proliferación de células tumorales epidérmicas en nuestro modelo de tumor de piel en ratones.

Activación de p38 en tumor de vejiga humano

Los inventores demostraron claramente en diferentes modelos *in vitro* e *in vivo* que la expresión del FGFR3 mutado conduce a la activación de la MAP quinasa p38 que se requiere para que FGFR3 mutado induzca la transformación celular.

Por lo tanto, se preguntaron si FGFR3 mutado también conduce a la activación de la MAP quinasa p38 en los tumores de vejiga humanos. Por lo tanto, investigaron el estado de fosforilación de p38, en tumores de vejiga humanos de diferentes estadios y grados, el estado de la mutación de FGFR3 o de RAS, mediante transferencia Western utilizando un anticuerpo anti-fosfo-p38 y un anticuerpo anti-p38 (Figura 4). Todos los tumores con el FGFR3 mutado presentaron una fuerte fosforilación de p38, pero, curiosamente, casi la mitad de los tumores sin mutación de FGFR3 también presentó una fuerte activación de la MAP quinasa p38. Sorprendentemente, todos los tumores que presentaban la mutación de RAS presentaban una fuerte activación de la MAP quinasa p38. Entre las 5 muestras que tenían una mutación de RAS y que mostraban una p38 fosforilada, 2 tenían las mutaciones G12S y G13V de HRAS, otras 2 tenían las mutaciones G12C y G12D de KRAS y una tenía una mutación M72I de NRAS. Sin vincularse a ninguna teoría, se cree que RAS pertenece a la vía de FGFR3, puesto que: 1) las vías de transducción conocidas de diferentes receptores de tirosina quinasa, 2) la mutación de ambas proteínas son exclusivas. Por lo tanto, parece que más generalmente que las mutaciones de FGFR3, es más probable que las alteraciones en la vía del FGFR3 en tumores de vejiga humanos estén relacionadas con la activación de p38.

Por consiguiente, se observa activación de p38 α en más tumores de vejiga humanos que mutaciones de FGFR3 y por lo tanto, los inhibidores de p38 α podrían ser utilizados en todos estos tumores y no sólo en los tumores con FGFR3 mutado.

- 5 Los inventores demostraron claramente en tres modelos diferentes que la expresión del FGFR3 mutado conduce a la activación de la MAP quinasa p38 que se requiere para que el FGFR3 mutado induzca la transformación celular. Puesto que los inventores usaron SB203580 que es un inhibidor más específico de las isoformas p38 α y β , se puede suponer que esta es una de estas dos isoformas de p38 que está implicada en la actividad transformante de FGFR3-S249C en células NIH-3T3 y en la epidermis del ratón transgénico. Los inventores demostraron usando
- 10 siRNA específico que p38 α está implicada en la transformación de células MGH-U3. Además, el hecho de que p38 α sea la forma principal expresada en el urotelio de la vejiga humana (datos de Affymetrix U95, no mostrados) demuestra que p38 α es la proteína diana.

LISTADO DE SECUENCIAS

	<110> INSTITUT CURIE et al.	
	<120> p38 alfa como diana terapéutica en carcinoma de vejiga	
	<130> B564PC00	
5	<160> 3	
	<170> PatentIn versión 3.3	
	<210>1	
	<211>21	
	<212>DNA	
10	<213> secuencia artificial	
	<220>	
	<223> siRNA	
	<400>1	21
	ggcaagauuc uucucguugt t	
15	<210>2	
	<211>21	
	<212>DNA	
	<213> secuencia artificial	
	<220>	
20	<223> siRNA	
	<400>2	21
	gccuuuaccu uuuaugcaat t	
	<210>3	
	<211>21	
25	<212>DNA	
	<213> secuencia artificial	
	<220>	
	<223> siRNA	
	<400>3	21
30	gggaagccgu gaauucagut t	

REIVINDICACIONES

1. Un inhibidor de p38 α para uso en el tratamiento de un tumor o carcinoma de vejiga.
2. El uso de un inhibidor de p38 α para preparar un medicamento para el tratar un tumor o carcinoma de vejiga.
- 5 3. El inhibidor de p38 α de acuerdo con la reivindicación 1 o su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el inhibidor de p38 α se selecciona del grupo que consiste en AMG 548, ARQ 101, ARRY-371797, ARRY-614, AR00182263, AZD6703, RPR200765A, RPR203494, BIRB796, SB242235, SB239063, SB681323, R04402257, R03201195, RWJ67657, RWJ67671, RWJ67568, RWJ67411, RWJ66430, KC706, L-167307, SC-80036, SCIO-469, SCIO-323, SD-282, SCI-496, TAK715, VX-702, VX-850, VX-745, SB202190, SB203580, SB220025, SB239063, SC68376, el compuesto 37 (657417 de Amgen), SX-011 y SKF-86002.
- 10 4. El inhibidor de p38 α o su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el inhibidor de p38 α es específico de p38 α .
5. El inhibidor de p38 α o su uso de acuerdo con la reivindicación 4, en donde el inhibidor de p38 α específico se selecciona del grupo que consiste en AMG 548, ARRY-371797, ARRY-614, AR00182263, el compuesto 37 (657417 de Amgen), SX-011, BIRB796, VX-745, SCIO-469 y SD-282.
- 15 6. El inhibidor de p38 α de acuerdo con la reivindicación 1 o su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el inhibidor de p38 α es un siRNA dirigido contra p38 α .
7. El inhibidor de p38 α de acuerdo con la reivindicación 1 o su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el inhibidor de p38 α se selecciona del grupo que consiste en un molécula antisentido, un anticuerpo y una ribozima.
- 20 8. El inhibidor de p38 α o su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde se detecta una p38 α fosforilada en una muestra del sujeto que se ha de tratar.
9. El inhibidor de p38 α o su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el carcinoma de vejiga está relacionado con mutaciones de FGFR3 o de RAS.
10. El inhibidor de p38 α o su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde el sujeto que se ha de tratar tiene un FGFR3 mutado, preferiblemente en el tejido afectado por la patología.
- 25 11. El inhibidor de p38 α o su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde la mutación del FGFR3 se selecciona del grupo que consiste en R248C, S249C, G372C, S373C, Y375C, K652E, K652M, J809G, J809C, J809R, J809L, P250R, G377C, G382R, A393E y N542K, preferiblemente R248C, S249C, G372C, K652E e Y375C, más preferiblemente S249C o Y375C.
- 30 12. El inhibidor de p38 α o su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde el inhibidor de p38 α se administra por vía oral, tópica o parenteral.

Fig. 2A

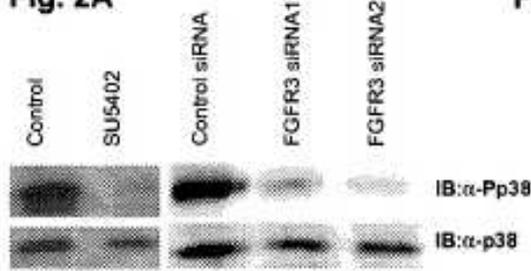


Fig. 2C

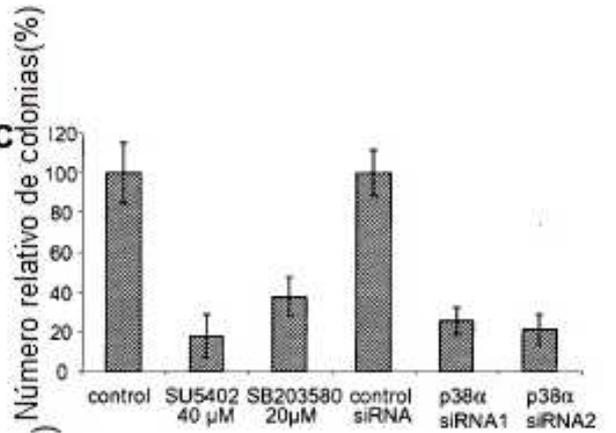


Fig. 2B

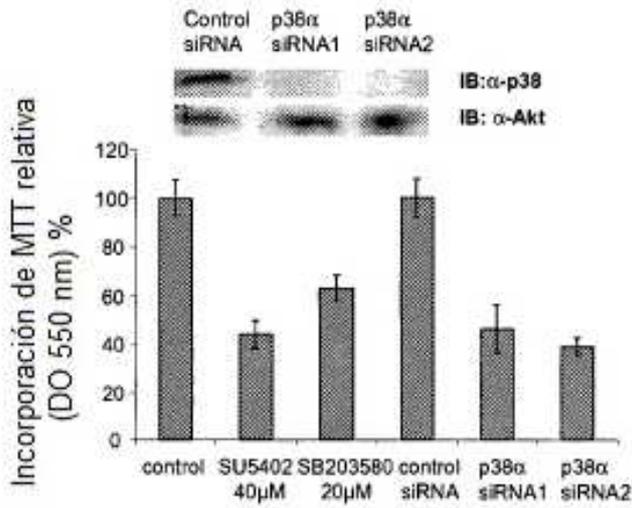
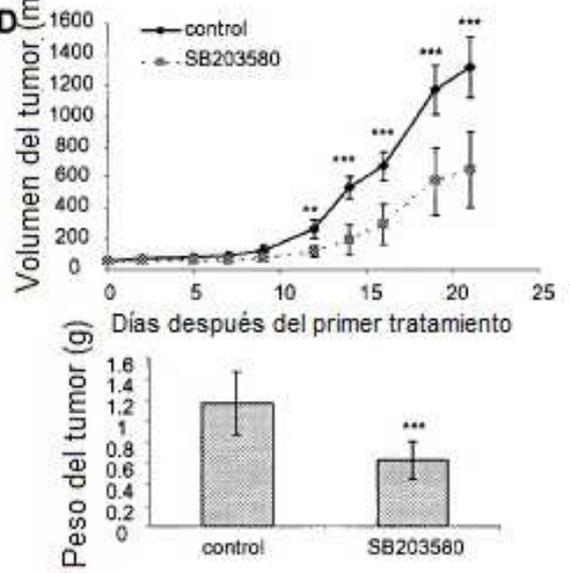


Fig. 2D





Control (C) K5-FGFR3-S249C (T)

Fig. 3B



Fig. 3C



Fig. 3D

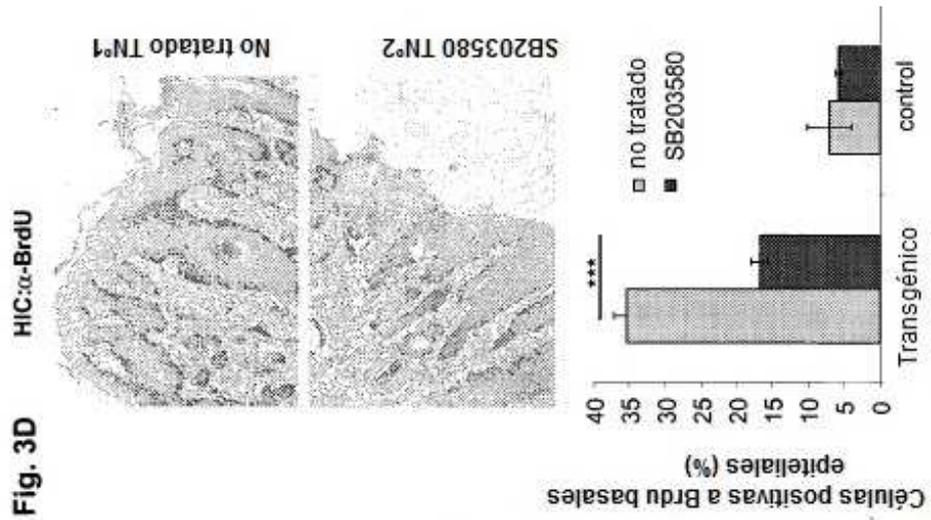


Fig.4A

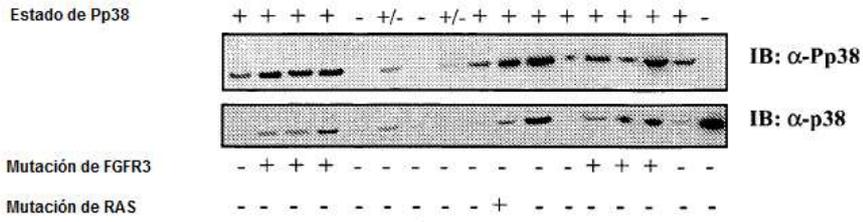


Fig. 4B

