

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 698 615**

51 Int. Cl.:

A61K 31/7088 (2006.01)

C12N 15/63 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

C07K 16/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.07.2014 PCT/IB2014/062871**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.01.2015 WO15001532**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.07.2014 E 14761691 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.10.2018 EP 3016661**

54 Título: **Inhibición de la síntesis de la proteína β APP o de la actividad del péptido A β en los plexos coroides**

30 Prioridad:

04.07.2013 FR 1356551

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

05.02.2019

73 Titular/es:

**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (33.3%)**

3, rue Michel-Ange

75016 Paris, FR;

COLLEGE DE FRANCE (33.3%) y

**INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET DE LA
RECHERCHE MÉDICALE (INSERM) (33.3%)**

72 Inventor/es:

DI NARDO, ARIEL;

MOYA, KENNETH LEE;

ARNAUD, KAREN y

PROCHIANTZ, ALAIN

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 698 615 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

Inhibición de la síntesis de la proteína β APP o de la actividad del péptido A β en los plexos coroideos

La invención está relacionada con medios para restaurar la función fisiológica del precursor de proteína amiloide (β APP) y disminuir la producción de péptido β -amiloide, utilizables en el marco de la prevención o del tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, especialmente de la enfermedad de Alzheimer.

El péptido β -amiloide (péptido A β) es el constituyente principal de los depósitos amiloides extracelulares observados en la corteza cerebral de pacientes aquejados de la enfermedad de Alzheimer. Este péptido procede de la proteína transmembrana β APP (por proteína precursora de β -amiloide, "β-Amyloid Precursor Protein" en inglés). Es importante recordar que la única fuente de péptido A β es la proteína β APP y que una reducción de la proteína β APP conlleva inmediatamente una reducción de la producción del péptido A β . Hace falta recordar también que la proteína β APP tiene funciones fisiológicas y que una de ellas es regular la neurogénesis adulta (CAILLE et al., Development, 131, 2173-81, 2004).

El péptido A β resulta de la maduración de la proteína β APP por la ruta llamada "amiloidogénica", que implica la acción sucesiva de dos actividades proteasas, la β -secretasa y la γ -secretasa, que liberan respectivamente los extremos N- y C-terminales del péptido.

La acumulación de péptidos A β en el medio extracelular induce alteraciones de las membranas celulares, provocando una entrada masiva de calcio en la célula y acompañándose de una reacción inflamatoria. Estas lesiones conllevarían la muerte neuronal.

Una ruta alternativa de maduración proteolítica de la proteína β APP es la ruta llamada "no amiloidogénica", en esta ruta otra enzima, la α -secretasa, corta la β APP en medio de la secuencia de A β . Este corte previene la formación del péptido A β y libera una forma soluble y secretada denominada sAPP, que tiene propiedades neuroprotectoras y una función mitogénica sobre los citoblastos neurales adultos (CAILLE et al., Development, 131, 2173-81, 2004). La producción de sAPP es por tanto incompatible con la de β A4 generado por la acción de la beta-secretasa (N-terminal) y gamma-secretasa (C-terminal).

La proteína β APP se expresa en numerosos tejidos del organismo y especialmente por las neuronas, incluyendo a nivel cerebral.

Los plexos coroideos son estructuras localizadas al nivel de los ventrículos, más particularmente al nivel del techo del 4º ventrículo y de la unión entre los ventrículos laterales del cerebro y el 3º ventrículo. Están constituidos por un epitelio constituido por células endoteliales asociadas por uniones estrechas y que reposan sobre una membrana basal que les separa de un estroma conjuntivo-vascular compuesto por una red de capilares sanguíneos perforados, y fibras de colágeno producidas por los fibroblastos presentes en este estroma.

Los plexos coroideos fabrican el líquido cefalorraquídeo (LCR), que desempeña un papel de barrera selectiva que permite el paso de ciertas moléculas entre la sangre y el LCR y bloquea otras. Sintetizan igualmente un cierto número de proteínas que se secretan en el LCR. Aunque se haya reseñado la presencia de β APP en los plexos coroideos (SASAKI et al., Brain Res, 755, 193-201, 1997), su nivel de expresión no se había determinado hasta ahora.

Los inventores han comprobado ahora, en un análisis por secuenciación de ARN de células epiteliales del plexo coroideo, que el gen que codifica β APP formaba parte de los que se expresan en mayor medida en esta estructura, y que el nivel de expresión de esta proteína en el plexo coroideo era muy superior al observado en otras regiones del cerebro anteriormente conocidas por expresarla a un nivel elevado. Han observado igualmente una expresión muy elevada de la proteína APLP-2, que pertenece a la misma familia que β APP y que, como esta, puede generar por maduración proteolítica una forma soluble (sAPLP-2) que tiene propiedades neuroprotectoras y neurotróficas pero que, al contrario que β APP, no forma péptido A β , pues la APLP-2 no contiene la secuencia A β (WASCO et al., Proc Natl Acad Sci USA, 89, 10758-62, 1992).

Esta observación realizada por los inventores de la importancia cuantitativa de los plexos coroideos como fuente de β APP permite proponer orientarse a esta estructura cerebral para regular la producción de β APP, tanto aumentándola como disminuyéndola. Resulta claro que disminuir la expresión de β APP en los plexos coroideos debe disminuir la del péptido A β . A esta estructura pueden estar también orientadas estrategias que pretenden bloquear o disminuir la actividad del péptido A β .

La presente invención se refiere a la orientación al plexo coroideo en estrategias de regulación de la síntesis de la proteína β APP o de direccionamiento de un inhibidor de la actividad del péptido A β , en el marco del tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa.

La presente invención tiene como objeto en consecuencia un inhibidor de la síntesis de la proteína β APP o de la actividad del péptido A β o un vector de expresión que codifica dicho inhibidor, para su uso en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa que es una forma esporádica o familiar de la enfermedad de Alzheimer mediante la

orientación de dicho inhibidor a los plexos coroideos para disminuir la producción o la actividad de dicho péptido A β , eligiéndose dicho inhibidor entre los oligonucleótidos antisentido y los ARN interferentes dirigidos contra el gen que codifica dicha proteína beta-APP.

5 Las funcionalidades de la proteína β -APP ligadas a la producción de sAPP pueden compensarse por la proteína APLP-2, que se expresa igualmente en gran medida en los plexos coroideos.

Si esta compensación no es suficiente, se puede sobreexpresar la sAPP en forma recombinante en las células epiteliales de los plexos coroideos. En este caso, el oligonucleótido antisentido o el ARNi usado para inhibir la síntesis de la proteína β APP se dirigirá preferiblemente contra una región del gen que codifica la parte C-terminal de esta proteína, con el fin de no interferir con la síntesis de la sAPP recombinante.

10 Si se elige inhibir la actividad del péptido A β , se puede usar con este fin un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo dirigido selectivamente contra este péptido y capaz de bloquear su actividad. Son en sí conocidos numerosos anticuerpos que poseen esta propiedad; a modo de ejemplos no limitantes se citarán scFV A β ^{1B}, scFV β _{KDE}^{1B} (SUDOL et al., Mol Ther, 17, 2031-40, 2009), scFV59 (FUKUCHI et al., Neurobiol Dis, 23, 502-11, 2006) o CBA β 42 (ZHANG et al., Neurobiol Dis, 14, 365-79, 2003).

15 Los vectores utilizables en el marco de la presente invención para la expresión de oligonucleótidos antisentido, los ARNi dirigidos contra el péptido A β en células del plexo coroideo, son vectores víricos orientados preferiblemente a estas células. Se trata por ejemplo de vectores derivados de virus adenoasociados (AAV) de serotipos 2, 4 o 5 (CACHON-GONZALEZ et al, Mol Ther, 20, 1489-500, 2012; DODGE et al., Mol Ther, 18, 2075-84, 2010; DONSANTE et al., Mol Ther, 19, 2114-23, 2011; WATSON et al., Hum Gene Ther, 16, 49-56, 2005).

20 Cualquiera que sea el vector elegido, se puede disponer igualmente el oligonucleótido antisentido, el ARNi dirigido contra el péptido A β se dispondrá en el vector elegido bajo el control de un promotor específico de células del plexo coroideo; a modo de ejemplos no limitantes de promotores utilizables en este marco, se citará el promotor del gen CRFR2 β (REGEV et al., Proc Natl Acad Sci USA, 107, 4424-9, 2010), el promotor de transtiretina (COSTA et al., Molecular and Cellular Biology, 6, 4697-708, 1986) o el del gen GPR125 (PICKERING et al., BMC Neuroscience, 9, 97, 2008).

25 El plexo coroideo tiene también la ventaja de ser fácilmente accesible por rutas poco invasivas, en particular mediante la inyección de sustancias farmacológicas en el sistema venoso y, más favorablemente, en el seno retroorbital que está muy cerca de la cara basolateral del plexo coroideo. Es por tanto posible dirigir al plexo coroideo moléculas o vectores víricos que pueden modificar transitoriamente o de forma permanente la expresión y/o la secreción de β APP por el plexo coroideo.

30 Se describe igualmente el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, que comprende la orientación a los plexos coroideos de un paciente de una cantidad eficaz de un inhibidor de la síntesis de la proteína β APP o de la actividad del péptido A β o de un vector de expresión que codifica dicho inhibidor, para disminuir la producción o la actividad de dicho péptido A β en los plexos coroideos de dicho paciente.

35 Dicho método puede comprender igualmente la orientación a los plexos coroideos de dicho paciente de una cantidad eficaz de una forma soluble funcional de la proteína β APP, para restaurar o aumentar una función fisiológica de dicha proteína β APP, especialmente la neurogénesis. La forma soluble funcional de la proteína β APP es una proteína soluble derivada de la proteína β APP que conserva las funciones fisiológicas de la proteína β APP; se trata especialmente de la sAPP.

40 Se describe igualmente una preparación combinada que comprende:

- (i) un inhibidor de la síntesis de la proteína β APP o de la actividad del péptido A β o un vector de expresión que codifica dicho inhibidor y
- (ii) una forma soluble funcional de la proteína β APP o un vector de expresión que codifica dicha forma soluble,

45 para uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, por orientación a los plexos coroideos del paciente para disminuir la producción o la actividad de dicho péptido A β y restaurar o aumentar un función fisiológica de dicha proteína β APP, especialmente la neurogénesis.

Las enfermedades neurodegenerativas que pueden tratarse según la invención son especialmente las formas esporádicas y familiares de la enfermedad de Alzheimer.

50 La presente invención se comprenderá mejor con la ayuda del complemento de descripción siguiente, que se refiere a ejemplos no limitantes que demuestran la expresión de β APP en los plexos coroideos, y que describen la construcción de vectores víricos que permiten regular esta expresión o inhibir la actividad del péptido β A4, así como a los dibujos adjuntos en los que:

- La figura 1 representa los niveles relativos de ARNm de los genes App, Aplp1 y Aplp2 en relación con los del

gen constitutivo HPRT en el 4^a ventrículo (ChP 4V), los ventrículos laterales (ChP LV), el hipocampo (Hc), la zona subventricular (SVZ) y la corteza visual primaria (V1) de ratones de aproximadamente 8 semanas de edad.

- 5 - La figura 2 ilustra la detección de las formas transmembrana y secretadas de la proteína β APP en el líquido cefalorraquídeo y el plexo coroideo. **A.** Transferencia Western con un anticuerpo dirigido contra la parte N-terminal de la proteína β APP (dominio extracelular de APP), específico de la forma secretada. **B.** Transferencia Western con un anticuerpo dirigido contra la parte C-terminal de la proteína β APP (APP C-terminal) específico de la forma transmembrana. LCRrta: líquido cefalorraquídeo de rata. LCRh: líquido cefalorraquídeo humano. Plexo de ratón: plexo coroideo de ratón.
- 10 - La figura 3 ilustra la orientación específica a los plexos coroideos por AAV de serotipo 5 (AAV5). Se ha analizado la actividad GFP del cerebro de ratones portadores del gen que codifica GFP, pero solo la expresa después de recombinación, después de inyección en los ventrículos cerebrales de un AAV5 portador o no del gen que codifica la recombinasa CRE. **A.** AAV5-CRE. **B.** AAV5 de control.
- 15 - La figura 4 ilustra la recombinación del gen de β APP en el plexo coroideo. **A.** Representación esquemática del gen de β APP no recombinado (APP^{flox}) y recombinado por recombinasa CRE (APP Δ) en la estirpe de ratón APP^{flox/flox}. Se inyectaron ratones APP^{flox/flox} en los ventrículos cerebrales con la proteína CRE-Tat o un vehículo a modo de control. 15 días después de la inyección, se analizó el ADN genómico de plexo coroideo (plexo), de hipocampo (hipocampo), de corteza cerebral (corteza) y de retina (retina) por PCR (**B**) y se cuantificó la cantidad de proteína β APP en el plexo coroideo por transferencia Western (**C**).
- 20 - La figura 5 ilustra la disminución del número de células proliferativas (Ki67+) en la zona subventricular (SVZ) después de la disminución de la proteína β APP en el plexo coroideo por recombinación genética del gen de β APP.
- La figura 6 ilustra la disminución del ARNm de β APP (A) y de proteína β APP (B) en células Hela transfectadas con un ARNi orientado al péptido A β .

25 EJEMPLO 1: EXPRESIÓN DE LA PROTEÍNA β APP EN LOS PLEXOS COROIDEOS

Se ha comparado el nivel de expresión de β APP y de dos moléculas próximas, APLP-1 y APLP-2, en plexo coroideo, hipocampo, zona subventricular y corteza visual primaria de un ratón de aproximadamente 8 semanas de edad.

Después de la disección de los tejidos, se extrajeron los ARN y se determinó la abundancia de los ARN mensajeros de los genes APP, APLP1 y APLP2 por RT-qPCR gracias a cebadores específicos de cada gen. Los niveles de expresión de cada gen se relacionan con los de un gen constitutivo, HPRT. Se ilustran los resultados por la Figura 1 y la Tabla I a continuación.

Leyenda de la Figura 1 y de la Tabla I: 4^o ventrículo: ChP 4V; ventrículos laterales: ChP LV; hipocampo: Hc; zona subventricular: SVZ; corteza visual primaria: V1.

Tabla I

	App	Aplp1	Aplp2
ChP 4V	2,07	0,82	2,61
ChP LV	1,80	0,86	3,28
SVZ	0,82	1,03	1,19
Hc	1,00	1,00	1,00
V1	1,58	1,15	1,59

35 Estos resultados muestran claramente que el plexo coroideo expresa 2 a 3 veces más transcritos de APP y de APLP2 que las demás estructuras.

EJEMPLO 2: LA β APP ENTERA ESTÁ PRESENTE EN EL PLEXO COROIDEO Y SU FORMA SOLUBLE SE SECRETA EN EL LCR

40 Se analizó el plexo coroideo de un roedor por transferencia Western con un anticuerpo dirigido contra la parte C-terminal de β APP (Figura 2B). El anticuerpo revela una señal a 105 y 120 kDa correspondiente a la forma entera y transmembrana de β APP. Se investigó la presencia de β APP secretada (sAPP) en el líquido cefalorraquídeo (LCR) de roedor y ser humano por transferencia Western con un anticuerpo dirigido contra la parte N-terminal de la proteína (por tanto extracelular y potencialmente secretada después de escisión por alfa-secretasa). El anticuerpo revela una
 45 señal hacia 90 kDa correspondiente a la forma escindida y secretada de β APP (sAPP) en el LCR (Figura 2A).

EJEMPLO 3: EL AAV DE SEROTIPO 5 (AAV5) SE ORIENTA ESPECÍFICAMENTE A LOS PLEXOS COROIDEOS PARA RECOMBINACIÓN GENÉTICA

Previamente, se ha mostrado que la proteína de fusión de la recombinasa CRE con el vector peptídico derivado de la proteína TAT de VIH (CRE-TAT) inyectada en los ventrículos cerebrales de ratones adultos es capaz de inducir una recombinación genómica específica en el plexo coroideo (Spatazza et al., Cell Reports 3: 1815-1823, 2013).

Con el fin de demostrar que un vector vírico se orienta específicamente al plexo coroideo, se inyectó un AAV5 portador o no del gen que codifica la recombinasa CRE en los ventrículos cerebrales de ratones portadores del gen que codifica GFP, pero que solo la expresa después de recombinación por recombinasa CRE. La Figura 3A demuestra que el virus tiene acceso al plexo coroideo pero no infecta el parénquima vecino, y que la CRE expresada por el genoma vírico induce la expresión de GFP en una gran cantidad de células del plexo coroideo.

EJEMPLO 4: EL GEN DE β APP PUEDE RECOMBINARSE EN EL PLEXO COROIDEO

Se inyectaron ratones APP^{flox/flox} adultos (Mallim et al., Genesis 48 200-206, 2010; la Figura 4A) con vehículo o proteína CRE-TAT en los ventrículos cerebrales. Quince días más tarde, se extrajo el ADN genómico de diferentes regiones del cerebro y se analizó por PCR. El gel de la Figura 4B demuestra que el gen de β APP se recombinaba de forma específica en el plexo coroideo, con exclusión de otras estructuras del sistema nervioso central como retina, neocorteza o hipocampo. El análisis por transferencia Western confirma que la cantidad de proteína β APP disminuye de forma significativa en el plexo coroideo 15 días después de la recombinación (Figura 4C).

EJEMPLO 5: LA DISMINUCIÓN DE β APP EN EL PLEXO COROIDEO CONLLEVA UNA REDUCCIÓN DEL NÚMERO DE CÉLULAS PROLIFERATIVAS EN LA ZONA SUBVENTRICULAR

Se identificaron las células proliferativas de ratones en los que se ha recombinado el gen de β APP (ejemplo 4) gracias a un anticuerpo dirigido contra la proteína Ki67 (marcador de proliferación) y se contaron entonces por estereología. Con relación a los ratones de control, los ratones en los que se recombinaba el gen de β APP veían su neurogénesis (número de células proliferativas) disminuida de forma significativa (Figura 5).

EJEMPLO 6: LA sAPP EXÓGENA INYECTADA EN VENTRÍCULOS CEREBRALES AUMENTA LA NEUROGÉNESIS EN SVZ

Se inyectó sAPP recombinante en ventrículos cerebrales de ratones silvestres adultos de 6 semanas. Una y tres semanas más tarde, se identifican las células proliferativas gracias al marcador Ki67 como en el Ejemplo 5. Se espera un aumento del número de células proliferativas.

EJEMPLO 7: CONSTRUCCIÓN DE UN VECTOR VÍRICO PARA LA EXPRESIÓN DE sAPP EN EL PLEXO COROIDEO

Se inserta la secuencia codificante de sAPP (nt 201-2213 de NM_000484, Genbank) en un vector lentivírico derivado de pTRIPΔU3 [PGK+beta2/IRES2+eGFP+WPRE] (MASKOS et al., 2005, Nature 436: 103-107), en dirección 3' del promotor FoxJ1 que no es activo en células neuronales (ZHANG et al., 2007, Am J Respir Cell Mol Biol 36: 515-519), y en dirección 5' de la secuencia codificante de un péptido intermedio (P2A, KIM et al., 2011, PLoS one 6(4) e18556) seguida de la de GFP.

Se cotransfecta el plásmido resultante (pLFsAPP-P2Gfp) con plásmidos que codifican las proteínas víricas requeridas en una estirpe de empaquetamiento apropiada (HEK 293T). Las partículas víricas se recuperan a continuación en el medio de cultivo, se concentran y titulan.

Se inyectan los lentivirus obtenidos en el seno retroorbital, desde donde tienen un acceso privilegiado al plexo coroideo.

EJEMPLO 8: CONSTRUCCIÓN DE UN VECTOR PARA LA EXPRESIÓN DE UN ANTICUERPO MONOCATENARIO CONTRA β A4

Se usan los ARNm extraídos de hibridomas que expresan un anticuerpo monoclonal anti- β A4 tal como scFV A β ^{IB}, scFV A β _{KDE}^{IB} (SUDOL et al., 2009, anteriormente citado), scFV59 (FUKUCHI et al., 2006, anteriormente citado) o CBA β 42 (ZHANG et al., 2003, anteriormente citado) para amplificar separadamente las partes variables de cadenas pesadas y ligeras según el protocolo descrito por BARBAS et al. (2001, "Phage display, a laboratory manual", CSHL Press) adaptado en el laboratorio (LESAFFRE et al., Neural Development, 2, 2, 2007). Dispuestos a uno y otro lado de la secuencia codificante de un ligador largo flexible, se fusionan estos minigenes con un marcaje formado por 6 marcajes myc y se introducen en el vector lentivírico bicistrónico descrito anteriormente (véase el Ejemplo 7).

El plásmido resultante (pLFsabA4-P2Gfp) se usa para producir lentivirus que se inyectan como se describe anteriormente (véase el Ejemplo 7).

EJEMPLO 9: CONSTRUCCIÓN DE UN ARN INTEFERENTE PEQUEÑO PARA DISMINUIR LA EXPRESIÓN DEL

GEN DE β APP Y LA CANTIADD DE PROTEÍNA β APP.

5 Se preparó un ARN interferente pequeño (ARNi o siRNA); su secuencia 5'-AUGAACUUCAUAUCCUGAGTC-3' (SEQ ID NO : 1) complementaria de la secuencia 5'-GACTCAGGATATGAAGTTCAT-3' (SEQ ID NO : 2) es específica del dominio de ADN codificante de una parte del péptido A β humano. Se ponen en cultivo las células humanas de estirpe HeLa y 24 h más tarde se transfectó un siARN de control (concretamente, no correspondiente a ninguna secuencia humana en la base de datos BLAST) o ARNi (100 pmol/100.000 células). 48 horas más tarde, se lisaron las células y se analizó la tasa de ARNm de β APP por RT-qPCR y la cantidad de proteína β APP por transferencia Western. Después de transfección con ARNi, la tasa de ARNm de β APP disminuye de forma significativa (con relación a las células transfectadas con el siARN de control) (Figura 6A). La cantidad de proteína β APP disminuye también de forma significativa en las células transfectadas con ARNi (Figura 6B).

EJEMPLO 10: USO DE UN AAV5 QUE EXPRESA UN ARN INTERFERENTE PEQUEÑO PARA DISMINUIR LA EXPRESIÓN DE β APP EN EL PLEXO COROIDEO Y RETARDAR LA FORMACIÓN DE PLACAS SENILES EN EL CEREBRO DE RATONES APP/PS1.

15 Se construyó un AAV5 que expresa el shARN correspondiente al ARNi pequeño del ejemplo 9 bajo el control del promotor U6. Los ratones portan una mutación "Swedish" en el gen que codifica β APP y portan una mutación en el gen que codifica PS1 que desarrolla agregados de A β (placas seniles) en el hipocampo y la neocorteza a partir de los 4 meses. Se inyectan estos ratones con AAV5-shARN en los ventrículos cerebrales entre los 3 y 5 meses y a los 6 meses se identifican el número y tamaño de depósitos de A β por marcaje con tioflavina S y se analizan anticuerpos anti-A β . Se espera una disminución en el número de placas

20

LISTA DE SECUENCIAS

- 5 <110> CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE COLLEGE DE FRANCE INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE DI NARDO, Ariel MOYA, Kenneth Lee ARNAUD, Karen PROCHIANTZ, Alain
- <120> Inhibición de la síntesis de la proteína β APP o de la actividad del péptido A β en los plexos coroideos
- 10 <130> F644PCT354
- <160> 2
- <170> PatentIn versión 3.5
- 15 <210> 1
<211> 21
<212> RNA
<213> Secuencia Artificial
- 20 <220>
<223> Oligoribonucleótido sintético
- <400> 1
25 augaacuuc uauccugagu c 21
- <210> 2
<211> 21
<212> DNA
<213> Secuencia Artificial
- 30 <220>
<223> Oligonucleótido sintético
- <400> 2
35 gactcaggat atgaagtta t 21

REIVINDICACIONES

- 5 1. Inhibidor de la síntesis de la proteína β APP o de la actividad del péptido $A\beta$ o el vector de expresión que codifica dicho inhibidor, para su uso en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa que es una forma esporádica o familiar de la enfermedad de Alzheimer, por orientación de dicho inhibidor o vector a los plexos coroideos para disminuir la producción de dicho péptido $A\beta$,
eligiéndose dicho inhibidor entre los oligonucleótidos antisentido y los ARN interferentes dirigidos contra el gen que codifica dicha proteína β APP.
- 10 2. Vector que codifica un inhibidor de la síntesis de proteína β APP o de la actividad del péptido $A\beta$ para su uso en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa según la reivindicación 1, caracterizado porque dicho vector es un vector vírico que permite la expresión específica de dicho inhibidor en las células de los plexos coroideos.
3. Vector vírico que codifica un inhibidor de la síntesis de proteína β APP o de la actividad del péptido $A\beta$ para su uso en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa según la reivindicación 2, caracterizado porque se trata de un vector derivado de un virus adenoasociado de serotipo 2, 4 o 5.
- 15 4. Vector vírico que codifica un inhibidor de la síntesis de proteína β APP o de la actividad del péptido $A\beta$ para su uso en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa según la reivindicación 2 o 3, caracterizado porque dicho inhibidor está bajo el control de un promotor específico de células del plexo coroideo.
5. Inhibidor de la síntesis de proteína β APP o de la actividad del péptido $A\beta$ o vector de expresión que codifica dicho inhibidor, para su uso en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque dicho inhibidor o vector se administra por inyección al seno retroorbital.
- 20 6. Inhibidor de la síntesis de proteína β APP o de la actividad del péptido $A\beta$ o vector de expresión que codifica dicho inhibidor, para su uso en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque dicho inhibidor o vector se combina con una forma soluble funcional de la proteína β APP.

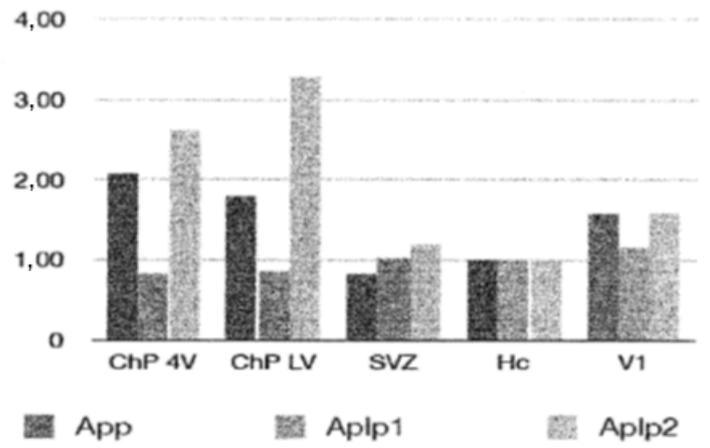


FIGURA 1

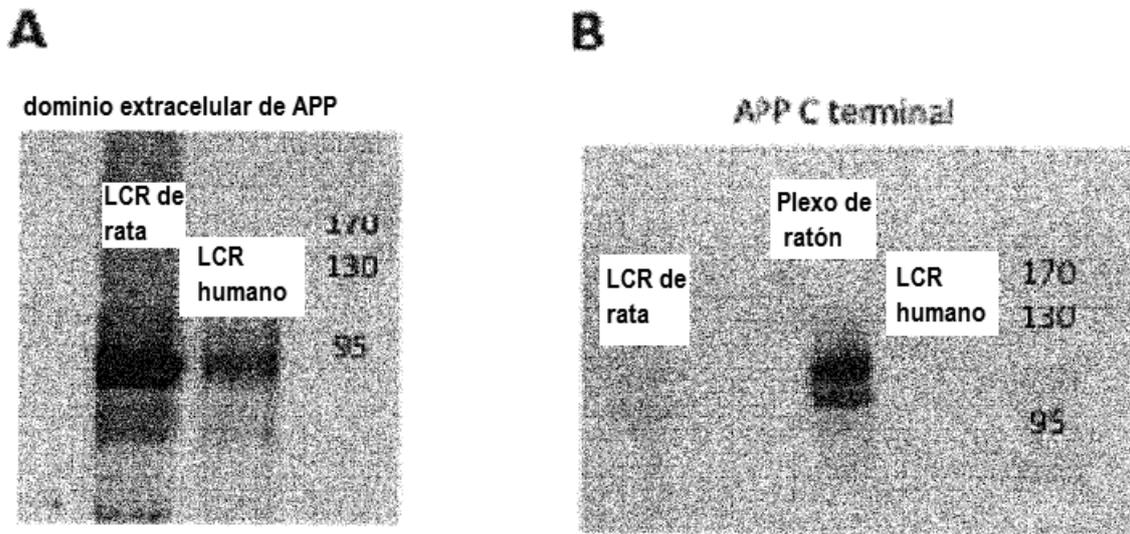
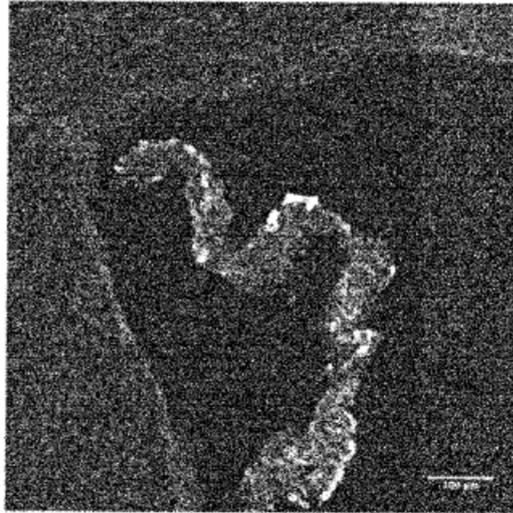


FIGURA 2

A



B

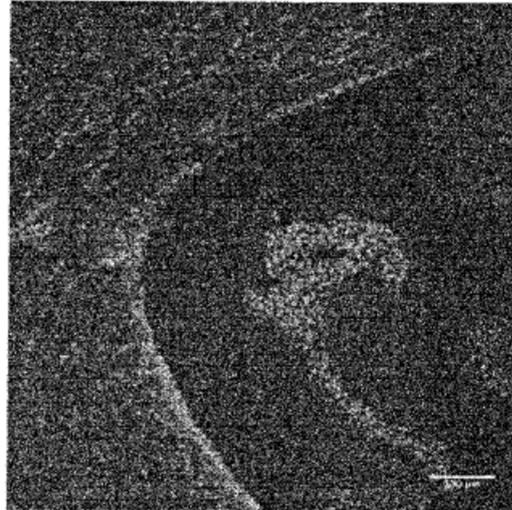
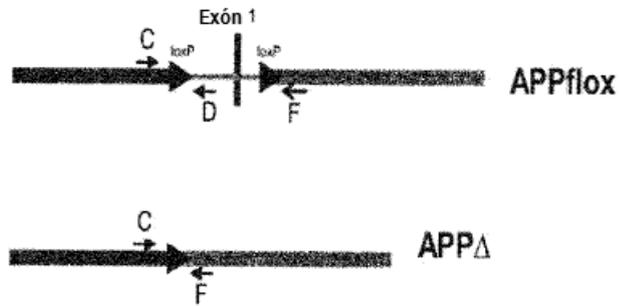
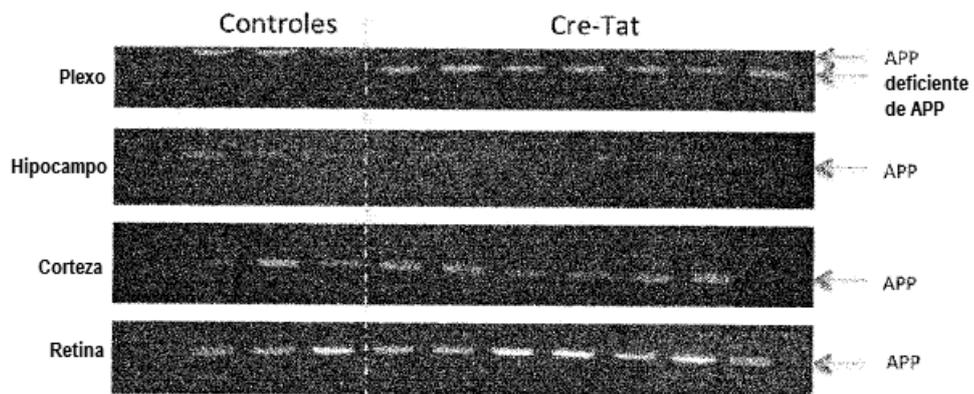


FIGURA 3

A



B



C

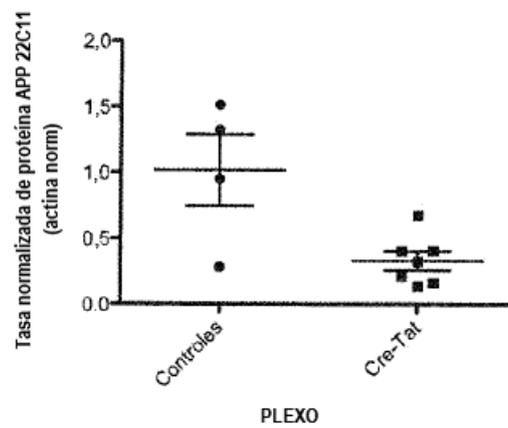


FIGURA 4

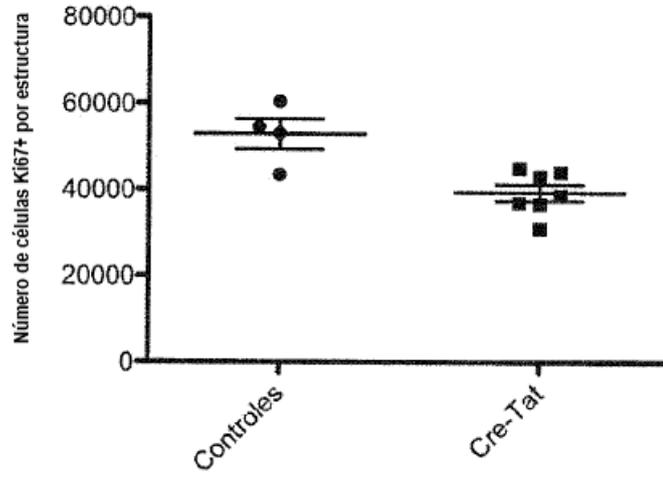
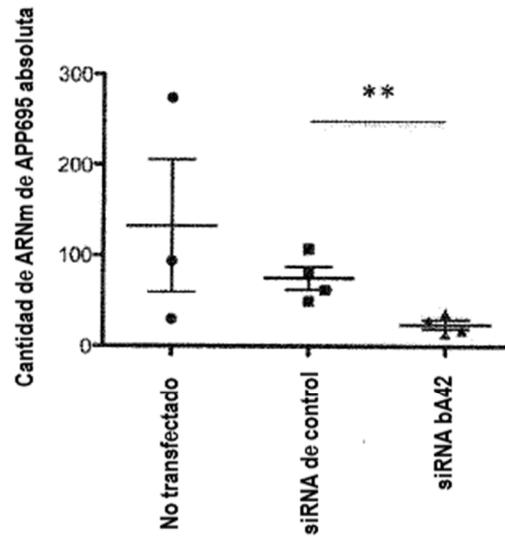


FIGURA 5

A



B

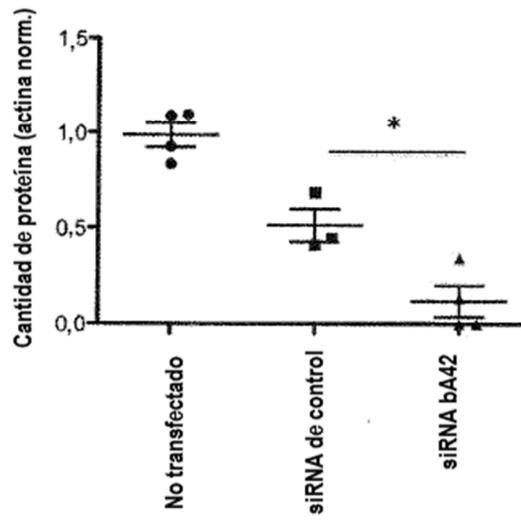


FIGURA 6