



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 601 13 304 T2 2006.06.08**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 370 279 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **601 13 304.8**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/IT01/00530**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **01 983 771.5**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 02/036151**

(86) PCT-Anmeldetag: **18.10.2001**

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: **10.05.2002**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **17.12.2003**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **07.09.2005**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **08.06.2006**

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: **A61K 38/18 (2006.01)**  
**A61P 37/00 (2006.01)**

(30) Unionspriorität:

**RM20000571 03.11.2000 IT**

(73) Patentinhaber:

**Sigma-Tau Industrie Farmaceutiche Riunite  
S.p.A., Rom/Roma, IT**

(74) Vertreter:

**HOFFMANN & EITL, 81925 München**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,  
LI, LU, MC, NL, PT, SE, TR**

(72) Erfinder:

**MANTOVANI, Alberto, I-20157 Milan, IT; BOTTAZI,  
Barbara, I-20157 Milan, IT; PERI, Giuseppe, I-20157  
Milan, IT; MANFREDI, Angelo, I-20157 Milan, IT**

(54) Bezeichnung: **VERWENDUNG VON LANGEM PENTRAXIN PTX3 ZUR HERSTELLUNG EINES ARZNEIMITTELS  
ZUR VERHÜTUNG UND HEILUNG VON AUTOIMMUNKRANKHEITEN**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

**Beschreibung**

**[0001]** Diese Erfindung betrifft die Verwendung von langem Pentraxin PTX3 (PTX3) oder eines seiner funktionellen Derivate zur Herstellung eines Medikamentes zur Vorbeugung und Behandlung von Autoimmunerkrankungen.

**[0002]** PTX3 wird in verschiedenen Zelltypen (Bottazzi et al., J. Biol. Chem., 1997, 272: 32817–32823), insbesondere in mononuklearen Phagozyten und Endothelialzellen, nach dem Aussetzen mit Entzündungszytokinen Interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) und Tumornekrosefaktor alpha (TNF- $\alpha$ ) exprimiert.

**[0003]** Bisher wird die biologische Funktion von PTX3 noch nicht verstanden.

**[0004]** PTX3 besteht aus zwei strukturellen Domänen, einer N-terminalen Domäne, die nicht mit irgendeinem bekannten Molekül im Zusammenhang steht, und einer C-terminalen Domäne, die den kurzen Pentraxinen ähnlich ist, wie C-reaktives Protein (CRP) (F. Breviario et al., J. Biol. Chem., 1992, 267: 22190).

**[0005]** Ein wesentliches Ausmaß an Ähnlichkeit wurde zwischen menschlichem PTX3 (hPTX3) und tierischen PTX3 festgestellt. Insbesondere ist Maus-PTX3 (mPTX3) hPTX3 bezüglich der DNA-Sequenz und Genorganisation und -lokalisierung sehr ähnlich. Das Ausmaß der Identität zwischen menschlichem und Mäuse-PTX3-Gen ist 82 % und erreicht 90 %, wenn konservative Substitutionen berücksichtigt werden (M. Introna et al., Blood, 1996, 87: 1862–1872). Das Mäuse-PTX3-Gen ist am Chromosom 3 der Maus in einem Bereich, der dem menschlichen 3q-Bereich (q24–28) sehr ähnlich ist, in Übereinstimmung mit der dokumentierten Lage von hPTX3 in dem 3q 25-Bereich lokalisiert (M. Introna et al., Blood, 1996, 8.7: 1862–1872).

**[0006]** Das hohe Ausmaß der Ähnlichkeit zwischen hPTX3- und mPTX3-Sequenzen ist ein Zeichen des hohen Ausmaßes der Konservierung von Pentraxinen während der Evolution (M.B. Pepys, M.L. Baltz, Adv. Immunol. 1983, 34: 141).

**[0007]** Bezüglich eines Überblicks der Pentraxine vergleiche H. Gewurz et al., Current Opinion in Immunology, 1995, 7: 54–64.

**[0008]** Das lange Pentraxin PTX3 wird in Geweben erzeugt, die Pro-Entzündungssignalen ausgesetzt sind, die sowohl durch Zytokine als auch Lipopolysaccharid (LPS) geliefert werden.

**[0009]** Diese Pro-Entzündungsverbindungen fördern den apoptotischen Tod der Zellen, der bei dem Entzündungsprozeß und der physiologischen dendritischen Zelle (DCs) Reifung involviert ist.

**[0010]** Der Zelltod tritt üblicherweise in vivo während des Entzündungsvorgangs auf.

**[0011]** Im Organismus werden apoptotische sterbende Zellen von lebenden Geweben entfernt. während einer übermäßigen und fehlgesteuerten Apoptose blockiert die sehr große Menge an toten Zellen die Kapazität der Beseitigung von Zellkörpern, die durch den Organismus ausgeübt wird. Die Zellen akkumulieren im Gewebe und sind für die Phagozytose von nicht-konventionellen Phagozyten wie unreifen DCs verfügbar, wodurch die Möglichkeit der Förderung des Autoimmunvorgangs erhöht wird (Cell Death Diff., 1998, 5: 563–568).

**[0012]** Die Entwicklung und Aufrechterhaltung der Autoimmunvorgänge erfordert, daß Autoantigen (Selbst-Antigen), das durch unreife DCs präsentiert wird, als für den Organismus schädlich (fremd oder nicht-selbst) erkannt werden. Dieser Erkennungsfehler tritt während der Entfernung der apoptotischen zellulären Körper auf, was durch unreife DCs ausgeübt wird.

**[0013]** Die intrazellulären Autoantigene werden während der Apoptose modifiziert und die Proteinveresterung aufgrund der Kinasen, die durch den apoptotischen Streß aktiviert werden, erzeugt neue Konformationsepitope (J. Exp. Med., 1998, 187: 547–560).

**[0014]** Der Zelltod und Nuklearkollaps werden gefolgt vom Autoantigen-Bruch, der durch spezifische Proteasen (Kaspasen) erfolgt (J. Exp. Med., 1996, 184: 765–770; J. Exp. Med., 1996, 183: 1957–1964) und durch die Erzeugung von Nukleosomen, einem Hauptantigen bei der prototypischen systemischen Autoimmunerkrankung, systemischer Lupus Erythematosus (SLE) (J. Exp. Med., 1993, 177: 1367–1381; Arthritis Rheum., 1999, 42: 833–843).

**[0015]** Einige Autoantigene sind üblicherweise mit dem endoplasmatischen Retikulum und den plasmatischen Membranen des Zytogerüsts assoziiert; diese Antigene werden während der frühen Stufe der Apoptose segregiert.

**[0016]** Nukleare Autoantigene segregieren mit apoptotischen Körpern, die während der späten Apoptose erzeugt werden, und werden von den apoptotischen Zellen ausgestoßen (J. Exp. Med, 1994, 179: 1317–1330; Exp. Cell Res., 1997, 234: 512–520).

**[0017]** Im Gegensatz dazu ergibt die Verarbeitung der internalisierten sterbenden (apoptotischen) Zellen T-Zellepitope (J. Immunol., 1997, 159: 5391–5399).

**[0018]** Spezifische oder semi-spezifische Einfangphagozyten, die nicht die Fähigkeit zum Initiieren von Immunantworten aufweisen, leisten das meiste bezüglich der in vivo Beseitigung von sterbenden Zellen (Cell Death Diff., 1998, 5: 563–568). Jedoch sind die mächtigsten Antigen-präsentierenden Zellen (APC) die DCs (Curr. Opin. Immunol., 1997, 9: 10–16); Nature, 1998, 392: 245–252); diese Zellen internalisieren sterbende Zellen und präsentieren Epitope, die von deren Verarbeitung in MHC Klasse I und Klasse II beschränkte T-Lymphozyten stammen (Nature, 1998, 392: 86–89; J. Immunol., 1998, 159: 5391–5399; J. Exp. Med., 1998, 188: 2163–2173; Nat. Med., 1999, 5: 1249–1255; Nat. Med., 1999, 5: 1232–1233).

**[0019]** DCs stammen von Knochenmark CD34+ Progenitoren (Nature, 1992, 360: 258–261).

**[0020]** DC-Vorläufer treten in das Blut ein und erreichen periphere Organe, wo sie sich in unreife DCs entwickeln.

**[0021]** Unreife DCs fangen lösliche Antigene über Makropinozytose (J. Exp. Med., 1994, 179: 1109–1118) und Partikel durch Phagozytose ein (J. Exp. Med., 1993, 178: 479–488).

**[0022]** Primäre Pro-Entzündungssignale wie IL-1 $\beta$  und TNF- $\alpha$  fördern die DCs physiologische Reifung und Antigen-Präsentationsfunktion (Curr. Opin. Immunol., 1999, 11: 308–313).

**[0023]** Die Präsentation von sterbenden Zellantigenen von DCs wird streng reguliert, weil Zellen (durch Definition Reservoir von "Selbst"-Antigenen) kontinuierlich während der Entwicklung und des normalen Gewebumsatzes sterben.

**[0024]** Der normale Zelltod über Apoptose tritt in der Abwesenheit von Entzündungssignalen auf, die DCs-Reifung verursachen.

**[0025]** Daher existieren sterbende Zellen und reifende DCs gleichzeitig, wodurch die Toleranz bezüglich der peripheren Antigene bedroht wird (Nat. Med., 1999, 5: 1232–1233). Autoimmunität assoziiert in der Regel nicht mit der Entzündung.

**[0026]** Bei physiologischen Zuständen erfolgt eine Phagozytose bei einer geringen Anzahl von apoptotischen Zellen durch unreife DCs Zellen. Faktoren im Milieu, die möglicherweise durch die Entzündungssignale selbst rekrutiert sind, müssen Phagozytose von sterbenden Zellen durch unreife DCs verhindern.

**[0027]** Nur während einer exzessiven und disregulierten Entzündung erhöhen die nicht-konventionellen Phagozyten mit einem erhöhten Zelltod ihre phagozytotische Aktivität, und diese erhöhte Phagozytose verursacht eine Erhöhung der Möglichkeit, daß Selbst-Antigene als "Nicht-Selbst" durch den Organismus erkannt werden.

**[0028]** Diese Mechanismen der Identifizierung der Selbst-Antigene als schädlich oder fremd für den Organismus, den die immunokompetenten Zellen aufweisen, ist die Grundlage einer Anzahl von Autoimmunerkrankungen, wie systemischer Lupus Erythematosus (SLE), Multiple Sklerose (MS), Arthritis, Diabetes, Thyroiditis, hämolytische Anämie, atrophische Orchitis, Goodpasture-Erkrankung, Autoimmunretinopathie, Autoimmunthrombozythopenie, Myasthenie Gravis, primäre Leberzirrhose, aggressive chronische Hepatitis, ulcerative Colitis, Dermatitis, chronische Glomerulonephritis, Sjogrensyndrom, Reitersyndrom, Miositis, systemische Sklerose und Polyarthritis.

**[0029]** Systemischer Lupus Erythematosus ist eine systemische Entzündungs-Autoimmunerkrankung, gekennzeichnet durch eine Produktion von Autoimmun-Antikörpern, in Abhängigkeit von T-Zellen, die mit einer hohen Affinität ausgerüstet sind.

**[0030]** Patienten mit SLE in der aktiven Phase der Erkrankung zeigen charakteristische niedrige plasmatische Gehalte von C-reaktivem Protein CRP.

**[0031]** Bei Patienten, die durch SLE beeinträchtigt sind, wurde ein angeborener Mangel des Komplementärfaktors C1q (Nature Genetics, 1998, 19: 56–59; Nature Genetics, 1998, 19: 3–4) festgestellt, ein Faktor, der durch PTX3 erkannt wird (J. Biol. Chem., 1997, 272: 32817–32828).

**[0032]** Darüber hinaus bindet PTX3 einige gut charakterisierte SLE-Autoantigene, wie Histone und andere (J. Exp. Med., 1990, 172: 13–18; J. Biol. Chem., 1997, 272: 32817–32823).

**[0033]** Frühere Verwendungen von PTX3 sind bereits bekannt, zum Beispiel beschreibt WO 99/32516, die im Namen des Anmelders angemeldet ist, die Verwendung des langen Pentraxin PTX3 für die therapeutische Behandlung von Tumor-, Entzündungs- und infektiösen Pathologien.

**[0034]** US 5,767,252 beschreibt einen Wachstumsfaktor für neuronale Zellen, der zu der Pentraxin-Familie gehört (siehe auch die genannte Publikation). Dieses Patent betrifft das Neurobiologiefeld.

**[0035]** Bisher existiert keine zufriedenstellende Heilung für die meisten der bekannten Autoimmunerkrankungen. Ein stark empfundenes Bedürfnis für neue Arzneimittel, die in der Lage sind, die Erkennung der Selbst-Antigene als fremd zu inhibieren, und in der Lage sind, die Symptome dieser Pathologien zu lindern, ohne daß weitere Nebenwirkungen verursacht werden, existiert noch.

**[0036]** Diese Art der Inhibition bestimmt die Blockade des Beginns von Autoimmunerkrankungen, die bei den oben genannten Pathologien grundlegend sind.

**[0037]** Es wurde nun überraschenderweise festgestellt, daß das. lange Pentraxin PTX3 zur Vorbeugung und Erleichterung der Symptome von Autoimmunerkrankungen nützlich ist.

**[0038]** Tatsächlich ist das lange Pentraxin PTX3 in der Lage, apoptotische Zellen (aber nicht lebende Zellen) zu binden, wobei verhindert wird, daß diese Zellen für eine Phagozytose durch unreife DCs verfügbar sind, und zwar während einer exzessiven oder dysregulierten Apoptose.

**[0039]** Wie oben genannt, blockiert während der Entzündung und des erhöhten zellulären Todes die große Menge an toten Zellen die Kapazität des Organismus, solche Zellen zu entfernen, und diese Zellen akkumulieren im Gewebe und sind für die Phagozytose verfügbar, die durch nicht-konventionelle Phagozyten wie unreife DCs Zellen erfolgt, wobei eine Erhöhung der Möglichkeit erfolgt, daß der Autoimmunvorgang beginnt.

**[0040]** Das Binden zwischen apoptotischen Zellen und PTX3 hilft der Beseitigung der apoptotischen Zellen, was durch Makrophagen erfolgt, wobei verhindert wird, daß eine Phagozytose bei den apoptotischen Zellen durch unreife DCs Zellen erfolgt, die Autoimmunerkrankungen fördern.

**[0041]** Die Autoimmunerkrankungen, die entsprechend der vorliegenden Erfindung behandelt werden können, werden ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus systemischem Lupus Erythematosus (SLE), Multipler Sklerose (MS), Arthritis, Diabetes, Thyroiditis, hämolytischer Anämie, atrophischer Orchitis, Goodpasture-Erkrankung, Autoimmunretinopathie, Autoimmunthrombozythopenie, Myasthenie Gravis, primärer Leberzirrhose, aggressiver chronischer Hepatitis, ulcerativer Colitis, Dermatitis, chronischer Glomerulonephritis, Sjogrensyndrom, Reitersyndrom, Miositis, systemischer Sklerose und Polyarthrit.

**[0042]** Der Ausdruck "langes Pentraxin PTX3" soll irgendein langes Pentraxin PTX3 oder deren funktionelle Analoga unabhängig von ihrem Ursprung (menschlich oder tierisch) oder synthetische umfassen.

**[0043]** Das bevorzugte lange Pentraxin ist das menschliche PTX3, dessen Sequenz in WO 99/32516 beschrieben ist.

**[0044]** Nachfolgend werden einige Beispiele angegeben, die die Erfindung erläutern.

#### Beispiel 1

**[0045]** Fähigkeit von PTX3 zum Binden an apoptotische Humanzellen und zur Regulierung ihrer Eliminierung

## Zelltypen

## 1. Leukämische Zellen

**[0046]** Menschliche Leukämie-Jurkat-T-Zellen wurden von ATCC (Rockville, MD) erworben und in RPMI (Gibco BRL, Grand Island, NY), umfassend 100 U/ml Penicillin, 0,1 mg/ml Streptomycin, 2 mM L-Glutamin und 10 % FCS (Hyclone, Logan, UT) (Gewebekulturmedium, TCM) oder 1 % Nutridoma-SP (Boehringer Mannheim, Deutschland) (TCM-nut) wachsen gelassen.

## 2. Dendritische Zellen

**[0047]** Unreife menschliche DCs, die von zirkulierenden Monozyten stammen, wurden in der Gegenwart von rekombinantem GM-CSF und IL-4 kultiviert (J. Leuk. Biol., 1999, 66: 345–349; J. Exp. Med., 1997, 185: 317–328), wobei diese Behandlung die Erzeugung von homogenen Populationen von unreifen DCs Zellen ermöglichte.

## Induktion der Apoptose

**[0048]** Jurkat-Zellen wurden in TCM-nut propagiert, zum Vermeiden der Interferenz durch uncharakterisierte Serum-Cofaktoren und wurden der Apoptose mit anti-CD95 moAb (CH-11, 100 ng/10<sup>6</sup> Zellen) in TCM-nut bei 37°C überlassen oder unter einer UV-Quelle für 20" bestrahlt. Die Apoptose wurde durch Flußzytometrie und durch morphologische Merkmale verifiziert, wie in Arthritis Rheum., 1998, 41: 205–214, beschrieben ist: Nach beiden Behandlungen gingen die meisten Jurkat-T-Zellen (> 95 %) eine Apoptose ein.

**[0049]** Das Aussetzen von Phosphatidylserin (PS) wurde durch Flußzytometrie und Konfokalmikroskopie (siehe unten) nach Färben mit FITC-markiertem Annexin V (Bender MedSystems, Prodotti Gianni, Mailand, Italien) (0,5 µg/ml) für 10 Minuten bei Raumtemperatur in PBS mit MgCl<sub>2</sub>, 0,1 mM und CaCl<sub>2</sub>, 0,1 mM (PBS++) untersucht.

**[0050]** Der DNA-Gehalt wurde durch Flußzytometrie bestimmt.

**[0051]** Bei einigen Experimenten wurde bei den Zellen eine Apoptose durch unterschiedliche pharmakologische Behandlungen (BAPTA-AM 5 µM, Cycloheximid 10 µg/ml, Staurosporin 20 µM, Pyrrolidindithiocarbamat PDTTC 100 µM und 50 mM, Dexamethason 100 nM) verursacht.

**[0052]** Nekrose wurde entweder durch Erwärmen der Zellen (95°C für 5 Minuten), Gefrieren und Auftauen dieser oder durch hyperosmotischen Schock (10 Minuten in NaP 150 mM, pH 7,5, NaCl 1,4 M Puffer) erzielt.

## Proteine

**[0053]** Menschliches PTX3 wurde von CHO Zellen, die stabil und konstitutiv das Protein exprimieren, gereinigt, wie in J. Biol. Chem., 1997, 272: 32817–32823, beschrieben ist. Die Biotinylierung von PTX3 wurde wie in EMBO J., 1992, 11: 813–89 beschrieben durchgeführt; biotinyliertes PTX3 wurde anschließend in dem nativen Zustand in 5–10 % Gradienten-PAGE analysiert, wie in J. Biol. Chem., 1997, 272: 32817–32823 beschrieben ist.

**[0054]** Gereinigtes menschliches C-reaktives Protein (CRP), Serumamyloid-P-Komponente (SAP) und Rinderserumalbumin (BSA) wurden von Sigma (St. Louis, MO) erworben.

## Binden von PTX3 an apoptotische Zellen

**[0055]** Zellen wurden biotinyliertem PTX3 (untersuchter Bereich 0,1–500 µg/ml) 30 Minuten bei Raumtemperatur ausgesetzt.

**[0056]** Zellbindungs-Cofaktoren wurden durch Flußzytometrie nach Zugabe von FITC-konjugiertem Streptavidin (Pierce, Rockford, IL) erkannt. Der Fluoreszenzhintergrund wurde nur in der Gegenwart von FITC-konjugiertem Streptavidin berechnet.

**[0057]** Die lineare Erhöhung der Bindung wurde beobachtet, wenn Konzentrationen an biotinyliertem PTX3 verwendet wurden, wobei ein Plateau bei etwa 100 µg/ml erreicht wurde.

**[0058]** Die Spezifität des Bindens wurde durch Vorinkubieren von apoptotischen Zellen mit PTX3, SAP, CRP und BSA (500 µg/ml) vor der Zugabe von biotinyliertem PTX3 (10 µg/ml), FITC-Streptavidin und FACS-Analyse verifiziert.

**[0059]** Das Binden von PTX3 an sterbende Zellen wurde ebenfalls durch Konfokalbildgebung charakterisiert: in diesem Fall wurden gefärbte Zellen auf mit Polylysin beschichtetes Deckglas für 20' bei RT gesät, für 15 Minuten bei Raumtemperatur in 4 % (G/V) Paraformaldehyd fixiert und in Mowiol-Medium befestigt.

**[0060]** Die Konfokal-Laserabtastmikroskopie wurde unter Verwendung eines Leica TCS-NT (Leica Microsystems, Heidelberg, Deutschland)-Konfokal-Laserabtastmikroskops durchgeführt, das mit Laser Argon/Krypton, 75 mW Multilinie ausgerüstet war.

**[0061]** Jurkat-Zellen, die eine CD95 (FAS)-getriggerte Apoptose eingingen, wurden leicht aus der Basis der Nuklearcharakteristiken wie Chromatinmargination, Kondensation und Fragmentierung identifiziert.

#### Phagozytose

**[0062]** Jurkat-Zellen bei einer logarithmischen Phase der Expansion wurden der Apoptose durch UV-Bestrahlung ausgesetzt und mit dem grünen fluoreszierenden aliphatischen Farbstoff PKH2-GL (Sigma) markiert.

**[0063]** Nach Waschen wurden die Zellen mit PTX3 (100 µg/ml für 30 Minuten bei Raumtemperatur) inkubiert oder nicht und mit DC(s) für 90 Minuten bei 37°C oder bei 4°C co-inkubiert.

**[0064]** Sowohl unreife DCs als auch DCs, die nach der Behandlung mit TNF- $\alpha$  reifen (J. Exp. Med., 1997, 185: 317–328), wurden verwendet. Als Kontrolle wurde die Internalisierung von FITC-markiertem Ovalbumin (Sigma) oder von grün fluoreszierenden Latexperlen (2 µm Durchmesser, Polysciences, Warrington, PA) durch unreife und reife DCs in der Gegenwart oder Abwesenheit von PTX3 untersucht. Nach der Phagozytose wurden DCs in PBS mit EDTA und Trypsin für 15 Minuten bei 37°C inkubiert und durch Flußzytometrie analysiert (FACS Scan, Becton und Dickinson, San Jose, CA).

**[0065]** Die Prozentsätze der Zellen, die apoptotische Zellen banden oder internalisierten, wurden in unabhängigen Proben verglichen.

#### Beispiel 1/1

**[0066]** Wie oben erwähnt, wurden Jurkat-Zellen biotinyliertem PTX3 und FITC-Spreptavidin ausgesetzt und das Binden wurde dann durch Flußzytometrie untersucht.

**[0067]** Die Ergebnisse (repräsentativ von vier unabhängigen Experimenten), die in der folgenden Tabelle 1 angegeben sind, werden als relative Fluoreszenzintensität (RFI) ausgedrückt, die berechnet wurde, indem die mittlere Fluoreszenzintensität in der Gegenwart von PTX3 und FITC-Streptavidin und in der Gegenwart von FITC-Streptavidin alleine geteilt wurde.

Tabelle 1

Zellen*	apoptotische Behandlung	RFI**
lebend	keine	1
apoptotische Zellen	Cycloheximid	10
apoptotische Zellen	PDTC	12,3
apoptotische Zellen	Dexamethason	17,9
apoptotische Zellen	Staurosporin	19,8
apoptotische Zellen	UV-Strahlung (16 h)	22,4
post-apoptotische Zellen	UV-Strahlung (48 h)	2,8
nekrotische Zellen	gefrieren	7,3
nekrotische Zellen	sieden	2,4
nekrotische Zellen	hyperosmotischer Schock	5,6

\* = Jurkat-Zellen

\*\* = relative Fluoreszenzintensität

**[0068]** Diese Ergebnisse zeigen, daß PTX3 die Fähigkeit erwarb, an Zellen zu binden, die später eine Apoptose eingingen, und daß die Erkennung durch PTX3 nicht von der Initiierung von Stimuli abhängt, die zum Triggern von Apoptose verwendet wurden. Darüber hinaus verlor PTX3 die Fähigkeit zum Binden an Zellen, die eine postapoptotische Phase entwickelten.

**[0069]** Die in Tabelle 1 angegebenen Ergebnisse zeigen, daß apoptotische Zellen in der Lage waren, an biotinyliertem PTX3 zu binden, und dies ist die Demonstration der Spezifität des PTX-3 Bindens.

#### Beispiel 2/2

**[0070]** Wie oben erwähnt, weichen apoptotische Zellen, die durch PTX3 gebunden sind, einer Internalisierung durch unreife DCs aus.

**[0071]** Bei diesem Experiment wurden entweder unreife DCs oder DCs, die nach Behandlung mit TNF- $\alpha$  reifen, verwendet.

**[0072]** Als Kontrolle wurde die Internalisierung von FITC-markiertem Ovalbumin oder grün fluoreszierenden Latexperlen durch unreife und reife DCs in der Gegenwart oder in der Abwesenheit von PTX3 untersucht.

Tabelle 2

Substrat	% von DCs, die in grün fluoreszierende apoptotische Zellen oder Latexperlen internalisierten			
	unreife DCs		reife DCs (TNF- $\alpha$ behandelte DCs)	
	nicht-vorhandenes PTX-3	vorhandenes PTX3	nicht-vorhandenes PTX3	vorhandenes PTX3
apoptotische Zellen	56 $\pm$ 8	21 $\pm$ 6	6 $\pm$ 5	8 $\pm$ 6
Latexperlen	30 $\pm$ 9	28 $\pm$ 12	11 $\pm$ 5	11 $\pm$ 2

**[0073]** Die in Tabelle 2 angegebenen Ergebnisse (Mittelwert von drei getrennten Experimenten) zeigen, daß PTX3 die Phagozytose des inerten Substrats durch unreife DCs nicht beeinflusst.

**Patentansprüche**

1. Verwendung des langen Pentraxin PTX3 oder eines Derivates davon zur Herstellung eines Medikamentes zur Vorbeugung oder Behandlung von Autoimmunerkrankungen.

2. Verwendung nach Anspruch 1, worin die Autoimmunerkrankung ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus systemischem Lupus Erythematosus (SLE), Multipler Sklerose (MS), Arthritis, Diabetes, Thyroiditis, hämolytischer Anämie, atrophischer Orchitis, Goodpasture-Erkrankung, Autoimmunretinopathie, Autoimmunthrombozythopenie, Myasthenie Gravis, primärer Leberzirrhose, aggressiver chronischer Hepatitis, ulcerativer Colitis, Dermatitis, chronischer Glomerulonephritis, Sjogrensyndrom, Reitersyndrom, Miositis, systemischer Sklerose oder Polyarthritits.

3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, worin das lange Pentraxin PTX3 das in der Natur vorhandene PTX3 ist.

4. Verwendung nach Anspruch 3, worin das lange Pentraxin PTX3 das menschliche Pentraxin ist.

5. Verwendung nach den Ansprüchen 1 bis 4, worin das lange Pentraxin PTX3 das synthetisch erhaltene PTX3 ist.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen