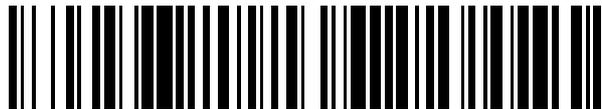


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 614 735**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/40** (2006.01)

**A61K 38/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.07.2008 PCT/US2008/070588**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.01.2009 WO09015063**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.07.2008 E 08782121 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.10.2016 EP 2182943**

54 Título: **Métodos y composiciones para tratar los trastornos relacionados con fibrosis usando antagonistas de la IL-17**

30 Prioridad:

**23.07.2007 US 951270 P**  
**13.08.2007 US 955414 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**01.06.2017**

73 Titular/es:

**JANSSEN BIOTECH, INC. (100.0%)**  
**800/850 Ridgeview Drive**  
**Horsham, PA 19044, US**

72 Inventor/es:

**DUDAS, PAUL;**  
**SAGUE, SARAH;**  
**ELLOSO, M. MERLE y**  
**FARRELL, FRANCIS**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

**ES 2 614 735 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).

5 **Métodos y composiciones para tratar los trastornos relacionados con fibrosis usando antagonistas de la IL-17**

**Descripción**

10 **CAMPO DE LA INVENCION**

15 **[0001]** La presente invención relaciona los métodos y composiciones para tratar las condiciones relacionadas con la interleucina-17 (IL-17) en pacientes que tienen fibrosis usando antagonistas de la IL-17, tales como anticuerpos, incluyendo porciones específicas o variantes, específicas al menos para una proteína de la IL-17, muteína o fragmento de éstas, incluyendo formulaciones terapéuticas, administración y equipos.

**ARTE RELACIONADO**

20 **[0002]** La fibrosis renal puede desarrollarse a partir de una lesión aguda (p.ej., isquemia/reperfusión por injerto) (Freese et al., Nephrol Dial Transplant 2001; 16: 2401-2406) o una condición crónica (p.ej., diabetes) (Ritz et al., Nephrol Dial Transplant 1996; 11 Suppl 9: 38-44). La patogénesis se caracteriza por una respuesta inflamatoria inicial seguida por una fibrogénesis sostenida del aparato de filtración glomerular e intersticio tubular (Liu Y, Kidney Int 2006; 69: 213-217). Se ha demostrado que la fibrosis tubulo-intersticial tienen un papel crítico en la patogénesis de la lesión renal en la insuficiencia renal terminal y la célula del túbulo proximal se ha revelado como un mediador central (Phillips and Steadman, Histol Histopathol 2002; 17: 247-52) (Phillips, Chang Gung Med J 2007; 30(1): 2-6). La fibrogénesis en el compartimiento tubulointersticial está mediada en parte por la activación de los fibroblastos residentes, los cuales secretan citoquinas proinflamatorias que estimulan al epitelio del túbulo proximal a secretar mediadores inflamatorios y fibrogénicos locales.

30 **[0003]** Adicionalmente, los fibroblastos secretan citoquinas quimiotácticas y las células epiteliales proporcionan un gradiente direccional que guía la infiltración de monocitos/macrófagos y linfocitos T en el tubulointersticio. El infiltrado inflamatorio produce citoquinas fibrogénicas e inflamatorias adicionales que activan la liberación de citoquinas por los fibroblastos y epitelio las cuales también estimulan al epitelio para sufrir una transición fenotípica en la cual las células de depositan componentes de la matriz extracelular en exceso (Simonson MS, Kidney Int 2007; 71: 846-854).

35 **[0004]** La interleucina-17 (IL-17) es una citoquina proinflamatoria derivada del linfocito T que es regulada al alza durante el rechazo del aloinjerto renal humano (Van Kooten et al., J Am Soc Nephrol 1998; 9: 1526-1534)(Loong et al., J Path 2002; 197: 322-332). La IL-17 estimula la producción de los mediadores proinflamatorios IL-6, IL-8, componente C3 del complemento, IL-17 y RANTES por el epitelio tubular proximal (Van Kooten et al., J Am Soc Nephrol 1998; 9: 1526-1534)(Woltman et al., J Am Nephrol 2000; 11: 2044-55). Estos factores a su vez participan en el reclutamiento de otros tipos celulares inflamatorios en el intersticio que contribuyen al mantenimiento de la respuesta inflamatoria/inmune y, si no son suprimidos, la aparición de fibrosis y nefropatía crónica del aloinjerto (Racusen et al., Kidney Int 1999; 55: 713-23) (Mannon, Am J Transpl 2006; 6: 867-75). Sin embargo, no está claro si la IL-17 solo impacta indirectamente la función de la célula epitelial induciendo la secreción de mediadores solubles que poseen actividad autocrina o paracrina dañina o si la IL-17 tiene un efecto profibrótico directo mediado por receptor sobre el epitelio del túbulo proximal.

40 **[0005]** Por consiguiente, existe la necesidad de proporcionar anticuerpos humanos específicos para la IL-17 humana para su uso en terapia para disminuir o eliminar los síntomas de la fibrosis relacionada con la IL-17, así como mejorías sobre los anticuerpos conocidos o fragmentos de éstos.

45 **RESUMEN DE LA INVENCION**

50 **[0006]** Aquí se muestran los métodos y composiciones para tratar las condiciones relacionadas con la interleucina-17 (IL-17) en pacientes que tienen fibrosis usando antagonistas de la IL-17, tales como anticuerpos, incluyendo porciones específicas o variantes, específicas al menos para una proteína de la IL-17, tal como la IL-17A, IL-17F, o muteínas de éstas (p.ej., pero no limitado a, una de las SEQ ID NOS: 1-4) o fragmento de éstas, incluyendo formulaciones terapéuticas administración y equipos.

55 **[0007]** Un método de la presente invención proporciona la inhibición de al menos la interleucina-17 (IL-17) en un paciente que tiene fibrosis renal usando al menos un antagonista de la IL-17, comprendiendo administrar una cantidad efectiva que inhiba la IL-17 de al menos un antagonista de la IL-17. El antagonista de la IL-17 es un anticuerpo.

**[0008]** Esta invención muestra a la IL-17 como un factor profibrótico capaz de actuar directamente sobre el epitelio del túbulo proximal para inducir la transición a un fenotipo profibrótico. También se demuestra la capacidad de la IL-17 de mediar la fibrogénesis renal indirectamente a través de la secreción inducida por la IL-17 de mediadores solubles profibróticos. La IL-17 estimuló la expresión de los genes profibróticos CTGF, CD44 y TGF $\beta$ R1 y, en paralelo, disminuyó la expresión del marcador proepitelial e-cadherina. Una pérdida del fenotipo epitelial indicada por la regulación en menos de la e-cadherina se ha demostrado previamente como un hito en la aparición de la fibrosis renal mientras que se ha demostrado que CTGF, CD44 y TGF R1 tienen papeles activos en la patogénesis (Thomas et al., Adv Chr Kid Dis 2005; 12(2): 177-86) (Eitner and Floege Curr Op Invest Drugs 2005; 6(3): 255-61)(Florquin and Rouschop Kid Int Suppl 2003 Oct; (86): S15-20). Adicionalmente, la IL-17 estimuló la secreción de citoquinas proinflamatorias (IL-6 e IL-8) y varios factores que funcionan como quimioatrayentes de células inmunes y mediadores de la interacción de la célula inmune con el epitelio residente (fractalkine, GM-CSF and G-CSF)(Stievano L et al., Crit Rev Immunol 2004; 24(3): 205-28)(GassonJC et al., Prog Clin Biol Res 1990; 352: 375-84)(Eyles JL et al., Nat Clin Pract Rheumatol 2006 Sep; 2(9): 500-10). Un componente de la fibrogénesis renal y un contribuyente central para la función renal disminuida es la disrupción de la arquitectura epitelial normal (Thomas MC et al., Adv Chron Kid Dis 2005; 12(2): 177-86). La IL-17 interrumpió sustancialmente las uniones intercelulares y disminuyó la integridad epitelial en monocapas epiteliales confluyentes como lo indica una reducción en la proteína de la unión estrecha zonula occludens-1 (ZO-1). Datos preliminares sugieren que la secreción antes mencionada de IL-17 indujo la secreción de mediadores proinflamatorios/fibróticos y la regulación en menos de la ZO-1 puede suprimirse luego de la coadministración con un anticuerpo neutralizante específico para la IL-17 humana. Por tanto, proponemos que la neutralización de la actividad de la IL-17 puede ser beneficiosa para el tratamiento de patologías renales que manifiestan un componente inflamatorio y/o fibrótico.

**[0009]** En tal método, el anticuerpo puede comprender al menos una región variable comprendiendo al menos una región variable de la cadena pesada y al menos una cadena ligera, dígase un anticuerpo IL-17 en comprende ambas regiones variables de la cadena pesada y ligera que se unen al menos a una de las SEQ ID NOS: 1-3. En tal método el anticuerpo se une a la IL-17 con una afinidad de al menos una seleccionada de al menos 10<sup>-9</sup> M, al menos 10<sup>-10</sup> M, al menos 10<sup>-11</sup> M, o al menos 10<sup>-12</sup> M. El anticuerpo puede modular sustancialmente al menos una actividad de al menos un polipéptido de la IL-17. La pequeña molécula o proteína puede proporcionarse como una composición que comprende al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

**[0010]** El método puede comprender al menos un compuesto o polipéptido seleccionado de al menos una etiqueta o reportero detectable, un antagonista del TNF, un medicamento antiinfeccioso, un medicamento del sistema cardiovascular (CV), un medicamento del sistema nervioso central (CNS), un medicamento del sistema nervioso autónomo (ANS), un medicamento del tracto respiratorio, un medicamento del tracto gastrointestinal (GI), un medicamento hormonal, un medicamento para el balance de fluidos o electrolitos, un medicamento hematológico, un antineoplásico, un medicamento inmunomodulador, un medicamento oftálmico,ótico o nasal, un medicamento tóxico, un producto nutricional, una citoquina o un antagonista de citoquina.

**[0011]** En tal método, la cantidad inhibitoria efectiva puede ser 0.001-50 mg/kilogramo de dichas células, tejido, órgano o animal, como tal pero no limitado a 0.01-20 mg/kg, 1-10, 1-3, 1-5, .1-1, .2-2 mg/kg y semejantes.

**[0012]** En tal método, lo administrado puede ser al menos un modo seleccionado a partir del parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, intrarticular, intrabronquial, intrabdominal, intracapsular, intracartilaginoso, intracavitario, intracelular, intracerebral, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intrahepático, intramiocárdico, intraósteo, intrapélvico, intrapericárdico, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarrectal, intrarrenal, intrarretiniano, intraspinal, intrasinovial, intratorácico, intrauterino, intravesical, intralesional, bolus, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal o trasdérmico.

**[0013]** En tal método, la fibrosis puede ser específica del órgano o fibrosis sistémica. La fibrosis específica del órgano puede estar asociada con al menos una de fibrosis pulmonar, fibrosis hepática, fibrosis del riñón (o fibrosis renal), fibrosis cardíaca, fibrosis vascular, fibrosis cutánea, fibrosis ocular, fibrosis de la médula ósea u otras fibrosis. La fibrosis pulmonar puede asociarse al menos con una de fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis pulmonar por medicamentos, asma, sarcoidosis o enfermedad pulmonar obstructiva crónica. La fibrosis hepática puede asociarse al menos con una de cirrosis, esquistosomiasis o colangitis. La cirrosis puede seleccionarse a partir de la cirrosis alcohólica, cirrosis posthepatitis C, cirrosis biliar primaria. La colangitis es colangitis esclerosante. La fibrosis del riñón puede asociarse al menos con una de nefropatía diabética, nefropatía por IgA, nefropatía por trasplante o nefritis lúpica. La fibrosis cardíaca puede asociarse al menos con un tipo de infarto miocárdico. La fibrosis vascular puede asociarse al menos con una de restenosis arterial postangioplastia, o aterosclerosis. La fibrosis cutánea puede asociarse al menos con una de cicatrización por quemadura, cicatrización hipertrófica, queloides o dermatopatía nefrogénica fibrosante. La fibrosis ocular puede asociarse al menos con una de fibrosis retroorbitaria, cirugía poscatarata o vitreorretinopatía proliferativa. La fibrosis de la médula ósea puede asociarse al menos con una de mielofibrosis idiopática o mielofibrosis por medicamentos. Las otras fibrosis pueden seleccionarse a partir de la enfermedad de Peyronie, contractura de Dupuytren o dermatomiositis. La fibrosis sistémica puede seleccionarse a partir de la esclerosis sistémica y enfermedad de injerto versus hospedador.

**[0014]** La presente invención proporciona anticuerpos aislados de humano, primate, roedor, mamífero, quimérico,

- humanizado y/o anticuerpos por injerto CDR-anti-IL-17 CDR, anticuerpos y otras proteínas derivadas de inmunoglobulinas, fragmentos, productos de clivaje y otras porciones específicas y variantes de éstos, así como composiciones del anticuerpo anti-IL-17, ácidos nucleicos que codifican o complementarios, vectores, células hospedadoras, composiciones, formulaciones, equipos, animales transgénicos, plantas transgénicas y método de hacer y usar éstos, como se describe y permite aquí, en combinación con lo que se sabe en la técnica. Además de la composición de los anticuerpos de la invención como se describen aquí, el anticuerpo de la presente invención se define por su afinidad por la IL-17 humana, especificidad por la IL-17 humana y capacidad de bloquear la bioactividad de la IL-17 humana.
- 5
- 10 **[0015]** La presente invención también proporciona al menos un anticuerpo anti-IL-17 aislado, tal como, pero no limitado al menos a un anticuerpo, proteína o fragmento de fusión con anticuerpo, tal como se describe aquí. Un anticuerpo de acuerdo con la presente invención incluye cualquier molécula que contiene una proteína o péptido que contiene al menos una porción de una molécula de inmunoglobulina, tal como pero no limitada al menos a un dominio de unión a ligando, tal como pero no limitada a una región variable de cadena pesada o cadena liviana, una
- 15 región de complementaridad (CDR) de una cadena pesada o liviana o una porción de unión a ligando de éstas, comprendiendo opcionalmente al menos CH1 bisagra, CH2 o CH3 de una inmunoglobulina humana. Al menos una secuencia de aminoácido puede comprender opcionalmente una sustitución especificada, inserción o delección como se describe aquí o como se conoce en la técnica.
- 20 **[0016]** También se muestran aquí moléculas aisladas de ácido nucleico, comprendiendo, complementaria o hibridizándose a, un polinucleótido que codifica anticuerpos anti-IL-17 específicos, comprendiendo al menos una secuencia específica, dominio, porción o variante de éstos. También se muestran aquí vectores recombinantes que comprenden dichas moléculas de ácido nucleico del anticuerpo anti-IL-17, células del hospedador que contienen tales ácidos nucleicos y/o vectores recombinantes, así como métodos de hacer y/o usar tales ácidos nucleicos del anticuerpo, vectores y/o células del hospedador.
- 25
- [0017]** Al menos un anticuerpo de la invención se une al menos con un epítoto específico al menos de una proteína o variante o derivado de la IL-17 tales como los proporcionados al menos en una las SEQ ID NOS: 1-3. Este epítoto puede al menos comprenden una región de unión al anticuerpo que comprende al menos una porción de dicha proteína, cuyo epítoto está preferiblemente comprendido por al menos 1-5 aminoácidos de al menos una proteína de éstos, tal como pero no limitado a, al menos, un dominio extracelular, soluble, hidrofílico, externo o citoplásmico de dicha proteína, o cualquier porción de éstos.
- 30
- [0018]** Al menos un anticuerpo puede comprender opcionalmente al menos una porción específica de al menos una región determinante de complementaridad (CDR) (p.ej., CDR1, CDR2 o CDR3 de la región variable de la cadena pesada o liviana; y opcionalmente comprendiendo al menos una región del marco constante o variable de cualquier porción de éstas, donde el anticuerpo bloquea, inhibe o previene al menos una actividad, tal como, pero no limitada a la unión de la IL-17 al receptor sobre las superficies celulares, internalización del receptor IL-17 movilización de Ca<sup>2+</sup> estimulada por IL-17 o cualquier otro ensayo de la IL-17 conocido idóneo. Un anticuerpo anti-IL-17 puede así evaluarse para una actividad correspondiente de acuerdo con métodos conocidos, tal como pero no limitada a, al menos una actividad biológica hacia una proteína de la IL-17.
- 35
- [0019]** También se describe aquí al menos un anticuerpo anti-idiotipo IL-17 al menos contra un anticuerpo IL-17 de la presente invención. El anticuerpo anti-idiotipo incluye cualquier proteína o péptido que contiene una molécula que comprende al menos una porción de una molécula de inmunoglobulina, tal como pero no limitado al menos a una porción de unión al ligando (LBP), tal como pero no limitada a una región determinante de complementaridad (CDR) de una cadena pesada o liviana, o una porción de unión a ligando de éstas, una región variable de cadena pesada o cadena liviana, una región del marco o cualquier porción de estas, que pueda incorporarse dentro del anticuerpo anti-idiotipo. Un anticuerpo anti-idiotipo puede incluir o derivarse a partir de cualquier mamífero, tal como pero no limitado a un humano, un ratón, un conejo, una rata, un roedor, un primate y semejantes. Aquí se muestran moléculas aisladas de ácido nucleico, comprendiendo, complementarias o hibridizándose a, un polinucleótido que codifica un anticuerpo anti-idiotipo IL-17, comprendiendo al menos una secuencia específica, dominio, porción o variante de éstos.
- 40
- [0020]** También se muestran aquí vectores recombinantes que comprenden dichas moléculas de ácido nucleico del anticuerpo anti-idiotipo IL-17, células del hospedador que contienen tales ácidos nucleicos y/o vectores recombinantes, así como métodos de hacer y/o usar tales ácidos nucleicos del anticuerpo anti-idiotipo, vectores y/o células del hospedador.
- 45
- [0021]** Aquí se muestra al menos un método para expresar al menos un anticuerpo anti-IL-17, un anticuerpo anti-idiotipo IL-17, en una célula hospedadora, comprendiendo cultivar una célula hospedadora como se describe aquí bajo condiciones donde al menos un anticuerpo anti-IL-17 se expresa en cantidades detectables y/o recuperables.
- 50
- [0022]** Se muestra aquí al menos una composición que comprende (a) un ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo anti-IL-17 y/o un anticuerpo tal como se describe aquí; y (b) un portador o diluyente idóneo. El portador o diluyente puede opcionalmente ser farmacéuticamente aceptable, de acuerdo con los portadores o diluyentes
- 55
- 60
- 65

conocidos. La composición puede opcionalmente comprender al menos un compuesto, proteína o composición más.

**[0023]** La presente invención proporciona al menos un método o composición del anticuerpo anti-IL-17, para administrar una cantidad terapéuticamente efectiva para modular o tratar al menos una condición relacionada con la IL-17 en una célula, tejido, órgano, animal o paciente y/o antes, después o durante una condición relacionada, como se conoce en la técnica y/o se describe aquí.

**[0024]** Aquí se muestra al menos una composición, equipo y/o método de administración de una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva de al menos un anticuerpo anti-IL-17,

**[0025]** Aquí se muestra al menos un método o composición del anticuerpo anti-IL-17, para diagnosticar al menos una condición relacionada con la IL-17 en una célula, tejido, órgano, animal o paciente y/o antes, después o durante una condición relacionada, como se conoce en la técnica y/o se describe aquí.

**[0026]** Se muestra aquí al menos una composición, equipo y/o método de administración para diagnosticar al menos un anticuerpo anti-IL-17, de acuerdo con la presente invención. Al menos un anticuerpo puede al menos uno de: unirse a la IL-17 con una afinidad de al menos una seleccionada de al menos  $10^{-9}$  M, al menos  $10^{-10}$  M, al menos  $10^{-11}$  M, o al menos  $10^{-12}$  M: neutralizar al menos una actividad de al menos una proteína de la IL-17. También se proporciona un ácido nucleico aislado que codifica al menos un anticuerpo anti-IL-17 aislado de mamífero; un vector de ácido nucleico aislado que comprende el ácido nucleico, y/o una célula hospedadora pro o eucariota que comprende el ácido nucleico aislado. La célula hospedadora puede ser al menos una seleccionada a partir de células NSO, COS-1, COS-7, HEK293, BHK21, CHO, BSC-1, Hep G2, YB2/0, SP2/0, HeLa, mieloma o linfoma, o cualquier célula derivada, inmortalizada o transformada de éstas. También se proporciona un método para producir al menos un anticuerpo anti-IL-17, comprendiendo traducir el ácido nucleico que codifica el anticuerpo bajo condiciones in vitro, in vivo o in situ, de forma que el anticuerpo IL-17 se exprese en cantidades detectables o recuperables.

**[0027]** También se proporciona una composición que comprende al menos un anticuerpo anti-IL-17 aislado de mamífero y al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

**[0028]** También se muestra un método para diagnosticar o tratar una condición relacionada con IL-17 en una célula, tejido, órgano o animal, comprendiendo (a) contactar o administrar una composición que comprenda una cantidad efectiva de al menos un anticuerpo anti-IL-17 aislado de mamífero de la invención con, o a, la célula, tejido, órgano o animal.

**[0029]** También se muestra un equipo médico, comprendiendo al menos un anticuerpo anti-IL-17 aislado de mamífero de la invención, donde el equipo es idóneo para contactar o administrar al menos un anticuerpo anti-IL-17 al menos por un modo seleccionado a partir del parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, intrarticular, intrabronquial, intrabdominal, intracapsular, intracartilaginoso, intracavitario, intracelular, intracerebral, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intrahepático, intramiocárdico, intraóseo, intrapélvico, intrapericárdico, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrarrectal, intrarrenal, intrarretiniano, intraspinal, intrasinovial, intratorácico, intrauterino, intravesical, intralesional, bolus, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal o trasdérmico.

**[0030]** También se muestra un artículo de fabricación para uso farmacéutico o diagnóstico en humanos, comprendiendo material de empaque y un contenedor que comprende una solución, particulado o una forma liofilizada de al menos un anticuerpo anti-IL-17 aislado de mamífero de la presente invención.

**[0031]** También se muestra un método para producir al menos un anticuerpo anti-IL-17 aislado de mamífero de la presente invención, comprendiendo proporcionar una célula hospedadora o animal transgénico o planta transgénica o célula vegetal capaz de expresar en cantidades recuperables el anticuerpo. En la presente invención se proporciona al menos un anticuerpo anti-IL-17 producido por el método anterior.

### **Breves descripciones de las Figuras**

**[0032]**

Fig. 1. Efecto de IL-17 sobre la expresión de genes profibróticos en células epiteliales del túbulo proximal renal en humanos. IL-17 (10 ng/ml) disminuyó significativamente la expresión del gen proepitelial de e-cadherina (2.04 veces,  $P < 0.05$ ) y aumentó significativamente la expresión de los genes profibróticos CTGF y CD44 (2.67 veces,  $P < 0.0001$  y 1.57 veces,  $P < 0.001$ , respectivamente). IL-17 (100 ng/ml) también aumentó significativamente la expresión de TGF $\beta$ R1 (1.49 veces,  $P < 0.05$ ). Estos datos indican que IL-17 es capaz de inducir una respuesta profibrótica en el epitelio del túbulo proximal renal humano.

Fig. 2. Efecto de IL-17 sobre la secreción de mediadores profibróticos solubles en células epiteliales del túbulo proximal renal en humanos. IL-17 aumentó significativamente la secreción de IL-6 (A), IL-8 (B), VEGF

(C), fractalkine (D), GM-CSF (E) y G-CSF (F) a todas las concentraciones (1, 10, 100 ng/ml,  $P < 0.05$ ). Como comparación, se examinó el efecto de TGF- $\beta$  1 (un factor fibrogénico potente bien caracterizado). TGF- $\beta$  1 estimuló significativamente la secreción de VEGF y GM-CSF a todas las concentraciones, aunque no a la magnitud de la estimulación con IL-17. TGF- $\beta$  1 aumentó la secreción de IL-8 y G-CSF a 1 y 10 ng/ml, respectivamente. No hubo efecto sobre la secreción de IL-6. TGF- $\beta$  1 inhibió la secreción de fractalkine a todas las concentraciones. Estos datos sugieren que IL-17 además de promover directamente una transición fenotípica profibrótica, conduce la inflamación/fibrogenesis renal mediando la secreción de mediadores proinflamatorios/fibróticos solubles por el epitelio, pero puede tener efectos diferenciales a parte de otros mediadores profibróticos.

Fig. 3. Neutralización mediada por anticuerpo de la secreción de factor profibrótico estimulado por IL-17. Este estudio preliminar demuestra que la secreción mediada por IL-17 de mediadores pro-inflamatorios/fibróticos puede ser inhibida con tratamiento neutralizante por anticuerpo. La pre incubación de IL-17 (10 ng/ml) con anticuerpo monoclonal anti-IL-17 (120 ng/ml) redujo la estimulación por IL-17 de la secreción de L-6 (A), IL-8 (B), VEGF (C), fractalkine (D) y GM-CSF (E) por el epitelio renal a niveles que se acercan a los controles no tratados. Estos datos indican que el efecto estimulador de IL-17 sobre la secreción de factores pro-inflamatorios/fibróticos se inhibe fácilmente demostrando que IL-17 es un blanco viable para la atenuación de la inflamación/fibrosis renal.

Fig. 4. Regulación en menos de ZO-1 inducida por IL-17 en células epiteliales del túbulo proximal renal en humanos e inhibición con anticuerpo anti-IL-17 neutralizante. IL-17 (50 ng/ml) degradó sustancialmente la inmunorreactividad de ZO-1(B) en comparación con las células control no tratadas(A). La pre incubación de IL-17 con un anticuerpo anti-IL-17 neutralizante (0.6mg/ml) previno la regulación en menos de ZO-1 (C) inducida por IL-17. La pre incubación de IL-17 con isotipo IgG1 control no inhibió la regulación en menos de ZO-1 (D) indicando la especificidad de la acción e inhibición del anticuerpo por IL-17. (Aumento~200x).

## DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0033] Aquí se muestran métodos y composiciones para tratar condiciones relacionadas con IL-17 en pacientes que tienen al menos una forma de fibrosis usando antagonistas de IL-17, tales como pequeñas moléculas antagonistas de IL-17 o antagonistas de la proteína de IL-17, tales como anticuerpos, incluyendo porciones o variantes específicos, específicos al menos para la proteína de interleucina-17 (IL-17), tales como IL-17A, IL-17F o muteínas de éstas (p.ej., pero no limitadas a una de la SEQ ID NOS: 1-4), o fragmentos de éstos, incluyendo formulaciones terapéuticas, administración y equipos.

[0034] La presente invención proporciona al menos un anti-IL-17 purificado, aislado, recombinante y/o sintético humano, primate, roedor, mamífero, quimérico, humanizado, de ingeniería o de injerto de CDR y anticuerpo anti-idiotipo IL-17 de éstos, así como composiciones y moléculas que codifican ácidos nucleicos que comprenden al menos un polinucleótido que codifica al menos un anticuerpo anti-IL-17 o un anticuerpo anti-idiotipo. Se describen también métodos de hacer y usar tales ácidos nucleicos y anticuerpos y anticuerpos anti-idiotipo, incluyendo composiciones diagnósticas y terapéuticas, métodos y equipos. Citas: Ausubel, et al., ed., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc., NY, NY (1987-2007); Sambrook, et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition, Cold Spring Harbor, NY (1989); Harlow and Lane, antibodies, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, NY (1989); Colligan, et al., eds., Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, Inc., NY (1994-2007); Colligan et al., Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, NY, (1997-2007).

## Abreviaturas

[0035] aa: aminoácido; BSA: albúmina de suero bovino; CDR: regiones determinantes de complementaridad; ECL:electro-quimio-luminescencia; HuCAL<sup>®</sup>: Biblioteca de Anticuerpos Combinatorios Humanos; HSA: albúmina de suero humano; IL-17: interleucina-17; Ig: Inmunoglobulina; IPTG: isopropil  $\beta$ -D-tiogalactósido; mAb: anticuerpo monoclonal; PBS: solución fisiológica amortiguada con fosfato, pH 7.4; SET: ajuste de equilibrio de solución; VH: región variable de la cadena pesada de la inmunoglobulina; VL: región variable de la cadena ligera de la inmunoglobulina;

## Definiciones

[0036] Tal como se usa aquí, un "anticuerpo anti-CCL2", "anticuerpo anti-IL-17", "porción de anticuerpo anti-IL-17" o "fragmento de anticuerpo anti-IL-17" y/o "variante de anticuerpo anti-IL-17" y semejantes incluyen cualquier molécula que contenga una proteína o péptido que comprende al menos una porción de una molécula de inmunoglobulina, tal como pero no limitada al menos a una región determinante de complementaridad (CDR) de una cadena pesada o liviana o una porción de unión a ligandos de éstas, una región variable de cadena pesada o cadena liviana, una región de marco, o cualquier porción de éstas, o al menos una porción de un receptor o proteína de unión de IL-17, la cual puede incorporarse en un anticuerpo de la presente invención. Tal anticuerpo opcionalmente afecta un ligando específico, tal como pero no limitado a donde tal anticuerpo modula, disminuye, aumenta, antagoniza, agoniza, mitiga, alivia, bloquea, inhibe, abroga y/o interfiere con al menos una actividad o unión de la IL-17 o con la

actividad o unión del receptor de IL-17, in vitro, in situ y/o in vivo. Como ejemplo no limitante, un anticuerpo idóneo anti-IL-17, porción específica o variante de la presente invención puede unirse al menos a una IL-17 o porciones, variantes o dominios específicos de éstos. Ejemplos no limitantes de proteína de IL-17 incluyen, pero no se limitan a, IL-17A, IL-17F o muteínas de éstas (p.ej., pero no limitadas a una de la SEQ ID NOS:1-4, o fragmentos o muteínas de éstos.

**[0037]** Tal como se usa aquí, "epítope" significa un segmento o rasgo de una proteína capaz de unión específica a un anticuerpo. Los epítopes usualmente consisten en agrupaciones químicamente activas de moléculas de superficie tales como aminoácidos o cadenas colaterales de azúcares y usualmente tienen características tridimensionales estructurales específicas, así como características de carga específicas. Los epítopes conformacionales y no conformacionales se distinguen en que la unión a los primeros, pero no a los últimos se pierde en presencia de solventes desnaturizantes. Se incluyen las proteínas epítopes que resultan del plegado conformacional de la molécula IL-17 las cuales surgen cuando los aminoácidos de diferentes porciones de la secuencia lineal de la molécula de IL-17 se juntan en proximidad en el espacio 3-dimensional.

**[0038]** Tal como se usa aquí, el término "anticuerpo humano" se refiere a un anticuerpo en el cual sustancialmente todas las partes de la proteína (p.ej., CDR, marco, dominios C<sub>L</sub>, C<sub>H</sub> (p.ej., C<sub>H</sub>1, C<sub>H</sub>2, C<sub>H</sub>3), bisagra (V<sub>L</sub>, V<sub>H</sub>)) se derivan de eventos de recombinación de secuencias del gen de inmunoglobulina de la línea germinal humana o de secuencias del anticuerpo humano maduro. Además de los anticuerpos aislados de humanos, tal anticuerpo humano puede ser obtenido inmunizando ratones transgénicos capaces de montar una respuesta inmune con genes de inmunoglobulina de la línea germinal humana (Lonberg et al., Int Rev Immunol 13(1):65-93 (1995) y Fishwald et al., Nat Biotechnol 14(7):845-851 (1996)) o pueden ser seleccionados a partir de una biblioteca de repertorio de anticuerpos humanos tal como la que se describe aquí. Una fuente de tales secuencias de genes humanos puede encontrarse en cualquier biblioteca idónea tal como VBASE, una base de datos de genes de anticuerpos humanos (<http://www.mrc-cpe.cam.ac.uk/imt-doc>) o productos traducidos de éstos o en <http://people.cryst.bbk.ac.uk/~ubcg07s/> la cual da anticuerpos humanos clasificados en grupos basados en sus similitudes de secuencias de aminoácidos. Con el alcance de esta definición, están los anticuerpos compuestos o fragmentos funcionales de anticuerpos humanos compuestos, los cuales incluyen regiones del marco de una o más secuencias de anticuerpos humanos y regiones CDR de dos diferentes fuentes humanas o no humanas. Dentro de la definición de "anticuerpo humano" está un anticuerpo compuesto o fragmento funcional de un anticuerpo humano compuesto, el cual contiene regiones del marco de secuencias de anticuerpos de la línea germinal y humanos reordenados y regiones CDR de anticuerpos de dos diferentes fuentes. Un anticuerpo compuesto humano o un fragmento funcional de un anticuerpo compuesto humano de acuerdo con esta declaración incluye regiones del marco de una o más secuencias de anticuerpos humanos, y regiones CDR derivadas de secuencias de anticuerpos humanos o no humanos o puede ser completamente sintético. Así, un anticuerpo humano es distinto de un anticuerpo quimérico o humanizado. Se apunta que un anticuerpo humano puede ser producido por un animal no humano o célula procariota o eucariota que es capaz de expresar genes de inmunoglobulina funcionalmente reordenados (p.ej., cadena pesado y/o cadena liviana). Cuando un anticuerpo humano es un anticuerpo de una sola cadena, puede comprender un péptido de enlace que no se encuentra en los anticuerpos humanos nativos. Por ejemplo, un Fv puede comprender un péptido de enlace, tal como dos a ocho residuos de aminoácidos de glicina u otros aminoácidos, el cual conecta la región variable de la cadena pesada y la región variable de la cadena liviana. Tales péptidos de enlace se consideran de origen humano.

**[0039]** Formas "humanizadas" de anticuerpos no humanos (p.ej., murinos) son anticuerpos quiméricos que han reemplazado sustancialmente porciones derivadas de inmunoglobulina no humana. En su mayor parte, los anticuerpos humanizados son inmunoglobulinas humanas (anticuerpo del recipiente) en las cuales los residuos de las CDR (las regiones determinantes de complementaridad las cuales son conocidas también como región hipervariable) del recipiente son reemplazados por residuos CDR de una especie no humana (anticuerpo donante) tal como ratón, rata, conejo o primate no humano que tenga la especificidad, afinidad deseada y capacidad. En algunos casos, los residuos de la región del marco (FR) de la inmunoglobulina humana son reemplazados por residuos no humanos correspondientes. Asimismo, los anticuerpos humanizados pueden comprender residuos, los cuales no se encuentran en el anticuerpo recipiente ni en el anticuerpo donante. Estas modificaciones se hacen para refinar el desempeño del anticuerpo. En general, el anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente al menos uno, y típicamente dos, dominios variables, en los cuales todas o sustancialmente todas las regiones hipervariables corresponden con las de una inmunoglobulina no humana y todas o sustancialmente todas las FRs de una secuencia de inmunoglobulina humana. El anticuerpo humanizado opcionalmente también comprenderá al menos una porción de una región constante de inmunoglobulina (Fc), típicamente la de una inmunoglobulina IgG humana. Para más detalles, ver Jones et al., Nature 321:522-525 (1986); Reichmann et al., Nature 332:323-329 (1988); y Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992).

**[0040]** Tal como se usa aquí, la K<sub>D</sub> de un anticuerpo se refiere a la constante de disociación, K<sub>D</sub>, el anticuerpo para un antígeno predeterminado y es una medida de afinidad del anticuerpo por un albo específico. Los anticuerpos de alta afinidad tienen una K<sub>D</sub> de 10<sup>-8</sup> M o menos, más preferiblemente 10<sup>-9</sup> M o menos y aún más preferiblemente 10<sup>-10</sup> M o menos, por un antígeno predeterminado. El término "K<sub>dis</sub>" o "K<sub>D</sub>," o "K<sub>d</sub>", tal como se usa aquí, pretende

referirse a la tasa de disociación de una interacción antígeno-anticuerpo particular. La " $K_D$ " es la relación de la tasa de disociación ( $k_2$ ), también llamada "tasa de desconexión ["off-rate ( $k_{off}$ )"] con la tasa de la tasa de asociación ( $k_1$ ) o "tasa de conexión ["on-rate ( $k_{on}$ )"]. Así,  $K_D$  es igual a  $k_2/k_1$  o  $k_{off} / k_{on}$  y se expresa como una concentración molar (M). De ahí que mientras menor es la  $K_D$ , más fuerte es la unión. Así una  $K_D$  de  $10^{-6}$  M (o 1 microM) indica una unión débil comparada con  $10^{-9}$  M (o nM).

**[0041]** Tal como se usa aquí, los términos "especificidad por" y "unión específica" y "se une específicamente" se refiere a la unión del anticuerpo con un antígeno predeterminado con mayor afinidad que por otros antígenos o proteínas. Típicamente, el anticuerpo se une con una constante de disociación ( $K_D$ ) de  $10^{-7}$  M o menos, y se une al antígeno predeterminado con una  $K_D$  que es al menos dos veces menor que su  $K_D$  para la unión a un antígeno no específico (p.ej., BSA, caseína o cualquier otro polipéptido específico) distinto al antígeno predeterminado. Las frases "un anticuerpo que reconoce un antígeno" y "un anticuerpo específico para un antígeno" se usan de forma intercambiable aquí con el término "un anticuerpo que se une específicamente a un antígeno" o "un anticuerpo específico de un antígeno" p.ej., un anticuerpo específico de MCP.

**[0042]** Tal como se usa aquí el término pequeña molécula antagonista IL-17 se refiere a cualquier compuesto químico idóneo que inhibe la actividad de L-17 y puede usarse como terapéutico potencial. Tales compuestos son conocidos en la técnica, tales como los derivados indoles, derivados de aminas cíclicas, derivados ureido, heterocíclicos, anilidas y pirroles funcionales con la capacidad de bloquear la unión de CCL2 a CCR2B y/o la inhibición de CCR1 o CCR2, como se muestra en las publicaciones PCT WO 9905279 (1999), WO 9916876 (1999), WO 9912968, WO 9934818, WO 9909178, WO 9907351, WO 9907678, WO 9940913, WO 9940914, WO 0046195, WO 0046196, WO 0046197, WO 0046198, WO 0046199, WO 9925686, WO 0069815, WO 0069432, WO 9932468, WO 9806703, WO 9904770, WO 99045791.

## 1. Preparación de los anticuerpos de la invención

**[0043]** La preparación de los anticuerpos humanos que son específicos para la proteína IL-17 humana o fragmentos de éstos, tales como proteína IL-17 aislada y/o proteína o una porción de éstas (incluyendo moléculas sintéticas, tales como péptidos sintéticos) puede realizarse usando cualquier técnica idónea conocida en la técnica. Los anticuerpos humanos pueden producirse usando varias técnicas conocidas. En un contexto, el anticuerpo humano puede ser seleccionado a partir de una biblioteca de fagos, donde la biblioteca de fagos expresa los anticuerpos humanos (Vaughan et al. Nature Biotechnology 14:309-314 (1996); Sheets et al. PITAS (USA) 95:6157-6162 (1998)); Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227:381 (1991); Marks et al. J. Mol. Biol., 222:581 (1991)).

**[0044]** Los anticuerpos humanos también pueden hacerse introduciendo loci de inmunoglobulina humana en animales transgénicos, p.ej., ratones en los cuales los genes de inmunoglobulina endógena han sido parcial o completamente inactivados. Por ejemplo, un ratón transgénico, comprendiendo un trasgén de cadena pesada de inmunoglobulina humana funcionalmente reordenado y un trasgén que comprende DNA de un locus de cadena liviana de inmunoglobulina humana que puede sufrir reordenamiento funcional, puede inmunizarse con IL-17 humana o un fragmento de ésta para inducir la producción de anticuerpos. Si se desea, las células productoras de anticuerpos pueden ser aisladas y pueden prepararse hibridomas u otras células inmortalizadas productoras de anticuerpos como se describe aquí y/o como se conoce en la técnica. Alternativamente, el anticuerpo, porción especificada o variante puede expresarse usando el ácido nucleico codificante o porción de éste en una célula hospedadora idónea.

**[0045]** Tras el reto con un antígeno apropiado, se observa la producción del anticuerpo humano, la cual se asemeja estrechamente a la que se ve en los humanos en todos los aspectos, incluyendo el reordenamiento, ensamblaje y repertorio genético. Este abordaje es descrito, por ejemplo, en las U.S. Patent Nos. 5,545,807; 5,545, 806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 5,661,016, y en las siguientes publicaciones científicas: Marks et al., Bio/Technology 10: 779-783 (1992); Lonberg et al., Nature 368: 856-859 (1994); Morrison, Nature 368:812-13 (1994); Fishwild et al., Nature Biotechnology 14: 845-51 (1996); Neuberger, Nature Biotechnology 14: 826 (1996); Lonberg and Huezar, Intern. Rev.

**[0046]** Immunol. 13:65-93 (1995). Alternativamente, el anticuerpo humano puede ser preparado a través de la inmortalización de linfocitos B humanos que producen un anticuerpo dirigido contra un antígeno albo (tales linfocitos B pueden recuperarse a partir de un individuo o pueden haber sido inmunizados in vitro). Ver, p.ej., Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner et al., J. Immunol., 147 (1):86-95 (1991); y US Pat No. 5,750,373. Las células productoras de anticuerpos también pueden ser obtenidas a partir de la sangre periférica o, preferiblemente el bazo o ganglios linfáticos, de humanos o otros animales idóneos que hayan sido inmunizados con el antígeno de interés. Cualquier otra célula hospedadora idónea también puede usarse para expresar un ácido nucleico heterólogo o endógeno que codifica un anticuerpo, fragmento específico o variante de éstos, de la presente invención. Las células fusionadas (hibridomas) o células recombinantes pueden ser aisladas usando condiciones de cultivo selectivo u otros métodos conocidos idóneos, y clonadas limitando la dilución u

ordenación celular, u otros métodos conocidos. Las células, las cuales producen anticuerpos con la especificidad deseada, pueden ser seleccionadas con un ensayo idóneo (p.ej., ELISA).

**[0047]** En un abordaje, un hibridoma es producido fusionando una línea celular inmortal idónea (p.ej., una línea celular de mieloma tal como, pero no limitada a, Sp2/0, Sp2/0-AG14, NSO, NS1, NS2, AE-1, L.5, >243, P3X63Ag8.653, Sp2 SA3, Sp2 MAI, Sp2 SS1, Sp2 SA5, U937, MLA 144, ACT IV, MOLT4, DA-1, JURKAT, WEHI, K-562, COS, RAJI, NIH 3T3, HL-60, MLA 144, NAMAIWA, NEURO 2A o semejantes, o heteromilomas, productos de fusión de éstos, o cualquier célula o célula de fusión derivada, o cualquier otra línea celular idónea conocida en la técnica. Ver, p.ej., [www.atcc.org](http://www.atcc.org), [www.lifetech.com](http://www.lifetech.com), y semejantes, con células productoras de anticuerpos, tales como, pero no limitadas a, células aisladas o clonadas de bazo, sangre periférica, linfa, amígdalas o cualquier otra célula que exprese secuencias de marco o constantes o variable o CDR de cadena pesada o liviana, como ácido nucleico endógeno o heterólogo, como viral, bacteriano, algal, procarionta, anfibio, insecto, reptil, pez, mamífero, roedor, equino, ovino, caprino, oveja, primate, eucariota, DNA genómico, cDNA, rDNA, DNA o RNA mitocondrial, DNA o RNA de cloroplasto, hnDNA, mRNA, tRNA, única, doble o triple cadena, hibridado y semejantes o cualquier combinación de éstos. Ver p.ej., Ausubel, supra, y Colligan, Immunology, supra, capítulo 2,

**[0048]** Los anticuerpos humanos que se unen a IL-17 humana y que comprenden la región variable de la cadena pesada o liviana pueden prepararse usando métodos idóneos, tales como la presentación de fago (Katsube, Y., et al., *Int J Mol. Med.* 1(5):863-868 (1998)). Otros métodos idóneos de producir o aislar anticuerpos de la especificidad requerida pueden usarse, incluyendo, pero no limitados a, métodos que seleccionan anticuerpo recombinante de una biblioteca de péptidos o proteínas (p.ej., pero no limitado a, una biblioteca de bacteriófagos, ribosomas, oligonucleótidos, RNA, cDNA o semejantes; p.ej., como la disponible a partir de Cambridge antibody Technologies, Cambridgeshire, UK; MorphoSys, Martinsreid/Planegg, DE; Biovation, Aberdeen, Scotland, UK; Bioln-vent, Lund, Sweden; Dyax Corp., Enzon, Affymax/Biosite; Xoma, Berkeley, CA; Ixsys. Consulte p. ejemplo, EP 368,684, PCT/GB91/01134; PCT/GB92/01755; PCT/GB92/002240; PCT/GB92/00883; PCT/GB93/00605; US 08/350260(5/12/94); PCT/GB94/01422; PCT/GB94/02662; PCT/GB97/01835; (CAT/MRC); WO90/14443; WO90/14424; WO90/14430; PCT/US94/1234; WO92/18619; WO96/07754; (Scripps); WO96/13583, WO97/08320 (MorphoSys); WO95/16027 (BioInvent); WO88/06630; WO90/3809 (Dyax); US 4,704,692 (Enzon); PCT/US91/02989 (Affymax); WO89/06283; EP 371 998; EP 550 400; (Xoma); EP 229 046; PCT/US91/07149 (Ixsys); o péptidos o proteínas generados estocásticamente - US 5723323, 5763192, 5814476, 5817483, 5824514, 5976862, WO 86/05803, EP 590 689 (Ixsys, ahora Applied Molecular Evolution (AME), o que se basan en la inmunización de animales transgénicos (p.ej., ratones SCID, Nguyen et al., *Microbiol. Immunol.* 41:901-907 (1997); Sandhu et al., *Crit. Rev. Biotechnol.* 16:95-118 (1996); Eren et al., *Immunol.* 93:154-161 (1998),

### 35 Otros métodos idóneos de producir anticuerpos

**[0049]** Otros métodos para producir los anticuerpos de la invención que son capaces de producir un repertorio de anticuerpos humanos, como se conocen en la técnica y/o se describen aquí. Tales técnicas, incluyen, pero no se limitan a, presentación de ribosomas (Hanes et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94:4937-4942 (May 1997); Hanes et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95:14130-14135 (Nov. 1998)); tecnologías de producción de anticuerpo celular único (p.ej., método de anticuerpo linfocítico seleccionado ("SLAM") (US pat. No. 5,627,052, Wen et al., *J. Immunol.* 17:887-892 (1987); Babcook et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:7843-7848 (1996)); microgota en gel y citometría de flujo (Powell et al., *Biotechnol.* 8:333-337 (1990); One Cell Sys-tems, Cambridge, MA; Gray et al., *J. Imm. Meth.* 182:155-163 (1995); Kenny et al., *Bio/Technol.* 13:787-790 (1995)); selección de linfocito B (Steenbakkers et al., *Molec. Biol. Reports* 19:125-134 (1994); Jonak et al., *Progress Biotech*, Vol. 5, *In Vitro Immunization in Hybridoma Technology*, Borrebaeck, ed., Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, Netherlands (1988)).

**[0050]** También pueden usarse métodos para la ingeniería o humanización de anticuerpos no humanos o humanos y son conocidos en la técnica. Generalmente, un anticuerpo humanizado o diseñado tiene uno o más residuos de aminoácidos de una fuente, la cual no es humana, p.ej., pero no limitado a, ratón, rata, conejo, primate no humano u otro mamífero. Estos residuos aminoácidos humanos a menudo se denominan residuos de "importación", los cuales son tomados de un dominio variable, constante u otro de "importación" de una secuencia humana conocida. Las secuencias de Ig humana conocidas son conocidas en la técnica y portan cualquier secuencia conocida. Se han descrito varias estrategias para optimizar la unión, conformación e inmunogenicidad reducida de los anticuerpos humanizados diseñados, ver Presta et al. *J. Immunol.* 151:2623-2632, 1993; WO200302019, y WO2005080432.

**[0051]** Tales secuencias importadas pueden usarse para reducir la inmunogenicidad o reducir, aumentar o modificar la unión, afinidad, tasa de encendido, tasa de apagado, avidéz, especificidad, vida media o cualquier otra característica idónea, como se conoce en la técnica. Generalmente parte de o todas las secuencias CDR no humanas o humanas se mantienen mientras que las secuencias no humanas de las regiones variables y constantes son reemplazadas con aminoácidos humanos u otros. Los anticuerpos también pueden ser humanizados opcionalmente con la retención de alta afinidad por el antígeno y otras propiedades biológicas favorables. Para lograr esta meta, los anticuerpos humanizados pueden prepararse opcionalmente por un proceso de análisis de las secuencias parentales y varios productos humanizados conceptuales usando modelos tridimensionales de las secuencias parentales y humanizadas. Los modelos tridimensionales de inmunoglobulinas comúnmente están disponibles y son familiares para los expertos en la materia. Existen programas de computadora que ilustran y

muestran las estructuras conformacionales tridimensionales probables de los candidatos seleccionados a secuencias de inmunoglobulinas. La inspección de estas ilustraciones permite el análisis del probable papel de los residuos en el funcionamiento del candidato a secuencia de inmunoglobulina, es decir, el análisis de los residuos que influyen en la capacidad del candidato a inmunoglobulina a unirse a su antígeno. De esta forma, los residuos FR pueden seleccionarse y combinarse a partir de las secuencias de consenso e importación de forma que se logre la característica deseada del anticuerpo, tal como la mayor afinidad por el (los) antígeno(s) albo(s). En general, los residuos CDR están directamente y más sustancialmente involucrados en influenciar la unión al antígeno. La humanización o diseño de los anticuerpos de la presente invención puede realizarse usando cualquier método conocido, tal como pero no limitado a los descritos en, Winter (Jones et al., Nature 321:522 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323 (1988); Verhoeyen et al., Science 239:1534 (1988)), Sims et al., J. Immunol. 151: 2296 (1993); Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901 (1987), Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:4285 (1992); Presta et al., J. Immunol. 151:2623 (1993), US patent Nos: 5723323, 5976862, 5824514, 5817483, 5814476, 5763192, 5723323, 5,766886, 5714352, 6204023, 6180370, 5693762, 5530101, 5585089, 5225539; 4816567, PCT/: US98/16280, US96/18978, US91/09630, US91/05939, US94/01234, GB89/01334, GB91/01134, GB92/01755; WO90/14443, WO90/14424, WO90/14430, EP 229246.

**[0052]** Los ratones transgénicos que pueden producir un repertorio de anticuerpos humanos que se unen a los antígenos humanos pueden ser producidos por métodos conocidos (p.ej., pero no limitados a, U.S. Pat. Nos: 5,770,428, 5,569,825, 5,545,806, 5,625,126, 5,625,825, 5,633,425, 5,661,016 y 5,789,650 dirigidas a Lonberg et al., Jakobovits et al. WO 98/50433, Jakobovits et al. WO 98/24893, Lonberg et al. WO 98/24884, Lonberg et al. WO 97/13852, Lonberg et al. WO 94/25585, Kucherlapate et al. WO 96/34096, Kucherlapate et al. EP 0463 151 B1, Kucherlapate et al. EP 0710 719 A1, Surani et al. U.S. Pat. No. 5,545,807, Bruggemann et al. WO 90/04036, Bruggemann et al. EP 0438 474 B1, Lonberg et al. EP 0814 259 A2, Lonberg et al. GB 2 272 440 A, Lonberg et al. Nature 368:856-859 (1994), Taylor et al., Int. Immunol. 6(4):579-591 (1994), Green et al, Nature Genetics 7:13-21 (1994), Mendez et al., Nature Genetics 15:146-156 (1997), Taylor et al., Nucleic Acids Research 20(23):6287-6295 (1992), Tuailon et al., Proc Natl Acad Sci USA 90(8):3720-3724 (1993), Lonberg et al., Int Rev Immunol 13(1):65-93 (1995) y Fishwald et al., Nat Biotechnol 14(7):845-851 (1996), las cuales se incorporan completas aquí para referencia). Generalmente, estos ratones comprenden al menos un trasgén que comprende DNA de al menos un locus de inmunoglobulina humana que está reordenado funcionalmente, o el cual puede sufrir un reordenamiento funcional. Los loci de inmunoglobulina endógena en tales ratones pueden interrumpirse o borrarse para eliminar la capacidad del animal de producir los anticuerpos codificados por genes endógenos.

**[0053]** Buscar anticuerpos para la unión específica a proteínas o fragmentos similares puede lograrse usando bibliotecas de péptidos. Este método implica buscar en grandes colecciones de péptidos los miembros que tengan la función o estructura deseada. La búsqueda de anticuerpos de las bibliotecas de péptidos es bien conocida en la técnica. Las secuencias de péptidos mostradas pueden ser de 3 a 5000 o más aminoácidos de largo, frecuentemente de 5-100 aminoácidos de largo y a menudo de 8 a 25 aminoácidos de largo. Además de métodos directos sintéticos químicos para generar bibliotecas de péptidos, se han descrito varios métodos de DNA recombinante. Un tipo implica mostrar la secuencia de un péptido sobre la superficie de un bacteriófago o célula. Cada bacteriófago o célula contiene la secuencia de nucleótidos que codifican la secuencia de péptidos particulares. Tales métodos están descritos en la Publicación de PCT Patent Nos. 91/17271, 91/18980, 91/19818, and 93/08278. Otros sistemas para generar bibliotecas de péptidos tienen aspectos de síntesis química in vitro y métodos recombinantes. Ver PCT Patent Publication Nos. 92/05258, 92/14843, and 96/19256. Ver también U.S. Patent Nos. 5,658,754; y 5,643,768. Las bibliotecas de péptidos, vectores y kits de búsqueda están comercialmente disponibles a partir de suplidores tales como Invitrogen (Carlsbad, CA), y Cambridge antibody Technologies (Cambridgeshire, UK). Ver, p.ej., U.S. Pat. Nos. 4704692, 4939666, 4946778, 5260203, 5455030, 5518889, 5534621, 5656730, 5763733, 5767260, 5856456, asignadas a Enzon; 5223409, 5403484, 5571698, 5837500, asignadas a Dyax, 5427908, 5580717, asignadas a Affymax; 5885793, asignadas a Cambridge antibody Technologies; 5750373, asignadas a Genentech, 5618920, 5595898, 5576195, 5698435, 5693493, 5698417, asignadas a Xoma, Colligan, supra; Ausubel, supra; o Sambrook, supra,

## 2. Ácidos nucleicos

**[0054]** Usando la información proporcionada aquí, una molécula de ácido nucleico que codifica al menos un anticuerpo anti-IL-17 puede obtenerse usando métodos descritos aquí o conocidos por la técnica. Las moléculas de ácidos nucleicos aislados mostradas aquí pueden incluir moléculas de ácido nucleico que comprenden un marco de lectura abierta (ORF), opcionalmente con uno o más intrones, p.ej., pero no limitado al menos a una porción específica de al menos una CRD, como CDR1, CDR2 o CDR3 de al menos una molécula de ácido nucleico de la cadena pesada o cadena liviana que comprenden la secuencia de codificación para un anticuerpo anti-IL-17 o región variable; y moléculas de ácido nucleico que comprenden una secuencia de nucleótidos sustancialmente diferente de las descritas antes pero las cuales, debido a la degeneración del código genético, codifican al menos un anticuerpo anti-IL-17 como se describe aquí y/o como se conoce en la técnica. El código genético es conocido en la técnica. Así, sería rutinario para alguien experto en la materia generar tales variantes degeneradas de ácido nucleico que codifican anticuerpos anti-IL-17 específicos de la presente invención. Ver, p.ej., Ausubel et al, supra,

**[0055]** Como se indica aquí, las moléculas de ácido nucleico que comprenden un ácido nucleico que codifica un anticuerpo anti-IL-17 pueden incluir, pero no se limitan a, las que codifican la secuencia de aminoácidos de un fragmento de anticuerpo, por sí mismo; la secuencia de codificación para todo el anticuerpo o una porción de éste; la secuencia de codificación para un anticuerpo, fragmento o porción, así como las secuencias adicionales, tales como la secuencia de codificación de al menos un líder de señal o péptido de fusión, con o sin las secuencias de codificación adicional antes mencionadas, tales como al menos un intrón, junto con secuencias de no codificación adicionales, incluyendo pero no limitadas a, secuencias 5' y 3' no codificantes, tales como las secuencias transcritas no traducidas que tienen un papel en la transcripción, procesamiento de mRNA, incluyendo señales de unión y poliadenilación (por ejemplo - ribosoma unión y estabilidad del mRNA); una secuencia adicional de codificación que codifica aminoácidos adicionales, tales como los que proporcionan funcionalidades adicionales. Así, la secuencia que codifica un anticuerpo puede fusionarse con una secuencia marcadora, tal como una secuencia que codifica un péptido que facilita la purificación del anticuerpo fusionado que comprende un fragmento o porción del anticuerpo.

Polinucleótidos que hibridizan selectivamente a un polinucleótido tal como se describe aquí:

**[0056]** La presente proporciona ácidos nucleicos aislados que hibridizan bajo condiciones de hibridización selectiva a un polinucleótido mostrado aquí. Así, estos polinucleótidos pueden usarse para aislar, detectar y/o cuantificar ácidos nucleicos que comprenden tales polinucleótidos. Por ejemplo, estos polinucleótidos pueden usarse para identificar, aislar o amplificar clones parciales o completos en una biblioteca depositaria. En algunos contextos, los polinucleótidos son secuencias genómicas o de cDNA aisladas, o de otra forma complementarias, a un cDNA de una biblioteca de ácidos nucleicos humanos o mamíferos.

**[0057]** Preferiblemente, la biblioteca de cDNA comprende al menos secuencias 80% de longitud, preferiblemente al menos 85% o 90% de longitud y más preferiblemente al menos 95% de longitud. Las bibliotecas de cDNA pueden ser normalizadas para aumentar la representación de secuencias raras. Las condiciones de hibridización de severidad baja o moderada son típica, pero no exclusivamente, empleadas con secuencias que tienen una identidad de secuencia reducida en relación con las secuencias complementarias. Opcionalmente pueden emplearse condiciones de severidad moderada y alta para secuencias de mayor identidad. Las condiciones de severidad baja permiten la hibridización selectiva de secuencias que tienen 70% de identidad de secuencia y pueden emplearse para identificar secuencias ortólogas o parálogas.

**[0058]** Opcionalmente, los polinucleótidos codificarán al menos una porción de un anticuerpo codificado por los polinucleótidos descritos aquí. Los polinucleótidos mostrados incluyen secuencias de ácidos nucleicos que pueden emplearse para la hibridización selectiva a un polinucleótido que codifica un anticuerpo de la presente invención. Ver, p.e., Ausubel, supra; Colligan, supra,

Construcción de los ácidos nucleicos: Los ácidos nucleicos aislados mostrados aquí pueden hacerse usando (a) métodos recombinantes, (b) técnicas sintéticas, (c) técnicas de purificación, combinaciones de éstas, así como las conocidas en la técnica.

Métodos recombinantes para construir ácidos nucleicos: Las composiciones aisladas de ácidos nucleicos tales como RNA, cDNA, DNA genómico o cualquier combinación de éstos, pueden obtenerse a partir de fuentes biológicas usando cualquier número de metodologías de clonación conocidas por los expertos en la materia. En algunos contextos, se usan sondas de oligonucleótidos que hibridizan selectivamente, bajo condiciones severas, a los polinucleótidos de la presente declaración para identificar la secuencia deseada en una biblioteca de cDNA o DNA genómico. El aislamiento del RNA, y la construcción de bibliotecas de cDNA y genómico, es bien conocido por los expertos en la materia. (Ver, p.e., Ausubel, supra; o Sambrook, supra)

Métodos de búsqueda y aislamiento de ácidos nucleicos: Puede buscarse en una biblioteca de cDNA o genómico usando una sonda basada en la secuencia de un polinucleótido mostrado aquí. Las sondas pueden usarse para hibridizar con secuencias de DNA genómico o cDNA para aislar genes homólogos en el mismo o diferentes organismos. Los expertos en la materia apreciarán los varios grados de severidad de la hibridización que pueden emplearse en el ensayo; y la hibridización del medio de lavado puede ser severa. Cuando las condiciones para hibridización se hacen más severas, debe haber un mayor grado de complementariedad entre la sonda y el alvo para que ocurra la formación dúplex. El grado de severidad puede ser controlado por uno o más de temperatura, potencia iónica, pH y la presencia de un solvente parcialmente desnaturalizante como formamida. Por ejemplo, la severidad de hibridización varía convenientemente cambiando la polaridad de la solución reactante a través, por ejemplo, de la manipulación de la concentración de formamida dentro del rango de 0% a 50%. El grado de complementariedad (identidad de secuencia) requerido para la unión detectable variará de acuerdo con la severidad del medio de hibridización y/o medio de lavado. El grado de complementariedad será óptimamente 100%, o 70-100% o cualquier rango o valor de éstos. Sin embargo, ha de comprenderse que las variaciones menores de secuencia en las sondas y cebadores pueden compensarse reduciendo la severidad del medio de hibridización y/o lavado.

Los métodos de amplificación de RNA o DNA son conocidos en la técnica y pueden usarse sin experimentación exagerada, basados en la enseñanza y guía presentada aquí. Los métodos conocidos de

amplificación de DNA o RNA incluyen, pero no se limitan a, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y procesos de amplificación relacionados (Mullis, et al., U.S. Patent No. 4,683,202 (1987); e Innis, et al., PCR Protocols A Guide to Methods and Applications, Eds., Academic Press Inc., San Diego, CA (1990).

5 Métodos sintéticos para construir ácidos nucleicos: Los ácidos nucleicos aislados de la presente declaración también pueden prepararse por síntesis química directa por los métodos conocidos (ver, p.ej., Ausubel, et al., supra). La síntesis química generalmente produce un oligonucleótido de una sola cadena, el cual puede convertirse en DNA de cadena doble por hibridación con una secuencia complementaria, o por  
10 polimerización con una DNA polimerasa usando la cadena única como plantilla. Los expertos en el tema reconocerán que aunque la síntesis química del DNA puede limitarse a secuencias de 100 o más bases, secuencias más largas pueden obtenerse por la ligadura de secuencias más cortas. Un método particularmente preferido para la síntesis química de codificación de secuencias se enseña en las US Patent Nos. 6521427 y 6670127.

15 **3. Vectores y sistemas de expresión**

[0059] Se muestran aquí los vectores, preferiblemente vectores de expresión, que contienen un ácido nucleico que codifica el anticuerpo anti-IL-17, o pueden usarse para obtener plásmidos que contienen varios genes HC o LC del anticuerpo o porciones de éstos. Tal como se usa aquí, el término "vector" se refiere a una molécula de ácido  
20 nucleico capaz de transportar otro ácido nucleico al cual ha estado unido. Un tipo de vector es un "plásmido", el cual se refiere a un asa de DBA circular de doble cadena en el cual pueden ligarse segmentos adicionales de DNA. Otro tipo de vector es un vector viral, donde segmentos adicionales de DNA pueden ligarse en el genoma viral. La presente declaración también se relaciona con vectores que incluyen moléculas aisladas de ácido nucleico de la presente declaración, células hospedadoras que están genéticamente diseñadas con los vectores recombinantes, y  
25 la producción de al menos un anticuerpo anti-IL-17 por técnicas recombinantes, como se conoce en la técnica. Ver, p.ej., Sambrook, et al, supra; Ausubel, et al., supra,

[0060] Para la expresión de los anticuerpos, o fragmentos de anticuerpos de éstos, pueden insertarse DNAs que codifican longitudes parciales o completas de cadenas livianas o pesadas en cartuchos de expresión o vectores de  
30 forma que los genes están operativamente unidos a secuencias transcripcionales y traduccionales control. Un cartucho, el cual codifica un anticuerpo, puede ensamblarse como un constructo. Un constructo puede prepararse usando métodos conocidos en la técnica. El constructo puede prepararse como parte de un plásmido más grande. Tal preparación permite la clonación y selección de las construcciones correctas de forma eficiente. El constructo puede localizarse entre sitios convenientes de restricción en el plásmido u otro vector de forma que pueden aislarse  
35 fácilmente desde las secuencias plásmidas restantes.

[0061] Generalmente, un vector plásmido se introduce en un precipitado, tal como un precipitado de fosfato de calcio, o en un complejo con un lípido cargado de DEAE-dextrano. Si el vector es un virus, puede empaquetarse in vitro usando una línea celular de empaquetado apropiada y luego trasducirse en células hospedadoras. La introducción  
40 de un constructo vector en una célula hospedadora también puede efectuarse por electroporación u otros métodos conocidos. Tales métodos se describen en la técnica, tales como Sambrook, supra, Capítulos 1-4 y 16-18; Ausubel, supra, Capítulos 1, 9, 13, 15, 16.

[0062] En este contexto, el término "operativamente enlazado" pretende significar que un gen de anticuerpo está ligado en un vector de forma que las secuencias control de transcripción y traducción dentro del vector sirven su  
45 función pretendida de regular la transcripción y traducción del gen de anticuerpo. El vector de expresión y secuencias control de expresión se escogen para que sean compatibles con la célula hospedadora de expresión usada. El gen de la cadena liviana del anticuerpo y el gen de la cadena pesada del anticuerpo pueden insertarse en vectores separados o, más típicamente, ambos genes se insertan en el mismo vector de expresión. Los genes del anticuerpo se insertan en el vector de expresión por métodos estándar (p.ej., ligadura de sitios de restricción complementaria en el fragmento y vector del gen del anticuerpo, o cortan la ligadura terminal si no hay sitios de restricción).

[0063] Las regiones variables de la cadena liviana y pesada de los anticuerpos descritos aquí pueden usarse para crear genes de anticuerpo de longitud completa de cualquier isotipo de anticuerpo insertándolas en vectores de  
55 expresión que ya codifican regiones constantes de la cadena pesada y regiones constantes de la cadena liviana del isotipo deseado de forma que el segmento VH está operativamente enlazado al(los) segmento(s) CH dentro del vector y el segmento VI, está operativamente enlazado al segmento CL dentro del vector. Adicional o alternativamente, el vector de expresión recombinante puede codificar un péptido señal que facilita la secreción de la cadena de anticuerpo a partir de una célula hospedadora. El gen de la cadena del anticuerpo puede clonarse en el  
60 vector de forma que el péptido señal esté enlazado en el marco al extremo amino del gen de la cadena del anticuerpo. El péptido señal puede ser un péptido señal de inmunoglobulina o un péptido señal heterólogo (es decir, un péptido señal de una proteína no inmunoglobulina).

[0064] Aunque es teóricamente posible expresar los anticuerpos de la invención en células hospedadoras procariontas o eucariotas, la expresión de los anticuerpos en células eucariotas, y más preferiblemente células  
65 hospedadoras de mamíferos, es la más preferida porque tales células eucariotas, y en particular las células de los

mamíferos, son más propensas que las células procariotas a ensamblarse y secretar un anticuerpo apropiadamente plegado e inmunológicamente activo.

**[0065]** En general, un vector de expresión en mamífero contendrá (1) elementos regulatorios, usualmente en forma de secuencias promotoras o aumentadoras virales y caracterizados por un amplio rango de hospedadores y tejidos; (2) una secuencia "polienlazadora", facilitando la inserción de un fragmento de DNA el cual comprende la secuencia de codificación del anticuerpo dentro del vector plásmido; y (3) las secuencias responsables para la unión del intrón y poliadenilación de los transcritos de mRNA. Esta región contigua del sitio promotor-polienlazador-poliadenilación comúnmente se denomina unidad de transcripción. El vector probablemente también contendrá (4) un(os) gen(es) marcador(es) seleccionable(s) (p.ej., el gen de beta-lactamasa), a menudo confiriendo resistencia a un antibiótico (tal como ampicilina), permitiendo la selección de transformantes positivos iniciales en *E. coli*; y (5) secuencias que facilitan la replicación del vector en los hospedadores bacterianos y mamíferos. Se incluyen un origen plasmídico de replicación para la propagación del constructo de expresión en *E. coli* para la expresión transitoria en células Cos, el origen SV40 de replicación se incluye en el plásmido de expresión.

**[0066]** Un promotor puede ser seleccionado a partir de un promotor SV40, (p.ej., promotores SV40 tardíos o tempranos, el promotor CMV (US Pat.Nos. 5,168,062; 5,385,839), un promotor HSV tk, un promotor pgk (fosfoglicerato quinasa), un promotor EF-1 alfa (US Pat.No. 5,266,491), al menos un promotor de inmunoglobulina humana.

**[0067]** Los vectores de expresión preferible pero opcionalmente incluirán al menos un marcador seleccionable. Tales marcadores incluyen, p.ej., pero no se limitan a, metotrexato (MTX), dihidrofolato reductasa (DHFR, US Pat.Nos. 4,399,216; 4,634,665; 4,656,134; 4,956,288; 5,149,636; 5,179,017, ampicilina, neomicina (G418), ácido micofenólico o glutamina sintetasa (GS, US Pat.Nos. 5,122,464; 5,770,359; 5,827,739) resistencia para el cultivo de célula eucariota, y genes de resistencia a tetraciclina o ampicilina para su cultivo en *E. coli* y otras bacterias o procariotas. Los métodos de cultivo apropiados y condiciones para las células hospedadoras antes descritas son conocidos en la técnica. Los vectores idóneos serán claros para el experto en la materia.

**[0068]** Cuando se emplean células hospedadoras eucariotas, se incorporan secuencias de poliadenilación o terminadoras de transcripción en el vector. Un ejemplo de secuencia terminadora es la secuencia de poliadenilación del gen de hormona de crecimiento bovino. También pueden incluirse secuencias para la unión precisa del transcrito. Un ejemplo de una secuencia de unión es el intrón VP1 de SV40 (Sprague, et al., J. Virol. 45:773-781 (1983)). Adicionalmente, pueden incorporarse secuencias de genes para controlar la replicación en la célula hospedadora en el vector, como se conoce en la técnica. También, para evitar la alta expresión de moléculas de cadena pesada de superficie, puede ser necesario usar un vector de expresión que elimine las uniones de variantes de dominio transmembrana. Elementos adicionales incluyen mejoradores, secuencias Kozak y secuencias intervinientes flanqueadas por sitios donantes y aceptores para unión del RNA. Puede lograrse una transcripción altamente eficiente con los promotores tempranos y tardíos de SV40, los repetidos terminales largos (LTRS) de los retrovirus, p.ej., RSV, HTLV1, HIV1 y el promotor temprano del citomegalovirus (CMV). Sin embargo, también pueden usarse elementos celulares (p.ej., el promotor de actina humana). Vectores idóneos de expresión para su uso practicando la presente invención incluyen, por ejemplo, vectores tales como pRES1neo, pRetro- Off, pRetro-On, PLXSN o pLNCX (Clontech Labs, Palo Alto, CA), pcDNA3.1 (+/-), pcDNA/Zeo (+/-) or pcDNA3.1/Hygro (+/-) (Invitrogen), PSVL y PMSG (Pharmacia, Uppsala, Sweden), pRSVcat (ATCC 37152), pSV2dhfr (ATCC 37146) y pBC12MI (ATCC 67109).

**[0069]** Alternativamente, los ácidos nucleicos que codifican la secuencia de anticuerpos pueden expresarse en líneas celulares estables que contienen el gen integrado en un cromosoma. La cotrasfección con un marcador seleccionable tal como dhfr, gpt, neomicina o higromicina permite la identificación y aislamiento de las células trasfectadas, lo cual expresa grandes cantidades del anticuerpo codificado. El marcador DHFR (dihidrofolato reductasa) es útil para desarrollar líneas celulares que portan varios cientos o incluso varios miles de copias del gen de interés. Otro marcador de selección útil es la enzima glutamina sintasa (GS) (Murphy, et al., Biochem. J. 227:277-279 (1991); Bebbington, et al., Bio/Technology 10:169-175 (1992)). Usando estos marcadores, las células de mamíferos crecen en medio selectivo y se seleccionan las células con la mayor resistencia. Estas líneas celulares contienen el(los) gen(es) amplificado(s) en un cromosoma. A menudo se usan células de ovario de hámster chino (CHO) y NSO para la producción de anticuerpos.

**[0070]** Los constructos de DNA usados en la producción de los anticuerpos de la invención opcionalmente pueden incluir al menos una secuencia aisladora. Los términos "aislador", "secuencia aisladora" y "elemento aislador" se usan aquí de forma intercambiable. Un elemento aislador es un elemento control, el cual aísla la transcripción de genes colocados dentro de su rango de acción, pero el cual no perturba la expresión del gen, negativa o positivamente. Preferiblemente, una secuencia aisladora es insertada a cada lado de la secuencia de DNA a ser transcrita. Por ejemplo, el aislador puede posicionarse entre 200 bp a 1 kb, 5' desde el promotor, y al menos entre 1 kb y 5 kb desde el promotor, en el extremo 3' del gen de interés. La distancia de la secuencia aisladora desde el promotor y el extremo 3' del gen de interés puede ser determinada por los expertos en la materia, dependiendo del tamaño relativo del gen de interés, el promotor y el mejorador usados en el constructo. Además, puede colocarse más de una secuencia aisladora a 5' desde el promotor en el extremo 3' del trasgén. Por ejemplo, pueden

posicionarse dos o más secuencias aisladoras 5' desde el promotor. El aislador o aisladores en el extremo 3' del trasgén puede posicionarse en el extremo 3' del gen de interés, o en el extremo 3' de una secuencia regulatoria 3'. p.ej., una región no traducida (UTR) 3' o una secuencia flanqueante 3'.

5 **[0071]** Ejemplos de vectores de expresión de E.coli inducibles de no fusión idóneos incluyen pTrc (Amann et al., (1988) Gene 69:301-315) y pET 11d (Studier et al., Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990) 60-89). La expresión del gen albo a partir del vector pTrc se basa en la transcripción de la RNA polimerasa del hospedador a partir de un promotor de fusión híbrido trp-lac. La expresión del gen albo del vector pET 11d se basa en la transcripción de un promotor de fusión T7 gn10- lac mediada por una RNA polimerasa viral coexpresada (T7 gn1). Esta polimerasa viral es suplida por cepas hospedadoras BL21(DE3) o HMS174(DE3) a partir de un  $\lambda$  profago residente que porta un gen T7 gn1 bajo control transcripcional del promotor lacUV 5.

15 **[0072]** En otro contexto, el vector de expresión es un vector de expresión de levadura. Ejemplos de vectores para expresión en la levadura *S.cerevisiae* incluyen pYepSecI (Baldari et al. (1987) EMBO J. 6:229- 234), pMFa (Kurjan and Herskowitz, (1982) Cell 30:933-943), pJRY88 (Schultz et al. (1987) Gene 54:113-123), pYES2 (Invitrogen Corporation, San Diego, Calif.), y pPicZ (Invitrogen Corp, San Diego, Calif.).

20 **[0073]** Alternativamente, el vector de expresión es un vector de expresión de baculovirus. Los vectores de baculovirus disponibles para la expresión de proteínas en células de insectos cultivadas (p.ej., células Sf9) incluyen la serie pAc (Smith et al. (1983) Mol. Cell Biol. 3:2156-2165) y la serie pVL (Lucklow and Summers (1989) Virology 170:31-39).

25 **[0074]** En otro contexto, un ácido nucleico mostrado aquí se expresa en células mamíferas usando un vector de expresión mamífera. Ejemplos de vectores de expresión mamífera incluyen pCDM8 (Seed (1987) Nature 329:840) y pMT2PC (Kaufman et al. (1987) EMBO J. 6:187-195). Cuando se usan en células mamíferas, las funciones de control del vector de expresión a menudo son proporcionadas por elementos regulatorios virales. Por ejemplo, promotores comúnmente usados se derivan de polyoma, Adenovirus 2, cytomegalovirus y Simian Virus 40. Para otros sistemas de expresión idóneos para células procariotas y eucariotas, ver los capítulos 16 y 17 de Sambrook et al., supra.

35 **[0075]** En otro contexto, el vector de expresión mamífero recombinante es capaz de dirigir la expresión del ácido nucleico, preferencialmente en un tipo celular particular, tal como las células de linfoma (p.ej, células de mieloma de ratón). En tipos celulares específicos, elementos regulatorios tisulares específicos se usan para expresar el ácido nucleico. Los elementos regulatorios tisulares específicos son conocidos por la técnica. Ejemplos no limitantes de promotores tisulares específicos idóneos incluyen el promotor de albúmina (específico del hígado; Pinkert et al. (1987) Genes Dev. 1:268-277), promotores linfoides específicos (Calame e Eaton (1988) Adv. Immunol. 43:235-275), en particular promotores de los receptores del linfocito T (Winoto and Baltimore (1989) EMBO J. 8:729-733) e inmunoglobulinas (Banerji et al. (1983) Cell 33:729-740; Queen and Baltimore (1983) Cell 33:741-748), promotores neuronales específicos (p.ej., el promotor de neurofilamentos, Byrne and Ruddle (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:5473-5477), promotores pancreáticos específicos (Edlund et al. (1985) Science 230:912-916), y promotores de glándula mamaria específicos (p.ej., promotor de leche de trigo, U.S. Pat. No. 4,873,316 y Publicación de Aplicación Europea No. 264, 166). También se incluyen promotores regulados del desarrollo, por ejemplo, por los promotores hox murinos (Kessel and Gruss (1990) Science 249:374-379) y el promotor de  $\alpha$ -fetoproteína (Campes and Tilghman (1989) Genes Dev. 3:537-546).

50 **[0076]** También se muestra un vector de expresión recombinante que comprende una molécula de DNA clonada en el vector de expresión en una orientación antisentido. Es decir, la molécula de DNA está enlazada de forma operable a una secuencia regulatoria en una forma que permite la expresión (por transcripción de la molécula de DNA) de una molécula de RNA que es antisentido a la mRNA que codifica un polipéptido. Pueden escogerse secuencias regulatorias enlazadas operablemente a un ácido nucleico clonado en la orientación antisentido que dirigen la expresión continua de la molécula de RNA antisentido en una variedad de tipos celulares. Por ejemplo, pueden escogerse promotores y/o mejoradores virales, o secuencias regulatorias que dirigen la expresión constitutiva directa, tisular específica o específica del tipo celular del RNA antisentido. El vector de expresión antisentido puede estar en la forma de un plásmido recombinante, fagémido o virus atenuado en el cual se producen ácidos nucleicos antisentido bajo el control de una región regulatoria de alta eficiencia, cuya actividad puede ser determinada por el tipo celular en el cual se introduce el vector. Para una discusión de la regulación de la expresión genética usando genes antisentido, ver Weintraub et al. (Reviews-- Trends in Genetics, Vol. 1(1) 1986).

60 **Clonación y expresión en células de mieloma**

**[0077]** Se observó que un anticuerpo monoclonal quimérico ratón/humano IgG11k contra CD4 humano, conocido como cM-T412 (EP0511308 se expresaba a altos niveles en células de mieloma murino trasfectadas (Looney et al. 1992. Hum Antibodies Hybridomas 3(4):191-200). Sin un gran esfuerzo en condiciones óptimas de cultivo, se obtuvieron fácilmente niveles de producción >500 mg/L (productividad específica sobre una base pg/cél/día no se conoce) en Centocor, Inc. Malvern, PA in 1990. Según los componentes de estos vectores de expresión se

desarrollaron vectores de clonación de anticuerpo útiles para la clonación de HC y LC los cuales incluyen la secuencia de ácido nucleico de iniciación de transcripción del gen promotor, las secuencias 5' no traducidas y las secuencias de ácido nucleico de iniciación de traducción, las secuencias de ácido nucleico que codifican la secuencia de señal, las secuencias donantes de unión intrón/exón para el intrón señal y el intrón J-C y las secuencias de ácido nucleico mejorador del intrón J-C. El plásmido p139, un plásmido pUC19, contiene un fragmento genómico EcoRI-EcoRI de 5.8 kb clonado a partir de las células de hibridoma C 123 que secretan el Ab M-T412 de ratón completo; el fragmento contiene el promotor y la región V del gen cM-T412. El material de inicio para el diseño del vector de la región LC V era el plásmido p39, un plásmido pUC que contiene un fragmento genómico HindIII-HindIII de 3 kb clonado a partir de células de hibridoma C123; este fragmento contiene la región promotora y la región V del gen cM-T412 LC. Los vectores diseñados derivados de p139 y p39 se diseñaron para mejorar el ensamblaje conveniente de los genes de LC o HC idóneos para la expresión en una célula hospedadora mamífera en un proceso de dos pasos que incluye 1) clonar el DNA que codifica una secuencia de interés entre sitios de restricción especialmente preparados en un vector de región V, donde la secuencia de codificación de la región V se coloca inmediatamente aguas abajo a la secuencia señal codificada del vector, así como aguas abajo de parte o todo el promotor del gen; y 2) transferir un fragmento que respeta la secuencia insertada del vector de la región V a el vector de la región C en la orientación apropiada donde el plásmido resultante constituye el plásmido de expresión final idóneo para expresión en células (Scallon et al. 1995 Cytokine 7(8):759-769).

#### Clonación y expresión en células CHO

**[0078]** El plásmido pC4 es un derivado del plásmido pSV2-dhfr (Registro ATCC No. 37146). El plásmido contiene el gen DHFR de ratón bajo control del promotor temprano SV40. Células de ovario de hámster chino u otras células que carecen de actividad de dihidrofolato que son trasfectadas con estos plásmidos pueden ser seleccionadas haciendo crecer las células en un medio selectivo (p.ej., alpha minus MEM, Life Technologies, Gaithersburg, MD) suplementado con el agente quimioterápico metotrexato. La amplificación de los genes DHFR en las células resistentes a metotrexato (MTX) ha sido bien documentada (ver, p.ej., F.W. Alt, et al., J. Biol. Chem. 253:1357-1370 (1978); J. L. Hamlin y C. Ma, Biochem. et Biophys. Acta 1097:107-143 (1990); y M. J. Page y M. A. Sydenham, Biotechnology 9:64-68 (1991)). Las células que crecieron en concentraciones cada vez mayores de MTX desarrollan resistencia al medicamento sobreproduciendo la enzima alba, DHFR, como resultado de la amplificación del gen de DHFR. Si se enlaza un segundo gen al gen de DHFR, usualmente es coamplificado y sobreexpresado. Se sabe en la técnica que este abordaje puede usarse para desarrollar líneas celulares que porten más de 1,000 copias del(los) gen(es) amplificado(s). Posteriormente, cuando se retira el metotrexato, se obtienen líneas celulares que contienen el gen amplificado integrado en uno o más cromosomas de la célula hospedadora.

**[0079]** El plásmido pC4 contiene para expresar el gen de interés el fuerte promotor del repetido terminal largo (LTR) del Virus de Sarcoma de Rous (Cullen, et al., Molec. Cell. Biol. 5:438-447 (1985)) más un fragmento aislado del aumentador del gen temprano inmediato del citomegalovirus humano (CMV) (Boshart, et al., Cell 41:521-530 (1985)). Aguas abajo al promotor están los sitios de clivaje de la enzima de restricción BamHI, XbaI, y Asp718 que permiten la integración de los genes. Detrás de estos sitios de clonación el plásmido contiene el intrón 3' y el sitio de poliadenilación del gen de preproinsulina de la rata. Otros promotores de alta eficiencia también pueden usarse para la expresión, p.ej., el promotor de la b-actina humana, los promotores tempranos o tardíos de SV40 o los largos terminales repetidos de otros retrovirus, p.ej., HIV y HTLVI. Los sistemas de expresión genética Tet-Off y Tet-On de Clontech y sistemas similares pueden usarse para expresar el anticuerpo IL-17 en una forma regulada en células mamíferas (M. Gossen, and H. Bujard, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 5547-5551 (1992)). Para la poliadenilación del mRNA, también pueden usarse otras señales de mRNA, p.ej., de los genes de la hormona de crecimiento humana o globina.

#### 4. Células hospedadoras para la producción de anticuerpos

**[0080]** Al menos un anticuerpo anti-IL-17 de la presente invención puede ser opcionalmente producido por una línea celular, una línea celular mixta, una población celular inmortalizada o clonal de células inmortalizadas, conocidas en la técnica. Ver, p.ej., Ausubel, et al., ed., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc., NY, NY (1987-2004); Sambrook, et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition, Cold Spring Harbor, NY (1989); Harlow and Lane, antibodies, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, NY (1989); Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, Inc., NY (1994-2004); Colligan et al., Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, NY, (1997-2004). **[0081]** Para producir productos biofarmacéuticos, se requiere una línea celular de producción capaz de una expresión eficiente y reproducible de un polipéptido(s) recombinante(s). La línea celular es estable y rentable. Una variedad de líneas de células hospedadoras puede emplearse para este propósito. Como la comprensión de las complejidades de cómo impacta la maquinaria celular la cantidad final y composición de un producto bioterapéutico, la selección de una línea celular hospedadora que impartirá los atributos necesarios para la producción y composición del producto se hace más evidente.

**[0082]** A diferencia de muchos genes que se transcriben a partir de secuencias de DNA genómico continuo, los genes de anticuerpo se ensamblan a partir de segmentos de gen que pueden estar ampliamente separados en la línea germinal. En particular, los genes de la cadena pesada están formados por la recombinación de tres segmentos genómicos que codifican las regiones variables (V), de diversidad (D) y de unión(J)/constante(C) del anticuerpo. Los

genes funcionales de cadena liviana se forman uniendo dos segmentos genéticos; uno codifica la región V y el otro codifica la región J/C. Los loci de la cadena pesada y cadena liviana kappa contienen muchos segmentos de gen V (los estimados varían entre 100s y 1000s) estimados que pasan por encima de las 1000 kb. El locus lambda es, por el contrario, mucho más pequeño, y se ha demostrado que abarca aproximadamente 300 kb en el cromosoma 16 en el ratón. Consiste en dos segmentos de gen variable y cuatro segmentos de gen de la región de unión/constante (J/C). La formación de un gen funcional requiere la recombinación entre un elemento V y un J/C.

**[0083]** En el linfocito B en el cual se produce naturalmente el anticuerpo, el control de la transcripción de los genes reordenados de la cadena pesada y liviana kappa depende de la actividad de un promotor tisular específico aguas arriba de la región V y un mejorador tisular específico localizado en el intrón J-C. Estos elementos actúan sinérgicamente. También se ha identificado un segundo mejorador específico del linfocito B en el locus de la cadena liviana kappa. Este mejorador se localiza a 9 kb aguas abajo de kappa- Así, el método del hibridoma de inmortalizar los genes de expresión de anticuerpo se basa en las secuencias promotora y mejoradora del linaje parental del linfocito B. Alternativamente, los ácidos nucleicos mostrados aquí pueden expresarse en una célula hospedadora activando (por manipulación) en una célula hospedadora que contiene DNA endógeno que codifica un anticuerpo de la presente invención. Tales métodos son bien conocidos en la técnica, p.ej., como se describen en la patente U.S. Nos. 5,580,734, 5,641,670, 5,733,746 y 5,733,761,

**[0084]** La clonación del DNA genómico del anticuerpo en n vector artificial es otro método de crear células hospedadoras capaces de expresar anticuerpos. Sin embargo, la expresión de anticuerpos monoclonales detrás de un promotor fuerte aumenta la probabilidad de identificar líneas celulares productoras altas y obtener altos rendimientos de anticuerpos monoclonales. Los anticuerpos de la invención pueden ser producidos en un trasfectoma de célula hospedadora usando, por ejemplo, una combinación de técnicas de DNA recombinante y métodos de transfección genética como se conocen en la técnica (p.ej., Morrison, S. (1985) Science 229: 1202).

**[0085]** Los sistemas para la clonación y expresión de un biofarmacéutico, incluyendo anticuerpos, en una variedad de diferentes células hospedadoras son bien conocidos. Las células hospedadoras idóneas incluyen bacterias, células mamíferas, células de plantas, levadura y sistemas de baculovirus y plantas y animales transgénicos. Las líneas celulares mamíferas disponibles en la técnica para la expresión de un polipéptido heterólogo de proteínas glicosiladas incluyen células de ovario de hámster chino (CHO), células HeLa, células renales de hámster bebé (BHK), células de melanoma de ratón NSO y líneas celulares derivadas, p.ej., SP2/0, YB2/0 (ATC CRL-1662) células de mieloma de rata, células renales embrionarias humanas (HEK), células retinianas embrionarias humanas, células PerC.6, células Hep G2, BSC-1 (p.ej., ATCC CRL-26) y muchas otras disponibles, a partir por ejemplo, de American Type Culture Collection, Manassas, Va ([www.atcc.org](http://www.atcc.org)). Un hospedador bacteriano preferido común es E.coli.

**[0086]** Frecuentemente se han usado células mamíferas tales como células CHO, células de mieloma, células HEL293, células BHK (BHK21, ATCC CRL-10), células Ltk de ratón y células NIH3T3 para la expresión estable de genes heterólogos. Por el contrario, de rutina se usan líneas celulares tales como Cos (COS-1 ATCC CRL 1650; COS-7, ATCC CRL-1651) y HEK293 para la expresión transitoria de proteínas recombinantes.

**[0087]** Las células hospedadoras mamíferas preferidas para expresar los anticuerpos recombinantes de la invención incluyen células de mieloma tales como Sp2/0, YB2/0 (ATC CRL-1662), NSO, and P3X63.Ag8.653 (e.g. SP2/0-Ag14), debido a su alta tasa de expresión. En particular, para el uso con células de mieloma NSO, otro sistema de expresión preferido es el sistema de expresión genética GS mostrado en WO 87/04462, WO 89/01036 y EP 338,841. Cuando vectores de expresión recombinante que codifican genes de anticuerpo se introducen en células hospedadoras mamíferas, los anticuerpos se producen cultivando las células hospedadoras por un período de tiempo suficiente para permitir la expresión del anticuerpo en las células hospedadoras o, más preferiblemente, secreción del anticuerpo en el medio de cultivo en el cual crecen las células hospedadoras. Los anticuerpos pueden recuperarse del medio usando métodos estándar de purificación de proteína.

**[0088]** Ilustrativas de los cultivos celulares útiles para la producción de los anticuerpos, porciones específicas o variantes de éstos, son las células mamíferas. Los sistemas de células mamíferas a menudo estarán en forma de monocapas de células, aunque también pueden usarse suspensiones de células mamíferas o biorreactores.

**[0089]** Se han desarrollado algunas líneas celulares hospedadoras idóneas capaces de expresar proteínas glicosiladas intactas en la técnica, e incluyen las líneas celulares COS-1 (p.ej., ATCC CRL 1650), COS-7 (p.ej., ATCC CRL-1651), HEK293, BHK21 (p.ej., ATCC CRL-10), CHO (p.ej., ATCC CRL 1610) y BSC-1 (p.ej., ATCC CRL-26), células Cos-7, células CHO, células hep G2, células P3X63Ag8.653, SP2/0-Ag14, 293, células HeLa y semejantes, las cuales están disponibles, por ejemplo, a partir de American Type Culture Collection, Manassas, Va ([www.atcc.org](http://www.atcc.org)). Las células hospedadoras preferidas incluyen células de origen linfocítico tales como las células de mieloma y linfoma. Las células hospedadoras particularmente preferidas son las células P3X63Ag8.653 (Número de Registro ATCC CRL-1580) y células SP2/0-Ag14 (Número de Registro ATCC CRL-1851).

**[0090]** Células CHO-K1 y DHFR-CHO DG44 y DUK-B11 (G. Urlaub, L.A. Chasin, 1980. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 77, 4216-220) se usan para producción de proteína de alto nivel debido a que la amplificación de genes de interés está permitida por la incorporación de un marcador seleccionable, amplificable, DHFR usando p.ej., el medicamento

metotrexato (MTX) (R.J. Kaufman, 1990. *Methods Enzymol.* 185: 537-566). Las células DHFR-CHO pueden usarse con éxito para producir mAbs recombinantes a un alto nivel. Las DHFR-CHO pueden producir anticuerpos anti-IL-17 a la tasa de 80-110 mg  $10^6$  células<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> o más de 200 mg  $10^6$  células<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>. Se han usado una variedad de promotores para obtener la expresión de cadenas H y L en estas células CHO, por ejemplo, el promotor b-actina, el promotor CMV MIE humano, el promotor tardío mayor (MLP) del virus Ad, el promotor RSV y un LTR del virus de leucemia murina. Se han descrito algunos vectores para la expresión del mAb en la literatura en los cuales las dos cadenas de Ig son portadas por dos plásmidos diferentes con un marcador seleccionable/amplificable independiente. Pueden usarse vectores que contienen una cadena de anticuerpo, p.ej., la cadena H, enlazados a un marcador DHFRm y un cartucho de expresión de cadena L con el marcador Neor o viceversa para obtener hasta 180 mg de un mAb humanizado L<sup>-1</sup> 7 día<sup>-1</sup> en matraces giratorios. Los métodos usados para la selección inicial y posterior amplificación pueden ser variados y son conocidos por los expertos en la materia. En general, puede obtenerse un alto nivel de expresión de mAb usando los siguientes pasos: selección inicial y posterior amplificación de los candidatos a clones, coselección (p.ej., en los casos donde los vectores de expresión de cadena H y cadena L portan la unidad de expresión DHFR) y amplificación, coamplificación usando diferentes marcadores amplificables, y selección y amplificación inicial en cultivo en masa, seguido por clonación de dilución para identificar clones individuales de alta expresión. Debido a que los sitios de integración pueden influenciar la eficiencia de la expresión de la cadena H y cadena L y la expresión global de mAb, se han creado vectores únicos en los cuales las dos unidades de expresión de la cadena de Ig se colocan en tándem. Estos vectores portan también un marcador seleccionable dominante tal como Neor y el cartucho de expresión de DHFR. Para una revisión ver Ganguly, S. and A. Shatzman. *Expression Systems, mammalian cells IN: Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalysis, and Bioseparation.* 1999 by John Wiley & Sons, Inc.

**[0091]** Cockett et al. (1990. *Bio/Technology* 8, 662-667) desarrollaron el sistema GS para la expresión de alto nivel de genes heterólogos en células CHO. La trasfección de un vector de expresión conteniendo un cDNA (bajo control transcripcional del promotor hCMV) y un minigén GS (bajo control del promotor tardío SV40) en células CHO-K1 (seguida por selección con 20 mM a 500 mM MSX) puede usarse para rendir clones que expresan los anticuerpos de la invención en rendimientos comparables a los sistemas DHFR-CHO. El sistema GS se discute en totalidad o en parte en conexión con la Patente Europea Nos. 0 216 846, 0 256 055, y 0 323 997 y la Aplicación de Patente Europea No. 89303964.4.

**[0092]** Como ejemplo no limitativo, hojas de tabaco trasgénico que expresan proteínas recombinantes se han usado con éxito para proporcionar grandes cantidades de proteínas recombinantes, p.ej., usando un promotor inducible. Ver, p.ej., Cramer et al., *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 240:95-118 (1999) y las referencias citadas aquí. También se ha usado maíz trasgénico para expresar proteínas mamíferas a niveles de producción comercial, con actividades biológicas equivalentes a las producidas en otros sistemas recombinantes o purificadas a partir de fuentes naturales. Ver, p.ej., Hood et al., *Adv. Exp. Med. Biol.* 464:127-147 (1999) y las referencias citadas aquí. También se han producido anticuerpos en grandes cantidades a partir de semillas de plantas trasgénicas incluyendo fragmentos de anticuerpos, tales como anticuerpos de una sola cadena (scFv's), incluyendo semillas de tabaco y tubérculos de patata. Ver, p.ej., Conrad et al., *Plant Mol. Biol.* 38:101-109 (1998) y las referencias citadas aquí. Así, los anticuerpos de la presente invención también pueden producirse usando plantas trasgénicas, de acuerdo con métodos conocidos. Ver también, p.ej., Fischer et al., *Biotechnol. Appl. Biochem.* 30:99-108 (Oct., 1999), Ma et al., *Trends Biotechnol.* 13:522-7 (1995); Ma et al., *Plant Physiol.* 109:341-6 (1995); Whitelam et al., *Biochem. Soc. Trans.* 22:940-944 (1994); y las referencias citadas aquí. Ver, también generalmente para la expresión de anticuerpo por las plantas, pero no limitado a, US Pat. No. 5959177.

#### 4. Purificación de un anticuerpo

**[0093]** UN anticuerpo anti-IL-17 puede recuperarse y purificarse a partir de cultivos de células recombinantes por métodos conocidos incluyendo, pero no limitado a, purificación de proteína A, precipitación con sulfato de amonio o etanol, extracción ácida, cromatografía por intercambio aniónico o catiónico, cromatografía en fosfocelulosa, cromatografía en interacción hidrofóbica, cromatografía por afinidad, cromatografía en hidroxiapatita y cromatografía en lectina. La cromatografía líquida de alto desempeño ("HPLC") también puede emplearse para purificación. Ver, p.ej., Colligan, *Current Protocols in Immunology*, o *Current Protocols in Protein Science*, John Wiley & Sons, NY, NY, (1997-2001), p.ej., Capítulos 1, 4, 6, 8, 9, 10.

**[0094]** Los anticuerpos de la presente invención incluyen productos naturalmente purificados, productos de procedimientos sintéticos químicos y productos producidos por técnicas recombinantes a partir de un hospedador eucariota, incluyendo por ejemplo levadura, planta superior, insectos y células mamíferas. Dependiendo del hospedador empleado en un procedimiento de producción recombinante, el anticuerpo de la presente invención puede ser glicosilado o no, siendo el glicosilado el preferido. Tales métodos se describen en muchos manuales estándar de laboratorio, tales como Sambrook, supra, secciones 17.37-17.42; Ausubel, supra, capítulos 10, 12, 13, 16, 18 y 20, Colligan, *Protein Science*, supra, capítulos 12-14.

#### 5. Anticuerpos de la invención

**[0095]** Los anticuerpos anti-IL-17 (también llamados anticuerpos anti-INTERLEUCINA-17 o anticuerpos IL-17) útiles en los métodos y composiciones de la presente invención pueden ser caracterizados opcionalmente por unión de alta afinidad a IL-17, unión altamente específica a IL-17, capacidad de inhibir una o más de las actividades biológicas asociadas con la IL-17 y opcional y preferiblemente tener baja toxicidad.

**[0096]** Los anticuerpos de la invención pueden unirse a la IL-17 humana con un amplio rango de afinidades (KD). En un contexto preferido, al menos un mAb humano de la presente invención puede unirse opcionalmente a la IL-17 humana con alta afinidad. Por ejemplo, un mAb humano puede unirse a la IL-17 con una KD igual o menor de  $10^{-7}$  M, tal como pero no limitado a 0.1-9.9 (o cualquier rango o valor de éstos)  $\times 10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-10}$ ,  $10^{-11}$ ,  $10^{-12}$ ,  $10^{-13}$  o cualquier rango o valor de éstos.

**[0097]** La afinidad o aidez de un anticuerpos por un antígeno puede determinarse experimentalmente usando cualquier método idóneo. (Ver, por ejemplo, Berzofsky, et al., "Antibody-Antigen Interactions," In Fundamental Immunology, Paul, W. E., Ed., Raven Press: New York, NY (1984); Kuby, Janis Immunology, W. H. Freeman and Company: New York, NY (1992); y los métodos descritos aquí). La afinidad medida de una interacción antígeno-anticuerpo particular puede variar si se mide bajo diferentes condiciones (p.ej., concentración de sal, pH). Así, las mediciones de afinidad y otros parámetros de unión al antígeno (p.ej., KD,  $K_a$ ,  $K_d$ ) se hacen preferiblemente con soluciones estandarizadas de anticuerpo y antígeno, y un amortiguador estandarizado, tales como las soluciones estándar y amortiguadores descritos aquí.

**[0098]** Los anticuerpos aislados de la presente invención comprenden secuencias de aminoácidos de un anticuerpo mostradas aquí codificadas por cualquier polinucleótido idóneo, o cualquier anticuerpo aislado o preparado. Preferiblemente, el anticuerpo humano o fragmento de unión al antígeno se une a la IL-17, y así neutraliza parcial o sustancialmente al menos una actividad biológica de la proteína. Un anticuerpo, o porción específica o variante de éstos, que neutraliza parcialmente o preferiblemente de forma sustancial al menos una actividad biológica de al menos una proteína o fragmento de IL-17 puede unirse a la proteína o fragmento y así inhibir actividades mediadas a través de la unión de la IL-17 a un receptor de IL-17 o a través de otros mecanismos dependientes de IL-17 o mediados. Tal como se usa aquí, el término "anticuerpo neutralizante" se refiere a un anticuerpo que puede inhibir una actividad dependiente de IL-17 en un 20-120%, preferiblemente al menos un 10, 20, 30, 40, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100% o más dependiendo del ensayo. La capacidad de un anticuerpo anti-IL-17 de inhibir una actividad dependiente de IL-17 se evalúa preferiblemente al menos con un ensayo idóneo de proteína o receptor de IL-17, como se describe aquí y/o se conoce en la técnica. Un anticuerpo humano de la invención puede ser de cualquier clase (IgG, IgA, IgM, IgE, IgD, etc.) o isotipo y puede comprender una cadena liviana kappa o lambda. En un contexto, el anticuerpo humano comprende una cadena pesada IgG o fragmento definido, por ejemplo, al menos uno de los isotipos IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. Los anticuerpos de este tipo pueden prepararse empleando un ratón trasgénico u otro mamífero no humano trasgénico comprendiendo al menos una cadena liviana humana (p.ej., trasgenes de IgG, IgA e IgM (p.ej.,  $\gamma_1$ ,  $\gamma_2$ ,  $\gamma_3$ ,  $\gamma_4$ ) como se describe aquí y/o se conoce en la técnica. En otro contexto, el anticuerpo humano anti-IL-17 humana comprende una cadena pesada IgG1 y una cadena liviana IgG1.

**[0099]** Al menos un anticuerpo de la invención se une al menos con un epítoto específico al menos de una proteína IL-17, fragmento, porción o cualquier combinación de éstos. Al menos un epítoto puede comprender al menos una región de unión del anticuerpo que comprende al menos una porción de la proteína, cuyo epítoto es preferiblemente comprendido al menos por 1-3 aminoácidos a toda la porción específica de aminoácidos contiguos de las SEQ ID NOS:1-3.

**[0100]** Generalmente, el anticuerpo humano o fragmento de unión al antígeno de la presente invención comprenderá una región de unión al antígeno que comprende al menos una región determinante de complementaridad humana (CDR1, CDR2 y CDR3) o variante de al menos una región variable de cadena pesada y al menos una región determinante de complementaridad humana (CDR1, CDR2 y CDR3) o variante de al menos una región variable de cadena liviana. Como ejemplo no limitante, el anticuerpo o porción de unión al antígeno o variante puede comprender al menos una de la cadena pesada y/o una CDR3 de la cadena liviana. En un contexto particular, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno puede tener una región de unión al antígeno que comprende al menos una porción de al menos una CDR de cadena pesada (es decir, CDR1, CDR2 y/o CDR3) teniendo la secuencia de aminoácidos de las CDRs correspondientes 1, 2 y/o 3. En otro contexto particular, el anticuerpo o porción o variante de unión al antígeno puede tener una región de unión al antígeno que comprende al menos una porción de al menos una CDR de cadena liviana (es decir, CDR1, CDR2 y/o CDR3) teniendo la secuencia de aminoácidos de las CDRs correspondientes 1, 2 y/o 3. Tales anticuerpos pueden prepararse unión químicamente las varias porciones (las CDRs y marcos) del anticuerpo usando técnicas convencionales, preparando y expresando una molécula de ácido nucleico que codifica el anticuerpo usando técnicas convencionales de tecnología de DNA recombinante o usando cualquier otro método idóneo.

**[0101]** El anticuerpo anti-IL-17 puede comprender al menos una región variable de una cadena pesada o liviana teniendo una secuencia definida de aminoácidos en las regiones del marco. Por ejemplo, en un contexto preferido, el anticuerpo anti-IL-17 comprende al menos una de al menos una región variable de cadena pesada y/o al menos una región variable de cadena liviana.

**[0102]** La clase o isotipo del anticuerpo (IgA, IgD, IgE, IgG o IgM) es conferido por las regiones constantes que son codificadas por genes de la región constante de la cadena pesada. Entre la clase IgG humana, hay cuatro subclases o subtipos: IgG1, IgG2, IgG3 nombrados en orden de su abundancia natural en suero comenzando de mayor a menor. Los anticuerpos IgA se encuentran en dos subclases, IgA1 e IgA2. Tal como se usa aquí, "cambio de isotipo" también se refiere a un cambio entre subclases o subtipos de IgG.

**[0103]** La invención también se relaciona con anticuerpos, fragmentos de unión a antígenos, cadenas de inmunoglobulinas y CDRs que comprenden aminoácidos en una secuencia que es sustancialmente la misma que una secuencia de aminoácido descrita aquí. Preferiblemente, tales anticuerpos o fragmentos de unión a antígenos y anticuerpos comprenden tales cadenas o CDRs pueden unirse a la IL-17 humana con alta afinidad (p.ej., KD menor o igual a 10<sup>-9</sup> M). Las secuencias de aminoácidos que son sustancialmente las mismas que las secuencias descritas aquí incluyen secuencias que comprenden sustituciones conservadoras de aminoácidos, así como deleciones y/o inserciones de aminoácidos. Una sustitución conservadora de aminoácido se refiere al reemplazo de un primer aminoácido por un segundo aminoácido que tiene propiedades químicas y/o físicas (p.ej., carga, estructura, polaridad, hidrofobicidad/hidrofilia) que son similares a las del primer aminoácido. Las sustituciones conservadoras incluyen el reemplazo de un aminoácido por otro dentro de los siguientes grupos: lisina (K), arginina (R) e histidina (H); aspartato (D) y glutamato (E); asparagina (N), glutamina (Q), serina (S), treonina (T), tirosina (Y), K, R, H, D y E; alanina (A), valina (V), leucina (L), isoleucina (I), prolina (P), fenilalanina (F), triptófano (W), metionina (M), cisteína (C) y glicina (G); F, W e Y; C, S y T.

**[0104]** Un anticuerpo anti-IL-17 de la presente invención puede incluir una o más sustituciones, deleciones o adiciones de aminoácidos, a partir de mutaciones naturales o manipulación humana, como se especifica aquí o se enseña en Knappik et al. US6828422 para las regiones variables derivadas de secuencias de genes de líneas germinales humanas y categorizadas por similitudes de secuencia en familias designadas como VH1A, VH1B, VH2, etc. y por cadenas livianas como subgrupos kappa o lambda. Estas secuencias y otras secuencias que pueden usarse en la presente invención incluyen, pero no se limitan a, las configuraciones presentadas en la Tabla 1 como las Figuras 1-42 de la PCT publication WO 05/005604 y US 10/872,932, archivada el 21 de junio de 2004, incorporada en su totalidad por referencia aquí, donde las Figuras 1-42 referenciadas muestran ejemplos de secuencias variables y dominios constantes de cadena pesada y liviana, marcos, subdominios, regiones y sustituciones, cuyas porciones pueden usarse en proteínas derivadas de Ig de la presente invención, como se enseña aquí.

**Tabla 1. Configuraciones de anticuerpos humanos**

		REGIONES						
Región variable de cadena pesada		FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
Región variable de cadena Liviana		FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
IgA1, IgA2, IgD, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4	Regiones constantes	CH1	Bisagra1 -4	CH2	CH3			
IgA, IgM		CH1	Bisagra1 -4	CH2	CH3	Cadena J		
IgE		CH1		CH2	CH3	CH4		

**[0105]** El número de sustituciones de aminoácidos que un experto en la materia haría depende de muchos factores, incluyendo los descritos antes. Generalmente hablando, el número de sustituciones, inserciones o deleciones de aminoácidos para cualquier anticuerpo anti-IL-17 dado, fragmento o variante no será más de 40, 30, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, en tanto que 1-30 o cualquier rango de valor aquí, como se especifica.

**[0106]** Los aminoácidos en un anticuerpo anti-IL-17 de la presente invención que son esenciales para su función pueden identificarse por métodos conocidos en la técnica, tales como mutagénesis dirigida al sitio o mutagénesis por escaneo de alanina (p.ej., Ausubel, supra, Capítulos 8, 15; Cunningham and Wells, Science 244:1081-1085 (1989)). El último procedimiento introduce mutaciones únicas de alanina en cada residuo en la molécula. Las moléculas mutantes resultantes son luego evaluadas para actividad biológica, tales como, pero no limitadas al menos a una actividad neutralizante de IL-17. Los sitios que son críticos para la unión al anticuerpo también pueden ser identificados por análisis estructural tal como cristalización, resonancia magnética nuclear o marcaje por foto afinidad ((Smith, et al., J. Mol. Biol. 224:899-904 (1992) y de Vos, et al., Science 255:306-312 (1992)).

**[0107]** Como apreciarán los expertos en la materia, la presente invención incluye al menos un anticuerpo

biológicamente activo de la presente invención. Los anticuerpos biológicamente activos tienen una actividad específica al menos 20%, 30% o 40%, y preferiblemente al menos 50%, 60% o 70% y más preferiblemente al menos 80%, 90%, or 95%-1000% del anticuerpo nativo (no sintético), endógeno o relativo y conocido. Los métodos para evaluar y cuantificar las medidas de actividad enzimática o especificidad de sustrato son conocidas por los expertos en la materia y se describen aquí.

**[0108]** En otro aspecto, la invención se relaciona con los anticuerpos humanos y fragmentos de unión al antígeno, como se describe aquí, los cuales son modificados por la unión covalente de una fracción orgánica. Tal modificación puede producir un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno con mejores propiedades farmacocinéticas (p.ej., vida media sérica in vivo aumentada). La fracción orgánica puede ser un grupo polimérico lineal o ramificado hidrofílico, grupo ácido graso o grupo éster de ácido graso. En contextos particulares, el grupo polimérico hidrofílico puede tener un peso molecular de 800 a 120.000 Daltons y puede ser un polialcano glicol (p.ej., polietilenglicol (PEG), polipropilenglicol (PPG)), polímero de carbohidrato, polímero de aminoácido o polivinil pirrolidona, y el grupo de ácido graso o éster de ácido graso puede comprender entre ocho a cuarenta átomos de carbono.

**[0109]** Los anticuerpos modificados y fragmentos de unión al antígeno de la invención pueden comprender una o más fracciones orgánicas que están unidas covalentemente, directa o indirectamente, al anticuerpo. Cada fracción orgánica que se une a un anticuerpo o fragmento de unión al anticuerpo de la invención puede ser independientemente un grupo polimérico hidrofílico, un grupo de ácido graso o un grupo éster de ácido graso. Tal como se usa aquí, el término "ácido graso" incluye ácidos monocarboxílicos y dicarboxílicos. Un "grupo polimérico hidrofílico" como el término se usa aquí, se refiere a un polímero orgánico que es más soluble en agua que en octano. Por ejemplo, polilisina es más soluble en agua que en octano. Así, un anticuerpo modificado por la unión covalente de polilisina está incluido en la invención. Los polímeros hidrofílicos idóneos para modificar anticuerpos de la invención pueden ser lineales o ramificados e incluyen, por ejemplo, glicoles polialcanos (p.ej., PEG, monometoxipolietilenglicol (mPEG), PPG y semejantes), carbohidratos (p.ej., dextrano, celulosa, oligosacáridos, polisacáridos y semejantes), polímeros de aminoácidos hidrofílicos (p.ej., polilisina, polarginina, poliaspartato y semejantes), óxidos de polialcanos (p.ej., óxido de polietileno, óxido de polipropileno y semejantes) y polivinil pirrolidona. Preferiblemente, el polímero hidrofílico que modifica el anticuerpo de la invención tiene un peso molecular de 800 a 150,000 Daltons como entidad molecular separada. Por ejemplo, puede usarse PEG5000 y PEG20,000, donde el suscrito es el peso molecular promedio del polímero en Daltons. El grupo polimérico hidrofílico puede ser sustituto con uno a seis grupos alquil, ácidos grasos o éster de ácido graso. Los polímeros hidrofílicos que son sustituidos con un ácido graso o grupo éster de ácido graso pueden ser preparados empleando métodos idóneos. Por ejemplo, un polímero que comprende un grupo amino puede acoplarse a un carboxilato del ácido graso o éster de ácido graso, y un carboxilato activado (p.ej., activado con N, N-carboxil diimidazol) sobre un ácido graso o éster de ácido graso puede acoplarse a un grupo hidroxilo sobre un polímero.

**[0110]** Los ácidos grasos y ésteres de ácido graso idóneos para modificar anticuerpos de la invención pueden ser saturados o pueden contener una o más unidades de insaturación. Los ácidos grasos que son idóneos para modificar anticuerpos de la invención incluyen, por ejemplo, n-dodecanoato (C<sub>12</sub>, laurato), n-tetradecanoato (C<sub>14</sub>, miristato), n-octadecanoato (C<sub>18</sub>, estearato), n-eicosanoato (C<sub>20</sub>, araquidato), n-docosanoato (C<sub>22</sub>, behenato), n-triacontanoato (C<sub>30</sub>), n-tetracontanoato (C<sub>40</sub>), *cis*- 9-octadecanoato (C<sub>18</sub>, oleato), *all cis*- 5,8,11,14-eicosatetraenoato (C<sub>20</sub>, araquidonato), ácido octanedioico, ácido tetradecanedioico, ácido octadecanedioico, ácido docosanedioico y semejantes. Los ésteres de ácido graso idóneos incluyen mono-ésteres de ácidos dicarboxílicos que comprenden un grupo alquilo lineal o ramificado menor. El grupo alquil menor puede comprender de uno a doce, preferiblemente uno a seis, átomos de carbonos.

**[0111]** Los anticuerpos humanos modificados y fragmentos de unión a antígenos pueden prepararse usando métodos idóneos, como por reacción con uno o más agentes modificantes. Un "agente modificante" como el término se usa aquí, se refiere a un grupo orgánico idóneo (p.ej., polímero hidrofílico, un ácido graso, un éster de ácido graso) que comprende un grupo activante. Un "grupo activante" es una fracción química o grupo funcional que puede, bajo condiciones apropiadas, reaccionar con un segundo grupo químico formando así un enlace covalente entre el agente modificante y el segundo grupo químico. Por ejemplo, grupos activantes amino-reactivos incluyen grupos electrofílicos tales como como tosilato, mesilato, halo (cloro, bromo, fluoro, iodo), ésteres N-hidroxisuccinimidil (NHS) y semejantes. Los grupos activantes que pueden reaccionar con tioles incluyen, por ejemplo, maleimida, iodoacetil, acrilolil, piridildisulfuros, ácido tiol 5-tiol-2-nitrobenzoico (TNB-tiol) y semejantes. Un grupo aldehído funcional puede acoplarse a moléculas que contienen aminas o hidracida, y un grupo azida puede reaccionar con un grup fósforo trivalente para formar enlaces fosforamidato o fosforimida. Métodos idóneos para introducir grupos activantes en las moléculas son conocidos en la técnica (ver por ejemplo, Hermanson, G. T., Bioconjugate Techniques, Academic Press: San Diego, CA (1996)). Un grupo activante puede unirse directamente al grupo orgánico (p.ej., polímero hidrofílico, ácido graso, éster de ácido graso), o a través de una fracción enlazadora, por ejemplo un grupo divalente C1-C12 donde uno o más átomos de carbono pueden ser reemplazados por un heteroátomo como oxígeno, nitrógeno o azufre. Fracciones enlazadoras idóneas incluyen, por ejemplo, tetraetilenglicol, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-, -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-NH-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-NH- y -CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-CH-NH-. Agentes modificantes que comprenden una fracción enlazadora pueden ser producidos, por ejemplo, reaccionando una mono-Boc-alquildiamina (e.g., mono-Boc-etilendiamina, mono-Boc-diaminohexano) con un ácido graso en presencia de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) para formar un enlace amida entre la amina libre y el ácido

graso carboxilato. El grupo protector Boc puede ser removido del producto por tratamiento con ácido trifluoroacético (TFA) para exponer una amina primaria que puede ser acoplada con otro carboxilato como se describe, o puede reaccionar con anhídrido maleico y ciclizarse el producto resultante para producir un derivado maleimido activado del ácido graso. (Ver, por ejemplo, Thompson, et al., WO 92/16221.)

**[0112]** Los anticuerpos modificados de la invención pueden producirse reaccionando un anticuerpo humano o fracción de unión al antígeno con un agente modificante. Por ejemplo, las fracciones orgánicas pueden unirse al anticuerpo en una manera no específica del sitio empleando un agente modificante amina-reactivo, por ejemplo, un éster NHS de PEG. También pueden prepararse anticuerpos humanos o fragmentos de unión a antígenos modificados reduciendo los puentes disulfuro (p.ej., puente disulfuro intracadena) de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno reducido puede reaccionar con un agente modificante tiol-reactivo para producir el anticuerpo modificado de la invención. Pueden prepararse anticuerpos humanos modificados y fragmentos de unión a antígeno que comprenden una fracción orgánica que se une a sitios específicos de un anticuerpo de la presente invención usando métodos idóneos, como la proteólisis inversa (Fisch et al., Bioconjugate Chem., 3:147-153 (1992); Werlen et al., Bioconjugate Chem., 5:411-417 (1994); Kumaran et al., Protein Sci. 6(10):2233-2241 (1997); Itoh et al., Bioorg. Chem., 24(1): 59-68 (1996); Capellas et al., Biotechnol. Bioeng., 56(4):456-463 (1997)), y los métodos descritos en Hermanson, G. T., Bioconjugate Techniques, Academic Press: San Diego, CA (1996).

#### 4. Anticuerpos anti-idiotipo contra los anticuerpos anti-IL-17

**[0113]** Además de los anticuerpos monoclonales o quiméricos anti-IL-17, la presente declaración también está dirigida a un anticuerpo anti-idiotípico (anti-Id) específico para tales anticuerpos de la invención. Un anticuerpo anti-Id es un anticuerpo, el cual reconoce determinantes únicos generalmente asociados con la región de unión al antígeno de otro anticuerpo. El anti-Id puede prepararse inmunizando un animal de la misma especie y tipo genético (p.ej., cepa murina) como la fuente del anticuerpo Id con el anticuerpo o una región que contiene la CDR de éstas. El animal inmunizado reconocerá y responderá a los determinantes idiotípicos del anticuerpo inmunizante y producirá un anticuerpo anti-Id. El anticuerpo anti-Id también puede usarse como "inmunógeno" para inducir una respuesta inmune en otro animal, produciendo un llamado anticuerpo anti-anti-Id.

#### 5. Composiciones de anticuerpos que comprenden otros ingredientes terapéuticamente activos

**[0114]** La composición puede opcionalmente comprender una cantidad efectiva de al menos un compuesto o proteína seleccionados al menos de un medicamento dermatológico, un antiinflamatorio, un analgésico, un medicamento renal (p.ej., un bloqueante del receptor de angiotensina (ARB) o antagonista), un antiféccioso, un medicamento del sistema cardiovascular (CV), un medicamento del sistema nervioso central (CNS), un medicamento del sistema nervioso autónomo, un medicamento del tracto respiratorio, un medicamento del tracto gastrointestinal (GI), un medicamento hormonal, un medicamento para el balance de fluidos o electrolitos, un medicamento hematológico, un antineoplásico, un medicamento de inmunomodulación, un medicamento oftálmico, ótico o nasal, un medicamento tópico, un medicamento nutricional o semejantes. Tales medicamentos son conocidos en la técnica, incluyendo formulaciones, indicaciones, dosificación y administración para cada uno de los presentados aquí (ver., p.ej., Nursing 2001 Handbook of Drugs, 21st edition, Springhouse Corp., Springhouse, PA, 2001; Health Professional's Drug Guide 2001, ed., Shannon, Wilson, Stang, Prentice-Hall, Inc, Upper Saddle River, NJ; Pharmacotherapy Handbook, Wells et al., ed., Appleton & Lange, Stamford, CT. Las composiciones del anticuerpo anti-IL-17 de la presente invención pueden comprender al menos una de cualquier cantidad idónea y efectiva de una composición o composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo anti-IL-17 a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en necesidad de tal modulación, tratamiento o terapia, opcionalmente comprendiendo al menos uno seleccionado a partir de un antagonista del TNF (p.ej., pero no limitado a un TNF, antagonista químico o de proteína de TNF, anticuerpo mono o policlonal o fragmento de TNF, un receptor soluble de TNF (p.ej., p55, p70 o p85) o fragmento, polipéptidos de fusión de éstos, o una pequeña molécula antagonista TNF, p.ej., proteína I o II de unión a TNF (TBP-I o TBP-II), nerelimonmab, infliximab, entercept, CDP-571, CDP-870, certolizumab, afelimomab, lenercept, y semejantes), un antirreumático (p.ej., metotrexato, auranofina, aurotioglucosa, azatioprina, etanercept, tiomalato sódico de oro, sulfato de hidroxiclороquina, leflunomida, sulfasalzina), un relajante muscular, un narcótico, un antiinflamatorio no esteroideo (AINE), un analgésico, un anestésico, un sedante, un anestésico local, un bloqueante neuromuscular, un antimicrobiano (p.ej., aminoglicósido, un antimicótico, un antiparasitario, un antiviral, un carbapenem, cefalosporina, una fluoroquinolona, un macrólido, una penicilina, una sulfonamida, una tetraciclina, otro antimicrobiano), un antipsoriático, un cortico- teroide, un esteroide anabólico, un agente relacionado con la diabetes, un agente mineral, nutricional, tiroideo, una vitamina, una hormona relacionada con calcio, un antidiarreico, un antitussivo, un antiemético, un antiulceroso, un laxante, un anticoagulante, una eritropoyetina (p.ej., epoetin alfa), un filgrastim (p.ej., G-CSF, Neupogen), un sargramostim (GM-CSF, Leukine), un agente para la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), un agente anti-fibrótico, una inmunización, una inmunoglobulina, un inmunosupresor (e.g., basiliximab, ciclosporina, daclizumab), una hormona del crecimiento, un medicamento de reemplazo hormonal, un modulador de receptor estrogénico, un midriático, un ciclopléptico, un agente alquilante, un antimetabolito, un inhibidor mitótico, un radiofarmacéutico, un antidepresivo, agente antimaniaco, un antipsicótico, un ansiolítico, un hipnótico, un simpatomimético, un estimulante, donepezilo, tacrina, un medicamento para el asma, un agonista beta, un esteroide inhalado, un inhibidor de leucotrieno, una

metilxantina, un cromolín, una epinefrina o análogo, dornasa alfa (Pulmozyme(TM)), una citoquina o un antagonista de citoquina. Ejemplos no limitantes de tales citoquinas incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de IL-1 a IL-29. Las dosis idóneas son conocidas en la técnica. Ver, p.ej., Wells et al., eds., *Pharmacotherapy Handbook*, 2nd Edition, Appleton and Lange, Stamford, CT (2000); PDR Pharmacopoeia, Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2000, Deluxe Edition, Tarascon Publishing, Loma Linda, CA (2000).

[0115] Tales anticáncer o antifecciosos también pueden incluir moléculas de toxina que se asocian, enlazan, coformulan o coadministran al menos con un anticuerpo de la presente invención. La toxina puede actuar opcionalmente para eliminar de forma selectiva la célula o tejido patológico. La célula patológica puede ser una célula cancerosa o de otro tipo. Tales toxinas pueden ser, pero no se limitan a, toxina purificada o recombinante o fragmento de toxina que comprende al menos un dominio citotóxico funcional de toxina, p.ej., seleccionado a partir de un al menos uno de ricino, toxina diftérica, toxina de veneno o toxina bacteriana. El término toxina también incluye ambas endotoxinas y exotoxinas producidas por cualquier bacteria natural, mutante o recombinante o virus los cuales pueden causar cualquier condición patológica en humanos y otros mamíferos, incluyen choques por toxina, la cual puede resultar en la muerte. Tales toxinas pueden incluir, pero no limitarse a, enterotoxina lábil al calor (LT) de *E. coli* enterotoxigénica, enterotoxina estable al calor (ST), citotoxina de *Shigella*, enterotoxinas de *Aeromonas*, toxina-1 del síndrome de shock tóxico (TSST-1), enterotoxina A estafilocócica (SEA), B (SEB) o C (SEC), enterotoxinas estreptocócicas y semejantes. Tales bacterias incluyen, pero no se limitan a, cepas de una especie de *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enterohemorrágica (p.ej., cepas de serotipo 0157:H7), especies de *Staphylococcus* (p.ej., *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pyogenes*), especies de *Shigella* (p.ej., *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, y *Shigella sonnei*), especies de *Salmonella* (p.ej., *Salmonella typhi*, *Salmonella cholera-suis*, *Salmonella enteritidis*), especies de *Clostridium* (p.ej., *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*, *Clostridium botulinum*), especies de *Camphilobacter* (p.ej., *Camphilobacter jejuni*, *Camphilobacter fetus*), especies de *Helicobacter*, (p.ej., *Helicobacter pylori*), especies de *Aeromonas* (p.ej., *Aeromonas sobria*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae*), *Pleisomonas shigelloides*, *Yersinia enterocolitica*, especies de *Vibrio* (p.ej., *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahemolyticus*), especies de *Klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Streptococci*. Ver, p.ej., Stein, ed., *INTERNAL MEDICINE*, 3rd ed., pp 1-13, Little, Brown and Co., Boston, (1990); Evans et al., eds., *Bacterial Infections of Humans: Epidemiology and Control*, 2d. Ed., pp 239-254, Plenum Medical Book Co., New York (1991); Mandell et al., *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 3d. Ed., Churchill Livingstone, New York (1990); Berkow et al, eds., *The Merck Manual*, 16th edition, Merck and Co., Rahway, N.J., 1992; Wood et al, *FEMS Microbiology Immunology*, 76:121-134 (1991); Marrack et al, *Science*, 248:705-711 (1990). Los compuestos del anticuerpo anti-IL-17, composiciones o combinaciones de la presente invención pueden comprender al menos uno de cualquier agente auxiliar idóneo, tal como, pero no limitado a, diluyente, aglutinante, estabilizante, amortiguadores, sales, solventes lipofílicos, preservativos, coadyuvantes o semejantes. Se prefieren auxiliares farmacéuticamente aceptables. Ejemplos no limitantes de, y métodos para preparar tales composiciones estériles son bien conocidos en la técnica, tales como, pero no limitados a Gennaro, Ed., *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th Edition, Mack Publishing Co. (Easton, PA) 1990. Portadores farmacéuticamente aceptables pueden seleccionarse de rutina que son idóneos para el modo de administración, solubilidad y/o estabilidad del anticuerpo anti-IL-17, fragmento o composición variante como se conoce en la técnica o como se describe aquí.

[0116] Excipientes farmacéuticos y aditivos útiles en la presente composición incluyen pero no se limitan a proteínas, péptidos, aminoácidos, lípidos y carbohidratos (p.ej., azúcares, incluyendo monosacáridos, di-, tri-, tetra- y oligosacáridos; azúcares derivados como alditoles, ácidos aldónicos, azúcares esterificados y semejantes; y polisacáridos o polímeros de azúcar), los cuales pueden estar presentes solos o combinados, comprendiendo solos o combinados 1-99.99% por peso o volumen. Excipientes proteicos ilustrativos incluyen albúmina sérica tal como la albúmina sérica humana (HSA), albúmina humana recombinante (rHA), gelatina, caseína y semejantes. Componentes aminoácidos/anticuerpo representativos, los cuales pueden funcionar también en una capacidad de amortiguador, incluyen alanina, glicina, arginina, betaína, histidina, ácido glutámico, ácido aspártico, cisteína, lisina, leucina, isoleucina, valina, metionina, fenilalanina, aspartame y semejantes. Un aminoácido preferido es glicina.

[0117] Los excipientes carbohidratos idóneos para su uso en la invención incluyen, por ejemplo, monosacáridos tales como fructosa, maltosa, galactosa, glucosa, D-manosa, sorbosa y semejantes; disacáridos tales como lactosa, sucrosa, trehalosa, celobiosa y semejantes; polisacáridos tales como rafinosa, melezitosa, maltodextrinas, dextranos, almidones y semejantes; y alditoles, tales como manitol, xilitol, maltitol, lactitol, xilitol, sorbitol (glucitol), mioinositol y semejantes. Excipientes carbohidratos preferidos para su uso en la presente invención son manitol, trehalosa y rafinosa.

[0118] Las composiciones de anticuerpo anti-IL-17 también pueden incluir un amortiguador o un agente ajustador del pH; típicamente, el amortiguador es una sal preparada a partir de un ácido orgánico o base. Amortiguadores representativos incluyen sales de ácidos orgánicos tales como las sales de ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido glucónico, ácido carbónico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido acético o ácido ftálico; Tris, trometamina clorhidrato o amortiguadores de fosfato. Los amortiguadores preferidos para su uso en las presentes composiciones son sales de ácidos orgánicos tales como citrato.

**[0119]** Adicionalmente, las composiciones de anticuerpo anti-IL-17 de la invención pueden incluir excipientes/aditivos poliméricos tales como polivinilpirrolidonas, ficolls (un azúcar polimérico), dextratos (p.ej., ciclodextrinas, tales como 2-hdroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina), polietilenglicoles, agentes saborizantes, agentes antimicrobianos, endulzantes, antioxidantes, agentes antiestática, surfactantes (p.ej., polisorbatos tales como "TWEEN 20" y "TWEEN 80"), lípidos (p.ej., fosfolípidos, ácidos grasos), esteroides (e.g., colesterol), y agentes quelantes (p.ej., EDTA).

**[0120]** Éstos excipientes y otros farmacéuticos conocidos y/o aditivos idóneos para su uso en el anticuerpo anti-IL-17, porción o composiciones variantes de acuerdo con la invención son conocidos en la técnica, p.ej., como se enumeran en "Remington: The Science & Practice of Pharmacy", 19th ed., Williams & Williams, (1995), y en "Physician's Desk Reference", 52nd ed., Medical Economics, Montvale, NJ (1998), cuyas declaraciones se incorporan en su totalidad aquí para referencia. Los materiales portadores o excipientes preferidos son carbohidratos (p.ej., sacáridos y alditoles) y amortiguadores (p.ej., citrato) o agentes poliméricos.

#### 4. Formulaciones

**[0121]** Como se nota antes, aquí se muestran formulaciones estables idóneas para uso farmacéutico o veterinario, comprendiendo al menos un anticuerpo anti-IL-17 en una formulación farmacéuticamente aceptable.

**[0122]** Como se nota antes, se muestra un artículo de fabricación, comprendiendo material de empaçado y al menos un vial que comprende una solución de al menos un anticuerpo anti-IL-17 con los amortiguadores y/o preservativos prescritos, opcionalmente en un diluyente acuoso, donde dicho material de empaçado comprende una etiqueta que indica que tal solución puede mantenerse por un período de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 18, 20, 24, 30, 36, 40, 48, 54, 60, 66, 72 horas o más. También se muestra un artículo de fabricación, comprendiendo material de empaçado, un primer vial que comprende liofilizado al menos un anticuerpo anti-IL-17, y un segundo vial que comprende un diluyente acuoso de amortiguador o preservativo prescrito, donde dicho material de empaçado comprende una etiqueta que instruye al paciente a reconstituir al menos un anticuerpo anti-IL-17 en el diluyente acuoso para formar una solución que puede mantenerse por un período de veinticuatro horas o más.

**[0123]** El rango de al menos un anticuerpo anti-IL-17 en el producto aquí mostrado incluye cantidades que rinden luego de la reconstitución, en un sistema húmedo/seco, concentraciones entre 1.0 mg/ml a 1000 mg/ml, aunque concentraciones menores y mayores son operables y dependen del vehículo de administración pretendido, p.ej., formulaciones de solución que diferirán del parche trasdérmico, métodos pulmonares, tras mucosos o bombas osmóticas o microbombas.

**[0124]** El diluyente acuoso opcionalmente comprende un preservativo farmacéuticamente aceptable. Los preservativos preferidos incluyen los seleccionados a partir del grupo consistente en fenol, m-cresol, p-cresol, o-cresol, clorocresol, bencil alcohol, alquilparabeno (metil, etil, propil, butil y semejantes), cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, dehidroacetato de sodio y timerosal, o mezclas de éstos. La concentración de preservativo usado en la formulación es una concentración suficiente para rendir un efecto antimicrobiano. Tales concentraciones dependen del preservativo seleccionado y son fácilmente determinadas por el experto en la materia.

**[0125]** Otros excipientes, p.ej., agentes de isotonicidad, amortiguadores, antioxidantes, aumentadores preservativos, pueden agregarse opcional y preferiblemente al diluyente. Un agente de isotonicidad, tal como glicerina, se usa comúnmente a concentraciones conocidas. Un amortiguador fisiológicamente tolerado se agrega preferiblemente para aumentar el control del pH. Las formulaciones pueden cubrir un amplio rango de pHs, tales como entre pH 4 a pH 10, y rangos preferidos entre pH 5 y pH 9 y un rango más preferido de 6.0 a 8.0. Preferiblemente las formulaciones de la presente invención tienen un pH entre 6.8 y 7.8. Los amortiguadores preferidos incluyen amortiguadores de fosfato, más preferiblemente fosfato de sodio, particularmente solución fisiológica con amortiguador de fosfato (PBS). Otros aditivos, tales como solubilizantes farmacéuticamente aceptables como Tween 20 (polioxietileno (20) sorbitan monolaurato), Tween 40 (polioxietileno (20) sorbitan monopalmitato), Tween 80 (polioxietileno (20) sorbitan monooleato), Pluronic F68 (polioxietileno copolímeros de bloqueo de polioxipropileno), y PEG (polietilenglicol) o surfactantes no iónicos tales como polisorbato 20 o 80 o poloxamero 184 o 188, polioles Pluronic®, otros copolímeros de bloqueo y quelantes tales como EDTA y EGTA pueden opcionalmente agregarse a las formulaciones o composiciones para reducir la agregación. Estos aditivos son particularmente útiles si se usa una bomba o contenedor plástico para administrar la formulación. La presencia de un surfactante farmacéuticamente aceptable mitiga la propensión de la proteína a agregarse.

**[0126]** Las formulaciones aquí mostradas pueden prepararse por un proceso, el cual comprende mezclar al menos un anticuerpo anti-IL-17 y una solución amortiguada en cantidades suficientes para proporcionar la proteína a las concentraciones deseadas. Variaciones de este proceso serían reconocidas por alguien experto en la materia. Por ejemplo, el orden en el que los componentes se agregan, si se usan aditivos adicionales, la temperatura y pH a los cuales la formulación se prepara, son todos factores que pueden optimizarse para la concentración y medios de administración usados.

**[0127]** Dichas formulaciones pueden ser proporcionadas a los pacientes como soluciones o como viales duales

comprendiendo un vial de liofilizado al menos un anticuerpo anti-IL-17 que es reconstituido con un segundo vial que contiene agua, un preservativo y/o excipientes, preferiblemente un amortiguador de fosfato y/o solución fisiológica y una sal escogida, en un diluyente acuoso. Un solo vial de solución o vial dual que requiere reconstitución pueden reusarse múltiples veces y pueden ser suficientes para uno solo o múltiples ciclos de tratamiento del paciente y así pueden proporcionar un régimen de tratamiento más conveniente del actualmente disponible.

**[0128]** Los presentes artículos de fabricación son útiles para la administración por un período de inmediatamente a veinticuatro horas o más. Por consiguiente, los artículos de fabricación ofrecen ventajas significativas para el paciente. Las formulaciones pueden almacenarse opcionalmente a temperaturas entre 2 y 40°C y retener la actividad biológica de la proteína por períodos extendidos de tiempo, permitiendo así una etiqueta de paquete indicando que la solución puede mantenerse y/o usarse por un período de 6, 12, 18, 24, 36, 48, 72 o 96 horas o más. Si se usa un diluyente preservado, tal etiqueta puede incluir uso hasta 1-12 meses, mitad, uno y medio y/o dos años.

**[0129]** Los productos pueden ser proporcionados indirectamente a los pacientes proporcionando a las farmacias, clínicas u otras instituciones tales, soluciones claras o viales duales que comprenden un vial de liofilizado al menos un anticuerpo anti-IL-17 que es reconstituido con un segundo vial que contiene el diluyente acuoso. La solución clara en este caso puede ser hasta un litro o incluso de mayor tamaño, proporcionando un grande reservorio a partir del cual pueden recuperarse porciones más pequeñas de al menos una solución de anticuerpo una o múltiples veces para ser transferidas en viales más pequeños y ser proporcionados por la farmacia o clínica a sus clientes y/o pacientes. [0130] Equipos reconocidos que comprenden estos sistemas viales únicos incluyen esos equipos de inyector de pluma para administración de una solución tales como BD Pens, BD Autojector<sup>®</sup>, Humaject<sup>®</sup>, NovoPen<sup>®</sup>, B-D<sup>®</sup>Pen, AutoPen<sup>®</sup>, y OptiPen<sup>®</sup>, GenotropinPen<sup>®</sup>, Genotronorm Pen<sup>®</sup>, Humatro Pen<sup>®</sup>, Reco-Pen<sup>®</sup>, Roferon Pen<sup>®</sup>, Biojector<sup>®</sup>, Iject<sup>®</sup>, J-tip Needle-Free Injector<sup>®</sup>, Intraject<sup>®</sup>, Medi-Ject<sup>®</sup>, p.ej., como los hechos o desarrollados por Becton Dickenson (Franklin Lakes, NJ, www.bectondickenson.com), Disetronic (Burgdorf, Switzerland, www.disetronic.com; Bioject, Portland, Oregon (www.bioject.com); National Medical Products, Weston Medical (Peterborough, UK, www.weston-medical.com), Medi-Ject Corp (Minneapolis, MN, www.mediject.com). Equipos reconocidos que comprenden un sistema vial dual incluyendo esos sistemas inyector de pluma para reconstituir un medicamento liofilizado en un cartucho para administración de la solución reconstituida como el **HumatroPen<sup>®</sup>**.

**[0131]** Los productos aquí mostrados incluyen el material de empaçado. El material de empaçado proporciona, además de la información requerida por las agencias regulatorias, las condiciones bajo las cuales el producto puede ser usado. El material de empaçado proporciona instrucciones para que el paciente reconstituya al menos un anticuerpo anti-IL-17 en el diluyente acuoso para formar una solución y usar la solución por un período de 2-24 horas o más para el producto húmedo/seco de dos viales. Para el producto de solución del vial único, la etiqueta indica que tal solución puede usarse por un período de 2-24 horas o más Dichos productos son útiles para el uso del producto farmacéutico en humanos.

**[0132]** Otras formulaciones o métodos de estabilizar el anticuerpo anti-IL-17 pueden resultar en una solución distinta a la clara de polvo liofilizado que comprende dicho anticuerpo. Entre las soluciones no claras están las formulaciones que comprenden las suspensiones particuladas, siendo dichos particulados una composición que contiene el anticuerpo anti-IL-17 en una estructura de dimensión variable y conocida variablemente como microsfera, micropartícula, nanopartícula, nanosfera o liposoma. Tales formulaciones particuladas homogéneas esencialmente esféricas que contienen un agente activo pueden formarse contactando una fase acuosa que contiene el activo y un polímero y una fase no acuosa seguida por evaporación de la fase no acuosa para causar la coalescencia de las partículas a partir de la fase acuosa como se enseña en U.S. 4,589,330. Pueden prepararse micropartículas porosas usando una primera fase que contiene el activo y un polímero disperso en un solvente continuo y removiendo dicho solvente a partir de la suspensión por congelamiento y secado o dilución-extracción-precipitación como se enseña en U.S. 4,818,542. Los polímeros preferidos para tales preparaciones son los copolímeros naturales o sintéticos o los polímeros seleccionados a partir del grupo consistente en gelatina agar, almidón, arabinogalactán, albúmina, colágeno, ácido poliglicólico, ácido poliláctico, glicólido-L(-) láctico poli(epsilon-caprolactona, poli(epsilon-caprolactona-CO-ácido láctico), poli(epsilon-caprolactona-CO-ácido glicólico), poli(-hidroxi ácido butírico), óxido de polietileno, polietileno, poli(alalquil-2-cianoacrilato), poli(hidroxietil metacrilato), poli(amidas), poli(aminoácidos), poly(2-hidroxietil DL-aspartamida), poli(éster urea), poli(L-fenilalanina/etilenglicol/1,6-diisocianato hexano) y poli(metil metacrilato). Polímeros particularmente preferidos son poliésteres tales como ácido poliglicólico, ácido poliláctico, glicólido-L(-) láctico poli(epsilon-caprolactona, poli(epsilon-caprolactona-CO-ácido láctico) y poli(epsilon-caprolactona-CO-ácido glicólico). Solventes útiles para disolver el polímero y/o el activo incluyen: agua, hexafluoroisopropanol, metilencloruro, tetrahidrofurano, hexano, benceno o sesquihidrato de hexafluoroacetona. El proceso de dispersar la fase que contiene el activo con una segunda fase puede incluir forzar a presión dicha primera fase a través de un orificio en una boquilla para afectar la formación de gotas.

**[0133]** Las formulaciones en polvo seco pueden resultar de procesos distintos a la liofilización tales como el secado por aspersión o extracción de solvente por evaporación o por precipitación de una composición cristalina seguida por uno o más pasos para remover el solvente acuoso o no acuoso. La preparación de un anticuerpo secado por

aspersión se enseña en U.S. 6,019,968. Las composiciones de anticuerpo basadas en polvo seco pueden producirse secando por aspersión soluciones o cienes del anticuerpo y, opcionalmente, excipientes, en un solvente bajo condiciones para proporcionar un polvo seco respirable. Los solventes pueden incluir compuestos polares tales como agua y etanol, los cuales pueden secarse fácilmente. La estabilidad del anticuerpo puede aumentarse realizando los procedimientos de secado por aspersión en ausencia de oxígeno, tal como bajo una manta de nitrógeno o usando nitrógeno como el gas secante. Otra formulación relativamente seca es una dispersión de una pluralidad de microestructuras perforadas dispersas en un medio de suspensión que comprende un propelente hidrofluoroalcano como se enseña en WO 9916419. Las dispersiones estabilizadas pueden administrarse al pulmón de un paciente usando un inhalador de dosis medida. El equipo útil en la fabricación comercial de los medicamentos secos por aspersión es fabricado por Buchi Ltd. o Niro Corp.

**[0134]** Al menos un anticuerpo anti-IL-17 en las formulaciones estables o preservadas o soluciones descritas aquí, puede administrarse a un paciente de acuerdo con la presente invención a través de una variedad de métodos de administración incluyendo inyección SC o IM; trasdérmico, pulmonar, trasmucoso, implante, bomba osmótica, cartucho, microbomba u otro medio apreciado por el experto en la materia, como se sabe en la técnica.

#### 10. Aplicaciones terapéuticas.

**[0135]** Se muestra un método para modular o tratar al menos una enfermedad relacionada con la IL-17, en una célula, tejido, órgano, animal o paciente, como se conoce en la técnica o se describe aquí, usando al menos un anticuerpo IL-17 de la presente invención. La presente declaración también proporciona un método para modular o tratar al menos una enfermedad relacionada con la IL-17 en una célula, tejido, órgano, animal o paciente incluyendo, pero no limitado al menos a una enfermedad maligna, enfermedad metabólica, una enfermedad inmune o inflamatoria relacionada, enfermedad cardiovascular, enfermedad infecciosa o enfermedad neurológica.

**[0136]** Tales condiciones se seleccionan a partir de, pero no limitadas a, las enfermedades o condiciones mediadas por adherencia celular y/o angiogénesis. Tales enfermedades o condiciones incluyen una enfermedad o trastorno inmune, un trastorno o enfermedad cardiovascular, un trastorno o enfermedad infecciosa, maligna y/o neurológica, u otras condiciones conocidas o especificadas relacionadas con la IL-17. En particular, los anticuerpos son útiles para el tratamiento de enfermedades que implican angiogénesis tales como enfermedad del ojo y enfermedad neoplásica, remodelación tisular como la restenosis y proliferación de ciertos tipos celulares particularmente los carcinomas de células epiteliales y escamosas. Indicaciones particulares incluyen el uso en el tratamiento de aterosclerosis, restenosis, metástasis de cáncer, artritis reumatoidea, retinopatía diabética y degeneración macular. Los anticuerpos neutralizantes de la invención también son útiles para prevenir o tratar la resorción o degradación ósea indeseada, por ejemplo la que se encuentra en la osteoporosis o resultante por la sobreexpresión de PTHrP por algunos tumores. Los anticuerpos también pueden ser útiles en el tratamiento de varias enfermedades fibróticas tales como la fibrosis pulmonar idiopática, nefropatía diabética, hepatitis y cirrosis.

**[0137]** Así, aquí se muestra un método para modular o tratar al menos una enfermedad relacionada con la IL-17, en una célula, tejido, órgano, animal o paciente, como se conoce en la técnica o se describe aquí, usando al menos un anticuerpo IL-17 de la presente invención. Las indicaciones particulares se discuten a continuación:

#### Enfermedad pulmonar

**[0138]** La presente declaración también proporciona un método para modular o tratar al menos una enfermedad maligna en una célula, tejido, órgano, animal o paciente, incluyendo, pero no limitado al menos a uno de: neumonía; absceso pulmonar; enfermedades pulmonares ocupacionales causadas por agentes en forma de polvos, gases o aerosoles; asma, bronquiolitis fibrosa obliterante, insuficiencia respiratoria, enfermedades de los pulmones por hipersensibilidad incluyendo neumonitis por hipersensibilidad (alveolitis alérgica extrínseca), aspergilosis broncopulmonar alérgica y reacciones medicamentosas; síndrome de distrés respiratorio del adulto (ARDS), síndrome de Goodpasture, trastornos crónicos de las vías aéreas (EPOC), enfermedades pulmonares intersticiales idiopáticas tales como fibrosis pulmonar idiopática y sarcoidosis, neumonía intersticial desquamativa, neumonía intersticial aguda, enfermedad pulmonar intersticial asociada a bronquiolitis respiratoria, bronquiolitis obliterante idiopática con neumonía organizativa, neumonía intersticial linfocítica, granulomatosis de célula de Langerhans, hem siderosis pulmonar idiopática; bronquitis aguda, proteinosis alveolar pulmonar, bronquiectasia, trastornos pleurales, atelectasia, fibrosis quística y tumores del pulmón y embolismo pulmonar.

#### Enfermedad maligna

**[0139]** La presente declaración también proporciona un método para modular o tratar al menos una enfermedad maligna en una célula, tejido, órgano, animal o paciente, incluyendo, pero no limitado al menos a uno de: leucemia, leucemia aguda, leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia mielocítica aguda de linfocitos B, linfocitos T o FAB ALL (AML), leucemia mielocítica crónica (CML), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia de células velludas, síndrome mielodisplásico (MDS), un linfoma, enfermedad de Hodgkin, un linfoma maligno, linfoma no Hodgkin, linfoma de Burkitt, mieloma múltiple, sarcoma de Kaposi, carcinoma colorrectal, carcinoma pancreático, carcinoma de célula renal, cáncer de mama, carcinoma nasofaríngeo

**[0140]** histiocitosis, síndrome paraneoplásico/hipercalcemia de la neoplasia, tumores sólidos, adenocarcinomas, carcinomas de célula escamosa, sarcomas, melanoma maligno, particularmente melanoma metastásico, hemangioma, enfermedad metastásica, resorción ósea relacionada con cáncer, dolor óseo relacionado con cáncer y semejantes.

#### Enfermedad inmune relacionada

**[0141]** La presente declaración también proporciona un método para modular o tratar al menos una enfermedad inmune relacionada, en una célula, tejido, órgano, animal o paciente, incluyendo, pero no limitado al menos a uno de artritis reumatoidea, artritis reumatoidea juvenil, artritis reumatoidea juvenil de instalación sistémica, artritis psoriática, espondilitis anquilosante, úlcera gástrica, artropatías seronegativas, osteoartritis, enfermedad intestinal inflamatoria, colitis ulcerativa, lupus eritematoso sistémico, síndrome antifosfolípido, iridociclitis/uveítis/neuritis óptica, fibrosis pulmonar idiopática, vasculitis sistémica/granulomatosis de Wegener, sarcoidosis, orquitis/procedimientos de inversión de vasectomía, enfermedades alérgicas/atópicas, asma, rinitis alérgica, eczema, dermatitis alérgica por contacto, conjuntivitis alérgica, neumonitis por hipersensibilidad, trasplantes, rechazo de órgano trasplantado, enfermedad de injerto versus hospedador, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, síndrome séptico, sepsis por Gram positivo, sepsis por Gram negativo, sepsis con cultivo negativo, sepsis micótica, fiebre neutropénica, urosepsis, meningococemia, traumatismo/hemorragia, quemaduras, exposición a radiación ionizante, pancreatitis aguda, síndrome de distrés respiratorio del adulto, artritis reumatoidea, hepatitis alcohólica, patologías inflamatorias crónicas, sarcoidosis, patología de Crohn, anemia de células falciformes, diabetes, nefrosis, enfermedades atópicas, reacciones por hipersensibilidad, rinitis alérgica, fiebre de heno, rinitis perenne, conjuntivitis, endometriosis, asma, urticaria, anafilaxis sistémica, dermatitis, anemia perniciosa, enfermedades hemolíticas, trombocitopenia, rechazo de trasplante de cualquier órgano o tejido, rechazo de trasplante renal, rechazo de trasplante cardiaco, rechazo de trasplante hepático, rechazo de trasplante pancreático, rechazo de trasplante pulmonar, rechazo de trasplante de médula ósea (BMT), rechazo de aloinjerto de piel, rechazo de trasplante de cartílago, rechazo de trasplante de intestino delgado, rechazo de implante de timo fetal, rechazo de trasplante paratiroideo, rechazo de xenoinjerto de cualquier órgano o tejido, rechazo de aloinjerto, reacciones de hipersensibilidad antirreceptor, enfermedad de Graves, enfermedad de Raynaud, diabetes insulino-resistente tipo B, asma, miastenia grave, citotoxicidad mediada por anticuerpo, reacciones de hipersensibilidad tipo III, lupus eritematoso sistémico, síndrome POEMS (síndrome de polineuropatía, organomegalia, endocrinopatía, gammopatía monoclonal y cambios cutáneos), polineuropatía, organomegalia, endocrinopatía, gammopatía monoclonal, síndrome de cambios cutáneos, síndrome antifosfolípido, pénfigo, escleroderma, enfermedad mixta del tejido conectivo, enfermedad de Addison idiopática, diabetes mellitus, hepatitis crónica activa, cirrosis biliar primaria, vitiligo, vasculitis, síndrome de cardiomiopatía post-IM, hipersensibilidad tipo IV, dermatitis por contacto, neumonitis por hipersensibilidad, rechazo de aloinjerto, granulomas debidos a organismos intracelulares, sensibilidad a medicamentos, metabólica/idiopática, enfermedad de Wilson, hemocromatosis, deficiencia de alfa-1 antitripsina, retinopatía diabética, tiroiditis de Hashimoto, osteoporosis, evaluación del eje hipotálamo-pituitaria-suprarrenal, cirrosis biliar primaria, tiroiditis, encefalomielitis, caquexia, fibrosis quística, enfermedad pulmonar crónica neonatal, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), linfocitosis hematofagocítica familiar, condiciones dermatológicas, psoriasis, alopecia, síndrome nefrótico, nefritis, nefritis glomerular, insuficiencia renal aguda, hemodiálisis, uremia, toxicidad, preclampsia, terapia OKT3, terapia anti-CD3, terapia con citoquina, quimioterapia, radioterapia (p.ej., pero no limitada a astenia, anemia, caquexia y semejantes), intoxicación crónica por salicilatos y semejantes. Ver, p.ej., the Merck Manual, 12th-17th Editions, Merck & Company, Rahway, NJ (1972, 1977, 1982, 1987, 1992, 1999), Pharmacotherapy Handbook, Wells et al., eds., Second Edition, Appleton and Lange, Stamford, Conn. (1998, 2000).

#### Enfermedad cardiovascular

**[0142]** La presente declaración también proporciona un método para modular o tratar al menos una enfermedad cardiovascular en una célula, tejido, órgano, animal o paciente, incluyendo, pero no limitado, al menos a uno de síndrome de aturdimiento cardiaco, infarto miocárdico, insuficiencia cardiaca congestiva, ictus, ictus isquémico, hemorragia, arteriosclerosis, aterosclerosis, restenosis, enfermedad aterosclerótica diabética, hipertensión, hipertensión arterial, hipertensión renovascular, síncope, choque, sífilis del sistema cardiovascular, insuficiencia cardiaca, cor pulmonale, hipertensión pulmonar primaria, arritmias cardíacas, latidos ectópicos auriculares, flúter auricular, fibrilación auricular (sostenida o paroxística), síndrome post-perfusión, respuesta de inflamación por derivación cardiopulmonar, taquicardia auricular caótica o multifocal, taquicardia regular con QRS estrecho, arritmias específicas, fibrilación ventricular, arritmias del haz de His, bloqueo auriculoventricular, bloqueo del haz de His, trastornos isquémicos miocárdicos, coronariopatía, angina de pecho, infarto miocárdico, cardiomiopatía, cardiomiopatía congestiva dilatada, cardiomiopatía restrictiva, cardiopatías valvulares, endocarditis, enfermedad pericárdica, tumores cardiacos, aneurismas aórticos y periféricos, disección aórtica, inflamación de la aorta, oclusión de la aorta abdominal y sus ramas, trastornos vasculares periféricos, trastornos arteriales oclusivos, enfermedad aterosclerótica periférica, tromboangiitis obliterante, trastornos arteriales periféricos funcionales, fenómeno y enfermedad de Raynaud, acrocianosis, eritromelalgia, enfermedades venosas, trombosis venosa, venas varicosas, fístula arteriovenosa, linfedema, lipedema, angina inestable, lesión por reperfusión, síndrome post-bomba, lesión por isquemia-reperfusión y semejantes. Tal método puede comprender opcionalmente administrar una cantidad

efectiva de una composición o composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo anti-IL-17 a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en necesidad de tal modulación, tratamiento o terapia.

Enfermedad neurológica

5  
**[0143]** La presente declaración también proporciona un método para modular o tratar al menos una enfermedad neurológica en una célula, tejido, órgano, animal o paciente incluyendo, pero no limitado al menos a una enfermedad neurodegenerativa, esclerosis múltiple, cefalea migrañosa, complejo de demencia SIDA, enfermedades desmielinizantes, tales como esclerosis múltiple y mielitis trasversa aguda; trastornos extrapiramidales y cerebelosos  
10 tales como lesiones del sistema corticospinal; trastornos de los ganglios basales o trastornos cerebelosos; movimientos hiperquinéticos tales como la corea de Huntington y la corea senil; trastornos del movimiento inducidos por medicamentos, como los inducidos por medicamentos que bloquean los receptores de dopamina del CNS; trastornos hipoquinéticos del movimiento, como la enfermedad de Parkinson; parálisis supranuclear progresiva; lesiones estructurales del cerebelo; degeneraciones espinocerebelosas, tales como la ataxia espinal, ataxia de Friedreich, degeneraciones corticales cerebelosas, degeneraciones de múltiples sistemas (Mencel, Dejerine-Thomas, Shi-Drager y machado-Joseph); trastornos sistémicos, (enfermedad de Refsum, abetalipoproteinemia, ataxia, telangiectasia y trastorno mitocondrial de múltiples sistemas); trastornos nucleares desmielinizantes, como la esclerosis múltiple, mielitis trasversa aguda; y trastornos de la unidad motora tales como atrofia muscular neurogénica (degeneración celular del cuerno anterior, tal como la esclerosis lateral amiotrófica, atrofia muscular  
20 espinal infantil y atrofia muscular espinal juvenil); enfermedad de Alzheimer; síndrome de Down en la edad adulta; enfermedad de Lewis de cuerpos difusos; demencia senil difusa del tipo de cuerpos de Lewis; síndrome de Wernicke-Korsakoff; alcoholismo crónico; enfermedad de Creutzfeld-Jakob; panencefalitis esclerosante subaguda; enfermedad de Halerrorden-Spatz; y demencia pugilística, y semejantes. Tal método puede comprender opcionalmente administrar una cantidad efectiva de una composición o composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo TNF o porción o variante específica a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en  
25 necesidad de tal modulación, tratamiento o terapia. Ver, p.ej., the Merck Manual, 16th Edition, Merck & Company, Rahway, NJ (1992).

Condiciones fibróticas

30  
**[0144]** Además de las condiciones y enfermedades antes descritas, la presente declaración también proporciona un método para modular o tratar condiciones fibróticas de varias etiologías tales como fibrosis hepática (incluyendo pero no limitada a la cirrosis inducida por alcohol, cirrosis inducida por virus, hepatitis autoinmune); fibrosis pulmonar (incluyendo pero no limitada a escleroderma, fibrosis pulmonar idiopática); fibrosis renal (incluyendo pero no limitada a escleroderma, nefritis diabética, nefritis glomerular, nefritis lúpica); fibrosis cutánea (incluyendo pero no limitada a escleroderma, cicatrización hipertrófica y queloide, quemaduras); mielofibrosis; neurofibromatosis; fibroma; fibrosis intestinal; y adherencias fibróticas resultantes de procedimientos quirúrgicos.

40  
**[0145]** En tal método, la fibrosis puede ser específica del órgano o fibrosis sistémica. La fibrosis específica del órgano puede estar asociada con al menos una de fibrosis pulmonar, fibrosis hepática, fibrosis renal, fibrosis cardiaca, fibrosis vascular, fibrosis cutánea, fibrosis ocular, fibrosis de la médula ósea u otras fibrosis. La fibrosis pulmonar puede asociarse al menos con una de fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis pulmonar por medicamentos, asma, sarcoidosis o enfermedad pulmonar obstructiva crónica. La fibrosis hepática puede asociarse al menos con una de cirrosis, esquistosomiasis o colangitis. La cirrosis puede seleccionarse a partir de la cirrosis alcohólica, cirrosis posthepatitis C, cirrosis biliar primaria. La colangitis es colangitis esclerosante. La fibrosis del riñón puede asociarse al menos con una de nefropatía diabética, nefropatía por IgA, nefropatía por trasplante o nefritis lúpica. La fibrosis cardiaca puede asociarse al menos con un tipo de infarto miocárdico. La fibrosis vascular puede asociarse al menos con una de restenosis arterial postangioplastia, o aterosclerosis. La fibrosis de piel puede asociarse al menos con una de cicatrización por quemadura, cicatrización hipertrófica, queloide o dermatopatía fibrosante nefrogénica. La fibrosis ocular puede asociarse al menos con una de fibrosis retroorbitaria, cirugía poscatarata o vitreorretinopatía proliferativa. La fibrosis de la médula ósea puede asociarse al menos con una de mielofibrosis idiopática o mielofibrosis por medicamentos. Las otras fibrosis pueden seleccionarse a partir de la enfermedad de Peyronie, contractura de Dupuytren o dermatomiositis. La fibrosis sistémica puede seleccionarse a partir de la esclerosis sistémica y enfermedad de injerto versus hospedador.

55  
**[0146]** La presente declaración también proporciona un método para modular o tratar al menos una herida, traumatismo o lesión tisular o condición crónica resultante o relacionada en una célula, tejido, órgano, animal o paciente, incluyendo pero no limitado al menos a uno de: lesión corporal o un traumatismo asociado con cirugía incluyendo cirugía torácica, abdominal, craneana u oral; o donde la herida puede seleccionarse a partir del grupo  
60 consistente en herida asépticas, heridas contusas, heridas incisas, heridas laceradas, heridas no penetrantes, heridas abiertas, heridas penetrantes, heridas perforantes, heridas por punción, heridas sépticas, infartos y heridas subcutáneas; o donde la herida puede seleccionarse a partir del grupo consistente en úlceras isquémicas, úlceras por presión, fístulas, mordeduras severas, quemaduras térmicas y heridas en el sitio donante; o donde la herida es una herida aftosa, una herida traumática o una herida asociada con herpes. Las heridas del sitio donante son  
65 heridas las cuales p.ej., ocurren en conexión con la remoción de tejido duro de una parte del cuerpo a otra parte del cuerpo p.ej., en conexión con un trasplante. Las heridas resultantes de tales operaciones son muy dolorosas y una

curación mejorada es por tanto más valiosa. La fibrosis de la herida es también adecuada para la terapia con anticuerpo anti-IL-17 ya que las primeras células a invadir el área de la herida son neutrófilos seguidos por monocitos, los cuales son activados por los macrófagos. Se cree que los macrófagos son esenciales para una curación eficiente de la herida en cuanto también son responsables de la fagocitosis de los organismos patógenos y una eliminación de los desechos tisulares. Asimismo, liberan numerosos factores involucrados en eventos posteriores del proceso de curación. Los macrófagos atraen fibroblastos, los cuales inician la producción de colágeno. Casi todos los procesos de reparación tisular incluyen la formación temprana de tejido conectivo, una estimulación de éste y los procesos posteriores mejoran la curación tisular, sin embargo, la sobreproducción de tejido conectivo y colágeno puede conducir a un tejido fibrótico caracterizado por ser inelástico e hipóxico. Los anticuerpos anti-IL-17 de la invención pueden usarse en métodos para modular, tratar o prevenir tales secuelas de la curación de heridas.

**[0147]** Los anticuerpos presentes de la presente invención también pueden usarse en métodos para modular o tratar al menos un síntoma del rechazo crónico de un órgano trasplantado, tejido o célula, tal como el trasplante cardiaco.

#### **Otros usos terapéuticos de los anticuerpos anti-IL-17**

**[0148]** La presente declaración también proporciona un método para modular o tratar al menos una enfermedad infecciosa en una célula, tejido, órgano, animal o paciente, incluyendo pero no limitado al menos a uno de: infección bacteriana aguda o crónica, procesos parasitarios o infecciones agudas y crónicas, incluyendo infecciones bacterianas, virales y micóticas, infección por VIH/neuropatía por VIH, meningitis, hepatitis (A, B o C, o semejantes), artritis séptica, peritonitis, neumonía, epiglotitis, E.coli 0157:H7, síndrome hemolítico urémico/púrpura trombocitopénica trombótica, malaria, fiebre hemorrágica por dengue, leishmaniasis, lepra, síndrome de shock tóxico, miositis estreptocócica, gangrena gaseosa, Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium avium intracellulare, neumonía por Pneumocystis carinii, enfermedad inflamatoria pélvica, orquitis/epididimitis, Legionella, enfermedad de Lyme, influenza A, virus de Epstein-Barr, síndrome hemofagocítico asociado con virus, encefalitis viral/meningitis aséptica, y semejante.

**[0149]** Tal método de la presente declaración puede comprender administrar una cantidad efectiva de una composición o composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo anti-IL-17 a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en necesidad de tal modulación, tratamiento o terapia. Tal método puede comprender opcionalmente al menos uno seleccionado de al menos un antagonista del TNF (p.ej., pero no limitado a un anticuerpo o fragmento de TNF, un receptor soluble o fragmento de TNF, proteínas de fusión de éstos o una pequeña molécula antagonista de TNF), un antirreumático (p.ej., metotrexato, auranofina, aurotioglucosa, azatioprina, etanercept, tiomalato sódico de oro, sulfato de hidroxycloquinina, leflunomida, sulfasalazina), un relajante muscular, un narcótico, un antiinflamatorio no esteroideo (AINE), un analgésico, un anestésico, un sedante, un anestésico local, un bloqueante neuromuscular, un antimicrobiano (p.ej., aminoglicósido, un antimicótico, un antiparasitario, un antiviral, un carbapenémico, cefalosporina, una fluoroquinolona, un macrólido, una penicilina, una sulfonamida, una tetraciclina, otro antimicrobiano), un antipsoriático, un corticosteroide (dexametasona), un esteroide anabólico (testosterona), un agente relacionado con la diabetes, un mineral, un nutricional, un agente tiroideo, una vitamina, una hormona relacionada con el calcio, un antitúxico, un antiemético, un antiulceroso, un laxante, un anticoagulante, una eritropoyetina (p.ej., epoetina alfa), un filgastrim (p.ej., G-CSF, Neupogen), una sargramostim (GM-CSF, Leukine), una inmunización, una inmunoglobulina (rituximab), un inmunosupresor (p.ej., basilixumab, ciclosporina, daclizumab), una hormona de crecimiento, un antagonista hormonal, un antagonista de hormona reproductiva (flutamida, nilutamida), un modulador de liberación de hormona (leuprolide, goserelina), un reemplazo hormonal, un modulador del receptor estrogénico (tamoxifeno), un retinoide (tretinoína), un inhibidor de la topoisomerasa (etopósido, irinotecán), una citoxina (doxorubicina), un midriático, un cicloplégico, un agente alquilante (carboplatino), una mostaza nitrogenada (melfalén, clorambucil), una nitrosourea (carmustina, estramustina), un antimetabolito (metotrexate, citarabina, fluorouracilo), un inhibidor mitótico (vincristina, taxol), un radiofarmacéutico (yoduro131.tositumomab), un radiosensibilizador (misonidazol, tirapazamina), un antidepresivo, agente antimaníaco, un antipsicótico, un ansiolítico, un hipnótico, un simpaticomimético, un estimulante, donepecilo, tacrina, un medicamento para el asma, un agonista beta, un esteroide inhalado, un inhibidor de leucotrieno, una metilxantina, una cromolina, una epinefrina o análogo, dornasa alfa (Pulmozyme), una citoquina (interferón alfa-2, IL2) o un antagonista de citoquina (infiximab). Las dosis idóneas son conocidas en la técnica. Ver, p.ej., Wells et al., eds., Pharmacotherapy Handbook, 2nd Edition, Appleton and Lange, Stamford, CT (2000); PDR Pharmacopoeia, Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2000, Deluxe Edition, Tarascon Publishing, Loma Linda, CA (2000).

**[0150]** Las combinaciones particulares para el tratamiento de enfermedades neoplásicas comprenden la coadministración o terapia combinada administrando, antes, concomitantemente y/o después, un agente antineoplásico tal como un agente alquilante, una mostaza nitrogenada, una nitrosourea, un antibiótico, un antimetabolito, un agonista o antagonista hormonal, un inmunomodulador, y semejantes. Para su uso en melanoma metastásico y otras enfermedades neoplásicas, una combinación preferida es coadministrar el anticuerpo con dacarbacina, interferón alfa, interleucina-2, temozolomida, cisplatino, vinblastina, mesilato de imatinib, carmustina, paclitaxel y similares. Para el melanoma metastásico, se prefiere dacarbacina.

#### **11. Dosis y métodos de administración**

**[0151]** Un método de la presente invención puede comprender un método para tratar un trastorno mediado por la IL-17, comprendiendo administrar una cantidad efectiva de una composición o composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo anti-IL-17 a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en necesidad de tal modulación, tratamiento o terapia. Tal método puede opcionalmente comprender la coadministración o terapia combinada para tratar tales enfermedades o trastornos, donde la administración de al menos un anticuerpo anti-IL-17, porción específica o variante de éstos, comprende administrar antes, concomitantemente y/o después, al menos uno seleccionado de un medicamento renal, un medicamento dermatológico, un medicamento antiangiogénico, un medicamento antiféccioso, un medicamento del sistema cardiovascular (CV), un medicamento del sistema nervioso central (CNS), un medicamento del sistema nervioso autónomo (ANS), un medicamento del tracto respiratorio, un medicamento del tracto gastrointestinal (GI), un medicamento hormonal, un medicamento para el balance de fluidos o electrolitos, un medicamento hematológico, un antineoplásico, un medicamento inmunomodulador, un medicamento oftálmico, ótico o nasal, un medicamento tópico, un medicamento nutricional o similares, al menos un antagonista del TNF (p.ej., pero no limitado a un anticuerpo o fragmento de TNF, un receptor soluble o fragmento de TNF, proteínas de fusión de éstos, o una pequeña molécula antagonista de TNF), un antirreumático (p.ej., metotrexate, auranofina, aurotioglucosa, azatioprina, etanercept, tiomalato sódico de oro, sulfato de hidroxiloroquina, leflunomida, sulfasalazina), un relajante muscular, un narcótico, un antiinflamatorio no esteroideo (AINE), un analgésico, un anestésico, un sedante, un anestésico local, un bloqueante neuromuscular, un antimicrobiano (p.ej., aminoglicósido, un antimicótico, un antiparasitario, un antiviral, un carbapenémico, cefalosporina, una fluoroquinolona, un macrólido, una penicilina, una sulfonamida, una tetraciclina, otro antimicrobiano), un antipsoriático, un corticosteroide, un esteroide anabólico, un agente relacionado con la diabetes, un mineral, un nutricional, un agente tiroideo, una vitamina, una hormona relacionada con el calcio, un antidiarreico, un antitusivo, un antiemético, un antiulceroso, un laxante, un anticoagulante, una eritropoyetina (p.ej., epoetin alfa), un filgrastim (p.ej., G-CSF, Neupogen), un sargramostim (GM-CSF, Leukine), una inmunización, una inmunoglobulina, un inmunosupresor (p.ej., basiliximab, ciclosporina, daclizumab), una hormona de crecimiento, un medicamento de reemplazo hormonal, un modulador del receptor estrogénico, un midriático, un ciclopéptico, un agente alquilante, un antimetabolito, un inhibidor mitótico, un radiofarmacéutico, un antidepresivo, agente antimaníaco, un antipsicótico, un ansiolítico, un hipnótico, un simpaticomimético, un estimulante, donepecilo, tacrina, un medicamento para el asma, un agonista beta, un esteroide inhalado, un inhibidor de leucotrieno, una metilxantina, una cromolina, una epinefrina o análogo, dornasa alfa (Pulmozime), una citoquina o un antagonista de citoquina. Tales medicamentos son conocidos en la técnica, incluyendo formulaciones, indicaciones, dosificación y administración para cada uno de los presentados aquí (ver., p.ej., Nursing 2001 Handbook of Drugs, 21st edition, Springhouse Corp., Springhouse, PA, 2001; Health Professional's Drug Guide 2001, ed., Shannon, Wilson, Stang, Prentice-Hall, Inc, Upper Saddle River, NJ; Pharmacotherapy Handbook, Wells et al., ed., Appleton & Lange, Stamford, CT).

**[0152]** El tratamiento de las condiciones patológicas se efectúa administrando una cantidad efectiva o dosis de al menos una composición de anticuerpo anti-IL-17 que totaliza, en promedio, un rango entre 0.01 a 500 miligramos de al menos un anticuerpo anti-IL-17 por kilogramo de paciente por dosis, y preferiblemente entre 0,1 y 100 miligramos de anticuerpo/kilogramo de paciente por administración única o múltiple, dependiendo de la actividad específica contenida en la composición. Alternativamente, la concentración sérica efectiva puede comprender 0.1-5000 mg/ml de concentración sérica por administración única o múltiple. Las dosis idóneas son conocidas por los médicos y dependerán, claro está, del estado particular de la enfermedad, actividad específica de la composición a ser administrada, y el paciente particular sometido a tratamiento. En algunos casos, para lograr la cantidad terapéutica deseada, puede ser necesario proporcionar una administración repetida, es decir, administraciones individuales repetidas de una dosis particular monitorizada o medida, donde las administraciones individuales se repiten hasta alcanzar la dosis diaria o efecto deseado.

**[0153]** Las dosis preferidas opcionalmente puede incluir 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 y/o 100-500 mg/kg/administración, o cualquier rango, valor o fracción de éstos, o alcanzar una concentración sérica de 0.1, 0.5, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.5, 1.9, 2.0, 2.5, 2.9, 3.0, 3.5, 3.9, 4.0, 4.5, 4.9, 5.0, 5.5, 5.9, 6.0, 6.5, 6.9, 7.0, 7.5, 7.9, 8.0, 8.5, 8.9, 9.0, 9.5, 9.9, 10, 10.5, 10.9, 11, 11.5, 11.9, 12, 12.5, 12.9, 13.0, 13.5, 13.9, 14.0, 14.5, 4.9, 5.0, 5.5, 5.9, 6.0, 6.5, 6.9, 7.0, 7.5, 7.9, 8.0, 8.5, 8.9, 9.0, 9.5, 9.9, 10, 10.5, 10.9, 11, 11.5, 11.9, 12, 12.5, 12.9, 13.0, 13.5, 13.9, 14, 14.5, 15, 15.5, 15.9, 16, 16.5, 16.9, 17, 17.5, 17.9, 18, 18.5, 18.9, 19, 19.5, 19.9, 20, 20.5, 20.9, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 96, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500 y/o 5000 mg/ml de concentración sérica por administración única o múltiple, o cualquier rango, valor o fracción de éstos.

**[0154]** Alternativamente, la dosis administrada puede variar dependiendo de factores conocidos, tales como las características farmacodinámicas del agente particular, y su modo de acción y ruta de administración; edad, salud y peso del receptor; naturaleza y extensión de los síntomas, clase de tratamiento concomitante, frecuencia del tratamiento y el efecto deseado. Usualmente una dosis de ingrediente activo puede ser de 0.1 a 100 miligramos por kilogramo de peso corporal. Ordinariamente 0.1 a 50, y preferiblemente 0.1 a 10 miligramos por kilogramo por administración o en forma de liberación sostenida es efectivo para obtener los resultados deseados.

[0155] Como ejemplo no limitante, el tratamiento de humanos o animales puede proporcionarse como una dosis de una vez o periódica de al menos un anticuerpo de la presente invención 0.1 a 100 mg/kg, tal como 0.5, 0.9, 1.0, 1.1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 mg/kg, por día, al menos una del día 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 o 40, o alternativa o adicionalmente, al menos una de la semana 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51 o 52, o alternativa o adicionalmente, al menos una de la semana 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 años, o cualquier combinación de éstas, usando dosis únicas, infusión o dosis repetidas.

[0156] Las formas de dosis (composición) idóneas para la administración interna generalmente contienen de 0.001 miligramos a 500 miligramos de ingrediente activo por unidad o contenedor. En estas composiciones farmacéuticas el ingrediente activo comúnmente estará presente en una cantidad entre 0.5-99.999% por peso basado en el peso total de la composición.

[0157] Para la administración parenteral, el anticuerpo puede formularse como una solución, suspensión, emulsión, partícula, polvo o polvo liofilizado en asociación, o proporcionado por separado, con un vehículo parenteral farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de tales vehículos son agua, solución fisiológica, solución de Ringer, solución de dextrosa y 1-10% albúmina sérica humana. También pueden usarse liposomas y vehículos no acuosos como aceites fijos. El vehículo o polvo liofilizado puede contener aditivos que mantienen la isotonicidad (p.ej., cloruro de sodio, manitol) y estabilidad química (p.ej., amortiguadores y preservantes). La formulación se esteriliza por técnicas conocidas o idóneas. Los portadores farmacéuticos idóneos se describen en la edición más reciente de Remington's Pharmaceutical Sciences, A. Osol, un texto estándar de referencia en este campo. **Administración alternativa.** Pueden usarse muchos modos conocidos y desarrollados de acuerdo con la presente invención para administrar cantidades farmacéuticamente efectivas de al menos un anticuerpo anti-IL-17 de acuerdo con la presente invención. Aunque la administración pulmonar se usa en la siguiente descripción, otros modos de administración pueden usarse de acuerdo con la presente invención con resultados idóneos. Los anticuerpos IL-17 de la presente invención pueden administrarse en un portador, como una solución, emulsión, coloide o suspensión, o como polvo seco, usando una variedad de equipos y métodos idóneos para su administración por inhalación u otros métodos descritos aquí o conocidos en la técnica.

[0158] **Formulaciones parenterales y administración.** Las formulaciones para administración parenteral pueden contener como excipientes comunes agua estéril o solución fisiológica, polialquelinglicoles tal como polietilenglicol, aceites de origen vegetal, naftalenos hidrogenados y similares. Las suspensiones acuosas o aceitosas para inyección pueden prepararse usando un emulsificante o humidificante apropiado y un agente de suspensión, de acuerdo con los métodos conocidos. Los agentes para inyección pueden ser un agente no tóxico, diluyente administrable no por vía oral como una solución acuosa o una solución inyectable estéril o suspensión en un solvente. Como el vehículo o solvente usable, se permite agua, solución de Ringer, solución isotónica, etc.; como un solvente ordinario, o solvente de suspensión, puede usarse aceite involátil estéril. Para estos propósitos, puede usarse cualquier tipo de aceite involátil y ácido graso, incluyendo aceites grados o ácidos grasos naturales o sintéticos o semisintéticos; mono- o di- o triglicéridos naturales o sintéticos o semisintéticos. La administración parenteral es conocida en la técnica e incluye, pero no se limita a, medios convencionales de inyecciones, un equipo de inyección a gas presurizado que necesita menos aguja, o equipo perforador de láser, como se conoce en la técnica (p.ej., pero no limitado a, materiales y métodos mostrados en la U.S. Pat. No. 5,851,198, y U.S. Pat. No. 5,839,446).

[0159] **Administración alternativa.** La invención se relaciona también con la administración de al menos un anticuerpo anti-IL-17 por medios parenterales, subcutáneos, intramusculares, intravenosos, intrarticulares, intrabronquiales, intraabdominales, intracapsulares, intra- cartilaginosos, intracavitarios, intraceliales, intracerebelosos, intracerebroventriculares, intracólicos, intracervicales, intragástricos, intrahepáticos, intramiocárdicos, intraosteales, intrapélvicos, intrapericárdicos, intraperitoneales, intrapleurales, intraprostáticos, intrapulmonares, intrarrectales, intrarrenales, intrarretinianos, intraspinales, intrasinoviales, intratorácicos, intrauterinos, intravesicales, intralesionales, bolus, vaginales, rectales, bucales, sublinguales, intranasales o transdérmicos. Al menos un anticuerpo anti-IL-17 puede prepararse para uso parenteral (subcutáneo, intramuscular o intravenoso) y cualquier otra administración particularmente en forma de soluciones o suspensiones líquidas; para su uso en administración vaginal o rectal particularmente en formas semisólidas tales como, pero no limitadas a, cremas y supositorios; para administración bucal o sublingual tal como, pero no limitada a, en forma de tabletas o cápsulas, o intranasal tal como, pero no limitado a, la forma de polvos, gotas o aerosoles nasales o ciertos agentes; o trasdérmica tal como, pero no limitado a, un gel, ungüento, loción, suspensión o sistema de administración por parche con aumentadores químicos tales como dimetilsulfóxido para modificar la estructura de la piel o aumentar la concentración del medicamento en el parche trasdérmico (Junginger, et al. In "Drug Permeation Enhancement"; Hsieh, D. S., Eds., pp. 59-90 (Marcel Dekker, Inc. New York 1994, incorporado aquí en su totalidad para referencia), o con agentes oxidantes que permiten la aplicación de formulaciones que contienen proteínas y péptidos sobre la piel (WO 98/53847), o aplicaciones de campos eléctricos para crear vías transitorias de transporte tal como electroporación, o aumentar la movilidad de medicamentos cargados a través de la piel tal como iontoforesis, o la

aplicación de ultrasonido como la sonoforesis (U.S. Pat. Nos. 4,309,989 y 4,767,402).

**[0160] Administración pulmonar/nasal.** Para la administración pulmonar, preferiblemente al menos una composición de anticuerpo anti-IL-17 se administra en un tamaño de partícula efectivo para alcanzar las vías aéreas inferiores del pulmón o los senos. De acuerdo con la invención, al menos un anticuerpo anti-IL-17 puede administrarse por una variedad de equipos de inhalación o nasales conocidos en la técnica para la administración de un agente terapéutico por inhalación. Estos equipos capaces de depositar formulaciones aerosolizadas en la cavidad sinusal o alvéolos de un paciente incluyen inhaladores de dosis medida, nebulizadores, generadores de polvo seco, aspersores y similares. Otros equipos idóneos para dirigir la administración pulmonar o nasal de anticuerpo también se conocen en la técnica. Tales equipos pueden usar formulaciones idóneas para la administración o dispensación de anticuerpo en aerosol. Tales aerosoles pueden estar comprendidos por soluciones (acuosas y no acuosas) o partículas sólidas. Los inhaladores de dosis medida como el inhalador de dosis medida Ventolin® usan un gas propelente y requieren actuación durante la inspiración (Ver, p.ej., WO 94/16970, WO 98/35888). Los inhaladores de polvo seco como Turbuhaler™ (Astra), Rotahaler®

**[0161]** (Glaxo), Diskus® (Glaxo), Spiros™ inhaler (Dura), equipos comercializados por Inhale Therapeutics, y el inhalador de polvo Spinhaler® (Fisons), usan la respiración-actuación de un polvo mixto (US 4668218 Astra, EP 237507 Astra, WO 97/25086 Glaxo, WO 94/08552 Dura, US 5458135 Inhale, WO 94/06498 Fisons, incorporadas aquí en su totalidad por referencia). Nebulizadores como AERx™ Aradigm, Ultravent® nebulizer (Mallinckrodt) y Acorn II® nebulizer (Marquest Medical Products) (US 5404871 Aradigm, WO 97/22376), las referencias anteriores incorporadas en su totalidad aquí por referencia, producen aerosoles a partir de soluciones, mientras que los inhaladores de dosis medida, inhaladores de polvo seco, etc. generan aerosoles de partículas pequeñas. Estos ejemplos específicos de equipos de inhalación comerciales pretenden ser representativos de equipos específicos idóneos para la práctica de esta invención, y no pretenden limitar el alcance de la invención. Preferiblemente, una composición que comprende al menos un anticuerpo anti-IL-17 se administra por un inhalador de polvo seco o un aspersor. Hay varios rasgos deseables de un equipo de inhalación para administrar al menos un anticuerpo de la presente invención. Por ejemplo, la administración por el equipo de inhalación es ventajosamente confiable, reproducible y precisa. El equipo de inhalación puede opcionalmente administrar pequeñas partículas secas, p.ej., menos de 10 mm, preferiblemente 1-5 mm, para una buena respirabilidad.

#### EJEMPLO 1: La IL-17 estimula la expresión del gen pro-fibrótico

##### Métodos:

**[0162]** Se hicieron crecer células epiteliales tubulares proximales renales humanas (HK-2) (ATCC, Manassas, VA) en medio libre de suero de queratinocitos (Invitrogen/Gibco, Carlsbad, CA) conteniendo factor de crecimiento epidérmico humano recombinante (5 ng/ml) y extracto pituitario bovino (0.05 mg/ml). Las células se colocaron en placas de 24 platillos a 25,000 células por platillo y se les permitió adherirse por 24 h. El medio de crecimiento celular fue luego reemplazado con medio libre de suplemento y las células se incubaron toda la noche. Las células fueron luego incubadas por 24 h en presencia o ausencia de IL-17 humana recombinante (R&D Systems, Minneapolis, MN) a 10 o 100 ng/ml. Posteriormente se aisló el RNA usando el RNeasy Plus Mini-Kit (Qiagen, Valencia, CA) y se transcribió en reversa en cDNA usando TaqMan® Reverse Transcription Reagents (Applied Biosystems, Foster City, CA). La expresión del gen profibrótico se determinó por análisis de PCR en tiempo real usando Taqman® Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems) y Taqman® Gene Expression Assays (Applied Biosystems).

**[0163]** Se calculó la expresión cuantitativa del gen por el método CT comparativo, donde los valores CT se determinan como el número de ciclo umbral para el cual la expresión genética se detecta por primera vez. Para los genes de interés, los cambios en la expresión genética se normalizaron primero al gen organizador 18S, dando los valores  $CT_T$ . Los cambios en la expresión genética debidos al tratamiento con IL-17 se calcularon por  $CT = CT_{(no\ estimulado)} - CT_{(estimulado)}$ , donde la muestra no estimulada sirvió como calibrador. Las diferencias estadísticamente significativas se determinaron por la prueba t de Student. (Ver Figura 1)

#### La IL-17 estimula la secreción de mediadores solubles pro-fibróticos

##### Métodos:

**[0164]** Se desarrollaron células epiteliales tubulares proximales humanas en el mismo medio descrito antes. Las células se colocaron en placas de 24 platillos a 25,000 células por platillo y se les permitió adherirse por 24 h. El medio de crecimiento celular fue luego reemplazado con medio libre de suplemento y las células se incubaron toda la noche. Las células fueron luego estimuladas por 48 h en presencia o ausencia de IL-17 humana recombinante (R&D Systems, Minneapolis, MN) a 1, 10 o 100 ng/ml. Para la neutralización del anticuerpo, las células se sembraron en placas de 6 platillos a 100,000 células por platillo. La IL-17 (10 ng/ml) se preincubó con anticuerpo anti-IL-17 humana monoclonal de ratón (120 ng/ml) (eBioscience, San Diego, CA) por 1 h, RT antes de aplicarse a

las células.

[0165] El perfil de citoquina se determinó usando un kit Lincoplex premezclado citoquina/quimiocina humana (MCYTO-60K-PMX30; Linco Research, Millipore; St. Charles, Missouri) conteniendo perlas inmovilizadas con anticuerpo para los siguientes analitos humanos: IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-1R $\alpha$ , IL-4, IL-5, EGF, IL-6, IL-7, TGF $\alpha$ , Fractalkine, IL-8, IL-10, IL-12(p40), IL-12(p70), TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , GM-CSF, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , MCP-1, RANTES, IL-13, IL-1 $\alpha$ , IL-15, IL-17, IP-10, Eotaxin, sCD40L, VEGF, y G-CSF. El inmunoensayo se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Brevemente, las muestras de suero congelado se descongelaron y los estándares se diluyeron en medio de cultivo celular. Luego de completar el inmunoensayo, las muestras se corrieron en un Bio-Plex™ (Bio-Rad Laboratories, Inc; Hercules, CA). Se usó un algoritmo de regresión logística de cinco parámetros para determinar el nivel de analito en el sobrenadante según una curva estándar de 6 puntos. Las diferencias estadísticamente significativas se determinaron por la prueba t de Student. (Ver Figuras 2 y 3)

#### **La IL-17 regula a la baja la expresión de la proteína ZO-1**

*Métodos:*

[0166] Se desarrollaron células epiteliales tubulares proximales humanas en el mismo medio descrito antes. Las células se colocaron en placas de 6 platillos sobre cubreobjetos estériles (18 x 18 mm) a 125,000 células por platillo y se les permitió adherirse por 24 h. El medio de crecimiento celular fue luego reemplazado con medio libre de suplemento y las células se incubaron toda la noche. Las células fueron luego incubadas por 48 h en presencia o ausencia de 50 ng/ml de IL-17 humana recombinante (R&D Systems, Minneapolis, MN). El experimento de neutralización del anticuerpo se realizó como se describe antes excepto con 0.6 mg/ml de anticuerpo anti-IL-17 humana monoclonal de ratón (eBioscience, San Diego, CA). Las células se fijaron en 4% paraformaldehído (15 min, RT), se permeabilizaron con 0.5% Triton X-100 (8 min, RT) y se bloquearon con Powerblock (Biogenex, San Ramon, CA) por 8 min, RT. La ZO-1 se detectó utilizando anticuerpo primario de ZO-1 monoclonal de ratón anti-humana (18 mg/ml) (Invitrogen, Carlsbad, CA) en combinación con anticuerpo secundario anti-ratón de mula Alexa Fluor 594 (8 mg/ml) (Invitrogen, Carlsbad, CA). Los cubreobjetos se volcaron en una lámina de microscopio que contenía - 8 ml de reactivo SlowFade Gold Antifade (Invitrogen, Carlsbad, CA). Las láminas se visualizaron en un microscopio Zeiss axiophot. (Ver Figura 4)

#### **IV. Ventajas**

[0167] Como se discute en la Sección I, estudios previos han demostrado la capacidad de IL-17 de estimular la secreción de los mediadores inflamatorios del epitelio tubular proximal renal. El presente estudio expande estos hallazgos y proporciona nuevos resultados demostrando la secreción inducida por IL-17 de otro factor inflamatorio conocido (VEGF) así como la secreción de moléculas inducidas por IL-17 conocidas por reclutar células inmunes y mediar su interacción directa con las células epiteliales residentes (G-CSF, GM-CSF y fractalkine). El presente estudio también demuestra, por primera vez, la acción directa de IL-17 sobre el epitelio tubular para inducir una transición fenotípica profibrótica. IL-17 indujo la regulación a la baja del gen proepitelial e-cadherina (CDH1) y la regulación al alza de los genes asociados con la deposición de la matriz y diferenciación del miofibroblasto (CTGF) y la interacción y activación de la célula inmune (CD44). También se demostró un efecto directo sobre la integridad epitelial por la regulación a la baja de ZO-1 inducida por IL-17. La acción profibrótica directa en combinación con la estimulación de la secreción de mediadores proinflamatorios/fibróticos solubles indica que IL-17 es una potente molécula inflamatoria/fibrogénica renal. Estos nuevos hallazgos, en combinación con las actividades proinflamatorias previamente descritas de IL-17 proporcionan un racional para la neutralización de IL-17 como un nuevo abordaje terapéutico antiinflamatorio/fibrótico para la atenuación de los trastornos inflamatorios/fibróticos renales y potencialmente otras patologías que manifiestan la misma patogénesis.

#### **Referencias**

[0168]

1. Freese P, Svalander CT, Molne J, Norden G and Nyberg G. Chronic allograft nephropathy-biopsy findings and outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 2401-2406.
2. Ritz E, Keller C and Bergis KH. Nephropathy of type II diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11 Suppl 9: 38-44. Review.
3. Liu Y. Renal fibrosis: new insights into the pathogenesis and therapeutics. *Kidney Int* 2006; 69: 213-217. Review.
4. Simonson MS. Phenotypic transitions and fibrosis in diabetic nephropathy. *Kidney Int* 2007; 71: 846-854.
5. Phillips AO and Steadman R. Diabetic Nephropathy: The central role of renal proximal tubular cells in

tubulointerstitial injury. *Histol Histopathol* 2002; 17: 247-52. Review.

- 5 6. Phillips AO. The Role of Proximal Tubular Cells in Interstitial Fibrosis: Understanding TGF- $\beta$ 1. *Chang Gung Med J* 2007; 30: 2-6. Review.
7. Van Kooten C, Boonstra JG, Paape M, Fossiez F, Banchereau J, Lebecque S, Bruijn JA, De Fijter JW, Van Es LA and Daha M. Interleukin-17 activates human renal epithelial cells in vitro and is expressed during renal allograft rejection. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 1526-34.
- 10 8. Loong C-C, Hsieh H-G, Lui W-Y, Chen A and Lin C-Y. Evidence for the early involvement of interleukin 17 in human and experimental renal allograft rejection. *J Pathol* 2002; 197: 322-32.
- 15 9. Woltman AM, De Haij S, Boonstra JG, Gobin SJP, Daha MR and Van Kooten C. Interleukin-17 and CD40-Ligand synergistically enhance cytokine and chemokine production by renal epithelial cells. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 2044-55.
- 20 10. Racusen LC, Solez K, Colvin RB, et al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int* 1999; 55: 713-23.
- 25 11. Mannon RB. Therapeutic targets in the treatment of allograft fibrosis. *Am J Transpl* 2006; 6: 867-75.
12. Thomas MC, Burns WC and Cooper ME. Tubular changes in early diabetic nephropathy. *Adv Chron Kid Dis* 2005; 12(2):177-86.
- 30 13. Eitner F and Floege J. Therapeutic targets for prevention and regression of progressive fibrosing renal diseases. *Curr Opin Invest Drugs* 2005; 6(3): 255-61.
14. Florquin S and Rouschop KM. Reciprocal functions of hepatocyte growth factor and transforming growth factor- $\beta$  1 in the progression of renal diseases: a role for CD44? *Kid Int Suppl* 2003 Oct; (86): S15-20.
- 35 15. Stievano L, Piovan E and Amadori A. The biology of human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). *Crit Rev Immunol* 2004; 24(3): 205-28.
16. Eyles JL, Roberts AW, Metcalf D and Wicks IP. Granulocyte colony-stimulating factor and neutrophils--forgotten mediators of inflammatory disease. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2006 Sep; 2(9): 500-10.

LISTA DE SECUENCIAS

- 40 **[0169]**
- <110> Dudas, Paul; Elloso, M. Merle; Sague, Sarah; Farrell, Francis
- 45 <120> MÉTODOS Y COMPOSICIONES PARA TRATAR LOS TRASTORNOS RELACIONADOS CON FIBROSIS USANDO ANTAGONISTAS DE LA IL-17
- <130> CEN5190WOPCT
- 50 <150> 60/  
<151>
- <160> 4
- 55 <170> PatentIn version 3.3
- <210> 1
- <211> 155
- <212> PRT
- 60 <213> Homo sapiens
- <400> 1

ES 2 614 735 T3

Met Thr Pro Gly Lys Thr Ser Leu Val Ser Leu Leu Leu Leu Ser  
 1 5 10 15  
 Leu Glu Ala Ile Val Lys Ala Gly Ile Thr Ile Pro Arg Asn Pro Gly  
 5 20 25 30  
 Cys Pro Asn Ser Glu Asp Lys Asn Phe Pro Arg Thr Val Met Val Asn  
 35 40 45  
 Leu Asn Ile His Asn Arg Asn Thr Asn Thr Asn Pro Lys Arg Ser Ser  
 10 50 55 60  
 Asp Tyr Tyr Asn Arg Ser Thr Ser Pro Trp Asn Leu His Arg Asn Glu  
 65 70 75 80  
 Asp Pro Glu Arg Tyr Pro Ser Val Ile Trp Glu Ala Lys Cys Arg His  
 15 85 90 95  
 Leu Gly Cys Ile Asn Ala Asp Gly Asn Val Asp Tyr His Met Asn Ser  
 20 100 105 110  
 Val Pro Ile Gln Gln Glu Ile Leu Val Leu Arg Arg Glu Pro Pro His  
 115 120 125  
 Cys Pro Asn Ser Phe Arg Leu Glu Lys Ile Leu Val Ser Val Gly Cys  
 25 130 135 140  
 Thr Cys Val Thr Pro Ile Val His His Val Ala  
 145 150 155

30 <210> 2  
 <211> 155  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 Xaa57 es Asn o Glu Xaa61 es Lys o Arg Xaa83 es Glu o Gln Xaa91 es Glu o Gln  
 35 Xaa96 es His o Asn

<400> 2  
 Met Thr Pro Gly Lys Thr Ser Leu Val Ser Leu Leu Leu Leu Ser  
 40 1 5 10 15  
 Leu Glu Ala Ile Val Arg Ala Gly Ile Thr Ile Pro Arg Asn Pro Gly  
 20 25 30  
 Cys Pro Asn Ser Glu Asp Lys Asn Phe Pro Arg Thr Val Met Val Asn  
 45 35 40 45  
 Leu Asn Ile His Asn Arg Asn Thr Xaa Thr Asn Pro Xaa Arg Ser Ser  
 50 50 55 60  
 Asp Tyr Tyr Asn Arg Ser Thr Ser Pro Trp Asn Leu His Arg Asn Glu  
 65 70 75 80  
 Asp Pro Xaa Arg Tyr Pro Ser Val Ile Trp Xaa Ala Lys Cys Arg Xaa  
 85 90 95  
 Leu Gly Cys Ile Asn Ala Asp Gly Asn Val Asp Tyr His Met Asn Ser  
 55 100 105 110  
 Val Pro Ile Gln Gln Glu Ile Leu Val Leu Arg Arg Glu Pro Pro His  
 115 120 125  
 Cys Pro Asn Ser Phe Arg Leu Glu Lys Ile Leu Val Ser Val Gly Cys  
 60 130 135 140  
 Thr Cys Val Thr Pro Ile Val His His Val Gln  
 145 150 155

65

ES 2 614 735 T3

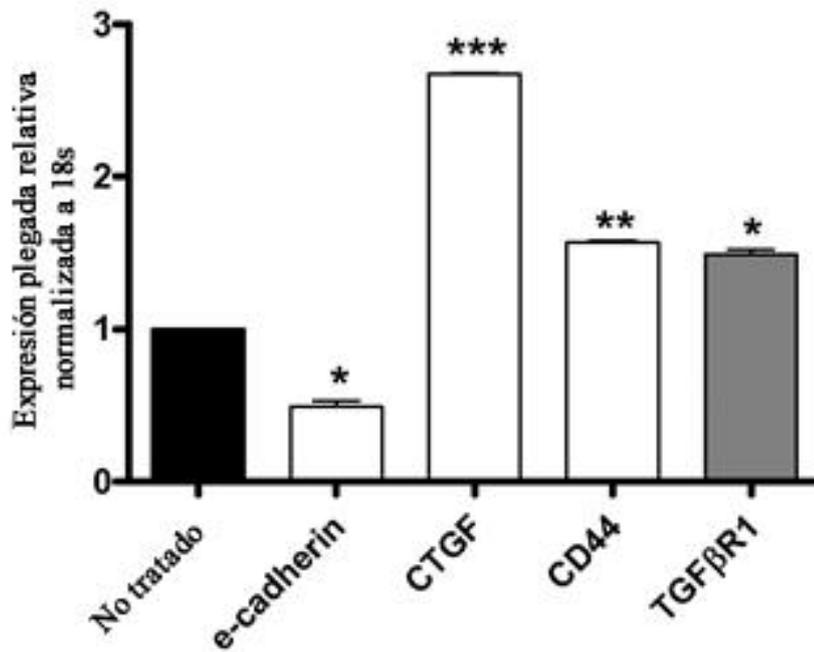
<210> 3  
 <211> 136  
 <212> PRT  
 <213> Artificial  
 Xaa38 es Asn o Glu  
 Xaa42 es Lys o Arg  
 Xaa64 es Glu o Gln  
 Xaa72 es Glu o Gln  
 Xaa77 es His o Asn  
 <400> 3  
 Ile Val Arg Ala Gly Ile Thr Ile Pro Arg Asn Pro Gly Cys Pro Asn  
 1 5 10 15  
 Ser Glu Asp Lys Asn Phe Pro Arg Thr Val Met Val Asn Leu Asn Ile  
 20 25 30  
 His Asn Arg Asn Thr Xaa Thr Asn Pro Xaa Arg Ser Ser Asp Tyr Tyr  
 35 40 45  
 Asn Arg Ser Thr Ser Pro Trp Asn Leu His Arg Asn Glu Asp Pro Xaa  
 50 55 60  
 Arg Tyr Pro Ser Val Ile Trp Xaa Ala Lys Cys Arg Xaa Leu Gly Cys  
 65 70 75 80  
 Ile Asn Ala Asp Gly Asn Val Asp Tyr His Met Asn Ser Val Pro Ile  
 85 90 95  
 Gln Gln Glu Ile Leu Val Leu Arg Arg Glu Pro Pro His Cys Pro Asn  
 100 105 110  
 Ser Phe Arg Leu Glu Lys Ile Leu Val Ser Val Gly Cys Thr Cys Val  
 115 120 125  
 Thr Pro Ile Val His His Val Glu  
 130 135  
 <210> 4  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400>  
 45



**Reivindicaciones**

- 5       **1.** Un antagonista de la interleucina-17 (IL-17) para su uso tratando la fibrosis del riñón o renal, donde dicha IL-17 se selecciona a partir de IL17A o IL-17F, donde dicho antagonista es un anticuerpo.
- 10       **2.** El antagonista de IL-17 para su uso de acuerdo con la declaración 1 donde dicho anticuerpo comprende al menos una región variable que comprende al menos una región variable de la cadena pesada y al menos una cadena ligera, y dicho anticuerpo IL-17 se une al menos a una de SEQ ID NOS: 1-4.
- 15       **3.** El antagonista IL-17 para uso de acuerdo con la declaración 1, donde dicho anticuerpo se une a IL-17 con una afinidad de al menos una seleccionada a partir de al menos 10<sup>-9</sup> M, al menos 10<sup>-10</sup> M, al menos 10<sup>-11</sup> M o al menos 10<sup>-12</sup> M.
- 20       **4.** El antagonista IL-17 para uso de acuerdo con la declaración 1, donde dicho anticuerpo modula sustancialmente al menos una actividad de al menos un polipéptido de IL-17.
- 25       **5.** El antagonista IL-17 para uso de acuerdo con la declaración 1, donde dicho anticuerpo se proporciona como una composición comprendiendo al menos un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.
- 30       **6.** El antagonista IL-17 para uso de acuerdo con la declaración 1, el cual es idóneo para administrar al menos con un compuesto o polipéptido seleccionado a partir de una etiqueta o reportero detectable, un antagonista del TNF, un antiinfeccioso, un medicamento del sistema cardiovascular (CV), un medicamento del sistema nervioso central (CNS), un medicamento del sistema nervioso autónomo (ANS), un medicamento del tracto respiratorio, un medicamento del tracto gastrointestinal (GI), un medicamento hormonal, un medicamento para el balance de fluidos o electrolitos, un medicamento hematológico, un antineoplásico, un medicamento de inmunomodulación, un medicamento oftálmico, ótico o nasal, un medicamento tópico, un producto nutricional, una citoquina o un antagonista de citoquina.
- 35       **7.** El antagonista IL-17 para uso de acuerdo con la declaración 1, donde la cantidad inhibitoria efectiva es 0.001-50 mg/kilogramo de dichas células, tejidos, órganos o animales.
- 40       **8.** El antagonista IL-17 para uso de acuerdo con la declaración 1, el cual es idóneo para administrar al menos por un modo seleccionado a partir de parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, intrarticular, intrabronquial, intrabdominal, intracapsular, intracartilaginoso, intracavitario, intracelular, intracerebeloso, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intrahepático, intramiocárdico, intraóseo, intrapélvico, intrapericárdico, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarrectal, intrarrenal, intrarretiniano, intraspinal, intrasinovial, intratorácico, intrauterino, intravesical, intralesional, bolus, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal o trasdérmico.
- 45       **9.** El antagonista IL-17 para uso de acuerdo con la declaración 1, donde dicha fibrosis renal se asocia con glomerulosclerosis lúpica.

**Regulación del Gen Profibrótico mediada por IL-17 en Células Epiteliales Tubulares Proximales Renales Humanas**



\*Significativamente diferente comparada con el control no tratado ( $P < 0.01$ )

\*\*Significativamente diferente comparada con el control no tratado ( $P < 0.001$ )

\*\*\*Significativamente diferente comparada con el control no tratado ( $P < 0.0001$ )

e-cadherin, CTGF, CD44 (10 ng/ml IL-17, 24h, n = 3)

TGFβR1 (100 ng/ml IL-17, 24h, n = 3)

FIGURA 1

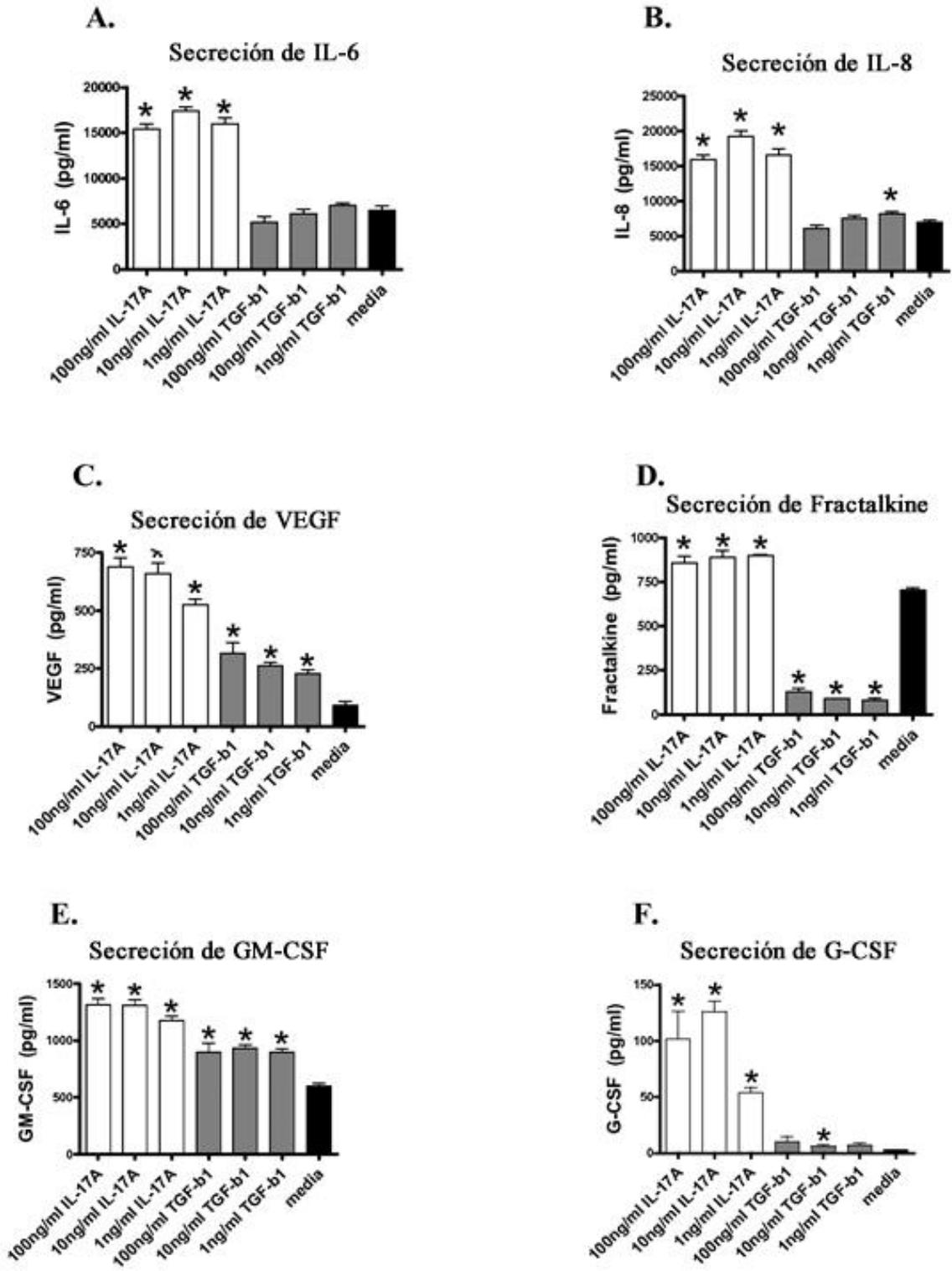


FIGURA 2

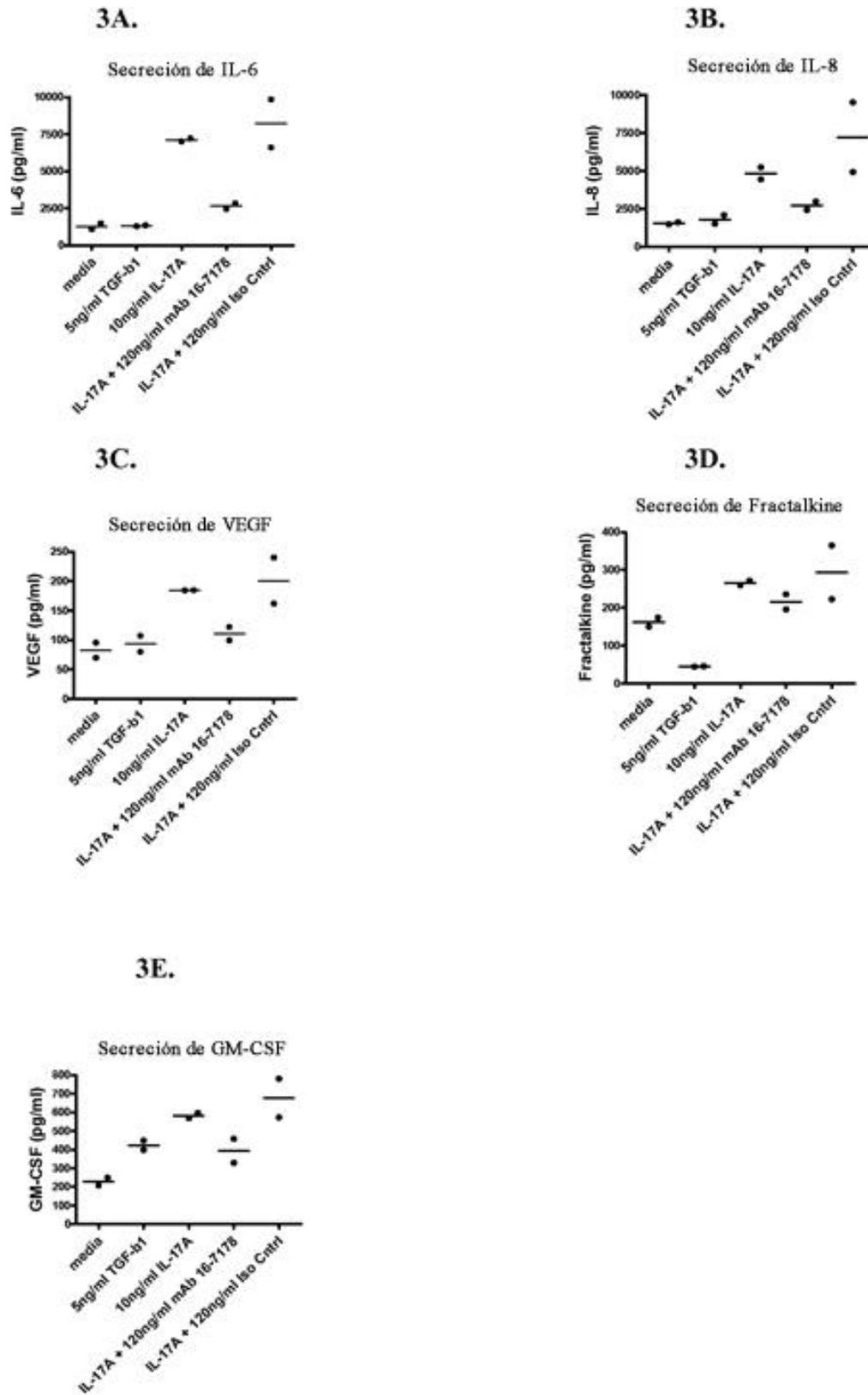


FIGURA 3

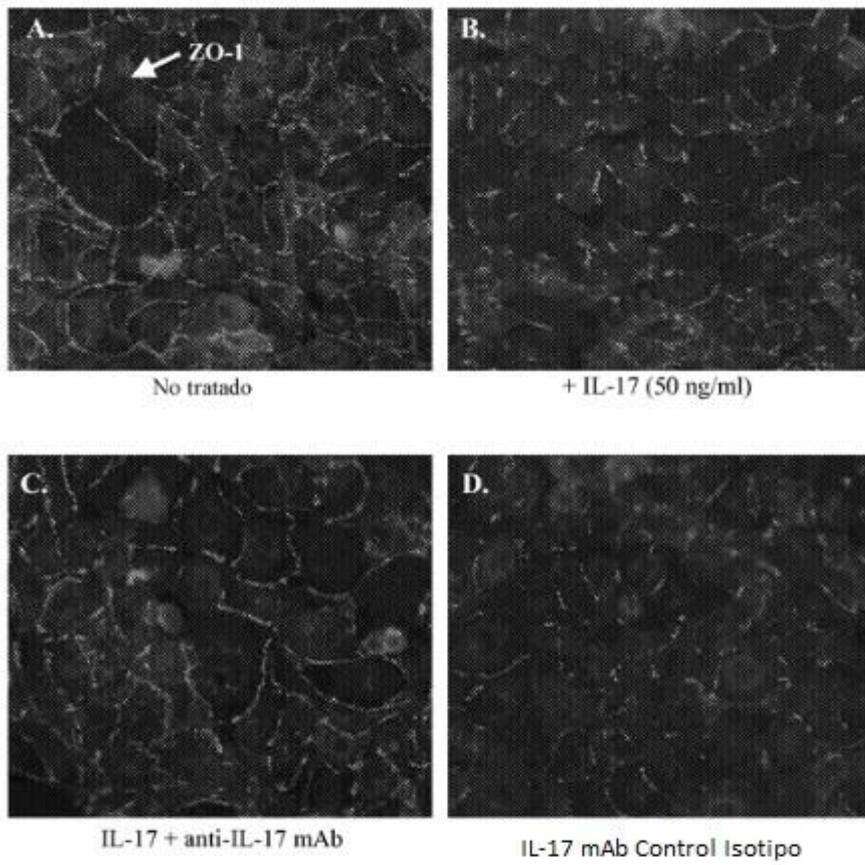


FIGURA 4