

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 685 553**

51 Int. Cl.:

A61K 39/00 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07K 16/24 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.06.2013 PCT/EP2013/062070**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.12.2013 WO13186236**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.06.2013 E 13731306 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.08.2018 EP 2858670**

54 Título: **Antagonistas de isoformas de IL-17 y sus usos**

30 Prioridad:

12.06.2012 WO PCT/EP2012/061134

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
09.10.2018

73 Titular/es:

**OREGA BIOTECH (50.0%)
15 Chemin du Saquin L'Espace Européen -
Bâtiment G
69130 Ecully, FR y
INSERM (INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET
DE LA RECHERCHE MÉDICALE) (50.0%)**

72 Inventor/es:

**ALBERICI, GILLES;
BASTID, JÉRÉMY;
BENSUSSAN, ARMAND;
BONNEFOY, NATHALIE y
ELIAOU, JEAN-FRANÇOIS**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones :

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

ES 2 685 553 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Antagonistas de isoformas de IL-17 y sus usos

5 ANTECEDENTES DE LA PRESENTE INVENCIÓN

Ámbito de la presente invención

10 La presente solicitud de patente revela en general antagonistas de isoformas de IL-17 y sus usos diagnósticos y terapéuticos, sobre todo para el tratamiento o prevención de cánceres o enfermedades autoinmunes e inflamatorias crónicas.

Antecedentes

15 La familia de la interleucina 17 (IL-17) incluye 6 interleucinas (IL-17A, IL-17B, IL- 17C, IL-17D, IL-17E = IL-25 e IL-17F) y sus receptores (IL-17RA, IL-17RB, IL- 17RC, IL-17RD e IL-17RE) (Gaffen, S. L. (2009) "Structure and signalling in the IL-17 receptor family [*Estructura y señalización en la familia de los receptores de IL-17*]" Nature reviews. Immunology 9(8): 556-567). La IL-17A existe como homodímero (IL-17A/A) o heterodímero (IL-17A/F) (Gaffen, S. L. (2009) "Structure and signalling in the IL-17 receptor family" Nature reviews. Immunology 9(8): 556-567).

20 La IL-17A y la IL-17F se unen a un complejo trímero de IL-17RA e IL-17RC cuyas expresiones son ubicuas. La IL-17A y la IL-17F son producidas principalmente por células Th17, un subconjunto de linfocitos T. El papel biológico de la IL-17A y la IL-17F consiste en participar en la defensa del huésped contra infecciones microbianas o fúngicas, induciendo una respuesta inflamatoria aguda que conduce a la liberación de citocinas pro-inflamatorias, quimiocinas, péptidos antimicrobianos y metaloproteinasas matriciales procedentes de fibroblastos, queratinocitos y de células endoteliales y epiteliales (Iwakura, Y., H. Ishigame, y otros (2011) "Functional specialization of interleukin-17 family members [*Especialización funcional de los miembros de la familia interleucina-17*]" Immunity 34(2): 149-162). La IL-17A también incorpora neutrófilos a los sitios inflamatorios (Iwakura, Y., H. Ishigame, y otros (2011) "Functional specialization of interleukin-17 family members [*Especialización funcional de la familia interleucina-17*]" Immunity 34(2): 149-162). No obstante, la producción crónica o ectópica de IL-17A e IL-17F está involucrada en el desarrollo de enfermedades autoinmunes e inflamatorias crónicas, tal como se comprueba en los modelos murinos experimentales de encefalomiелitis autoinmune, artritis inducida por colágeno (AIC) o en ratones artríticos SKG, en varios modelos de colitis y psoriasis (Iwakura, Y., H. Ishigame, y otros (2011) "Functional specialization of interleukin-17 family members [*Especialización funcional de los miembros de la familia interleucina-17*]" Immunity 34(2): 149-162). En los humanos, la IL-17A y/o IL-17F están involucradas por ejemplo en la artritis reumatoide (AR), en la esclerosis múltiple, en el lupus eritematoso sistémico, en las enfermedades inflamatorias del intestino, en la enfermedad de Crohn y en la psoriasis (Iwakura, Y., H. Ishigame, y otros (2011) "Functional specialization of interleukin-17 family members [*Especialización funcional de los miembros de la familia interleucina-17*]" Immunity 34(2): 149-162). La IL-17A activa un circuito de respuesta positiva en la señalización de IL-6, incluyendo la activación del NFκB y Stat3 en fibroblastos, que conduce a la inflamación crónica. La IL-17A y la IL-17F también están implicadas en enfermedades alérgicas (Iwakura, Y., H. Ishigame, y otros (2011) "Functional specialization of interleukin-17 family members [*Especialización funcional de los miembros de la familia interleucina-17*]" Immunity 34(2): 149-162).

45 Los otros 4 miembros de la familia se identificaron recientemente basándose en la homología secuencial, pero han sido poco estudiados hasta la fecha. La IL-17B se une al IL-17RB; la IL-17C se une al IL-17RE, la IL-17E se une a un complejo de IL-17RA e IL-17RB; el receptor de IL-17D es desconocido (Gaffen, S. L. (2009) "Structure and signalling in the IL-17 receptor family [*Estructura y señalización en la familia de los receptores de IL-17*]" Nature reviews. Immunology 9(8): 556-567). La IL-17B, la IL-17C, la IL-17D y la IL-17E activan vías y la liberación de citocinas similares a las inducidas por IL-17A e IL-17F, tales como NFκB, TNFα, IL-6, IL-8, IL-1β (Lee, J., W. H. Ho, y otros (2001) "IL-17E, a novel proinflammatory ligand for the IL-17 receptor homolog IL-17Rh1 [*IL-17E, un nuevo ligando proinflamatorio del homólogo IL-17Rh1 del receptor de IL-17*]" J Biol Chem 276(2): 1660-1664; Starnes, T., H. E. Broxmeyer, y otros (2002) "Cutting edge: IL-17D, a novel member of the IL-17 family, stimulates cytokine production and inhibits hemopoiesis [*Innovador: IL-17D, un nuevo miembro de la familia de IL-17, estimula la producción de citocinas e inhibe la hemopoiesis*]" J Immunol 169(2): 642-646; Stamp, L. K., A. Easson, y otros (2008) "Different T cell subsets in the nodule and synovial membrane: absence of interleukin-17A in rheumatoid nodules [*Diversos subconjuntos de células T en la membrana nodular y sinovial: ausencia de interleucina-17A en los nódulos reumatoides*]" Arthritis Rheum 58(6): 1601-1608; Iwakura, Y., H. Ishigame, y otros (2011) "Functional specialization of interleukin-17 family members [*Especialización funcional de los miembros de la familia interleucina-17*]" Immunity 34(2): 149-162); Ramirez-Carrozzi, V., A. Sambandam, y otros (2011) "IL-17C regulates the innate immune function of epithelial cells in an autocrine manner [*La IL-17C regula la función inmunológica innata de las células epiteliales de forma autocrina*]" Nat Immunol 12(12): 1159-1166). Al igual que la IL-17A y la IL-17F, la IL-17C es importante para la defensa contra las infecciones bacterianas (Ramirez-Carrozzi, V., A. Sambandam, y otros (2011) "IL-17C regulates the innate immune function of epithelial cells in an autocrine manner [*La IL-17C regula la función inmunológica innata de las células epiteliales de forma autocrina*]" Nat Immunol 12(12): 1159-1166). Como la IL-17A y la IL-17F, la IL-17B y la IL-17C también juegan un papel en la AIC de ratones (Yamaguchi (2007) "IL-17B and IL-17C are associated with TNF-α production and contribute to the exacerbation of inflammatory arthritis [*La IL-17B y la IL-17C están relacionadas con la producción de*

TNF- α y contribuyen a la exacerbación de la artritis inflamatoria]” *J. Immunol* 179: 7128-7136) y la expresión de IL-17A, IL-17B, IL-17D, IL-17E ha sido detectada en nódulos de AR humana (Stamp, L. K., A. Easson, y otros (2008) “Different T cell subsets in the nodule and synovial membrane: absence of interleukin-17A in rheumatoid nodules [Diversos subconjuntos de células T en la membrana nodular y sinovial: ausencia de interleucina-17A en los nódulos reumatoides]” *Arthritis Rheum* 58(6): 1601-1608). La IL-17E, originalmente denominada IL-25, es el miembro más divergente de la familia. Tiene algunas dianas comunes (NF κ B, IL-6, IL-8) y únicas (IL-4, IL-5 e IL-13) (Wong, C. K., P. F. Cheung, y otros (2005) “Interleukin-25-induced chemokines and interleukin-6 release from eosinophils is mediated by p38 mitogen-activated protein kinase, c-Jun N-terminal kinase, and nuclear factor-kappaB [La liberación de quimiocinas e interleucina-6 de los eosinófilos inducida por interleucina-25 es mediada por la proteína cinasa activada por el mitógeno p38, por la cinasa N-terminal c-Jun y por el factor nuclear kappaB]” *American journal of respiratory cell and molecular biology* 33(2): 186-194; Iwakura, Y., H. Ishigame, y otros (2011) “Functional specialization of interleukin-17 family members [Especialización funcional de los miembros de la familia interleucina-17]” *Immunity* 34(2): 149-162). La IL-17E está involucrada en el asma mediante la inducción de citocinas de células Th2 (Iwakura, Y., H. Ishigame, y otros (2011) “Functional specialization of interleukin-17 family members [Especialización funcional de los miembros de la familia interleucina-17]” *Immunity* 34(2): 149-162).

En conclusión, parece que todas las isoformas muestran cierta redundancia de funciones biológicas y dianas (aunque son producidas por tipos diferentes de células) y pueden tener similar capacidad de inducir mediadores inflamatorios tales como IL-6 o TNF α y activar vías oncogénicas como NF κ B y Stat3.

En numerosos cánceres sólidos y hematológicos se ha referido el aumento de células productoras de IL-17A o IL-17A (p.ej. de células Th17) y por tanto pueden ser una diana terapéutica en los cánceres (Iwakura, Y., H. Ishigame, y otros (2011) “Functional specialization of interleukin-17 family members [Especialización funcional de los miembros de la familia interleucina-17]” *Immunity* 34(2): 149-162). En cambio no se ha evaluado la expresión y el papel de IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E e IL-17F en los cánceres.

Goldstein y otros (*Cancer Res* 2010; 70:10044-50) han referido que las células madre procedentes de médula ósea humana (hBMSC) alteran frecuentemente el crecimiento de los tumores mamarios y la metástasis ósea, y sugieren que al nivel primario de tumoración mamaria la señalización de IL-17B puede mediar en las interacciones entre hBMSC y las células cancerosas mamarias.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA PRESENTE INVENCION

Definiciones

A no ser que se definan expresamente de otra manera, los términos empleados aquí deben entenderse de acuerdo con su significado corriente en el sector. Los términos usados en singular o citados como “un” o “una” también incluyen el plural y viceversa, a no ser que el contexto especifique o indique otra cosa. Las técnicas y procedimientos estándar se llevan a cabo generalmente según los métodos convencionales de la especialidad y diversas referencias generales (véase en general, Sambrook y otros, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2ª ed. (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.), que se facilitan a lo largo de este documento.

Tal como se emplea aquí, el término “IL-17” denota la proteína IL-17 o la interleucina 17, ventajosamente de origen humano.

Tal como se emplea aquí, el término “isoforma de IL-17” se refiere a IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E = IL-25 o a IL-17F.

Tal como se usa aquí, el término “antagonista de IL-17” se refiere a un agente, sustancia, molécula, etc., que altera, evita, inhibe o dirige de otro modo y/o intercepta la actividad de la IL-17 o la ruta de IL-17. Como ejemplos no limitativos de antagonistas de IL-17 cabe citar los anticuerpos dirigidos contra la IL-17 o su receptor (incluyendo, por ejemplo, los anticuerpos neutralizantes), los antagonistas de molécula pequeña, los receptores señuelo, los antagonistas proteicos (incluyendo proteínas de fusión y glicoproteínas) y los ácidos nucleicos antagonistas (p.ej. silenciadores de genes, ARN de horquilla corta o “ARNhc”, ARNip y moléculas de ácido nucleico antisentido).

Tal como se usa aquí, el término “anticuerpo” (o “inmunoglobulina”) incluye anticuerpos enteros o “completos” y cualquier cadena fragmentaria o sencilla de los mismos que fije antígenos. “Anticuerpo” se refiere a una glicoproteína formada por al menos dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro o a una porción del mismo fijadora de antígenos. Una cadena pesada completa contiene una región variable (V_H) y una región constante. Una región constante de una cadena pesada tiene tres dominios, C_{H1}, C_{H2} y C_{H3}. Una cadena ligera completa contiene una región variable (V_L) y una región constante con un dominio, C_L. A su vez, las regiones V_H y V_L pueden estar subdivididas en regiones de hipervariabilidad, conocidas como regiones determinantes de complementariedad (CDR), situadas dentro de regiones marco (FR) más conservadas. Cada full V_H y V_L completa contiene tres CDR y cuatro FR dispuestas en el siguiente orden desde el extremo amino-terminal hasta el extremo carboxi-terminal: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las regiones V_H y V_L forman un dominio de unión que interactúa con un antígeno. Las regiones constantes de los anticuerpos pueden mediar en la unión de la

inmunoglobulina a los tejidos o factores del huésped, incluyendo varias células del sistema inmunitario (p.ej. células efectoras) y el primer componente (C1q) del sistema clásico del complemento.

5 Tal como se usa aquí, el término "fragmento fijador de antígenos" se refiere a uno o más fragmentos de un anticuerpo que conservan la capacidad de unirse específicamente a un antígeno (p.ej. IL-17). La función fijadora de antígenos de un anticuerpo puede ser efectuada por fragmentos de un anticuerpo entero. Los ejemplos de "fragmentos fijadores de antígenos" incluyen (i) un fragmento Fab, un fragmento monovalente constituido por los dominios V_L, V_H, C_L y C_H1; (ii) un fragmento F(ab)₂, un fragmento bivalente que contiene dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro en la región bisagra; (iii) un fragmento Fab', un fragmento Fab con parte de la región bisagra (véase FUNDAMENTAL IMMUNOLOGY, Paul ed., 3ª ed. 1993); (iv) un fragmento Fd, formado por los dominios V_H y C_H1; (v) un fragmento Fv formado por los dominios V_L y V_H de una rama simple de un anticuerpo, (vi) un fragmento a dAb (Ward y otros (1989) *Nature* 341 :544-546), que consta de un dominio V_H; (vii) una región aislada determinante de complementariedad (CDR); y (viii) un nanoanticuerpo, una región variable de una cadena pesada, que contiene un solo dominio variable y dos dominios constantes. Además, aunque los dos dominios del fragmento Fv, V_L y V_H, son codificados por genes separados, se pueden juntar por métodos recombinantes mediante un conector sintético que permite convertirlos en una sola cadena proteica (conocida como cadena simple Fv (scFv), en la cual las regiones V_L y V_H se emparejan para formar moléculas monovalentes; véase p.ej. Bird y otros (1988) *Science* 242:423-426; y Huston y otros (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883). También está previsto incluir estos anticuerpos monocatenarios en el término "porción fijadora de antígenos" de un anticuerpo. Estos fragmentos de anticuerpo se obtienen empleando técnicas convencionales conocidas de los especialistas en la materia y se analizan para ver si tienen la misma utilidad que los anticuerpos intactos.

El término "diacuerpos" se refiere a pequeños fragmentos de anticuerpo que llevan dos sitios de fijación de antígenos e incluyen un dominio variable de cadena pesada (V_H) unido a un dominio variable de cadena ligera (V_L) en la misma cadena polipeptídica (V_H-V_L). Al emplear un conector demasiado corto para permitir el emparejamiento entre los dos dominios en la misma cadena, dichos dominios son forzados a emparejarse con los dominios complementarios de otra cadena, creando dos sitios de unión al antígeno.

Refiriéndose a un polipéptido (p.ej. un anticuerpo) o a una secuencia de nucleótidos, se entiende por "purificado" y "aislado" que la molécula indicada está sustancialmente exenta de otras macromoléculas biológicas del mismo tipo. Tal como se usa aquí, el término "purificado" significa preferiblemente la presencia de al menos un 75% en peso, con mayor preferencia de al menos un 85% en peso, con aún mayor preferencia de al menos un 95% en peso, y sobre todo de al menos un 98% en peso de macromoléculas biológicas del mismo tipo. Una molécula de ácido nucleico "aislada" codificadora de un polipéptido concreto se refiere a una molécula de ácido nucleico que está sustancialmente libre de otras moléculas de ácido nucleico que no codifican dicho polipéptido; sin embargo, la molécula puede incluir algunas bases o restos adicionales que no perjudiquen las características básicas de la composición.

Tal como se usa aquí, el término "anticuerpo monoclonal" se refiere a una preparación de moléculas de anticuerpo de composición molecular única. Una composición de anticuerpos monoclonales muestra una especificidad de unión y afinidad única por un epítopo concreto de un antígeno (es decir, IL-17).

Tal como se usa aquí, el término "anticuerpo humano" pretende incluir anticuerpos que tienen regiones variables cuyas regiones marco y CDR proceden de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. Si el anticuerpo tiene una región constante, ésta también proviene de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. Los anticuerpos humanos utilizables en la presente invención pueden incluir restos de aminoácidos no codificados por secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana (p.ej. mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria o sitio-específica *in vitro* o por mutación somática *in vivo*).

Tal como se usa aquí, el término "anticuerpo humanizado" se refiere a anticuerpos cuyas secuencias CDR derivadas de la línea germinal de otra especie de mamífero, como por ejemplo de ratón, rata o conejo, se han injertado en secuencias marco humanas. Se pueden llevar a cabo modificaciones adicionales de la región marco dentro de las secuencias marco humanas.

Tal como se usa aquí, el término "anticuerpo quimérico" se refiere a aquellos anticuerpos cuyas secuencias de región variable provienen de una especie y las secuencias de región constante de otra especie, por ejemplo un anticuerpo cuyas secuencias de región variable provienen de un anticuerpo de ratón, rata o conejo y las secuencias de región constante provienen de un anticuerpo humano.

Tal como se usa aquí, el término "molécula pequeña" incluye, sin limitarse ellos, compuestos orgánicos o inorgánicos (incluyendo compuestos hetero-orgánicos y organometálicos) que tienen un peso molecular inferior a 1000 gramos por mol, más concretamente inferior a 750 gramos por mol y sobre todo a 500 gramos por mol. También se incluyen sales, ésteres y otras formas farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos.

Tal como se emplea aquí, el término "ácido nucleico antagonista" pretende incluir cualquier molécula o herramienta silenciadora de genes tal como ARNhc ("ARN de horquilla corta" o "ARN de horquilla pequeña") o ARN interferente ("ARNi" o ARN interferente pequeño, "ARNip").

Tal como se usa aquí, el término “sujeto” o “paciente” se refiere a un animal mamífero (incluyendo, sin limitarse a ellos, mamíferos no primates como vacas, cerdos, caballos, ovejas, perros, gatos, ratas y ratones), más concretamente a un primate (incluyendo, sin limitarse a ellos, monos, simios y humanos) y sobre todo a un ser humano.

Tal como se usa aquí, el término “tratar” o “tratamiento” significa en el contexto de la presente invención revertir, aliviar, inhibir o prevenir el trastorno o estado al que se refiere dicho término, o su progresión, o uno o más síntomas de tal trastorno o condición. “Cantidad terapéuticamente efectiva” se refiere a una cantidad mínima de principio activo que es necesaria para aportar un beneficio terapéutico a un sujeto. Por ejemplo, una “cantidad terapéuticamente efectiva” para un mamífero es una cantidad que induce, promueve o bien produce una mejoría de los síntomas patológicos, de la progresión de la enfermedad o de las afecciones fisiológicas asociadas a un trastorno o de la resistencia a sufrirlo. La cantidad efectiva de un agente terapéutico para aliviar cualquier síntoma o efecto patológico particular (también denominada “cantidad terapéuticamente efectiva”) o para prevenir un síntoma o efecto patológico particular (también denominada “cantidad profilácticamente efectiva”) puede variar según factores tales como el estado de la enfermedad, la edad y el peso del paciente, y la capacidad del fármaco para producir una respuesta deseada en el paciente. El alivio de un síntoma o efecto de la enfermedad puede ser valorado mediante cualquier medición clínica normalmente utilizada (p.ej. por proveedores de atención médica o médicos clínicos de laboratorio) a fin de evaluar la gravedad o el estado de progresión de este síntoma o efecto.

Tal como se emplea aquí, el término “prevenir” o “prevención” o “profiláctico” o “profilaxis” se refiere a la inhibición del desarrollo, inicio o recurrencia de un síntoma, efecto, enfermedad o trastorno (p.ej. un trastorno de proliferación celular) en un sujeto que aún no ha sido diagnosticado de ello.

Tal como se usa aquí, el término “cantidad de referencia” o “nivel de referencia” se refiere a una cantidad establecida o a un nivel de expresión de una sustancia o molécula, p.ej. de una proteína, ácido nucleico, enzima, etc., con la que se compara una cantidad de la misma sustancia o molécula resultante de la medición de una muestra de un sujeto. Por ejemplo, una cantidad de referencia puede ser una cantidad de una proteína encontrada en una muestra de tejido normal (o una cantidad promedio de una población de muestras de tejido) con la cual se compara la cantidad de una proteína de una muestra de tejido enfermo (p.ej. canceroso).

Tal como se usa aquí, el término “expresión” o “expresado” se refiere a la transcripción de ARN (p.ej. de ARNm) a partir de un molde de ácido nucleico. “Expresión” o “expresado” también se puede referir a la traducción de ARNm a un polipéptido. El término “expresión” o “expresión” también pretende incluir la producción de un producto génico o polipeptídico que es liberado y/o secretado por una célula. En algunos casos el término “producido” o “producción” se usa para indicar la expresión de un producto genético o polipeptídico que es secretado o liberado por una célula (p.ej. en el entorno extracelular o, si la célula está in vitro, en el medio de cultivo). El término “expresión aumentada” pretende incluir una alteración de la expresión génica, al menos como mayor producción de ARNm y/o expresión polipeptídica, que generalmente da como resultado una cantidad incrementada de un producto o proteína génica. En algunos casos, “expresión aumentada” se usa de manera equivalente al término “sobrexpresión” o “sobrexpresado”.

Tal como se usa aquí, la expresión “probable que responda” significa que un sujeto tiene mayor propensión a recibir un beneficio terapéutico del agente de tratamiento, p.ej. que es más probable que el agente terapéutico logre el efecto deseado, como por ejemplo aliviar uno o más síntomas o efectos de la enfermedad. Según un ejemplo concreto, un sujeto que tenga un trastorno de proliferación celular con un incremento de los niveles de una isoforma de IL-17, en comparación con una cantidad de referencia de cada factor, es más probable que responda al tratamiento del trastorno de proliferación celular con un antagonista de dicha isoforma de IL-17.

Tal como se emplea aquí, el término “muestra” se refiere a cualquier fluido biológico, célula, tejido u otro componente procedente de un sujeto. Las muestras incluyen, sin limitarse a ellas, fragmentos de tejido (enfermo o no enfermo), órganos, células, componentes celulares, sangre total, suero, plasma, saliva, orina, líquido sinovial, médula ósea, líquido cefalorraquídeo, moco vaginal, moco cervical, nasal secreciones, esputo, semen, líquido amniótico, líquido de lavado broncoalveolar, exudados celulares y fragmentos tumorales.

Descripción de la presente invención

Los presentes inventores han encontrado que todas las isoformas de IL-17 son reguladas al alza en cánceres o líneas celulares de cáncer humano, o secretadas por células inmunitarias que se infiltran en los tumores. Además, todas las isoformas de IL-17 muestran propiedades oncogénicas análogas: estimulan la proliferación de células cancerosas, aumentan la invasión de células cancerosas y pueden inducir la secreción de mediadores proinflamatorios tales como la IL-6. Por lo tanto todas las isoformas de IL-17 pueden ser dianas terapéuticas para el cáncer.

En un primer aspecto se revela un método para identificar un sujeto con cáncer o una mayor probabilidad de desarrollar un cáncer, que consiste en medir la cantidad de al menos una isoforma de IL-17 seleccionada del grupo formado por IL-17B, IL-17C, IL17D, IL-17E y probablemente IL-17F en una muestra de dicho sujeto, de manera que una mayor expresión o producción de al menos una isoforma de IL-17 seleccionada del grupo formado por IL-17B, IL-17C, IL17D,

IL-17E y probablemente IL-17F indica que el sujeto tiene un cáncer o tiene una mayor probabilidad de desarrollar un cáncer.

5 La presente invención se refiere a una composición que contiene al menos un antagonista de IL-17 de al menos una isoforma de IL-17 para usar en el tratamiento del cáncer, donde la isoforma de IL-17 es IL-17B, donde el antagonista de IL-17 es un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo fijador de antígenos contra IL-17B o su receptor IL-17RB, y donde el tratamiento sirve para aumentar la efectividad de un agente quimioterapéutico.

10 Según otro aspecto se revela una composición que lleva al menos un antagonista de IL-17 de al menos una isoforma de IL-17 seleccionada del grupo formado por IL-17B, IL-17C, IL17D, IL-17E e IL-17F, para usar en el tratamiento o la prevención de un trastorno de proliferación celular en un sujeto que tenga una mayor cantidad (expresión o producción) de dicha isoforma de IL-17.

15 También se revela un método de tratamiento de un trastorno de proliferación celular, ventajosamente un cáncer, en un sujeto, el cual consiste en administrar a dicho sujeto una composición que lleve al menos una isoforma de IL-17 seleccionada del grupo formado por IL-17B, IL-17C, IL17D, IL-17E e IL-17F, en una cantidad efectiva para tratar dicho trastorno de proliferación celular o cáncer.

20 Además se revela un método para evitar un trastorno de proliferación celular, ventajosamente un cáncer, en un sujeto con un mayor riesgo de proliferación celular o cáncer, el cual consiste en administrar a dicho sujeto una composición que contenga al menos una isoforma de IL-17 elegida del grupo formado por IL-17B, IL-17C, IL17D, IL-17E e IL-17F, en una cantidad efectiva para evitar dicha proliferación celular o cáncer.

25 En un aspecto, el método de la presente invención consiste adicionalmente en medir la cantidad de al menos una isoforma de IL-17 seleccionada del grupo formado por IL-17B, IL-17C, IL17D, IL-17E e IL-17F en una muestra de dicho sujeto y comparar la cantidad medida con una cantidad de referencia para determinar si es probable que dicho sujeto responda a la administración de dicha composición, de manera que una cantidad (expresión o producción) de dicha isoforma de IL-17 mayor que dicha cantidad de referencia indica que el sujeto es probable que responda.

30 En algunas formas de ejecución de la presente invención, la muestra se selecciona del grupo formado por una muestra de un órgano, una muestra de tejido, una muestra celular y una muestra de sangre. En algunas formas de ejecución la muestra incluye células cancerosas.

35 En una forma de ejecución particular la composición comprende al menos un antagonista de IL-17 de al menos una isoforma de IL-17 elegida del grupo formado por IL-17B, IL-17C, IL17D e IL-17E. En otras palabras, la composición comprende al menos un antagonista de IL-17B.

40 Los ejemplos de trastornos de proliferación celular o cánceres incluyen, sin limitarse a ellos: leucemia linfoblástica aguda infantil, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemia mieloide aguda, carcinoma adrenocortical, cáncer hepatocelular en adultos (primario), cáncer de hígado en adultos (primario), leucemia linfocítica aguda en adultos, leucemia mieloide aguda en adultos, enfermedad de Hodgkin en adultos, linfoma de Hodgkin en adultos, leucemia linfocítica en adultos, linfoma no Hodgkin en adultos, cáncer primario de hígado en adultos, sarcoma de tejido blando en adultos, linfoma relacionado con el SIDA, enfermedades malignas relacionadas con el SIDA, cáncer anal, astrocitoma, cáncer de vías biliares, cáncer de vejiga, cáncer de huesos, glioma del tronco encefálico, tumores cerebrales, cáncer de mama, cáncer de pelvis renal y uréter, linfoma del sistema nervioso central (primario), linfoma del sistema nervioso central, astrocitoma cerebeloso, astrocitoma cerebral, cáncer cervical, cáncer hepatocelular infantil (primario), cáncer de hígado infantil (primario), leucemia linfoblástica aguda infantil, leucemia mieloide aguda infantil, glioma del tronco encefálico infantil, astrocitoma cerebeloso infantil, astrocitoma cerebral infantil, tumores de células germinales extracraneales infantiles, enfermedad de Hodgkin infantil, linfoma de Hodgkin infantil, glioma de las vías ópticas y del hipotálamo infantil, leucemia linfoblástica infantil, méduloblastoma infantil, linfoma infantil no Hodgkin, tumores pineales y neuroectodérmicos primitivos supratentoriales infantiles, cáncer de hígado primario infantil, rhabdomyosarcoma infantil, sarcoma de tejido blando infantil, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica, cáncer de colon, linfoma cutáneo de células T, carcinoma pancreático endocrino de células de los islotes, cáncer de endometrio, ependimoma, cáncer epitelial, cáncer de esófago, sarcoma de Ewing y tumores relacionados, cáncer pancreático exocrino, tumor extracraneal de células germinales, tumor de células germinales extragonadales, cáncer de vías biliares extrahepáticas, cáncer de ojos, cáncer de mama femenino, enfermedad de Gaucher, cáncer de vesícula biliar, cáncer gástrico, tumor carcinoide gastrointestinal, tumores gastrointestinales, tumores de células germinales, tumor trofoblástico gestacional, leucemia de células vellosas, cáncer de cabeza y cuello, cáncer hepatocelular, enfermedad de Hodgkin, linfoma de Hodgkin, hipergammaglobulinemia, cáncer hipofaríngeo, cánceres intestinales, melanoma intraocular, carcinoma de células de los islotes, cáncer pancreático de las células de los islotes, sarcoma de Kaposi, cáncer de riñón, cáncer de laringe, cáncer de labio y cavidad oral, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, trastornos linfoproliferativos, macroglobulinemia, cáncer de mama masculino, mesotelioma maligno, timoma maligno, méduloblastoma, melanoma, mesotelioma, cáncer de cuello escamoso metastásico con tumor primario oculto, cáncer de cuello escamoso primario metastásico, cáncer de cuello escamoso metastásico, mieloma múltiple, mieloma múltiple/neoplasia de células plasmáticas, síndrome de mielodisplasia, leucemia mielógena, leucemia mieloide, trastornos mieloproliferativos, cáncer de la cavidad nasal y del seno paranasal, cáncer nasofaríngeo,

neuroblastoma, linfoma no Hodgkin durante el embarazo, cáncer de piel no melanómico, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de cuello escamoso metastásico primario oculto, cáncer orofaríngeo, osteosarcoma/sarcoma fibroso maligno, osteosarcoma/histiocitoma fibroso maligno, osteosarcoma/histiocitoma fibroso maligno óseo, cáncer epitelial de ovarios, tumor de células germinales ováricas, tumor ovárico de bajo potencial maligno, cáncer de páncreas, paraproteinemias, púrpura, cáncer paratiroideo, cáncer de pene, feocromocitoma, tumor pituitario, neoplasia de células plasmáticas/mieloma múltiple, linfoma primario del sistema nervioso central, cáncer de hígado primario, cáncer de próstata, cáncer rectal, cáncer de células renales, pelvis renal y uréter, retinoblastoma, rabdomiosarcoma, cáncer de las glándulas salivales, sarcomas de sarcoidosis, síndrome de Sezary, cáncer de piel, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de intestino delgado, sarcoma de tejidos blandos, cáncer de cuello escamoso, cáncer de estómago, tumores suprantoriales primitivos neuroectodérmicos y pineales, linfoma de células T, cáncer testicular, timoma, cáncer de tiroides, cáncer de células transicionales de la pelvis renal y uréter, cáncer transicional de la pelvis renal y del uréter, tumores trofoblásticos, cáncer de uréter y de células de pelvis renal, cáncer de uretra, cáncer de útero, sarcoma uterino, cáncer de vagina, glioma de vías ópticas e hipotalámico, cáncer de vulva, macroglobulinemia de Waldenstrom, tumor de Wilms y cualquier otra enfermedad hiperproliferativa, además de las neoplasias, que se encuentre en un sistema de órganos enumerado anteriormente.

Normalmente la composición de la presente invención es útil para la prevención o el tratamiento del cáncer de mama, sarcoma de tejidos blandos, cáncer de colon, cáncer gástrico, glioma, carcinoma hepatocelular, cáncer de riñón, leucemia, cáncer de pulmón, linfoma, melanoma, mieloma múltiple, cáncer ovárico, cáncer de páncreas, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de tiroides o cáncer de próstata, de manera ventajosa del cáncer de mama, cáncer de colon, melanoma, cáncer ovárico o cáncer de páncreas, sobre todo del cáncer de mama o del cáncer ovárico.

Según la presente invención, el tratamiento sirve para aumentar la efectividad de un agente quimioterapéutico.

También se revela un método para identificar como diana y/o destruir las células cancerosas o las células con mayor riesgo de volverse cancerosas en un sujeto; dicho método consiste en administrar a dicho sujeto una composición que contenga al menos un antagonista de IL-17 de al menos una isoforma de IL-17 seleccionada del grupo formado por IL-17B, IL-17C e IL17D, y posiblemente IL-17E e IL-17F, en una cantidad efectiva para tomar como diana y/o matar las células cancerosas o las células con mayor riesgo de volverse cancerosas.

Asimismo se revela un método de aumentar la eficacia de un agente terapéutico para destruir las células que proliferan anormalmente en un sujeto que padezca un trastorno de proliferación celular o cáncer; dicho método consiste en administrar una cantidad de una composición que lleve al menos un antagonista de IL-17 de al menos una isoforma de IL-17 elegida del grupo formado por IL-17B, IL-17C e IL17D, y posiblemente IL-17E e IL-17F, y que sea efectiva para aumentar la eficacia de dicho agente terapéutico en un momento escogido entre antes, durante o después de la administración de dicho agente terapéutico.

Dicho agente terapéutico es ventajosamente un agente quimioterapéutico. Dicho agente quimioterapéutico se elige con mayor preferencia del grupo formado por: doxorubicina, paclitaxel, tamoxifeno, cisplatino, vincristina y vinblastina.

También se revela un método para evitar metástasis tumorales en un sujeto que padezca un trastorno de proliferación celular o cáncer, dicho método consiste en administrar una cantidad de una composición que contenga al menos un antagonista de IL-17 de al menos una isoforma de IL-17 seleccionada del grupo formado por IL-17B, IL-17C e IL17D, y posiblemente IL-17E e IL-17F, y que sea efectiva para evitar metástasis tumorales en dicho sujeto.

Alternativamente, una composición como la revelada arriba (que contenga al menos un antagonista de IL-17 de al menos una isoforma de IL-17 elegida del grupo formado por IL-17B, IL-17C, IL17D, IL-17E e IL-17F, que contenga ventajosamente al menos un antagonista de IL-17 de al menos una isoforma de IL-17 seleccionada del grupo formado por IL-17B, IL-17C, IL17D e IL-17E, que contenga sobre todo al menos un antagonista de IL-17 de al menos una isoforma de IL-17 seleccionada del grupo formado por IL-17B, IL-17C e IL-17D) se puede usar para el tratamiento o prevención de enfermedades inflamatorias crónicas y autoinmunes, como por ejemplo, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, lupus eritematoso sistémico, enfermedades inflamatorias del intestino, enfermedades de Crohn, psoriasis, colitis ulcerosa o dermatitis atópica.

En una forma de ejecución particular la composición contiene además un antagonista de IL-17 de cualquier isoforma de IL-17, preferiblemente de otra isoforma de IL-17. Conforme a la presente invención, la expresión "de otra isoforma de IL-17" significa que si el primer antagonista es un antagonista de una primera isoforma de IL-17, entonces, cuando la composición lleva al menos otro antagonista (un segundo antagonista), este segundo antagonista es un antagonista de una segunda (diferente) isoforma de IL-17. Según una forma de ejecución particular de la presente invención, la composición contiene además un antagonista de IL-17 de una forma de IL-17 que no es IL-17B.

En particular, cuando el primer antagonista es un antagonista de IL-17B, entonces un antagonista de otra isoforma de IL-17 es preferiblemente un antagonista de IL-17A, IL-17C, IL-17D, IL-17E o IL-17F, ventajosamente un antagonista de IL-17A. Según una forma de ejecución particular, si el primer antagonista es un antagonista de IL-17B, entonces el antagonista de otra isoforma de IL-17 no es preferiblemente un antagonista de IL-17E.

Según esta forma de ejecución y como ejemplo, la composición puede llevar:

- un antagonista de IL-17B y un antagonista de IL-17A; o
- un antagonista de IL-17B y un antagonista de IL-17C; o
- un antagonista de IL-17B y un antagonista de IL-17D; o
- 5 - un antagonista de IL-17B y un antagonista de IL-17E; o
- un antagonista de IL-17B y un antagonista de IL-17F; o posiblemente
- un antagonista de IL- 17B y otro antagonista de IL- 17B.

10 Se revela que la composición puede contener un antagonista de IL-17 de una isoforma de IL-17 escogida del grupo formado por IL-17B, IL-17C e IL17D y posiblemente IL-17E e IL-17F, siendo dicho antagonista también un antagonista de al menos otra isoforma de IL-17. Según la presente invención, la expresión "de otra isoforma de IL-17" significa que si el primer antagonista es un antagonista de una primera isoforma de IL-17, entonces también es un antagonista de una segunda (diferente) isoforma de IL-17.

15 En particular, si el antagonista es un antagonista de IL-17B, entonces también es preferiblemente un antagonista de IL-17A, IL-17C, IL- 17D, IL-17E o IL-17F. Según una forma de ejecución particular, si el antagonista es un antagonista de IL-17B, entonces no es preferiblemente un antagonista de IL-17E.

Según esta forma de ejecución y como ejemplo, la composición puede llevar:

- 20 - un antagonista de IL-17B que también sea un antagonista de IL-17A; o
- un antagonista de IL-17B que también sea un antagonista de IL-17C; o
- un antagonista de IL-17B que también sea un antagonista de IL-17D; o
- un antagonista de IL-17B que también sea un antagonista de IL-17E; o
- un antagonista de IL-17B que también sea un antagonista de IL-17F.

25 En una forma de ejecución particular el antagonista es un anticuerpo que se une al menos a 2 isoformas de IL-17. Se excluye ventajosamente un anticuerpo que se una a IL-17A e IL-17F y solo a estas 2 isoformas específicas. En otras palabras, un anticuerpo puede unirse al menos a:

- 30 - IL-17A e IL-17B, o
- IL-17B e IL-17C, o
- IL-17B e IL-17D, o
- IL-17B e IL-17E, o
- IL-17B e IL-17F.

35 Además se revela que la composición contiene dos (2) antagonistas de IL-17 de una isoforma de IL-17, preferiblemente de otras isoformas de IL-17.

40 Alternativamente la composición contiene un antagonista de IL-17 de una isoforma de IL-17 seleccionada del grupo formado por IL-17B, IL-17C e IL17D y posiblemente IL-17E e IL-17F, siendo dicho antagonista también un antagonista de al menos otras dos (2) isoformas de IL-17.

En otra forma de ejecución la composición contiene además tres (3) antagonistas de IL-17 de cualquier isoforma de IL-17, preferiblemente de otras isoformas de IL-17.

45 Alternativamente la composición contiene un antagonista de IL-17 de una isoforma de IL-17 seleccionada del grupo formado por IL-17B, IL-17C e IL17D y posiblemente IL-17E e IL-17F, siendo dicho antagonista también un antagonista de al menos otras tres (3) isoformas de IL-17.

50 En otra forma de ejecución la composición contiene además cuatro (4) antagonistas de IL-17 de cualquier isoforma de IL-17, preferiblemente de otras isoformas de IL-17.

Alternativamente la composición contiene un antagonista de IL-17 de una isoforma de IL-17 seleccionada del grupo formado por IL-17B, IL-17C e IL17D y posiblemente IL-17E e IL-17F, siendo dicho antagonista también un antagonista de al menos otras cuatro (4) isoformas de IL-17.

55 En una forma de ejecución la composición contiene antagonistas de IL-17 de todas las isoformas de IL-17, es decir:

- un antagonista de IL-17A, y
- un antagonista de IL-17B, y
- un antagonista de IL-17C, y
- 60 - un antagonista de IL-17D, y
- un antagonista de IL-17E, y
- un antagonista de IL-17F.

65 Alternativamente la composición contiene un antagonista de IL-17 que es un antagonista de todas las isoformas de IL-17 (IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E e IL-17F).

Asimismo se revela que el antagonista es un anticuerpo que se une a todas las isoformas de IL-17 (IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E e IL-17F) y posiblemente las neutraliza, es decir un anticuerpo de múltiples isoformas de IL-17.

Según la presente invención el antagonista es un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo fijador de antígenos.

En una forma de ejecución dicho anticuerpo es un anticuerpo humanizado o humano,

En una forma de ejecución dicho anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.

Además se revela una composición que contiene:

- al menos un antagonista de IL-17 de al menos una isoforma de IL-17 seleccionada del grupo formado por IL-17B, IL-17C, IL17D e IL-17E y un antagonista de IL-17 de otra isoforma de IL-17; o
- al menos un antagonista de IL-17 de al menos una isoforma de IL-17 seleccionada del grupo formado por IL-17B, IL-17C, IL17D e IL-17E, siendo dicho antagonista también un antagonista de al menos otra isoforma de IL-17.

La expresión "de otra isoforma de IL-17" tiene el significado definido anteriormente.

Según una forma de ejecución particular se revela una composición que contiene:

- al menos un antagonista de IL-17 de al menos una isoforma de IL-17 seleccionada del grupo formado por IL-17B, IL-17C e IL17D y un antagonista de IL-17 de otra isoforma de IL-17; o
- al menos un antagonista de IL-17 de al menos una isoforma de IL-17 seleccionada del grupo formado por IL-17B, IL-17C e IL17D, siendo dicho antagonista también un antagonista de al menos otra isoforma de IL-17.

Ventajosamente la composición no contiene:

- la combinación concreta de un antagonista de IL-17A y un antagonista de IL-17F, o
- un antagonista de IL-17A que sea también un antagonista de IL-17F, o
- la combinación concreta de un antagonista de IL-17B y un antagonista de IL-17E, o
- un antagonista de IL-17B que sea también un antagonista de IL-17E.

En una forma de ejecución la composición contiene antagonistas de IL-17 de todas las isoformas de IL-17, es decir:

- un antagonista de IL-17A, y
- un antagonista de IL-17B, y
- un antagonista de IL-17C, y
- un antagonista de IL-17D, y
- un antagonista de IL-17E, y
- un antagonista de IL-17F.

Alternativamente la composición contiene un antagonista de IL-17 que es un antagonista de todas las isoformas de IL-17 (IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E e IL-17F).

Según una forma de ejecución particular el antagonista es un anticuerpo que se une a todas las isoformas de IL-17 (IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E e IL-17F) y posiblemente las neutraliza, es decir un anticuerpo de múltiples isoformas de IL-17.

Según la presente invención el antagonista es un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo fijador de antígenos.

En una forma de ejecución dicho anticuerpo es un anticuerpo humanizado o humano,

En una forma de ejecución dicho anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.

La composición arriba revelada tiene un interés general en diagnóstico y terapia.

En una forma de ejecución, tal como se ha mencionado anteriormente, dicha composición sirve para el tratamiento o la prevención de trastornos de proliferación celular o cánceres.

Normalmente la composición de la presente invención sirve para la prevención o el tratamiento del cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer gástrico, glioma, carcinoma hepatocelular, cáncer de riñón, leucemia, cáncer de pulmón, linfoma, melanoma, mieloma múltiple, cáncer ovárico, cáncer de páncreas, cáncer de próstata.

El tratamiento sirve ventajosamente para:

- identificar como diana y/o matar las células cancerosas o las células con mayor riesgo de convertirse en cancerosas;
- aumentar la eficacia de un agente terapéutico, ventajosamente de un agente quimioterapéutico; y/o
- evitar la metástasis tumoral.

También se revela que dicha composición sirve para el tratamiento o la prevención de enfermedades autoinmunes e inflamatorias crónicas.

Las enfermedades inflamatorias y relacionadas con el sistema inmunitario incluyen, por ejemplo: lupus eritematoso sistémico, artritis, artritis psoriásica, artritis reumatoide, osteoartritis, artritis crónica juvenil, espondiloartropatías, esclerosis sistémica, miopatías inflamatorias idiopáticas, síndrome de Sjogren, vasculitis sistémica, sarcoidosis, anemia hemolítica autoinmune, trombocitopenia autoinmune, tiroiditis, diabetes mellitus, enfermedad renal mediada por mecanismos inmunitarios, enfermedades desmielinizantes de los sistemas nerviosos central y periférico como la esclerosis múltiple, la polineuropatía desmielinizante idiopática o el síndrome de Guillain-Barré, la esclerosis lateral amiotrófica y la polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, enfermedades hepatobiliares infecciosas tales como hepatitis crónica activa autoinmune, cirrosis biliar primaria, hepatitis granulomatosa, colangitis esclerosante, enfermedad inflamatoria intestinal, colitis, enfermedad de Crohn, enteropatía sensible al gluten y endotoxemia, enfermedades cutáneas autoinmunes o mediadas por el sistema inmunitario, incluyendo las enfermedades de piel bullosa, eritema multiforme, dermatitis atópica y dermatitis de contacto, psoriasis, dermatosis neutrófilas, fibrosis quística, enfermedades alérgicas tales como asma, rinitis alérgica, hipersensibilidad alimentaria y urticaria, fibrosis quística, enfermedades inmunológicas del pulmón tales como neumonía eosinófila, fibrosis pulmonar idiopática, enfermedad respiratoria del adulto (ERA), síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) y lesiones pulmonares inflamatorias como asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), hiperreactividad de las vías respiratorias, bronquitis crónica, asma alérgica y neumonitis por hipersensibilidad, enfermedades relacionadas con los trasplantes, incluyendo el rechazo de injertos y órganos y la reacción del injerto contra el huésped, choque séptico, fallo orgánico múltiple, obesidad, diabetes tipo 2, cirrosis hepática no alcohólica, enfermedad hepática no alcohólica, oncología (angiogénesis tumoral, tumores primarios y metástasis).

Entre las enfermedades inflamatorias autoinmunes y crónicas, las enfermedades preferentes son: artritis reumatoide, esclerosis múltiple, lupus eritematoso sistémico, enfermedades inflamatorias intestinales, enfermedades de Crohn, psoriasis, colitis ulcerosa, dermatitis atópica.

Aplicaciones diagnósticas y terapéuticas de las composiciones

Terapéuticas

Ventajosamente, una enfermedad mediada por IL-17 son enfermedades relacionadas con el sistema inmunitario y enfermedades inflamatorias, incluyendo, por ejemplo, lupus eritematoso sistémico, artritis, artritis psoriásica, artritis reumatoide, osteoartritis, artritis crónica juvenil, espondiloartropatías, esclerosis sistémica, miopatías inflamatorias idiopáticas, síndrome de Sjogren, vasculitis sistémica, sarcoidosis, anemia hemolítica autoinmune, trombocitopenia autoinmune, tiroiditis, diabetes mellitus, enfermedad renal mediada por mecanismos inmunitarios, enfermedades desmielinizantes de los sistemas nerviosos central y periférico tales como la esclerosis múltiple, la polineuropatía desmielinizante idiopática o el síndrome de Guillain-Barré, la esclerosis lateral amiotrófica y la polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, enfermedades hepatobiliares infecciosas tales como hepatitis crónica activa autoinmune, cirrosis biliar primaria, hepatitis granulomatosa, colangitis esclerosante, enfermedad inflamatoria intestinal, colitis, enfermedad de Crohn, enteropatía sensible al gluten y endotoxemia, enfermedades cutáneas autoinmunes o mediadas por el sistema inmunitario, incluyendo las enfermedades de piel bullosa, eritema multiforme, dermatitis atópica y dermatitis de contacto, psoriasis, dermatosis neutrófilas, fibrosis quística, enfermedades alérgicas como asma, rinitis alérgica, hipersensibilidad alimentaria y urticaria, fibrosis quística, enfermedades inmunológicas del pulmón tales como neumonía eosinófila, fibrosis pulmonar idiopática, enfermedad respiratoria del adulto (ERA), síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) y lesiones pulmonares inflamatorias como asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), hiperreactividad de las vías respiratorias, bronquitis crónica, asma alérgica y neumonitis por hipersensibilidad, enfermedades relacionadas con los trasplantes, incluyendo el rechazo de injertos y órganos y la reacción del injerto contra el huésped, choque séptico, fallo orgánico múltiple, obesidad, diabetes tipo 2, cirrosis hepática no alcohólica, enfermedad hepática no alcohólica, oncología (angiogénesis tumoral, tumores primarios y metástasis).

Entre las enfermedades inflamatorias autoinmunes y crónicas, las enfermedades preferentes son: artritis reumatoide, esclerosis múltiple, lupus eritematoso sistémico, enfermedades inflamatorias intestinales, enfermedades de Crohn, psoriasis, colitis ulcerosa, dermatitis atópica.

Los ejemplos de trastornos de proliferación celular o cánceres incluyen, sin limitarse a ellos: leucemia linfoblástica aguda infantil, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemia mieloide aguda, carcinoma adrenocortical, cáncer hepatocelular en adultos (primario), cáncer de hígado en adultos (primario), leucemia linfocítica aguda en adultos, leucemia mieloide aguda en adultos, enfermedad de Hodgkin en adultos, linfoma de Hodgkin en adultos, leucemia linfocítica en adultos, linfoma no Hodgkin en adultos, cáncer primario de hígado en adultos, sarcoma de tejido blando en adultos, linfoma relacionado con el SIDA, enfermedades malignas relacionadas con el SIDA, cáncer anal, astrocitoma, cáncer de vías biliares, cáncer de vejiga, cáncer de huesos, glioma del tronco encefálico, tumores cerebrales, cáncer de mama, cáncer de pelvis renal y uréter, linfoma del sistema nervioso central (primario), linfoma del sistema nervioso central, astrocitoma cerebeloso, astrocitoma cerebral, cáncer cervical, cáncer hepatocelular infantil (primario), cáncer de hígado infantil (primario), leucemia linfoblástica aguda infantil, leucemia mieloide aguda

infantil, glioma del tronco encefálico infantil, astrocitoma cerebeloso infantil, astrocitoma cerebral infantil, tumores de células germinales extracraneales infantiles, enfermedad de Hodgkin infantil, linfoma de Hodgkin infantil, glioma de las vías ópticas y del hipotálamo infantil, leucemia linfoblástica infantil, méduloblastoma infantil, linfoma infantil no Hodgkin, tumores pineales y neuroectodérmicos primitivos supratentoriales infantiles, cáncer de hígado primario infantil, rhabdomyosarcoma infantil, sarcoma de tejido blando infantil, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica, cáncer de colon, linfoma cutáneo de células T, carcinoma pancreático endocrino de células de los islotes, cáncer de endometrio, endodimoma, cáncer epitelial, cáncer de esófago, sarcoma de Ewing y tumores relacionados, cáncer pancreático exocrino, tumor extracraneal de células germinales, tumor de células germinales extragonadales, cáncer de vías biliares extrahepáticas, cáncer de ojos, cáncer de mama femenino, enfermedad de Gaucher, cáncer de vesícula biliar, cáncer gástrico, tumor carcinoide gastrointestinal, tumores gastrointestinales, tumores de células germinales, tumor trofoblástico gestacional, leucemia de células vellosas, cáncer de cabeza y cuello, cáncer hepatocelular, enfermedad de Hodgkin, linfoma de Hodgkin, hipergammaglobulinemia, cáncer hipofaríngeo, cánceres intestinales, melanoma intraocular, carcinoma de células de los islotes, cáncer pancreático de las células de los islotes, sarcoma de Kaposi, cáncer de riñón, cáncer de laringe, cáncer de labio y cavidad oral, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, trastornos linfoproliferativos, macroglobulinemia, cáncer de mama masculino, mesotelioma maligno, timoma maligno, méduloblastoma, melanoma, mesotelioma, cáncer de cuello escamoso metastásico con tumor primario oculto, cáncer de cuello escamoso primario metastásico, cáncer de cuello escamoso metastásico, mieloma múltiple, mieloma múltiple/neoplasia de células plasmáticas, síndrome de mielodisplasia, leucemia mielógena, leucemia mieloide, trastornos mieloproliferativos, cáncer de la cavidad nasal y del seno paranasal, cáncer nasofaríngeo, neuroblastoma, linfoma no Hodgkin durante el embarazo, cáncer de piel no melanómico, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de cuello escamoso metastásico primario oculto, cáncer orofaríngeo, osteosarcoma/sarcoma fibroso maligno, osteosarcoma/histiocitoma fibroso maligno, osteosarcoma/histiocitoma fibroso maligno óseo, cáncer epitelial de ovarios, tumor de células germinales ováricas, tumor ovárico de bajo potencial maligno, cáncer de páncreas, paraproteinemias, púrpura, cáncer paratiroideo, cáncer de pene, feocromocitoma, tumor pituitario, neoplasia de células plasmáticas/mieloma múltiple, linfoma primario del sistema nervioso central, cáncer de hígado primario, cáncer de próstata, cáncer rectal, cáncer de células renales, pelvis renal y uréter, retinoblastoma, rhabdomyosarcoma, cáncer de las glándulas salivales, sarcomas de sarcoidosis, síndrome de Sezary, cáncer de piel, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de intestino delgado, sarcoma de tejidos blandos, cáncer de cuello escamoso, cáncer de estómago, tumores suprantoriales primitivos neuroectodérmicos y pineales, linfoma de células T, cáncer testicular, timoma, cáncer de tiroides, cáncer de células transicionales de la pelvis renal y uréter, cáncer transicional de la pelvis renal y del uréter, tumores trofoblásticos, cáncer de uréter y de células de pelvis renal, cáncer de uretra, cáncer de útero, sarcoma uterino, cáncer de vagina, glioma de vías ópticas e hipotalámico, cáncer de vulva, macroglobulinemia de Waldenstrom, tumor de Wilms y cualquier otra enfermedad hiperproliferativa, además de las neoplasias, que se encuentre en un sistema de órganos enumerado anteriormente.

Normalmente la composición de la presente invención es útil para el tratamiento del cáncer de mama, sarcoma de tejidos blandos, cáncer de colon, cáncer gástrico, glioma, carcinoma hepatocelular, cáncer de riñón, leucemia, cáncer de pulmón, linfoma, melanoma, mieloma múltiple, cáncer ovárico, cáncer de páncreas, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de tiroides o cáncer de próstata, de manera ventajosa del cáncer de mama, cáncer de colon, melanoma, cáncer ovárico o cáncer de páncreas, sobre todo del cáncer de mama o del cáncer ovárico.

Según la presente invención, el tratamiento sirve para aumentar la efectividad de un agente quimioterapéutico.

También se describen composiciones farmacéuticas que contienen antagonistas como los definidos anteriormente. Por lo tanto dichos antagonistas se pueden combinar con excipientes farmacéuticamente aceptables y opcionalmente con matrices de liberación sostenida, tales como polímeros biodegradables, para formar composiciones terapéuticas.

“Farmacéuticamente” o “farmacéuticamente aceptable” se refiere a entidades moleculares y composiciones que no producen una reacción adversa, alérgica u otra reacción desfavorable cuando se administran a un mamífero, sobre todo a un ser humano, si es conveniente. Vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable se refiere a una carga sólida, semisólida o líquida, a un diluyente, a un material de encapsulación o a cualquier tipo de material auxiliar de formulación que no sean tóxicos.

La forma de las composiciones farmacéuticas, la vía de administración, la dosis y el régimen dependen naturalmente de la afección que debe tratarse, de la gravedad de la enfermedad, de la edad, del peso y del sexo del paciente, etc.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden formular para una administración tópica, oral, parenteral, intranasal, intravenosa, intramuscular, subcutánea o intraocular y similares.

Preferiblemente las composiciones farmacéuticas contienen vehículos que son farmacéuticamente aceptables para una formulación inyectable; en concreto pueden ser soluciones salinas isotónicas estériles (de fosfato monosódico o disódico, cloruro sódico, potásico, cálcico o magnésico y similares o de mezclas de dichas sales) o composiciones secas, en particular liofilizadas, que después de añadir agua esterilizada o solución salina fisiológica, según el caso, permiten la constitución de soluciones inyectables.

65

Las dosis usadas para la administración se pueden adaptar en función de diversos parámetros y en particular según el modo de administración empleado, la patología relevante o, alternativamente, la duración deseada del tratamiento.

5 Para preparar composiciones farmacéuticas se puede disolver o dispersar una cantidad efectiva de antagonistas en un vehículo o medio acuoso farmacéuticamente aceptable.

10 Las formas farmacéuticas idóneas para usar como inyectables incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles, formulaciones que llevan aceite de sésamo, aceite de cacahuete o propilenglicol acuoso, y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. En cualquier caso la forma tiene que ser estéril y fluida para facilitar la inyección. Tiene que ser estable en las condiciones de elaboración y almacenamiento y debe preservarse contra la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos.

15 Las soluciones de los compuestos activos, en forma de base libre o de sal farmacéuticamente aceptable, se pueden preparar en agua mezclada convenientemente con un surfactante tal como la hidroxipropilcelulosa. Las dispersiones también se pueden preparar en glicerina, polietilenglicoles líquidos y mezclas de ellos en aceites. En las condiciones normales de almacenamiento y empleo estas preparaciones contienen un conservante para evitar el crecimiento de microorganismos.

20 Los antagonistas de la presente invención se pueden formular como composiciones en forma neutra o salina. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de adición de ácido (formadas con los grupos amino libres de la proteína), que se forman con ácidos inorgánicos como, por ejemplo, los ácidos clorhídrico o fosfórico, o con ácidos orgánicos tales como acético, oxálico, tartárico, mandélico y similares. Las sales formadas con los grupos carboxilo libres también pueden derivarse de bases inorgánicas como, por ejemplo, los hidróxidos de sodio, potasio, amonio, calcio o hierro, y de bases orgánicas tales como isopropilamina, trimetilamina, histidina, procaína y similares.

25 El vehículo también puede ser un disolvente o un medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerina, propilenglicol y polietilenglicol líquido y similares), mezclas adecuadas de los mismos y aceites vegetales. La fluidez apropiada se puede conservar, por ejemplo, usando un revestimiento de lecitina, manteniendo el tamaño de partícula requerido en el caso de las dispersiones y mediante el empleo de surfactantes. La acción de los microorganismos se puede evitar con diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, como por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, tiomersal y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares o cloruro sódico.

35 La absorción prolongada de las composiciones inyectables se puede lograr añadiendo a las composiciones agentes que retardan la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

40 Las soluciones inyectables estériles se preparan incorporando la cantidad requerida de los compuestos activos, junto con varios de los otros ingredientes enumerados anteriormente, según lo requerido, al disolvente apropiado y luego se esterilizan por filtración.

45 En general las dispersiones se preparan incorporando los diversos ingredientes activos esterilizados a un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y otros ingredientes necesarios entre los enumerados anteriormente. En el caso de polvos esterilizados para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos preferidos de preparación son las técnicas de secado al vacío y liofilización, mediante las cuales se obtiene un polvo del ingrediente activo más cualquier otro ingrediente deseado, procedente de una solución del mismo previamente esterilizada por filtración.

50 También se contempla la preparación de soluciones más concentradas o muy concentradas para la inyección directa, en la cuales se prevé el empleo de DMSO como disolvente para conseguir una penetración extremadamente rápida, administrando altas concentraciones de los agentes activos a un área tumoral pequeña.

55 Una vez formuladas, las soluciones se administrarán de manera compatible con la formulación de las dosis y en una cantidad que sea terapéuticamente efectiva. Las formulaciones se administran fácilmente mediante una variedad de formas de dosificación, tales como el tipo de soluciones inyectables descritas anteriormente, pero también se pueden emplear cápsulas de liberación de fármacos y similares.

60 Para la administración parenteral en solución acuosa, por ejemplo, la solución debe tamponarse adecuadamente, si es preciso, y el diluyente líquido debe isotonicarse primero con suficiente solución salina o glucosa. Estas soluciones acuosas particulares son especialmente adecuadas para la administración intravenosa, intramuscular, subcutánea e intraperitoneal. A este respecto, los expertos en la técnica conocerán medios acuosos estériles que se pueden emplear teniendo en cuenta la presente descripción. Por ejemplo, una dosis podría disolverse en 1 ml de solución isotónica de NaCl y agregarse a 1.000 ml de fluido de hipodermoclisis o inyectarse en el sitio de infusión propuesto (véase por ejemplo "Remington's Pharmaceutical Sciences" 15ª edición, páginas 1035-1038 y 1570-1580). Necesariamente habrá alguna variación en la dosificación, dependiendo del estado del sujeto sometido al tratamiento. La persona responsable de la administración determinará en cualquier caso la dosis apropiada para el sujeto concreto.

65

Los antagonistas se pueden formular en una mezcla terapéutica que contenga aproximadamente 0,0001 hasta 1,0 miligramos, o aproximadamente 0,001 hasta 0,1 miligramos, o aproximadamente 0,1 hasta 1,0 o incluso hasta 10 miligramos aproximadamente por dosis. También se pueden administrar dosis múltiples.

5 Además de los compuestos formulados para la administración parenteral, como por ejemplo inyección intravenosa o intramuscular, otras formas farmacéuticamente aceptables son p.ej. tabletas u otras formas sólidas de administración oral, cápsulas de liberación prolongada y cualquier otra forma actualmente utilizada.

10 En ciertas formas de ejecución se contempla el uso de liposomas y/o nanopartículas para introducir anticuerpos en las células huésped. La formación y uso de liposomas y/o nanopartículas son conocidos de los expertos en la técnica.

15 Las nanocápsulas pueden incluir generalmente compuestos de manera estable y reproducible. Para evitar los efectos secundarios debido a la sobrecarga polimérica intracelular, estas partículas ultrafinas (con un tamaño aproximado de 0,1 µl) se diseñan en general con polímeros capaces de degradarse in vivo. En la presente invención se contempla el uso de nanopartículas de polialquil-cianoacrilato biodegradables que cumplen estos requisitos, y dichas partículas son fáciles de producir.

20 Los liposomas se forman a partir de fosfolípidos que se dispersan en un medio acuoso formando espontáneamente vesículas de dos capas concéntricas multilaminares (también denominadas vesículas multilaminares (VML)). Las VML tienen en general diámetros de 25 nm hasta 4 µm. La sonicación de las VML produce pequeñas vesículas unilaminares (VUL) de diámetro comprendido en el intervalo de 200 a 500 Å, que contienen una solución acuosa en el núcleo. Las características físicas de los liposomas dependen del pH, de la fuerza iónica y de la presencia de cationes divalentes.

25 También se revelan kits que comprenden los antagonistas revelados. Los kits que contienen dichos antagonistas de la invención se pueden usar en ensayos diagnósticos y terapéuticos.

Diagnosticas

30 Se revela un método diagnóstico útil para la diagnosis de enfermedades mediadas por IL-17, tales como los trastornos neoplásicos, incluyendo tumores sólidos, que consiste en medir el nivel de expresión de la proteína IL-17 o transcrito en tejidos u otras células o fluidos corporales de un individuo y comparar el nivel de expresión medido con un nivel de expresión de IL-17 estándar en un tejido o fluido corporal normal, de manera que un aumento en el nivel de expresión respecto al estándar es indicativo de un trastorno.

35 Los anticuerpos anti-IL-17 y los fragmentos, variantes y derivados de los mismos que se unen a antígenos, pueden usarse para comprobar los niveles de proteína IL-17 en una muestra biológica utilizando métodos inmunohistológicos clásicos conocidos de los expertos en la técnica (véase p.ej. Jalkanen y otros, *J. Cell. Biol.* 101:976-985 (1985); Jalkanen y otros, *J. Cell Biol.* 105:3087-3096 (1987)). Otros métodos útiles basados en anticuerpos para detectar la expresión de la proteína IL-17 incluyen inmunoensayos tales como el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), la inmunoprecipitación o el ensayo Western blot.

45 Con el "ensayo del nivel de expresión del polipéptido o isoforma de IL-17" se pretende medir o estimar cualitativa o cuantitativamente el nivel de polipéptido IL-17 en una primera muestra biológica, bien directamente (p.ej. determinando o estimando el nivel absoluto de proteína) o relativamente (p.ej. comparando el nivel de polipéptido correspondiente a la enfermedad en una segunda muestra biológica). Preferiblemente, el nivel de expresión del polipéptido IL-17 en la primera muestra biológica se mide o estima y se compara con un nivel de polipéptido IL-17 estándar que se toma de una segunda muestra biológica obtenida de un individuo que no tiene el trastorno o se determina promediando niveles de una población de individuos que no tienen el trastorno. Como se apreciará en la técnica, una vez conocido el nivel "estándar" de polipéptido IL-17, se puede usar repetidamente como patrón comparativo.

50 Por "muestra biológica" se entiende cualquier muestra biológica obtenida de un individuo, línea celular, cultivo de tejido u otra fuente de células que expresen potencialmente IL-17. Los métodos para obtener biopsias de tejidos y fluidos corporales de mamíferos son bien conocidos en la técnica.

55 Los anticuerpos anti-IL-17 para usar en los métodos diagnósticos descritos anteriormente en esta sección pretenden incluir los anticuerpos anti-IL-17 o fragmentos, variantes o derivados que se describen detalladamente en otra parte de este documento, como si estuvieran enumerados por separado en esta sección.

60 La práctica de la presente invención empleará, a no ser que se indique lo contrario, técnicas convencionales de biología celular, cultivo celular, biología molecular, biología transgénica, microbiología, ADN recombinante e inmunología que forman parte del estado técnico. Estas técnicas están explicadas de forma completa en la literatura. Véase por ejemplo Sambrook y otros, ed. (1989) *Molecular Cloning A Laboratory Manual* (2ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press); Sambrook y otros, ed. (1992) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Cold Springs Harbor Laboratory, NY); D. N. Glover ed., (1985) *DNA Cloning*, volúmenes I y II; Gait, ed. (1984) *Oligonucleotide Synthesis*; Mullis y otros Pat. U.S. nº 4,683.195; Hames y Higgins, eds. (1984) *Acid Nucleic Hybridization*; Hames y Higgins, eds. (1984) *Transcription And Translation*; Freshney (1987) *Culture Of Animal Cells* (Alan R. Liss, Inc.); *Immobilized Cells And Enzymes* (IRL

Press) (1986); Perbal (1984) A Practical Guide To Molecular Cloning; el tratado Methods In Enzymology (Academic Press, Inc., N.Y.); Miller y Calos, eds. (1987) Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells (Cold Spring Harbor Laboratory); Wu y otros, eds., Methods In Enzymology, vols. 154 y 155; Mayer y Walker, eds. (1987) Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Academic Press, Londres); Weir y Blackwell, eds., (1986) Handbook Of Experimental Immunology, volúmenes I-IV; Manipulating the Mouse Embryo, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., (1986); y en Ausubel y otros (1989) Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley and Sons, Baltimore, MD).

Los principios generales de la ingeniería de anticuerpos se exponen en Borrebaeck, ed. (1995) Antibody Engineering (2ª ed., Oxford Univ. Press). Los principios generales de la ingeniería de proteínas se exponen en Rickwood y otros, eds. (1995) Protein Engineering, A Practical Approach (IRL Press en Oxford Univ. Press, Oxford, Inglaterra). Los principios generales de los anticuerpos y de la unión anticuerpo-hapteno se exponen en: Nisonoff (1984) Molecular Immunology (2ª ed., Sinauer Associates, Sunderland, MA); y Steward (1984) Antibodies, Their Structure and Function (Chapman y Hall, Nueva York, N.Y.). Además, los métodos estándar de inmunología conocidos en el estado técnico y no descritos específicamente se encuentran en publicaciones generales como Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, Nueva York; Stites y otros, eds. (1994) Basic and Clinical Immunology (8ª ed, Appleton y Lange, Norwalk, Connecticut) y Mishell y Shiigi (eds) (1980) Selected Methods in Cellular Immunology (W.H. Freeman and Co., NY).

Las obras de referencia estándar que establecen principios generales de inmunología incluyen: Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, Nueva York; Klein (1982) J., Immunology: The Science of Self-Non Discrimination (John Wiley & Sons, NY); Kennett y otros, eds. (1980) Monoclonal Antibodies, Hybridoma: A New Dimension in Biological Analyses (Plenum Press, NY); Campbell (1984) "Monoclonal Antibody Technology" en Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, ed. Burden y otros, (Elsevier, Amsterdam); Goldsby y otros, eds. (2000) Kuby Immunology (4ª ed., H. Freeman & Co.); Roitt y otros. (2001) Immunology (6ª ed., London: Mosby); Abbas y otros. (2005) Cellular and Molecular Immunology (5ª ed., Elsevier Health Sciences Division); Kontermann y Dubel (2001) Antibody Engineering (Springer Verlag); Sambrook y Russell (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Press); Lewin (2003) Genes VIII (Prentice Hall 2003); Harlow y Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Press); Dieffenbach y Dveksler (2003) PCR Primer (Cold Spring Harbor Press).

La presente invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos, que no pretenden ser limitativos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1: (A) expresión de IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17RB (receptor de IL-17B) e IL-17RE (receptor de IL-17C) en biopsias de cáncer de mama humano. La expresión del ARNm de IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17RB e IL-17RE se analizó por RT-QPCR en biopsias de mama normales (normal) y en tumores de mama de diversos grados (de grado I a IV). (B) Datos de coexpresión en 3 biopsias de cáncer de mama humano.

Figura 2: la expresión elevada de IL-17B predice una peor supervivencia sin recaída (SSR) en pacientes con cáncer de mama. La expresión de IL-17B en una cohorte de 285 muestras primarias de carcinoma de mama se analizó en chips Affymetrix. En el subgrupo basal la expresión elevada de IL-17B (línea gris) se relacionó significativamente con una SSR más pobre.

Figura 3: expresión de IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17RB (receptor de IL-17B) e IL-17RE (receptor de IL-17C) en biopsias de cáncer de páncreas humano. La expresión de ARNm de IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17RB e IL-17RE se analizó por RT-QPCR en biopsias de páncreas normales (normal) y en tumores pancreáticos.

Figura 4: expresión de IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17RB (receptor de IL-17B) e IL-17RE (receptor de IL-17C) en biopsias de cáncer de colon humano. La expresión de ARNm de IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17RB e IL-17RE se analizó por RT-QPCR en biopsias de colon normales (normal) y en tumores de colon.

Figura 5: expresión de IL-17D en colon humano normal, cáncer de colon primario y metástasis de cáncer de colon. La expresión de IL-17D en biopsias de colon normal, cáncer de colon primario y metástasis de cáncer de colon se analizó en chips Affymetrix.

Figura 6: expresión de IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17RB (receptor de IL-17B) e IL-17RE (receptor de IL-17C) en líneas celulares de cáncer humano. ARNm: (A) = colon; (B) = mama; (C) = melanoma; (D) = ovario. La expresión de IL17B, IL17C, IL17D, IL17E e IL17F se analizó por RT-QPCR en diversas líneas celulares humanas.

Figura 7: la IL-17B aumenta la proliferación de células de cáncer de mama. Las células T47D (A), MCF7 (B), MDA-MB436 (C) y MDA-MB468 (D) se cultivaron en un medio completo adecuado complementado con dosis crecientes de IL-17B humana recombinante, del modo indicado. La proliferación celular se evaluó a las 72 h empleando el protocolo de incorporación de timidina tritiada ([3H]-TdR).

Figura 8: la IL-17B aumenta la migración y la invasión de células de cáncer de mama y de ovario. Las células OAW42 (ovario, A) y MCF7 (mama, B) se cultivaron en un medio completo adecuado, solo (Ctl) o suplementado con 100 ng/ml de IL-17B humana recombinante (IL-17B), del modo indicado. La migración celular se evaluó mediante un ensayo de migración Transwell. (C) Se cultivaron células OAW42 durante 14 días en un medio completo adecuado, solo (Ctl) o se suplementado con 100 ng/ml de IL-17B humana recombinante (IL-17B), del modo indicado. Después se evaluó la invasividad celular en cámaras de invasión Matrigel.

Figura 9: la IL-17B inhibe la muerte celular inducida por docetaxel y doxorubicina.

Se cultivaron células de mama MCF7 (A), T47D (B), MDA-MB436 (C), BT20 (D) y MDA-MB468 (E) durante 48 h en medio completo adecuado, solo (medio) o tratado con 1 o 10 ng/ml de IL-17B humana recombinante según lo indicado. Después las células se cultivaron en un medio libre de suero fetal bovino (FCS) suplementado con la correspondiente concentración de citocina durante 24 h y luego se suplementaron además con 5, 10, 20 o 40 µg/ml de docetaxel, del modo indicado, durante 7 h. Se determinó el porcentaje de muerte celular (= citotoxicidad) usando el kit de detección de citotoxicidad (Roche). (F) Se cultivaron células MCF7 durante 48 h en un medio completo adecuado, solo (medio) o tratado con 1 o 10 ng/ml de IL-17B humana recombinante según lo indicado. A continuación las células se cultivaron en un medio libre de suero fetal bovino (FCS) suplementado con la correspondiente concentración de citocina durante 24 h y luego se complementaron con doxorubicina 20 o 30 µM, del modo indicado, durante 7 h. El porcentaje de muerte celular (= citotoxicidad) se determinó usando el kit de detección de citotoxicidad (Roche).

Figura 10: la IL-17C y la IL-17D aumentan la proliferación de células de cáncer de mama y de ovario. Se cultivaron células OAW42 (ovario, A), MCF7 (mama, B) y T47D (mama, C) en un medio completo adecuado suplementado con dosis crecientes de IL-17C humana recombinante, según lo indicado. La proliferación celular se evaluó a las 72 h empleando el protocolo de incorporación de timidina tritiada ([3H]-TdR). Las células OAW42 (D), MCF7 (E) y T47D (F) se cultivaron en medio completo adecuado suplementado con dosis crecientes de IL-17D humana recombinante, según lo indicado. La proliferación celular se evaluó a las 72 h usando el protocolo de incorporación de timidina tritiada ([3H]-TdR).

Figura 11: la IL-17C y la IL-17D aumentan la invasión de las células de cáncer de mama MDA-MB231. Se cultivaron células MDA-MB231 durante 2 días en un medio adecuado completo, solo (medio) o suplementado con 100 ng/ml de IL-17B, IL-17C o IL-17D humana recombinante según lo indicado. Después se evaluó la invasividad celular en cámaras de invasión Matrigel (A, fotomicrografías representativas, B, cuantificación).

Figura 12: la IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E e IL-17F aumentan la producción de IL-6 proinflamatoria por fibroblastos dérmicos humanos normales (NHDF). Se cultivaron células NHDF durante 24 h en un medio adecuado completo, solo (medio) o en presencia de 30 ng/ml de IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E o IL-17F humana recombinante, según lo indicado. Todas las isoformas aumentaron la producción de IL-6 proinflamatoria por NHDF.

EJEMPLOS

Procedimientos experimentales

Cultivo celular

Se cultivaron las líneas celulares HCT116, HT29 y SKOV3 en un medio McCoy5a (Life Technologies) suplementado con 10% de FCS, 2% de glutamina y 1% de antibióticos (Life Technologies). Las líneas celulares MCF7, T47D, MDA-MB231 y BT20 se cultivaron en medio RPMI 1640 suplementado como arriba. Las líneas celulares SKMEL5, LOVO, OAW42, MDA-MB435S, MDA-MB436, MDA-MB468 y fibroblastos dérmicos humanos normales (NHDF) se cultivaron en un medio DMEM/F12 (Life Technologies) suplementado igual que arriba. La línea celular MCF10A se mantuvo en un medio DMEM/F12 (Life Technologies) suplementado igual que arriba, más 10 µg/ml de insulina, 0,5 µg/ml de hidrocortisona, 20 ng/ml de EGF y 100 ng/ml de toxina del cólera. La línea celular MDA-MB157 se cultivó en un medio DMEM (Life Technologies) suplementado con 10% de FCS, 2% de glutamina y 1% de antibióticos. Todas las células se mantuvieron a 37°C en un incubador con atmósfera de CO₂ al 5%.

Ensayo de proliferación celular ([3H]-TdR)

Se siembran 400 células por pocillo en una placa de 96 pocillos (Corning) y se mantienen durante la noche en un medio completo adecuado. Luego se retira el medio y se reemplaza con un medio completo adecuado suplementado con 0 hasta 100 ng/ml de citosinas, según lo indicado. Cada tipo de prueba se realiza por triplicado. Después de 72 h de cultivo las células se pulsaron durante 16 h con timidina tritiada ([3H]-TdR) (0,5 µCi) y se recolectaron. La captación de [3H]-TdR se midió usando un contador de microplacas PerkinElmer micro β2 2450.

Extracción de ARNm y síntesis de ADNc

Se aisló el ARN total con el kit de ARN total de mamíferos GenElute™ (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) siguiendo las instrucciones del fabricante. El ARN total (1 µg) se trató con 1 U de DNasa grado de amplificación I (Invitrogen)/µg de ARN, de acuerdo con las instrucciones del fabricante y en presencia de 10 U de RNasaOUT (Invitrogen)/µg de ARN.

Tras la inactivación de la DNasa, el ARN se transcribió de forma inversa usando nonúmeros aleatorios (Promega, Madison, WI) y transcriptasa inversa M-MLV H Minus (Promega), de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Muestras de ADNc de cáncer de mama, páncreas y colon

5 Se adquirieron a ORIGENE muestras listas para usar de ADNc de mama normal y de cáncer de mama (figura 1), muestras de ADNc de páncreas normal y de cáncer de páncreas (figura 3) y muestras de ADNc de colon normal y de cáncer de colon (figura 4).

10 Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa del ARNm transcrito de forma inversa (RT-QPCR)

Los cebadores directo e inverso utilizados en la reacción de PCR se diseñaron con el programa Primer-BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>), excepto para la GAPDH (Mayer y otros, 2002). La cuantificación mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real se realizó con el sistema LightCycler 480 II (Roche Diagnostics), usando el kit SYBR Premix Ex Taq (Tli RNaseH Plus) (Ozyme). Las condiciones de ciclado fueron las siguientes: 95°C durante 1 minuto seguido de 40 ciclos de 95°C durante 20 s, 60°C durante 20 s y 72°C durante 30 s. Los tamaños de los productos de RT-PCR se confirmaron mediante electroforesis en agarosa. Al final de la amplificación se realizó en todos los casos un análisis rutinario de la temperatura de fusión de los productos génicos amplificados; los productos de PCR se fundieron aumentando gradualmente la temperatura de 60 hasta 95°C a intervalos de 0,3°C, y las curvas de disociación fueron generadas por la herramienta de análisis Melting Curve del programa LightCycler 480 (Roche Diagnostics). Confirmamos que solo un producto se amplificó consistentemente en todas las reacciones de PCR. El control negativo de agua no mostró ninguna amplificación. La expresión relativa de los genes de interés normalizados a GAPDH o ACTINA se determinó mediante el método delta Ct.

15

20

Gen y acceso al GenBank	Secuencia del cebador
IL17B # NM_014443.2	5'-GCCACTGGACCTGGTGTACG-3' (SEQ ID NO : 1)
	5'-CTGGGGTCGTGGTTGATGCTGT-3' (SEQ ID NO : 2)
IL17C # NM_013278.3	5'-TGCCAAGTGGGGGCAGGCTT-3' (SEQ ID NO : 3)
	5'-CGTGTCCACACGGTATCTCCAGGG-3' (SEQ ID NO : 4)
IL17D # NM_138284.1	5'-GCCCTGGGCCTACAGAATCTCCT-3' (SEQ ID NO : 5)
	5'-CCTCGGTGTAGACGGAACGGC-3' (SEQ ID NO : 6)
IL17RB # NM_018725.3	5'-TACCCCGAGAGCCGACCGTT-3' (SEQ ID NO : 7)
	5'-GGCATCTGCCCGGAGTACCCA-3' (SEQ ID NO : 8)
IL17RE # NM_153480.1	5'-CCACCTTCAGGCCATGCAGCC-3' (SEQ ID NO : 9)
	5'-CTGTCATCCGTGTGGGAGGCCA-3' (SEQ ID NO : 10)
GAPDH	5'-GAAGGTGAAGGTCCGAGTCA-3' (SEQ ID NO : 11)
	5'-GACAAGCTTCCCGTTCTCAG-3' (SEQ ID NO : 12)
ACTINA	5'-CAGCCATGTACGTTGCTATCCAGG-3' (SEQ ID NO : 13)
	5'-AGGTCCAGACGCAGGATGGCATG-3' (SEQ ID NO : 14)

Ensayo de migración

- 5 Se sembraron 20.000 células en la cámara superior de cámaras Transwell en un medio adecuado de FCS al 1%, solo (medio) o suplementado con IL-17B humana recombinante (100 ng/ml) durante 22 horas a 37°C según lo indicado. Las células se tiñeron en el Transwell con violeta cristal al 0,5% antes de la obtención de imágenes y del recuento. Se contó el número de células migradas al Transwell (x 4 aumentos). El gráfico muestra los datos tras la cuantificación en % de migración celular respecto a las células no tratadas. Los resultados son la media ± ESM de dos experimentos
- 10 independientes, cada uno realizado por triplicado.

Ensayo de invasión en Matrigel

- 15 Las células se cultivaron en un medio completo adecuado suplementado con 100 ng/ml de citocinas recombinantes durante 2 días (MDA-MB231) o 14 días (OAW42). Luego se usaron cámaras de invasión Matrigel (cámara de invasión BD BioCoat™ BD Matrigel™, insertos de cultivo celular de 24 pocillos) para estudiar la invasividad de las células cancerosas. Después se añaden $2 \cdot 10^4$ células al compartimento superior de las cámaras en un medio adecuado de FCS al 1%, solo o suplementado con 100 ng/ml de citocinas recombinantes, según lo indicado. Se añade a los pocillos inferiores de las cámaras un medio suplementado 10% de FCS. Las placas se incuban durante 22 horas a 37°C. Luego
- 20 los filtros Transwell se fijan y se tiñen en solución de Giemsa, tras lo cual se extraen las células no invasoras de la superficie superior de la membrana Transwell utilizando un bastoncillo de algodón. Se capturan digitalmente imágenes de las células de tres campos representativos y se cuenta el número de células presentes en el Transwell.

ELISA de IL-6

5 Se cultivaron fibroblastos dérmicos humanos normales (NHDF) en un medio completo, bien solo o suplementado con 30 ng/ml de IL-17B, IL17C o IL17D recombinante, según lo indicado. Tras 16 h de cultivo se recoge el sobrenadante. Se lleva a cabo un ELISA de IL-6 con un kit de desarrollo de IL-6 humano (PeproTech), siguiendo las instrucciones del fabricante.

Ensayo de citotoxicidad

10 Las células se sembraron en una placa de 96 pocillos (1.000 células/pocillo) en un medio completo adecuado, solo (medio) o tratado con 1 o 10 ng/ml de IL-17B humana recombinante, según lo indicado. Después de 48 h de cultivo se cambió el medio por otro exento de FCS suplementado con la correspondiente concentración de citocinas. Después de 24 h, el medio de cultivo se suplementa adicionalmente con 5, 10, 20 o 40 µg/ml de docetaxel o con doxorubicina 20 o 30 µM, según lo indicado. Como controles se usaron células no tratadas (medio de control) y células tratadas con Triton X100 (100% de muerte celular). Cada tipo de prueba se realizó por duplicado.

15 El porcentaje de muerte celular (= citotoxicidad) se determinó después de 7 h de cultivo en presencia de docetaxel o doxorubicina, utilizando el kit de detección de citotoxicidad (Roche) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. A tal fin se recogieron 100 µl del sobrenadante de cada pocillo en una placa de 96 pocillos y se incubaron con 100 µl de mezcla reactiva recién preparada durante 30 minutos a temperatura ambiente. Luego se leyó la densidad óptica a 490 nm. El porcentaje de citotoxicidad se calcula del modo siguiente: % = 100 x (valor de ensayo - valor del medio de control)/(valor de células tratadas de Triton X100 - valor del medio de control)

Perfilado de expresión génica

25 Se analizaron 285 muestras de carcinoma de mama primario procedentes del conjunto de datos CIT para el perfilado de la expresión en chips Affymetrix U133-Plus2.0 (Guedj M, A refined molecular taxonomy of breast cancer [*Taxonomía molecular refinada del cáncer de mama*], Oncogene (2012) 31, 1196-1206).

30 Se analizaron muestras de colon normal, carcinoma de colon y metástasis (Del Rio M, Gene Expression Signature in Advanced Colorectal Cancer Patients Select Drugs and Response for the Use of Leucovorin, Fluorouracil, and Irinotecan [*Firma de expresión génica en pacientes con cáncer colorrectal avanzado, fármacos selectos y respuesta al uso de leucovorina, fluorouracilo e irinotecán*], JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, 2007) para el perfilado de la expresión en Chips Affymetrix U133.

Resultados

EJEMPLO 1: las isoformas de IL-17 y sus receptores se expresan en cánceres humanos

40 En los cánceres humanos hay más IL-17A y células productoras de IL-17A (p.ej. células Th17). Sin embargo, no se conoce la expresión de otras isoformas de IL-17 (en particular de IL-17B, IL17C e IL17D). Por lo tanto, analizamos la expresión de IL-17B, IL17C e IL17D, así como la expresión de sus receptores (IL-17RB, receptor de IL-17B e IL-17RE, receptor de IL-17C) por RT-QPCR en varios biopsias de cáncer humano y líneas celulares de cáncer. Como se muestra en la figura 1A, la IL-17B, la IL-17C y la IL-17D estaban sobreexpresadas en algunas biopsias de cáncer de mama, en comparación con la mama normal. Asimismo, tanto la IL-17RB como la IL-17RE estaban sobreexpresadas en algunas biopsias de cáncer de mama, en comparación con la mama normal. La elevada expresión de IL-17B se relacionó de manera significativa con una peor SSR (supervivencia sin recaída), sobre todo en el subgrupo de tipo basal (figura 2). Como se muestra en la figura 3, en algunas biopsias de cáncer de páncreas se expresaron IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17RB e IL-17RE. En algunos casos de cáncer la IL-17C y la IL-17B estaban sobreexpresadas en comparación con el páncreas normal. Como se ilustra en la figura 4, IL-17C, IL-17D, IL-17RB e IL-17RE estaban sobreexpresadas en algunos tumores de colon, lo cual sugiere que pueden estar involucrados en la progresión del cáncer de colon. La sobreexpresión de la IL-17D en algunos cánceres de colon (tumores primarios y metástasis), en comparación con colon normal, se ejemplificó además en la figura 5. Como se muestra en la figura 6, las líneas celulares de cáncer humano ensayadas expresaron uno o varios de los siguientes genes: IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17RB e IL-17RE. Es interesante que la línea celular no cancerosa MCF10A no expresó IL-17B, IL-17C, IL-17 D o IL-17RB (sin embargo, expresó IL-17RE). Además, esto sugiere también que los IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17RB e IL-17RE se expresan y/o sobreexpresan en cánceres humanos y líneas celulares de cáncer, lo cual indica que pueden constituir dianas terapéuticas para el tratamiento de cáncer.

50 Como se ejemplifica en la figura 1B, varias biopsias de cáncer de mama expresaron dos o más isoformas de IL-17. En otras líneas similares, tal como se muestra en la figura 6, algunas líneas de células cancerosas expresaron varias isoformas de IL-17: la MCF7 expresó IL-17C y IL-17D, y la MDA-MB157 expresó IL-17B e IL-17D. Esto sugiere en conjunto que en algunos casos puede ser necesario tomar simultáneamente como diana dos o más isoformas o sus receptores para el tratamiento del cáncer.

60 En conclusión, todas las isoformas de IL-17 y sus receptores están sobreexpresados en los cánceres humanos. Tomar como diana una isoforma o un receptor o varias isoformas o varios receptores simultáneamente pueden ser opciones terapéuticas para el tratamiento del cáncer.

65

EJEMPLO 2: la IL-17B y la IL-17RB estimulan la proliferación de células cancerosas

Como la IL-17B y la IL-17RB están sobrerreguladas en los cánceres humanos (ejemplo 1), probamos si podían tener propiedades oncogénicas. Primero probamos si IL-17B alteraría la proliferación de células cancerosas humanas que expresan IL-17RB. Como se muestra en la figura 7, la IL-17B aumentó la proliferación de células de cáncer de mama T47D, MCF7, MDA-MB436 y MDA-MB468. Es interesante que la IL-17B no estimula la proliferación de las células MDA-MB231, las cuales no expresan la IL-17RB (datos no mostrados). Por tanto IL-17B e IL-17RB pueden promover el crecimiento tumoral al aumentar la proliferación de células cancerosas.

EJEMPLO 3: la IL-17B y la IL-17RB aumentan la migración e invasión de las células cancerosas

Probamos si la IL-17B puede aumentar la migración y la invasión de las células cancerosas que expresan IL-17RB. Los ensayos de la cámara de invasión Matrigel son útiles para evaluar la invasividad de las células cancerosas, que refleja la capacidad de las células tumorales para formar lesiones invasivas y metastatizar (Albini A y otros (1987) "A Rapid in Vitro Assay for Quantitating the Invasive Potential of Tumor Cells [*Ensayo rápido in vitro para cuantificar el potencial invasivo de las células tumorales*]" *Cancer Research* 47: 3239-3245). Como muestra la figura 8, la IL-17B incrementó la migración de células de cáncer de ovario OAW42 (figura 8A) y de células de cáncer de mama MCF7 (figura 8B). La IL-17B aumentó la invasividad de las células de cáncer de ovario OAW42 (figura 8C). Curiosamente la IL-17B no aumentó la invasión de las células MDA-MB231 que no expresan IL-17RB (figura 11). Por consiguiente, IL-17B e IL-17RB pueden promover la migración, invasión y metástasis de células cancerosas.

EJEMPLO 4: la IL-17B y la IL-17RB promueven la quimiorresistencia de las células cancerosas

Probamos si la IL-17B puede promover la resistencia a agentes quimioterapéuticos tales como el docetaxel y la doxorubicina. Como muestra la figura 9, la IL-17B disminuyó la muerte celular inducida por docetaxel en varias líneas celulares de cáncer de mama que expresan IL-17RB (figuras 9A-E). Además, la IL-17B también protegió las células de cáncer de mama MCF7 de la muerte celular inducida por doxorubicina (figura 9F). Por lo tanto, IL-17B e IL-17RB pueden promover quimiorresistencia.

EJEMPLO 5: la IL-17C, la IL-17D y la IL-17RE estimulan la proliferación de células cancerosas

Como IL-17C, IL-17D e IL-17RE están sobrerreguladas en cánceres humanos (ejemplo 1), probamos si podían tener propiedades oncogénicas. En primer lugar probamos si la IL-17C alteraría la proliferación de las células cancerosas humanas que expresan IL-17RE. Como muestran las figuras 10A-C, la IL-17C aumentó la proliferación de las células cancerosas OAW42, T47D y MCF7. Después probamos si la IL-17D alteraría la proliferación de células cancerosas humanas. Como muestran las figuras 10D-F, la IL-17D aumentó la proliferación de las células cancerosas OAW42 y MCF7. Por tanto IL-17B, IL-17C e IL-17RE pueden promover el crecimiento tumoral al aumentar la proliferación de células cancerosas.

EJEMPLO 6: la IL-17C, la IL-17D y la IL-17RE aumentan la invasión de las células cancerosas

Probamos si la IL-17C puede aumentar la invasión de células las cancerosas que expresan IL-17RE. Los ensayos de la cámara de invasión Matrigel son útiles para evaluar la invasión de células cancerosas, que refleja la capacidad de las células tumorales para formar lesiones invasivas y metastatizar (Albini A y otros. (1987) "A Rapid in Vitro Assay for Quantitating the Invasive Potential of Tumor Cells [*Ensayo rápido in vitro para cuantificar el potencial invasivo de las células tumorales*]" *Cancer Research* 47: 3239-3245). Como muestra la figura 11, la IL-17C aumentó la invasividad de las células de cáncer de mama MDA-MB231. Después probamos si la IL-17D podría aumentar la invasión de células de cáncer de mama. Como muestra la figura 11, la IL-17D aumentó la invasividad de las células de cáncer de mama MDA-MB231. Por lo tanto, IL-17C, IL-17D e IL-17RE pueden promover la invasión y metástasis de células cancerosas.

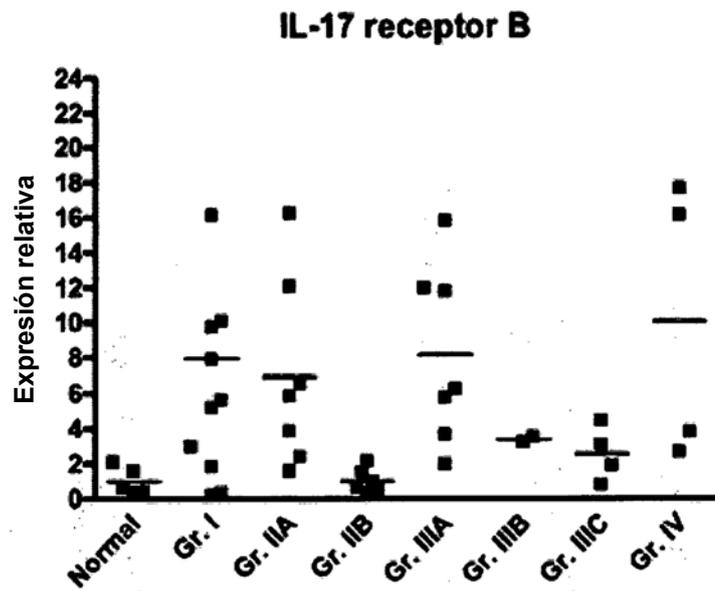
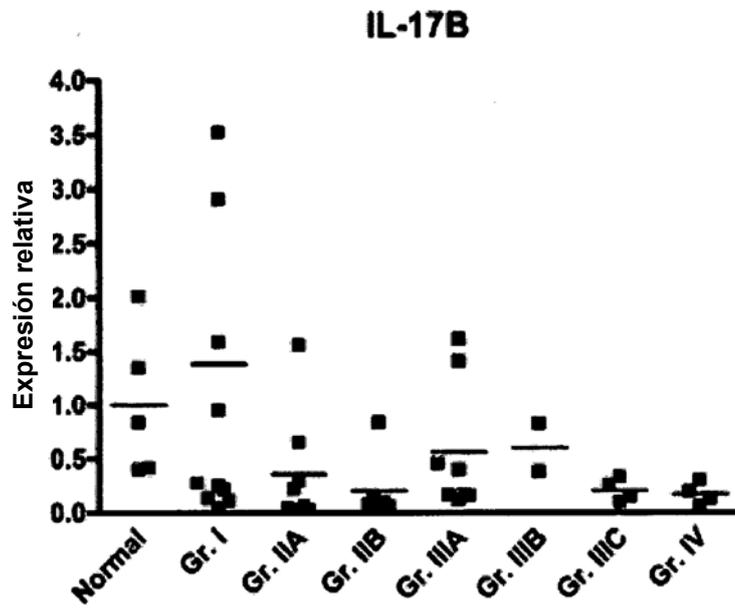
EJEMPLO 7: las isoformas de IL-17 inducen la secreción de IL-6 proinflamatoria en los fibroblastos dérmicos

La IL-17A es una conocida citocina proinflamatoria que es capaz de inducir la producción de diversos mediadores proinflamatorios, tales como IL-6. Por tanto probamos si las otras isoformas de IL-17 también inducían la secreción de mediadores proinflamatorios, como IL-6, por los fibroblastos dérmicos humanos normales (NHDF) que expresan IL-17RB e IL-17RE. Los NHDF se estimularon con IL-17B, IL17C o IL17D humana recombinante. Como se muestra en la figura 12, todas las isoformas analizadas aumentaron la secreción de IL-6 por NHDF. Por tanto IL-17B, IL17C, IL17D, IL-17RB e IL-17RE tienen actividad proinflamatoria y pueden estar implicadas en enfermedades inflamatorias crónicas o en enfermedades autoinmunes.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición que lleva al menos un antagonista de IL-17 de una isoforma de IL-17 para usar en el tratamiento del cáncer, en la cual la isoforma de IL-17 es IL-17B, donde el antagonista de IL-17 es un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo fijador de antígenos contra IL-17B o su receptor IL-17RB y donde el tratamiento consiste en aumentar la efectividad de un agente quimioterapéutico.
- 10 2. Composición para usar según la reivindicación 1, que sirve para el tratamiento del cáncer de mama, sarcoma de tejidos blandos, cáncer de colon, cáncer gástrico, glioma, carcinoma hepatocelular, cáncer de riñón, leucemia, cáncer de pulmón, linfoma, melanoma, mieloma múltiple, cáncer ovárico, cáncer pancreático, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de tiroides o cáncer de próstata.
- 15 3. Composición para usar según una de las reivindicaciones 1 y 2, que además lleva un antagonista de IL-17 de una isoforma de IL-17 que no es IL-17B.
- 20 4. Composición para usar según la reivindicación 3, en la cual el antagonista de IL-17 de una isoforma de IL-17 distinta de IL-17B es un antagonista de IL-17A.
5. Composición para usar según la reivindicación 2, que sirve para el tratamiento del cáncer de mama, cáncer de colon, melanoma, cáncer ovárico o cáncer pancreático.
- 25 6. Composición para usar según la reivindicación 5, que sirve para el tratamiento del cáncer de mama o del cáncer ovárico.

A/



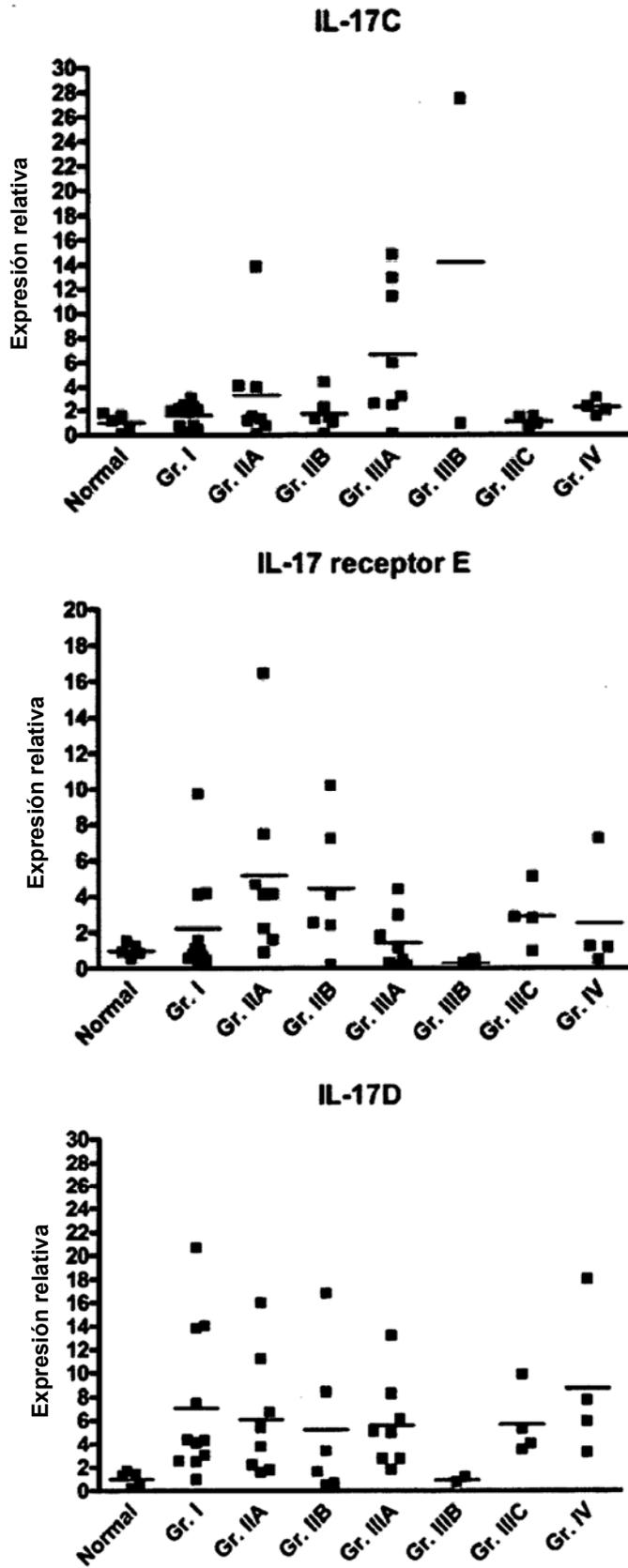


Figura 1

B/

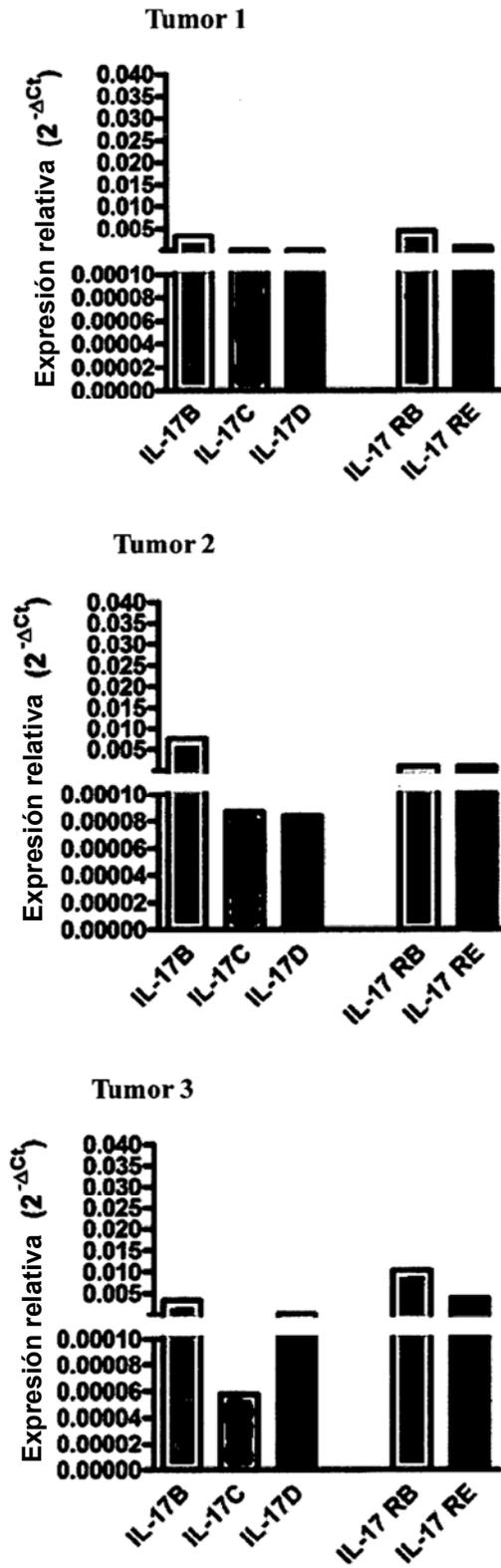
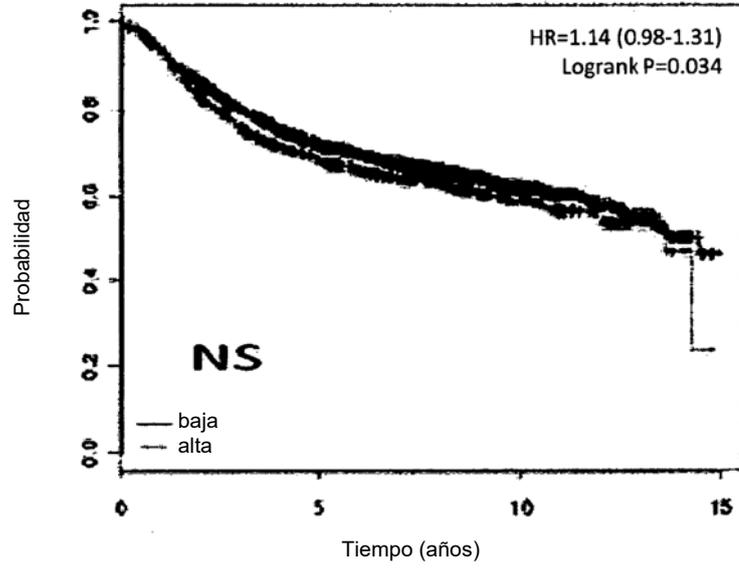


Figura 1

Todas las muestras

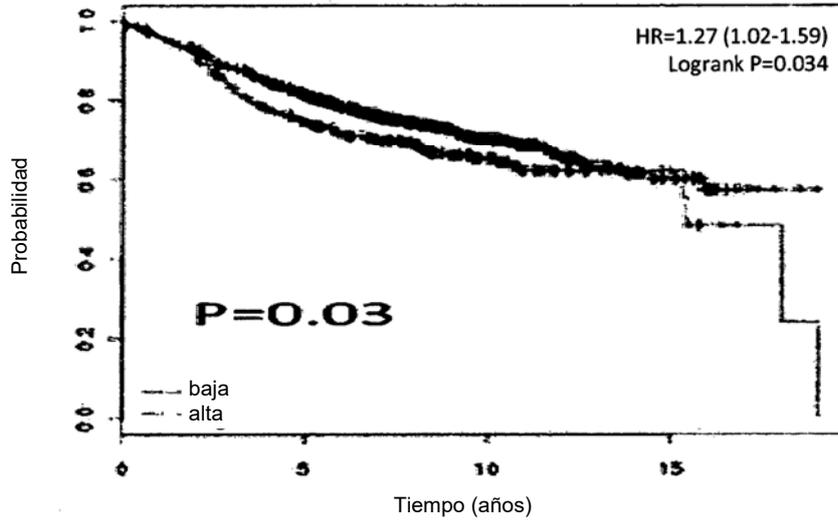
SSR



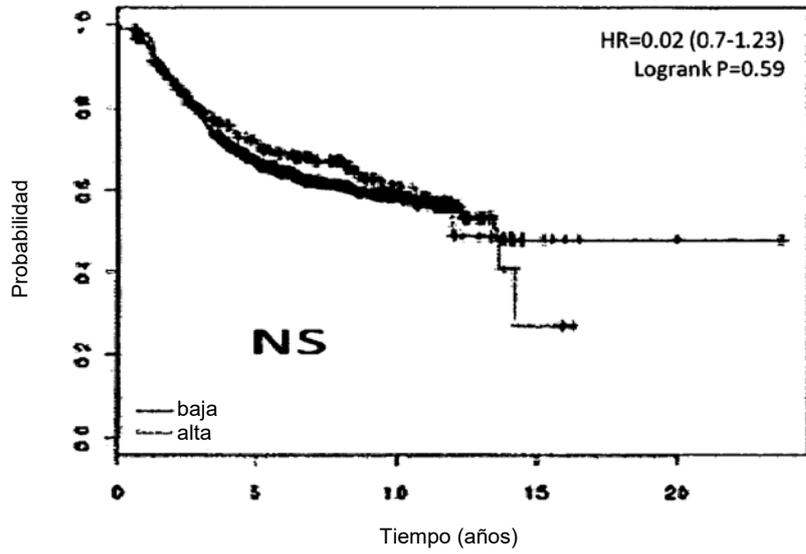
Cantidad en riesgo

2132	1294	421	0
677	381	114	0

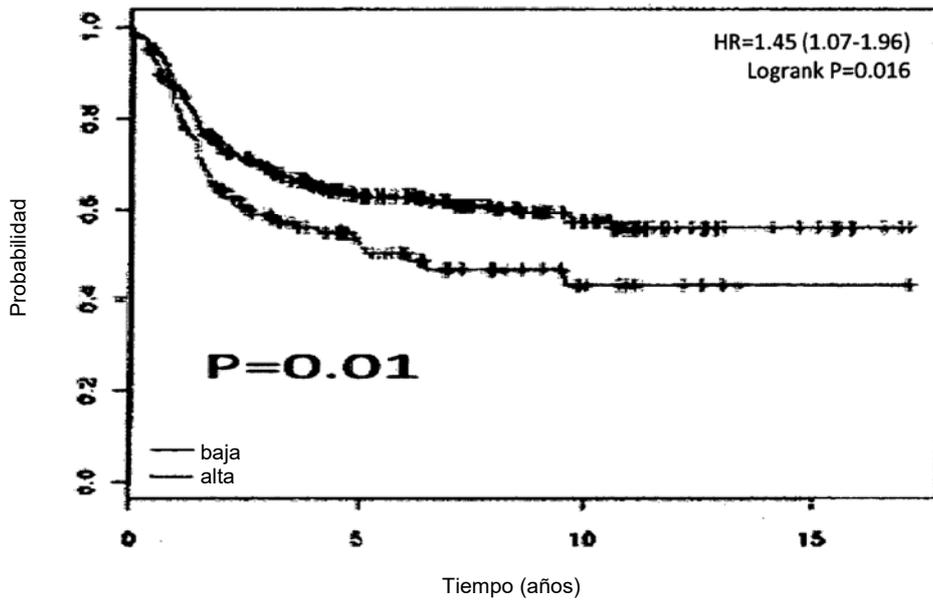
LumA



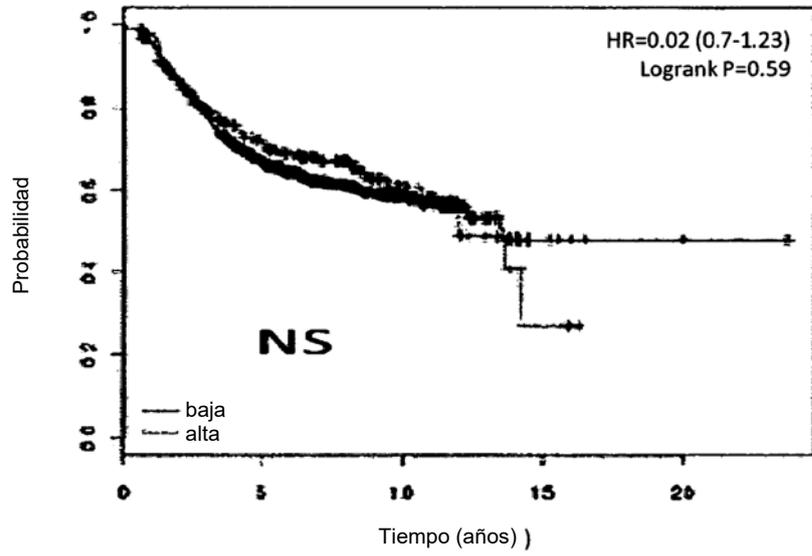
LumB



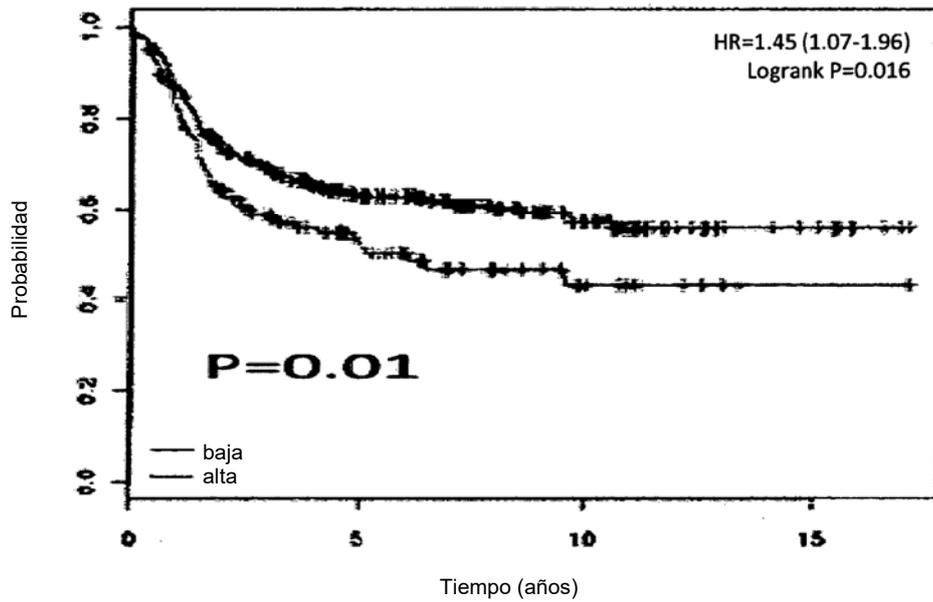
basal



LumB



basal



Her2

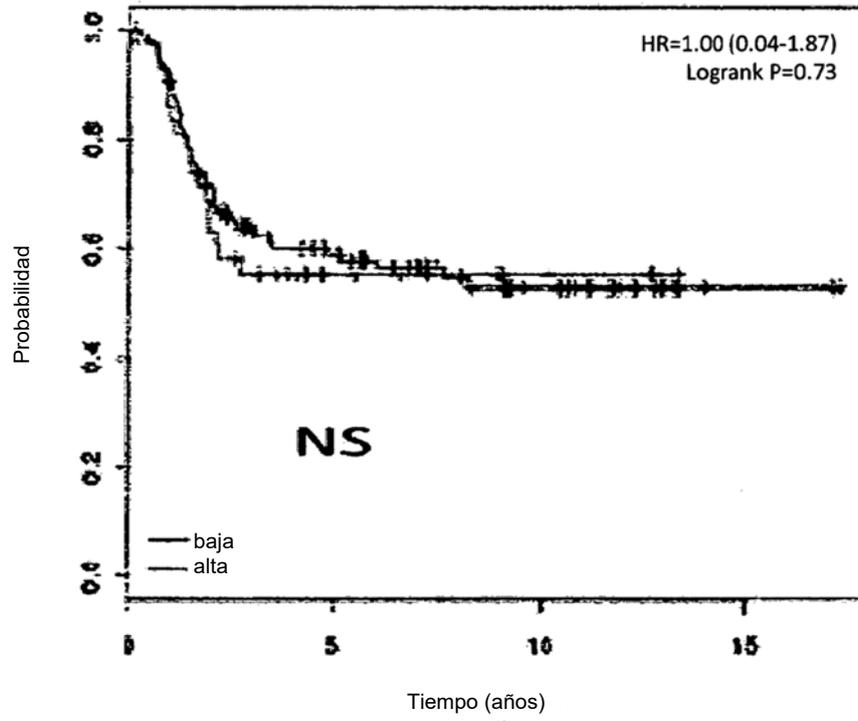


Figura 2

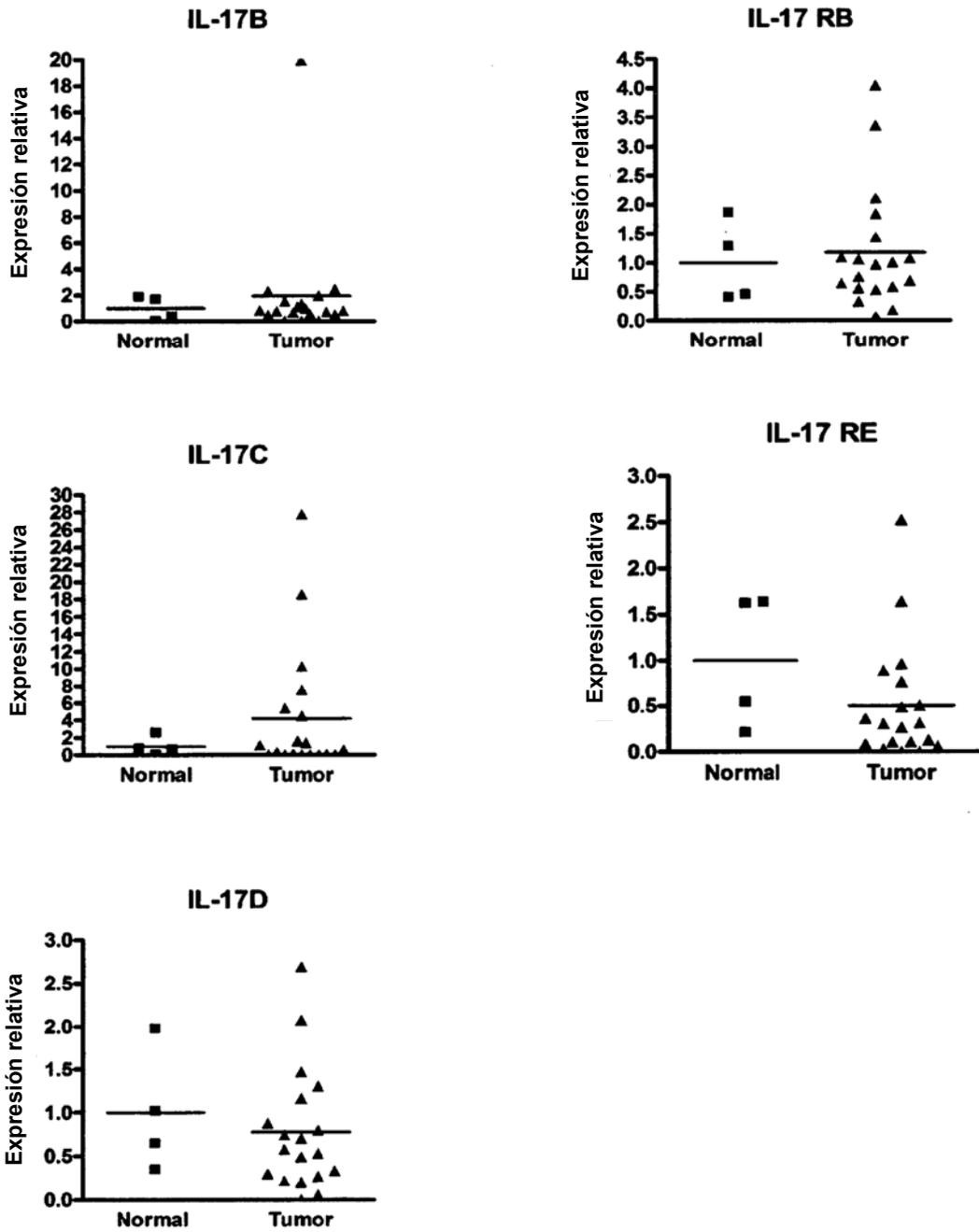
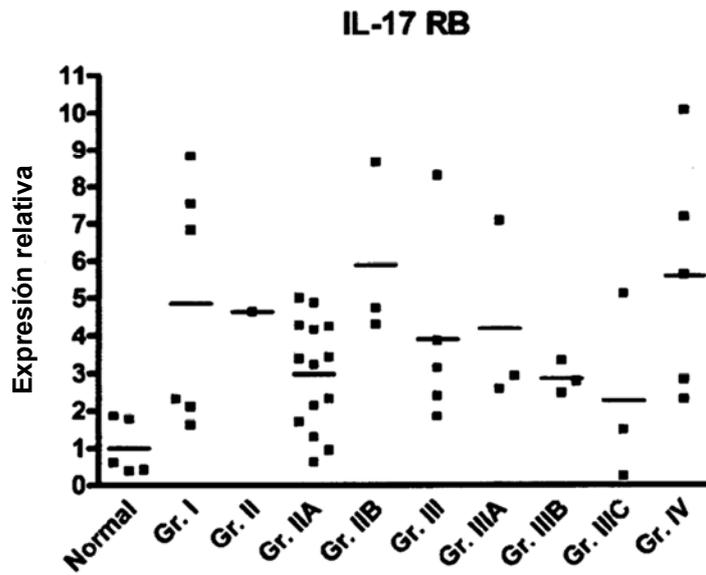
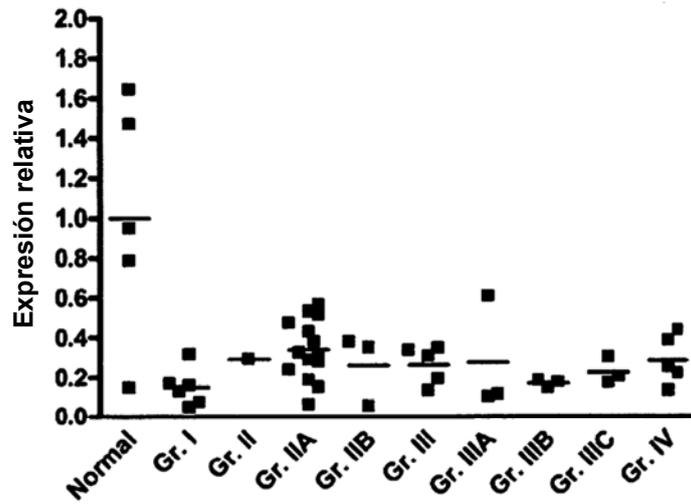
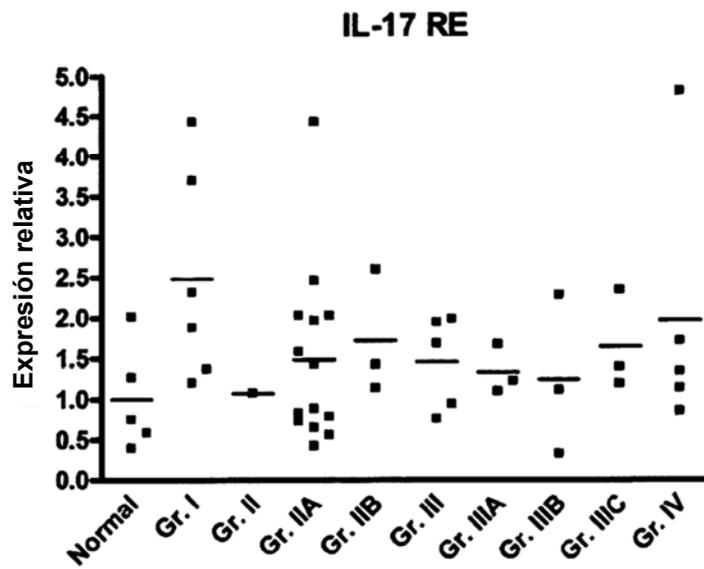
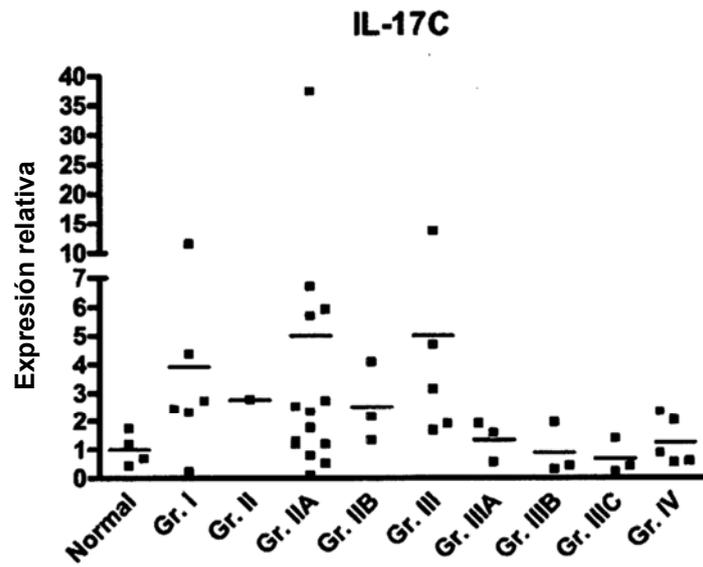


Figura 3





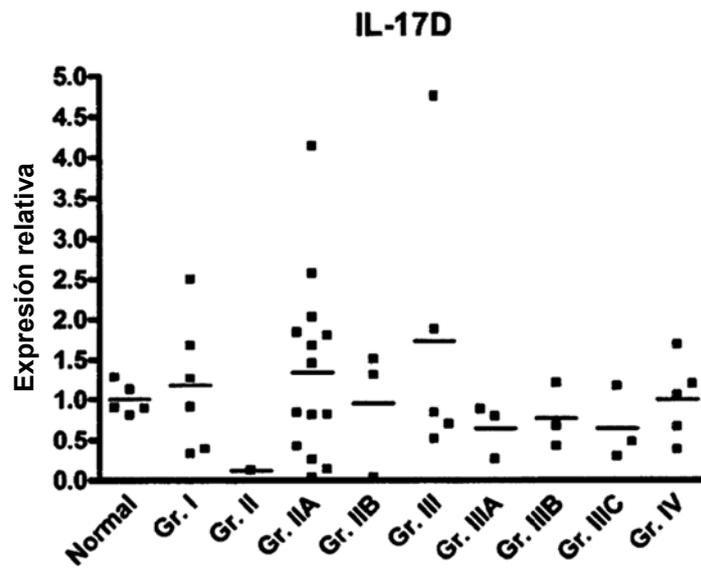


Figura 4

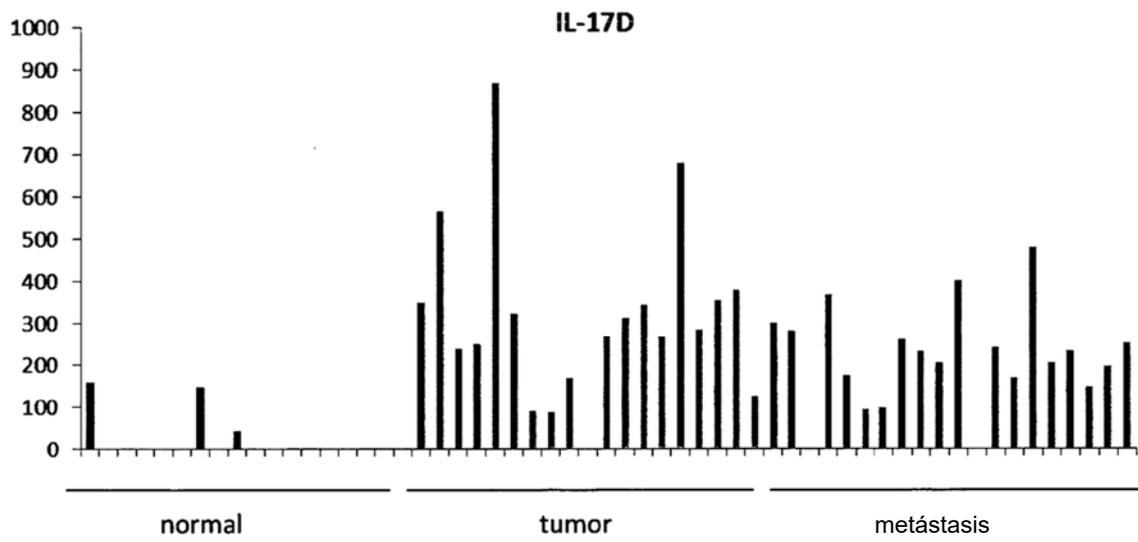


Figura 5

A/

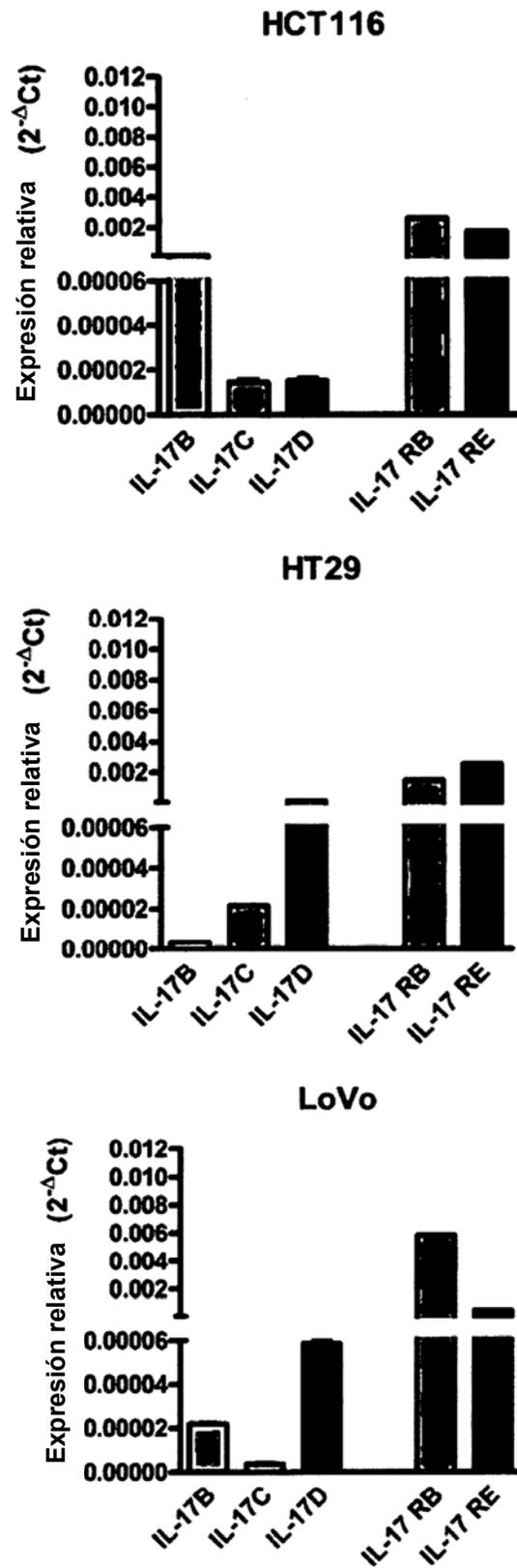
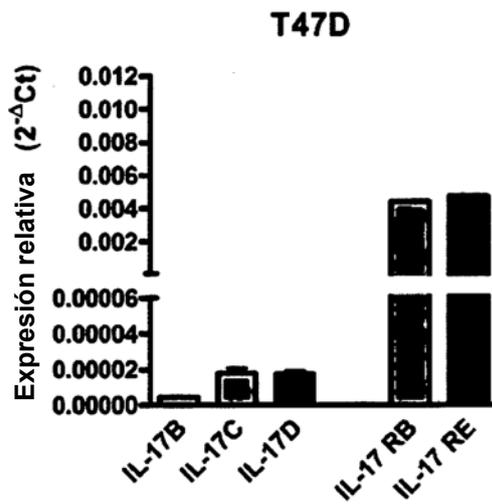
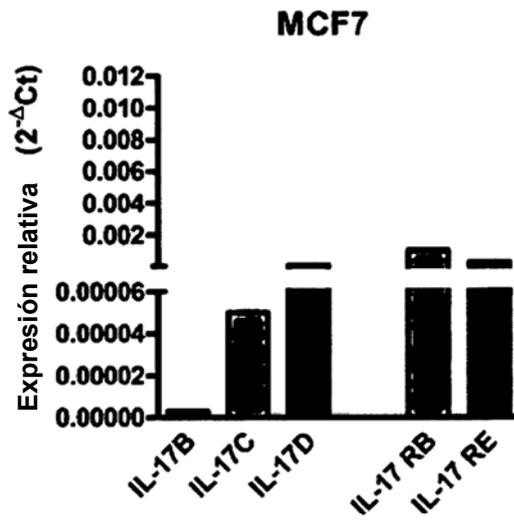
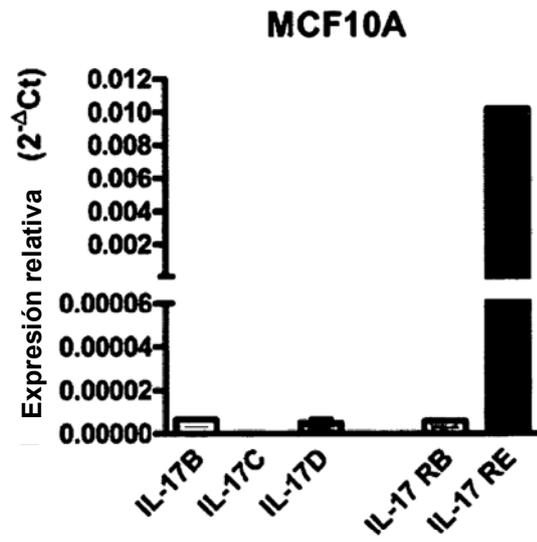
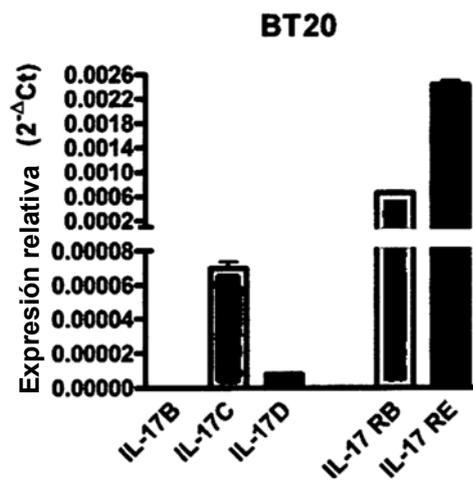
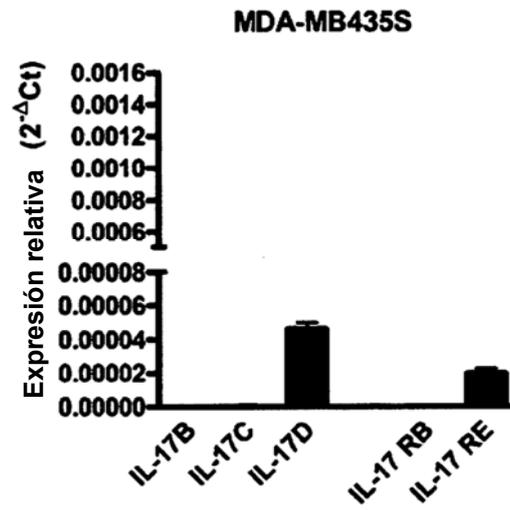
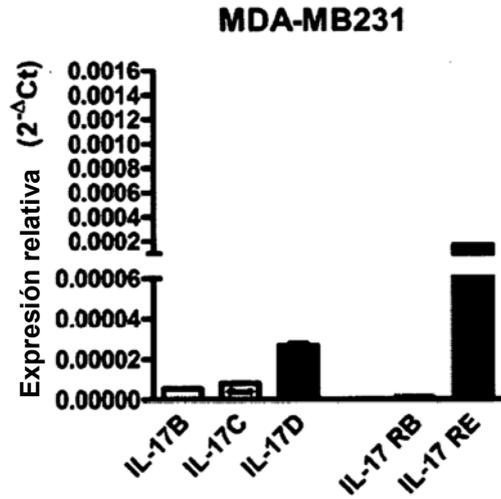
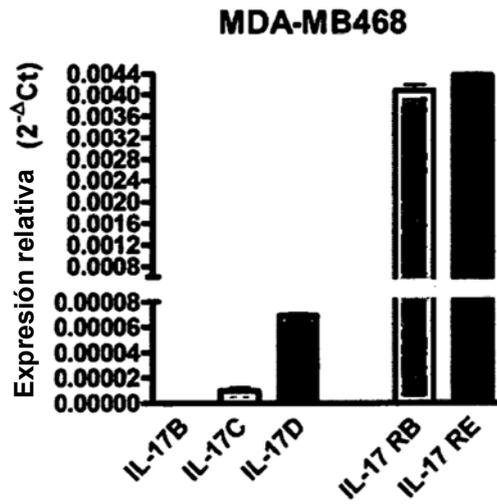
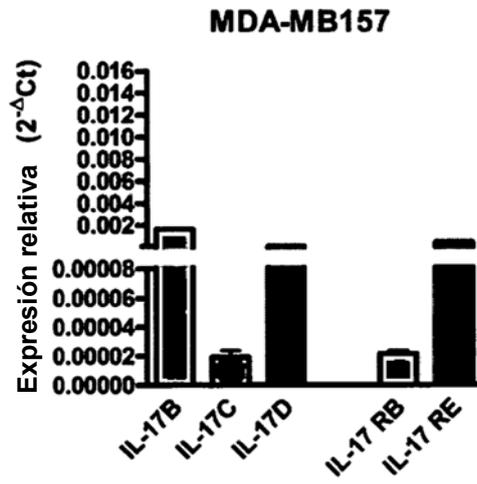
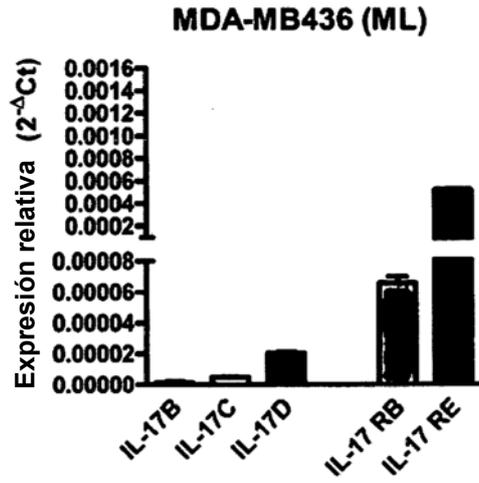


Figura 6

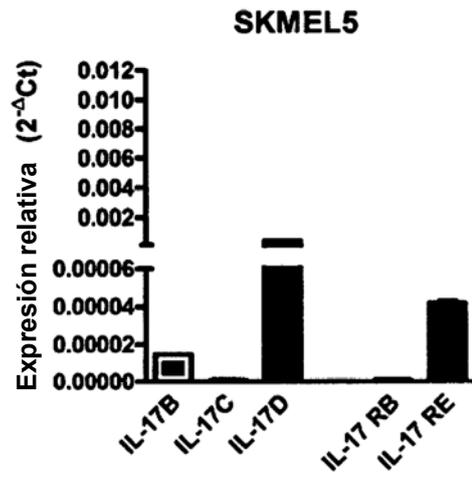
B/







C/



D/

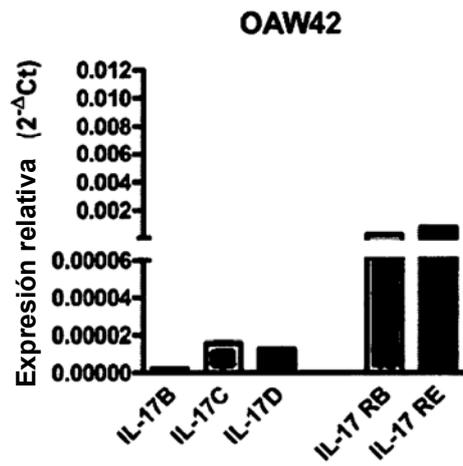
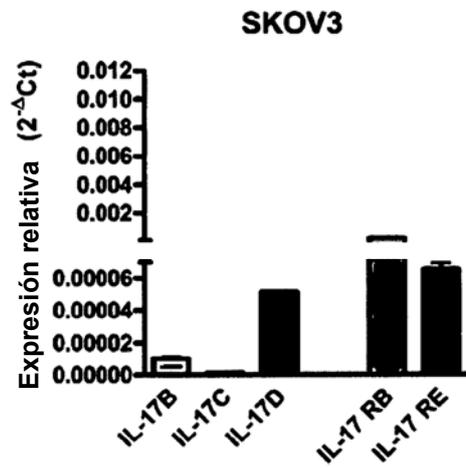


Figura 6

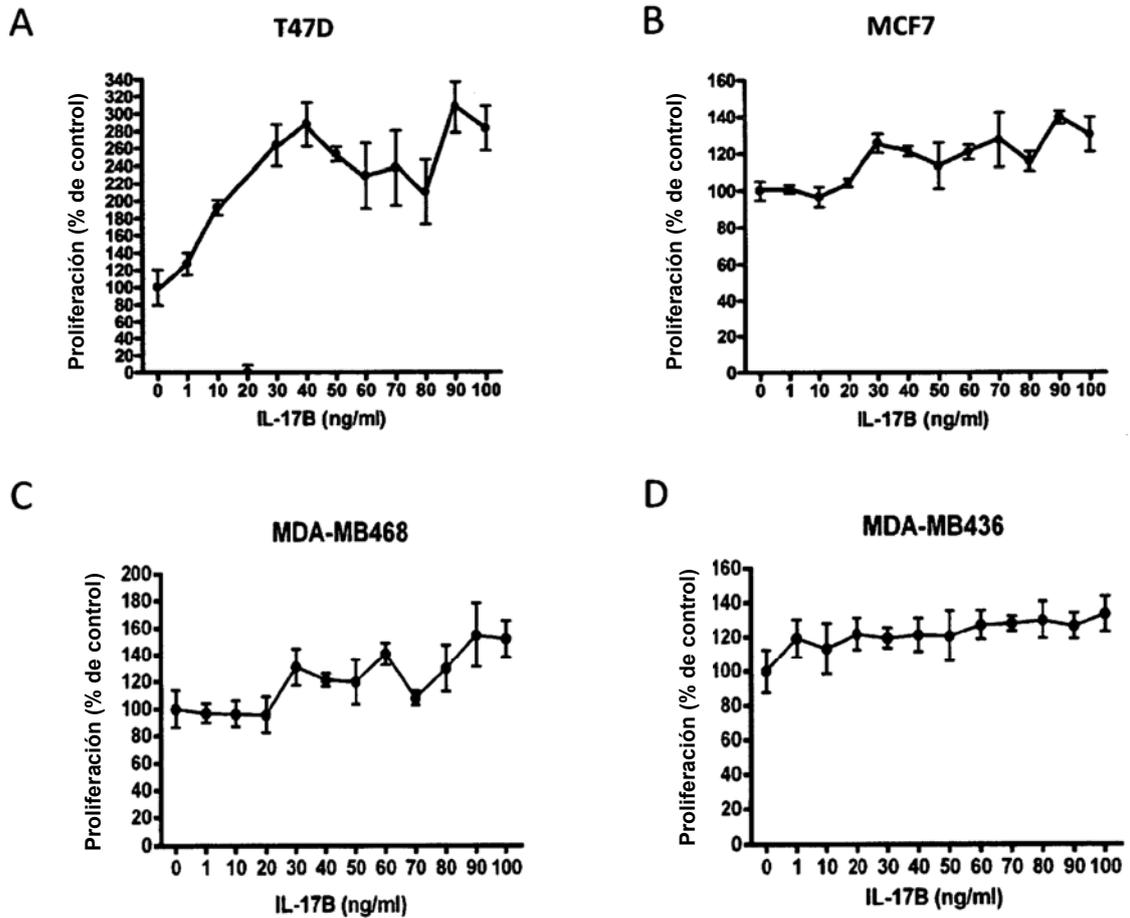


Figura 7

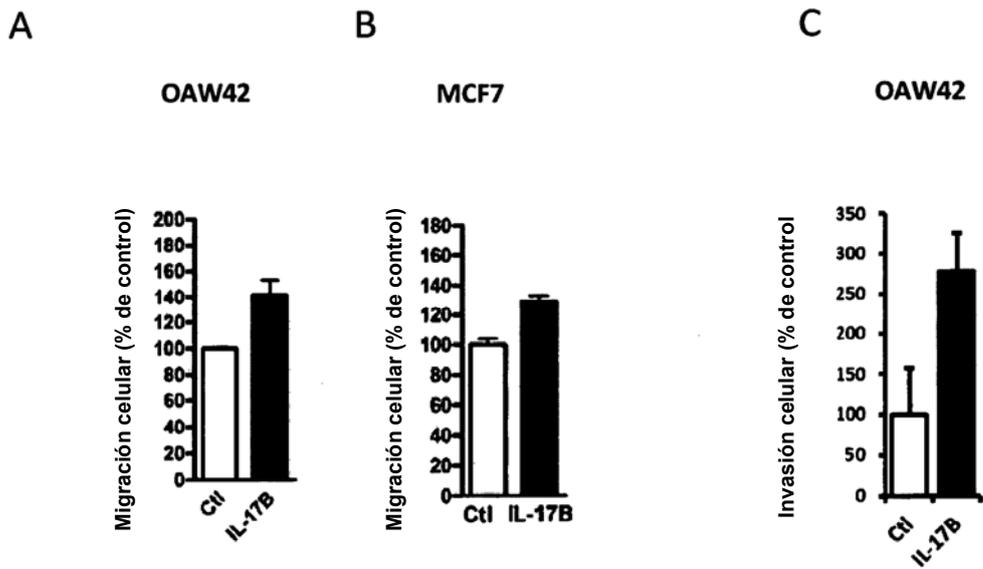


Figura 8

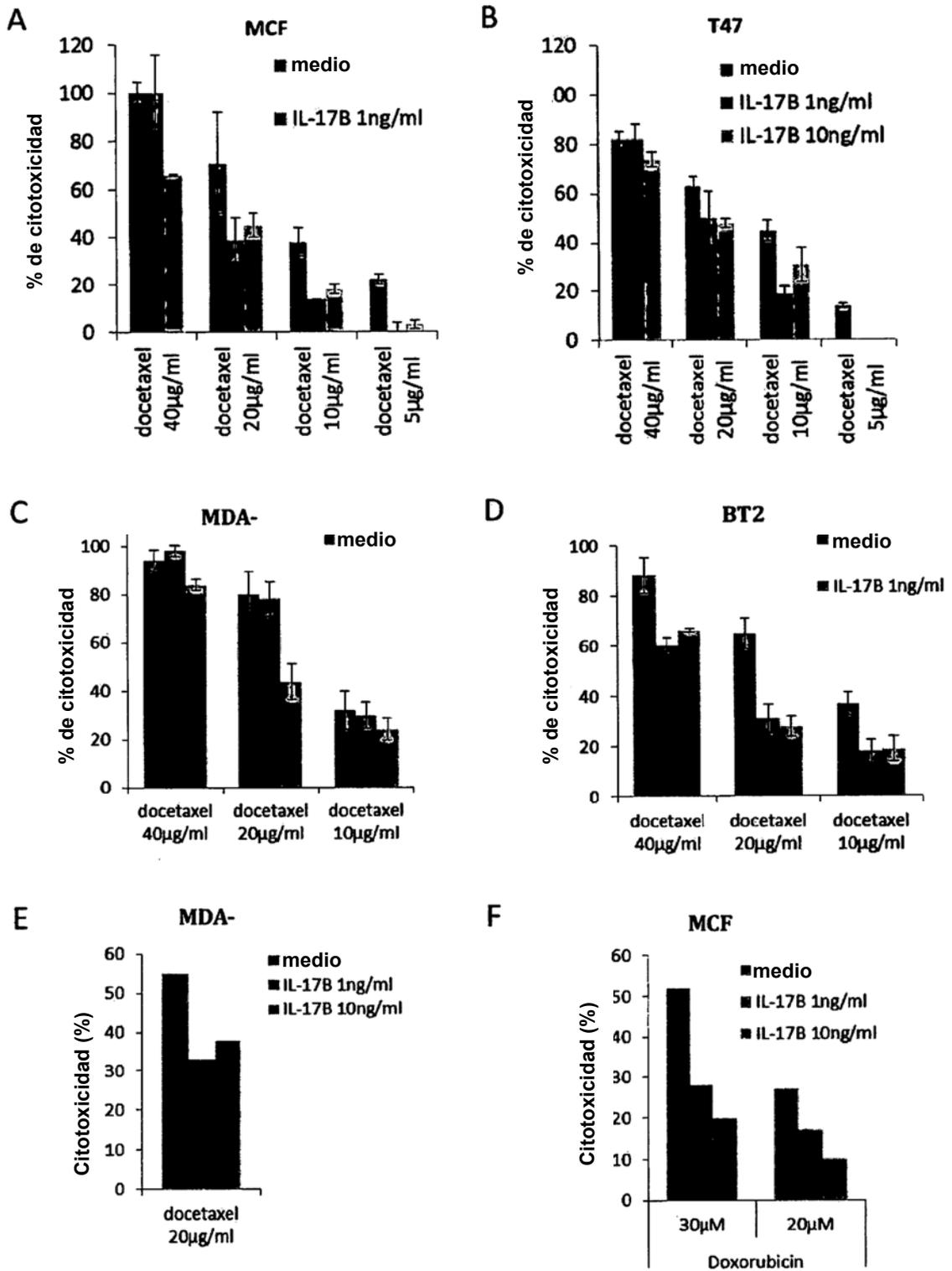
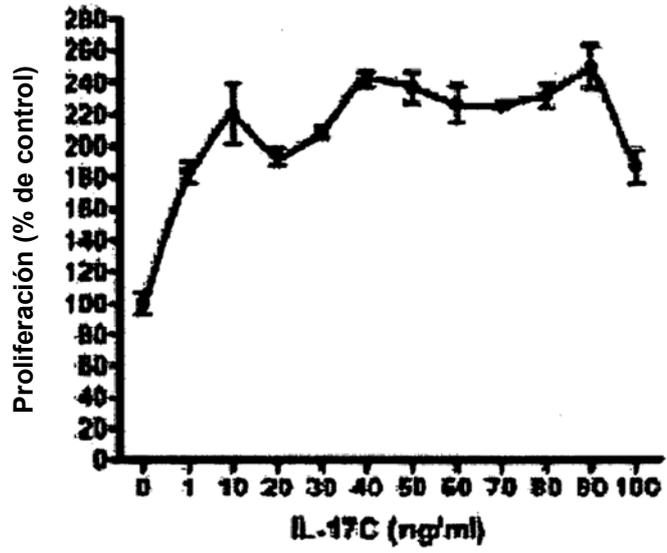


Figura 9

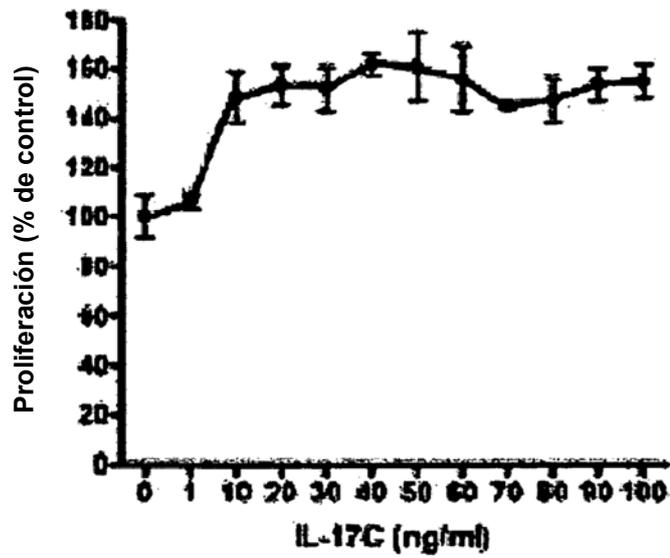
A

OAW42



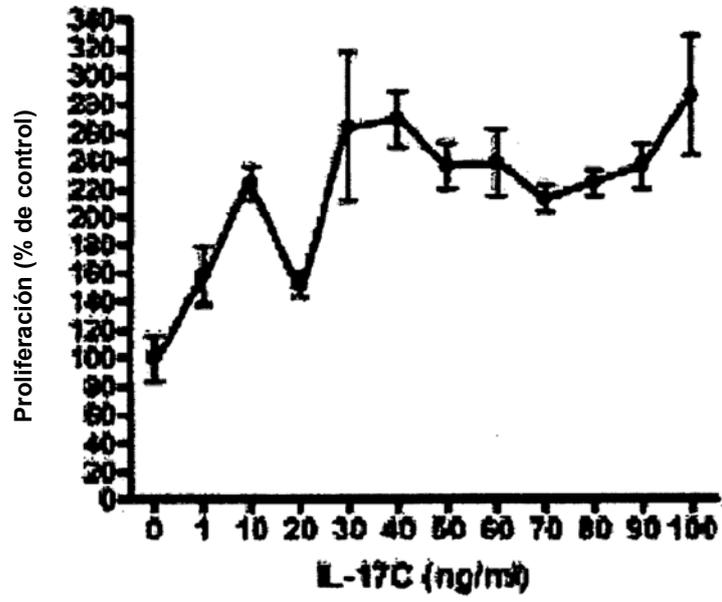
B

MCF7



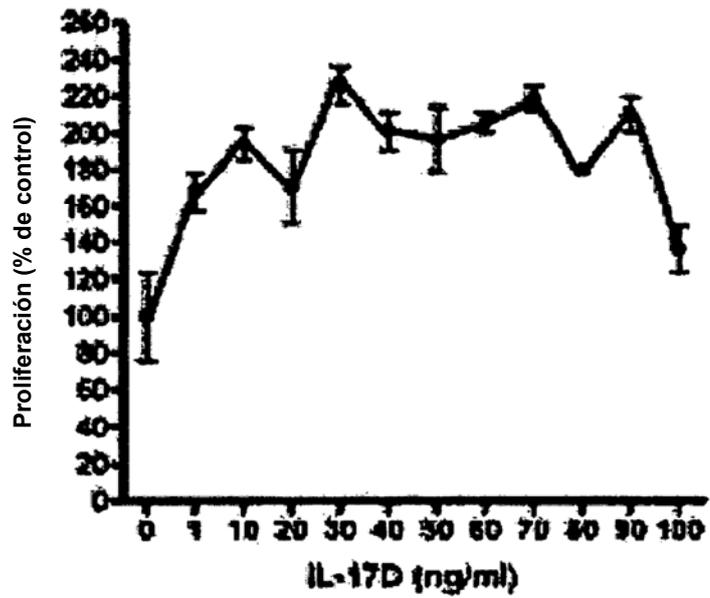
C

T47D



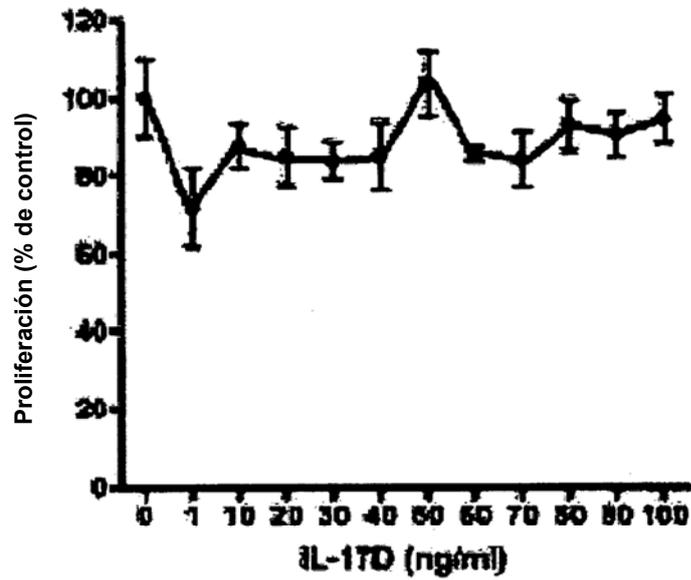
D

OAW42



E

MCF7



F

T47D

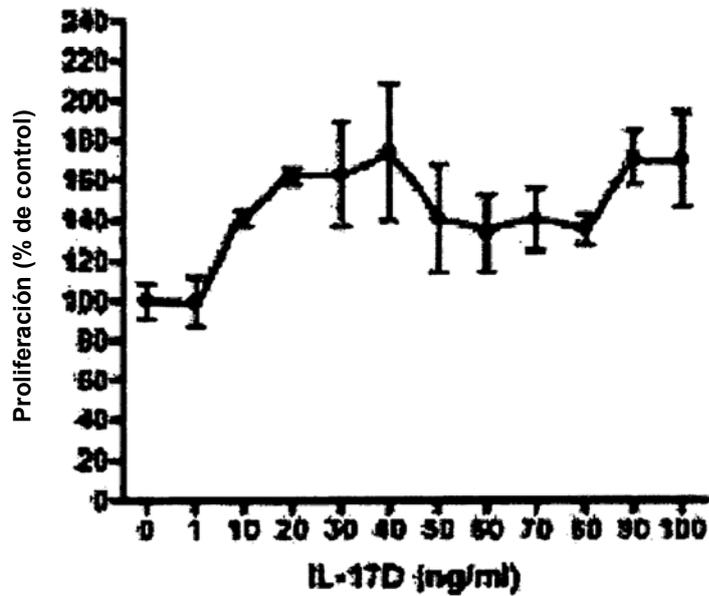
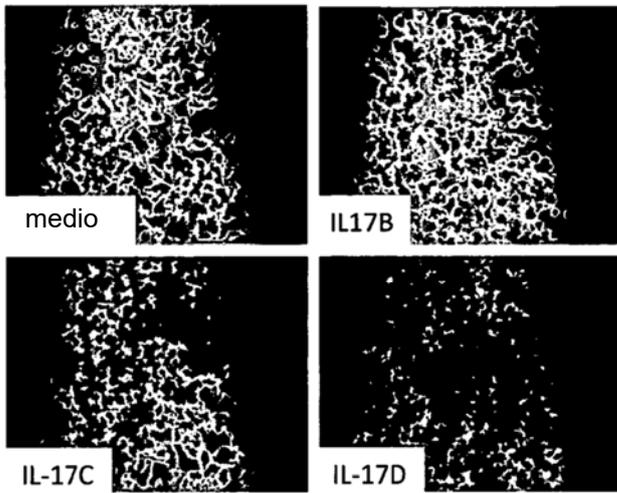


Figura 10

A



B

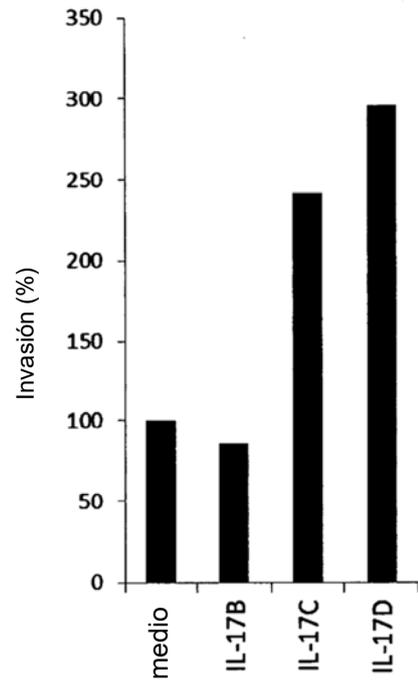


Figura 11

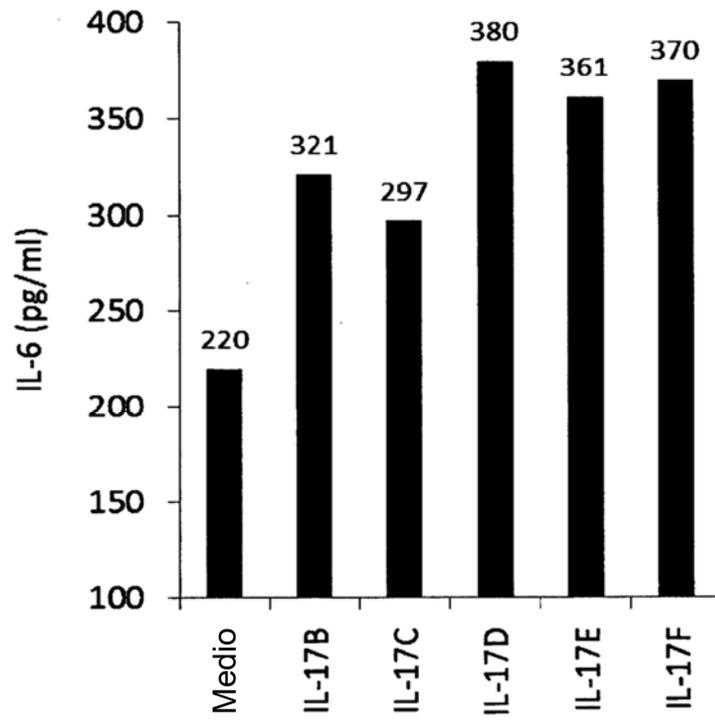


Figura 12