

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 706 848**

51 Int. Cl.:

A61K 38/18 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 19/00 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.07.2005 PCT/US2005/023866**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **09.02.2006 WO06014444**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.07.2005 E 05764281 (1)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.10.2018 EP 1896053**

54 Título: **Composición farmacéutica que comprende FGF18 y antagonista de IL-1 y método de uso**

30 Prioridad:

06.07.2004 US 585655 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.04.2019

73 Titular/es:

ZYMOGENETICS, INC. (100.0%)
1201 Eastlake Avenue East
Seattle, WA 98102, US

72 Inventor/es:

MOORE, EMMA, E. y
ELLSWORTH, JEFF, L.

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

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

ES 2 706 848 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

Composición farmacéutica que comprende FGF18 y antagonista de IL-1 y método de uso

5 Antecedentes de la invención

La interleucina-1 α (IL-1 α) y la IL-1 β son agonistas de origen natural del receptor de IL-1 tipo I (IL-1R_I). Cuando cualquiera de estas dos moléculas se une al receptor, activa y recluta un segundo componente receptor, la proteína accesoria IL-1R_I (AcP). El complejo de tres miembros (IL-1/II-1R_I/AcP) inicia una cascada de señalización que incluye la activación y la translocación nuclear del factor de transcripción NF- κ B. Esto da como resultado la expresión de muchas citocinas y otras proteínas de la inflamación y las respuestas inmunes, que causan o empeoran muchos procesos de enfermedades (Barnes, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 29:867-870, 1997). Las enfermedades particulares que se cree que están mediadas por la interleucina-1 incluyen la artritis reumatoide (AR) y la osteoartritis (OA) (Roshak *et al.*, *Curr. Opin. Pharmacol.* 2(3): 316-21, 2002).

El cuerpo ha desarrollado al menos dos métodos para inhibir de forma natural esta vía, el IL-1R tipo II (IL-1R_{II}), el denominado "receptor señuelo", y el antagonista del receptor IL-1 (IL-1ra). El receptor señuelo puede unirse tanto a IL-1 α como a IL-1 β pero no inicia la señalización intracelular (McMahan *et al.*, *EMBO J.* 10:2821-2832, 1991). Por lo tanto, puede sacar al agonista del sistema y bloquear sus efectos biológicos. IL-1ra se une a IL-1R_I con alta afinidad pero no activa el receptor ni causa una respuesta biológica. Por lo tanto actúa como un antagonista competitivo de IL-1 α e IL-1 β (Arend, *Prog. Growth Factor Res.* 2(4): 193-205, 1990). También se han desarrollado antagonistas obtenidos por ingeniería genética, como los anticuerpos anti-IL-1R_I (Fredricks *et al.*, *Pro. Eng. Des. & Selec.* 17 (1):95-106, 2004) y las proteínas de fusión IL-1ra-Fc (patente de los Estados unidos n.º 6.733.753).

Se ha demostrado que la sobreexpresión de citocinas proinflamatorias como la IL-1 juega un papel importante en la patogenia de enfermedades inmunoinflamatorias como la artritis reumatoide (AR), un trastorno autoinmune crónico común caracterizado por la inflamación de los tejidos sinoviales, hinchazón de las articulaciones, rigidez y dolor que puede progresar hacia la destrucción de la articulación (Bingham, *J. Rheumatol.* 29: 3-9, 2002). La aplicación clínica de antagonizar IL-1 α e IL-1 β en esta enfermedad se ha investigado con anakinera (Kineret™), un recombinante, no glicosilado, de IL-1ra humana. El uso de esta proteína terapéutica ha conducido a una reducción en la frecuencia y severidad del daño articular en pacientes con AR (Bresnihan, *Ann. Rheum.* 61, ii74-ii77, 2002 and St. Clair, *J. Rheumatol.* 29, 22-26, 2002), sin embargo, el tratamiento no parece revertir el daño ya existente al cartílago o al hueso de las articulaciones afectadas.

La familia del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) consta de al menos veintitrés miembros distintos que generalmente actúan como mitógenos para un amplio espectro de tipos de células (Ornitz e Itoh, *Genom. Biol.* 2(3):reviews3005.1-3005.12, 2001). FGF18 fue identificado como un miembro de la familia de FGF que está más estrechamente relacionado con FGF8 y FGF17. Las actividades asociadas con FGF18 incluyeron la estimulación de células del linaje mesenquimal, en particular miocitos cardíacos, osteoblastos y condrocitos (patente de los Estados Unidos n.º 6.352.971 y Ellsworth *et al.*, *Osteoarthritis and Cartilage.* 10(4):308-320, 2002). FGF18 se une y activa FGFR4 y las variantes de empalme "IIIc" de FGFR3 y FGFR2 (Ellsworth *et al.* *Osteo Cartil.* 10:208-320 (2002)). Se ha demostrado que FGFR3-IIIc y FGFR2-IIIc desempeñan un papel en el desarrollo y crecimiento de los huesos y el crecimiento del cartílago (Davidson *et al.* *J. Biol. Chem.* 280:20509-20515 (2005)). Los ratones hechos homocigotos nulos para el FGFR3 (-/-) dieron lugar a anomalías esqueléticas postnatales (Colvin *et al.*, *Nature Genet.* 12:309-397, 1996 y Deng *et al.*, *Cell* 84:911-921, 1996). El fenotipo mutante sugiere que en ratones normales, la FGFR-3 desempeña un papel en la regulación de la división celular de condrocitos en la región de la placa de crecimiento del hueso (Goldfarb, *Cytokine and Growth Factor Rev.* 7(4):311-325, 1996). FGFR-IIIc se expresa en los condensados mesenquimales tempranos y en el periostio en desarrollo. Los ratones FGFR 2-IIIc -/- muestran osificación retardada, pérdida prematura del crecimiento óseo en el cráneo y hueso largo (Eswarakumar *et al.* *Development* 129:3783-3793 (2002)). Las mutaciones del receptor de FGF también se encuentran en la condrodisplasia humana y los síndromes de craneosinostosis (Ornitz y Marie, *Genes and Dev.* 16:1446-1465, 2002).

La remodelación ósea es el proceso dinámico mediante el cual se mantienen la masa tisular y la arquitectura esquelética. El proceso es un equilibrio entre la reabsorción ósea y la formación ósea, y se considera que dos tipos de células son los principales actores. Estas células son el osteoblasto y el osteoclasto. Los osteoblastos sintetizan y depositan la matriz para convertirse en hueso nuevo. Las actividades de los osteoblastos y los osteoclastos están reguladas por muchos factores, sistémicos y locales, incluidos los factores de crecimiento. Esta función proporciona un papel potencial para los factores de crecimiento, como el FGF18, en las patologías que requieren la activación de la remodelación ósea, como el daño al hueso que se produce en enfermedades inflamatorias de las articulaciones, como la AR o la osteoartritis (OA). Otras aplicaciones terapéuticas para los factores de crecimiento que influyen en la remodelación ósea incluyen, por ejemplo, el tratamiento de lesiones que requieren la proliferación de osteoblastos para cicatrizar, como fracturas, así como la estimulación de la proliferación de células mesenquimales y la síntesis de hueso intramembranoso que se han indicado como aspectos de reparación de fracturas (Joyce *et al.* 36ª reunión anual, Orthopaedic Research Society, 5-8 de febrero de 1990. Nueva Orleans, LA).

El reemplazo del cartílago articular dañado causado por una lesión o enfermedad es un desafío importante para los

médicos, y los tratamientos disponibles se consideran impredecibles y efectivos solo por un tiempo limitado. Prácticamente todos los tratamientos actualmente disponibles para el daño del cartílago se centran en el alivio del dolor, con poco o ningún énfasis en la regeneración de los tejidos dañados. Por lo tanto, la mayoría de los pacientes más jóvenes no buscan tratamiento o se les aconseja posponer el tratamiento durante el mayor tiempo posible. Cuando se requiere tratamiento, el procedimiento convencional es un reemplazo total de la articulación o microfractura, un procedimiento que implica la penetración del hueso subcondral para estimular la deposición de fibrocartílago por los condrocitos. Si bien la deposición de fibrocartílago no es un equivalente funcional del cartílago articular, en la actualidad, es el mejor tratamiento disponible porque ha habido poco éxito en la sustitución del cartílago articular. Dos enfoques para estimular la deposición de cartílago articular que se están investigando son: la estimulación de la actividad de los condrocitos y la expansión *in vivo* y *ex vivo* de condrocitos y sus progenitores para trasplante (Jackson *et al.*, Arthroscopy: The J. of Arthroscopic and Related Surg. 12:732-738, 1996). Además, la regeneración o reparación del cartílago elástico es valiosa para el tratamiento de lesiones y defectos en los oídos y la nariz. Cualquier factor de crecimiento con especificidad para las células del linaje de condrocitos que estimula el crecimiento, la diferenciación o la inducción de la producción de cartílago de esas células sería valioso para mantener, reparar o reemplazar el cartílago articular. El FGF18 parece promover la condrogénesis y la reparación del cartílago en la osteoartritis en ratas (Moore *et al.* Osteoarthritis and Cartilage, 13:623-631 (2005)) y, por lo tanto, puede ser útil para reparar el cartílago dañado.

Por lo tanto, existe una necesidad en la técnica de un método para tratar una enfermedad, tal como enfermedades inmunoinflamatorias mediadas por interleucina-1, que implique tanto el bloqueo de la acción inflamatoria de IL-1 como la reparación de cartílago y hueso a través de la estimulación de las células mesenquimales, como condrocitos, osteocitos y tejido nervioso y sus progenitores.

El documento WO 2004/032849 describe los métodos de administración de FGF-18.

El documento WO 2004/022718 describe un anticuerpo monoclonal anti-IL-1R1 humano terapéutico.

El documento WO 2004/047857 describe el uso de FGF-18 en el diagnóstico y tratamiento de trastornos de la memoria.

Moore *et al.*, reunión Anual de la Orthopaedic Research Society, vol. 50, documento n.º 199, 10 de marzo de 2004, informa que el FGF-18 estimula la condrogénesis y promueve la reparación del cartílago en un modelo de rata de osteoartritis inducida por lesión.

Ellsworth *et al.*, *Biosis*, vol. 27(2), 2001, página 2026, informa que el FGF-18 reduce el volumen del infarto y el déficit de comportamiento después de la oclusión de la arteria cerebral media en ratas.

La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende FGF18 y un antagonista de IL-1 como se define en las reivindicaciones.

La presente invención abarca así una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de la enfermedad mediada por interleucina-1 en un paciente que comprende FGF18 y un antagonista de IL-1, como se define en las reivindicaciones. El FGF18 puede comprender la secuencia completa de aminoácidos de la SEQ ID NO:2 o sus fragmentos funcionalmente activos, como los truncados en el extremo C en Met 175, o los que comprenden Tyr 55 a Met 175, Lys 196 o Ala 207 y variantes.

El antagonista de IL-1 se selecciona de entre el grupo que consiste en un anticuerpo anti-IL-1R₁ e IL-1ra, en el que dicha IL-1ra se selecciona de entre una IL-1ra recombinante o una proteína de fusión IL-1ra, como se define en las reivindicaciones. Dicha proteína de fusión comprende la secuencia de IL-1ra mostrada en la SEQ ID NO:5 o un fragmento inhibidor de IL-1 de la misma fusionado con un dominio constante de una cadena pesada o ligera de inmunoglobulina humana en el extremo amino de dicha IL-1ra. La región constante puede ser de una cadena pesada, como la IgG humana.

La composición puede comprender además un vehículo cargado negativamente seleccionado de entre el grupo que consiste en proteoglicanos sulfatados, tetradecasulfato de ciclodextrina B, hidroxipatita, matrices de polilactida, polilactida-co-glicólida, microesferas de alginato, quitosanos y metilcelulosa. La composición también puede ser una formulación de liberación temporalizada, tal como las que comprenden una matriz que es una solución, un gel, una pasta o una masilla y puede incluir un sistema de depósito. La composición puede comprender además un fármaco antiinflamatorio.

La presente divulgación proporciona un método para el tratamiento de una enfermedad mediada por interleucina-1 en un paciente que necesita dicho tratamiento que comprende la etapa de administrar una composición farmacéutica que comprende FGF18 y un antagonista de IL-1. Aunque se contemplan numerosos métodos de administración, dos de los preferentes son la inyección intraarticular y la implantación quirúrgica. El método también puede comprender las etapas de permitir el crecimiento de nuevo cartílago, hueso o tejido nervioso y contornear quirúrgicamente el nuevo cartílago, hueso o superficie nerviosa. Aunque cualquier enfermedad mediada por interleucina-1 puede tratarse usando los métodos descritos en el presente documento, hay dos enfermedades preferentes que incluyen la artritis

reumatoide y la osteoartritis.

Descripción de las figuras

- 5 La Figura 1 representa gráficamente el efecto de IL-1 β en la actividad mitogénica de FGF18. En el gráfico, 5 ng/ml de FGF18 está representado por los cuadrados cerrados, 50 ng/ml está representado por círculos cerrados; 500 ng/ml está representado por triángulos cerrados; e IL-1 β está representada por triángulos abiertos.

Descripción detallada de la invención

- 10 Antes de exponer la invención en detalle, puede ser útil para su comprensión definir los siguientes términos y expresiones:

- 15 la expresión "etiqueta de afinidad" se usa en el presente documento para indicar un segmento polipeptídico que puede unirse a un segundo polipéptido para proporcionar la purificación o la detección del segundo polipéptido o proporcionar sitios para la unión del segundo polipéptido a un sustrato. En principio, cualquier péptido o proteína para la cual está disponible un anticuerpo u otro agente de unión específico se puede usar como una etiqueta de afinidad. Las etiquetas de afinidad incluyen un tracto de poli-histidina, proteína A (Nilsson *et al.*, EMBO J. 4:1075, 1985; Nilsson *et al.*, Methods Enzymol. 198:3, 1991), glutatión S transferasa (Smith y Johnson, Gene 67:31, 1988), etiqueta de afinidad Glu-Glu (Grussenmeyer *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 82:7952-4, 1985), sustancia P, péptido Flag™ (Hopp *et al.*, Biotechnology 6:1204-10, 1988), péptido de unión a estreptavidina u otro epítipo antigénico o dominio de unión. Véase, en general, Ford *et al.*, Protein Expression and Purification 2:95-107, 1991. Los ADN que codifican las etiquetas de afinidad están disponibles en proveedores comerciales (por ejemplo, Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ).

- 25 La expresión "variante alélica" se usa en el presente documento para indicar cualquiera de dos o más formas alternativas de un gen que ocupa el mismo locus cromosómico. La variación alélica surge naturalmente a través de la mutación, y puede dar como resultado un polimorfismo fenotípico dentro de las poblaciones. Las mutaciones genéticas pueden ser silenciosas (sin cambios en el polipéptido codificado) o pueden codificar polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos alterada. La expresión variante alélica también se usa en el presente documento para indicar una proteína codificada por una variante alélica de un gen.

- 30 Las expresiones "amino-terminal" y "carboxil-terminal" se usan en el presente documento para indicar posiciones dentro de polipéptidos. Cuando el contexto lo permite, estas expresiones se usan con referencia a una secuencia o porción particular de un polipéptido para indicar proximidad o posición relativa. Por ejemplo, una determinada secuencia posicionada en el terminal carboxilo con respecto a una secuencia de referencia dentro de un polipéptido se ubica próxima al extremo carboxilo de la secuencia de referencia, pero no está necesariamente en el extremo carboxilo del polipéptido completo.

- 40 La expresión "ácido hialurónico" se usa en el presente documento para incluir derivados del ácido hialurónico que incluyen ésteres del ácido hialurónico, sales del ácido hialurónico y también incluye el término hialuronano. La designación también incluye formas de hialuronanos de bajo y alto peso molecular e hialuronanos o hilanos reticulados. Ejemplos de dichos hialuronanos son Synvisc® (Genzyme Corp. Cambridge, MA), ORTHOVISC® (Anika Therapeutics, Woburn, MA) y HYALGAN® (Sanofi-Synthelabo Inc., Malvern, PA)

- 45 El término "aislado", cuando se aplica a un polinucleótido, indica que el polinucleótido se ha eliminado de su medio genético natural y, por lo tanto, está libre de otras secuencias codificantes extrañas o no deseadas, y se encuentra en una forma adecuada para su uso en sistemas de producción de proteínas obtenidas por ingeniería genética. Dichas moléculas aisladas son aquellas que están separadas de su entorno natural e incluyen ADNc y clones genómicos. Las moléculas de ADN aisladas de la presente invención están libres de otros genes con los que están habitualmente asociadas, pero pueden incluir regiones 5' y 3' no traducidas de origen natural, tales como promotores y terminadores. La identificación de regiones asociadas será evidente para un experto en la técnica (véase, por ejemplo, Dynan y Tijan, Nature 316:774-78, 1985).

- 50 Un polipéptido o proteína "aislado" es un polipéptido o proteína que se encuentra en una condición distinta de su entorno nativo, como la sangre y el tejido animal. En una forma preferente, el polipéptido aislado está sustancialmente libre de otros polipéptidos, particularmente otros polipéptidos de origen animal. Se prefiere proporcionar los polipéptidos en una forma altamente purificada, es decir, más del 95 % de pureza, más preferentemente más del 99 % de pureza. Cuando se usa en este contexto, el término "aislado" no excluye la presencia del mismo polipéptido en formas físicas alternativas, como dímeros o formas alternativamente glicosiladas o derivadas.

- 60 El término "ortólogo" indica un polipéptido o proteína obtenida de una especie que es la contraparte funcional de un polipéptido o proteína de una especie diferente. Las diferencias de secuencia entre los ortólogos son el resultado de la especiación.

Un "polinucleótido" es un polímero de cadena simple o doble de bases de ribonucleótidos o desoxirribonucleótidos leídos desde el extremo 5' hasta el extremo 3'. Los polinucleótidos incluyen ARN y ADN, y pueden aislarse de fuentes naturales, sintetizarse *in vitro*, o prepararse a partir de una combinación de moléculas naturales y sintéticas. Los tamaños de los polinucleótidos se expresan como pares de bases (abreviados "pb"), nucleótidos ("nt") o kilobases ("kb"). Cuando el contexto lo permite, los dos últimos términos pueden describir polinucleótidos que son de cadena sencilla o de doble cadena. Cuando el término se aplica a moléculas de doble cadena, se usa para indicar la longitud total y se entenderá que es equivalente a la expresión "pares de bases". Los expertos en la técnica reconocerán que las dos cadenas de un polinucleótido de doble cadena pueden diferir ligeramente en longitud y que por lo tanto sus extremos pueden estar escalonados como resultado de la escisión enzimática; por lo tanto, todos los nucleótidos dentro de una molécula de polinucleótido de doble cadena pueden no estar emparejados. Dichos extremos no emparejados no excederán en general de una longitud de 20 nt.

Un "polipéptido" es un polímero de restos de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos, ya sea producido de forma natural o sintética. Los polipéptidos de menos de aproximadamente 10 restos de aminoácidos se denominan comúnmente "péptidos".

El término "promotor" se usa en el presente documento por su significado reconocido en la técnica para indicar una porción de un gen que contiene secuencias de ADN que proporcionan la unión de la ARN polimerasa y el inicio de la transcripción. Las secuencias promotoras se encuentran comúnmente, pero no siempre, en las regiones 5' no codificantes de los genes.

Una "proteína" es una macromolécula que comprende una o más cadenas polipeptídicas. Una proteína también puede comprender componentes no peptídicos, tales como grupos de carbohidratos. Los carbohidratos y otros sustituyentes no peptídicos se pueden añadir a una proteína por la célula en la cual se produce la proteína, y variarán con el tipo de célula. Las proteínas se definen en el presente documento en términos de sus estructuras principales de aminoácidos; Los sustituyentes tales como los grupos de carbohidratos generalmente no están especificados, pero pueden estar presentes de todas formas.

El término "receptor" indica una proteína asociada a la célula que se une a una molécula bioactiva (es decir, un ligando) y media el efecto del ligando en la célula. Los receptores unidos a la membrana se caracterizan por una estructura multipéptido que comprende un dominio de unión al ligando extracelular y un dominio efector intracelular que está normalmente involucrado en la transducción de señales. La unión del ligando al receptor da como resultado un cambio conformacional en el receptor que causa una interacción entre el dominio efector y otra(s) molécula(s) en la célula. Esta interacción a su vez conduce a una alteración en el metabolismo de la célula. Los eventos metabólicos que están vinculados a las interacciones receptor-ligando incluyen la transcripción de genes, la fosforilación, la desfosforilación, los aumentos en la producción de AMP cíclico, la movilización de calcio celular, la movilización de los lípidos de membrana, la adhesión celular, la hidrólisis de lípidos inositol e hidrólisis de fosfolípidos. En general, los receptores pueden ser citosólicos o nucleares unidos a la membrana; monoméricos (por ejemplo, receptor de hormona estimulante de la tiroides, receptor beta-adrenérgico) o multiméricos (por ejemplo, receptor de PDGF, receptor de hormona de crecimiento, receptor de IL-3, receptor de GM-CSF, receptor de G-CSF, receptor de eritropoyetina y receptor de IL-6).

La expresión "secuencia de señal secretora" indica una secuencia de ADN que codifica un polipéptido (un "péptido secretor") que, como componente de un polipéptido más grande, dirige el polipéptido más grande a través de una vía secretora de una célula en la que se sintetiza. El polipéptido más grande se escinde comúnmente para eliminar el péptido secretor durante el tránsito a través de la vía secretora.

Los pesos moleculares y las longitudes de los polímeros determinados por métodos analíticos imprecisos (por ejemplo, electroforesis en gel) se entenderán como valores aproximados. Cuando dicho valor se expresa como "alrededor de" X o "aproximadamente" X, se entenderá que el valor indicado de X tiene una precisión de $\pm 10\%$.

Una enfermedad o afección médica se considera una "enfermedad mediada por interleucina-1" si la enfermedad o afección médica espontánea o experimental se asocia con niveles elevados de IL-1 en fluidos corporales o tejidos, o si las células o tejidos extraídos del cuerpo producen niveles elevados de IL-1 en cultivo. En muchos casos, estas enfermedades mediadas por interleucina-1 también son reconocidas por las siguientes dos condiciones adicionales: (1) los hallazgos patológicos asociados con la enfermedad o afección médica pueden imitarse experimentalmente en animales mediante la administración de IL-1; y (2) la patología inducida en modelos animales experimentales de la enfermedad o afección médica puede inhibirse o eliminarse mediante el tratamiento con agentes que inhiben la acción de la IL-1. En la mayoría de las enfermedades mediadas por interleucina-1, al menos dos de las tres condiciones se cumplen, y en muchas enfermedades mediadas por interleucina-1 se cumplen estas tres condiciones.

La presente invención se basa en parte en el descubrimiento de que cuando las composiciones de polipéptidos o proteínas FGF18 más un antagonista de IL-1 como se define en las reivindicaciones, como anakinera (Kineret™) o un anti-IL-1R_i, se administran a un paciente que padece de una enfermedad mediada por interleucina-1, los efectos estimulantes del FGF18 aumentan y no solo se reducen los síntomas de la enfermedad, sino que se repara el cartílago dañado, el hueso o los tejidos nerviosos de la enfermedad. La presente divulgación proporciona composiciones de

polipéptidos o proteínas FGF18 para estimular la proliferación de células mesenquimales, particularmente condrocitos, huesos y nervios. Para la estimulación de los condrocitos, las composiciones se pueden administrar por vía intraarticular a una articulación.

5 La secuencia de nucleótidos del ADNc de FGF18 se describe en la SEQ ID NO:1, y su secuencia de aminoácidos deducida se describe en la SEQ ID NO:2. FGF18 se designó originalmente como zFGF5, y se describe en detalle en las patentes de los Estados Unidos de cesión común 6.352.971 y 5.989.866. El análisis del ADNc que codifica un polipéptido FGF18 (SEQ ID NO:1) puso de manifiesto un marco de lectura abierto que codifica 207 aminoácidos (SEQ ID NO:2) que comprende un polipéptido maduro de 180 aminoácidos (del resto 28 al resto 207 de la SEQ ID NO:2).
10 Además, cuando el FGF18 humano se produce en sistemas de expresión bacterianos, es común que los aminoácidos del extremo carboxi se trunquen. Ejemplos de truncamiento incluyen Met 175 o Lys 196. Las pruebas han puesto de manifiesto que estos fragmentos truncados tienen una actividad mitogénica equivalente, si no superior, sobre las células derivadas mesenquimales, como los condrocitos articulares primarios. Además, en modelos animales, los fragmentos truncados no han mostrado ninguna tendencia antigénica elevada.

15 Se encontró que la secuencia de polinucleótidos de FGF18 de ratón como se muestra en la SEQ ID NO:3 y la correspondiente secuencia de aminoácidos como se muestra en la SEQ ID NO:4 tiene un alto grado de homología con la del ortólogo humano. A nivel de aminoácidos, los polipéptidos de ratón y humano son aproximadamente 98 % idénticos, con tres cambios de aminoácidos. Los expertos en la técnica reconocerán que las secuencias divulgadas en la SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:3 y la SEQ ID NO:2 y la SEQ ID NO:4 representan un alelo único del gen y polipéptido FGF18 humano y de ratón, respectivamente, y se espera que se produzca la variación alélica y los empalmes alternativos.
20

25 Los miembros de la familia FGF se caracterizan por los dominios de unión a heparina. Se ha identificado un supuesto dominio de unión a heparina para FGF18 en la región del resto de aminoácido 148 (Gly) al resto de aminoácido 169 (Gln) de la SEQ ID NO:2 y la SEQ ID NO:4. Se postula que la señalización mediada por receptor se inicia tras la unión del ligando de FGF complejo con proteoglicanos de sulfato de heparina de la superficie celular. Muchos miembros de la familia de FGF se pueden colocar en una de las dos familias relacionadas en función de sus estructuras y funciones. aFGF y bFGF consisten en tres exones separados por dos intrones de longitud variable. FGF-8 consiste en cinco exones, los tres primeros de los cuales corresponden al primer exón de aFGF y bFGF. Todos los miembros conocidos de la familia FGF se empalman para formar polipéptidos individuales.
30

35 El análisis del complejo ligando-receptor de FGF18 ha demostrado que FGF18 tiene especificidad por FGFR4 y las variantes de empalme "IIIc" de FGFR3 y FGFR2. FGFR3-IIIc y FGFR2-IIIc se han identificado dentro de los condrocitos del tejido del cartílago, y en particular, ambos receptores se han encontrado dentro del cartílago articular humano. FGFR3 y FGFR2 se han encontrado en la placa de crecimiento de los mamíferos y desempeñan funciones importantes en la formación de hueso endocondral e intramembranoso. En particular, FGFR2 y FGFR3 desempeñan funciones importantes en el desarrollo de hueso endocondral e intramembranoso, FGFR2 se expresa primero en mesénquima condensante y la expresión de FGFR3 se inicia a medida que los condrocitos se diferencian y proliferan. En el desarrollo de los huesos del cráneo, FGFR3 se encuentra en la duramadre y el periostio, mientras que FGFR2 se expresa en células osteoprogenitoras en el frente osteogénico que separa las suturas. FGFR2 también se expresa en el hueso traabecular. (Ornitz y Marie, *ibid.*, 2002). Anteriormente, se ha demostrado que el FGF18 es un agente proliferativo para los condrocitos y los osteoblastos, dependiendo tanto del estado diferenciado de estos tipos de células como del modo de administración. (Véase, las patentes de Estados Unidos n.º 6.352.971 y n.º 5.989.866; Ellsworth *et al.* *Osteoarthritis and Cartilage*, 10:308-320, 2002; Shimoaka *et al.*, *J. Bio.Chem.* 277 (9) 7493-500, 2002). También se ha demostrado que el FGF18 facilita la reparación del cartílago en un modelo de osteoarthritis de rata (Moore *et al.* *Osteoarthritis and Cartilage*, 13: 623-631 (2005)).
40
45

50 Para ser más efectivos en el tratamiento de la enfermedad mediada por interleucina-1, las moléculas de FGF18 descritas anteriormente pueden combinarse con antagonistas de IL-1 para proporcionar composiciones farmacéuticas que no solo bloquean los efectos inflamatorios e inmunomoduladores de la IL-1, sino que también proporcionan efectos proliferativos sobre el cartílago, el hueso y/o las células nerviosas dañadas durante la patología.

55 Un "antagonista de IL-1" para los fines de la presente invención es como se define en las reivindicaciones. En general, un "antagonista de IL-1" es cualquier molécula que bloquea la acción de IL-1 α y/o IL-1 β por cualquier método, incluido el bloqueo de la unión de estos agonistas al receptor IL-1R o el bloqueo de la señal de efecto de transducción del propio receptor. Por lo tanto, los antagonistas de IL-1R₁ e IL-1R₂ se incluyen en la definición general de antagonistas de IL-1. Algunos ejemplos no limitantes de antagonistas de IL-1 incluyen el inhibidor procedentes de monocito descrito en la patente de Estados Unidos n.º 5.075.222; formas secretadas (sIL-1ra) e intracelulares (icIL-1ra) del antagonista del receptor de interleucina-1 descrito en C. Butcher *et al.*, *J. Immunol.*, 153:701-711, 1994; una segunda forma intracelular (icIL-1rall) descrita en las patentes de Estados Unidos n.º 5.739.282; 5.837.495; y 5.981.713; el inhibidor de IL-1 descrito en la patente de Estados Unidos n.º 5.359.032; el IL-1ra descrito en la patente de Estados Unidos n.º 5.455.330; el antagonista de IL-1 descrito en la patente de EE. UU. n.º y los inhibidores de interleucina-1 y los métodos descritos en la patente de Estados Unidos n.º 6.096.728; 6.159.460; 6.294.170; y 6.599.873. También incluye las moléculas descritas en la solicitud de Estados Unidos n.º 20030166069. Los antagonistas de IL-1 también incluyen anticuerpos que interfieren con las interacciones entre la IL-1 y sus receptores de una manera para alterar su función
60
65

biológica. Los métodos para producir tales anticuerpos se pueden encontrar en Fredericks *et al.*, mencionados anteriormente, y en la solicitud de Estados Unidos n.º 20040097712, y 20030026806. Se anticipa que los anticuerpos anti-IL-1R₁, descritos por Fredericks *et al.* puede experimentar una maduración de afinidad como es bien conocido en la técnica (por ejemplo, Yang *et al.*, *J. Mol. Biol.* 254:392-403, 1995).

5 Las presentes composiciones se pueden usar para tratar cualquier enfermedad que se cree que está mediada por interleucina-1 como se define anteriormente o como entiende un experto en la técnica. Una lista no exclusiva de enfermedades inflamatorias mediadas por interleucina-1 (IL-1) aguda y crónica incluye, pero sin limitación, las siguientes: pancreatitis aguda; ALS; enfermedad de Alzheimer; caquexia/anorexia; asma; aterosclerosis; síndrome de fatiga crónica, fiebre; diabetes (por ejemplo, diabetes de insulina); glomerulonefritis; rechazo de injerto contra huésped; shock hemorrágico; hiperalgesia, enfermedad inflamatoria del intestino; afecciones inflamatorias de una articulación, que incluyen osteoartritis, artritis psoriásica y artritis reumatoide; enfermedad degenerativa del disco; lesión isquémica, incluida la isquemia cerebral (p. ej., lesión cerebral como resultado de un traumatismo, epilepsia, hemorragia o ictus, cada uno de los cuales puede conducir a la neurodegeneración); enfermedades pulmonares (por ejemplo, SDRA);
10 mieloma múltiple; esclerosis múltiple; mielógenas (por ejemplo, AML y CML) y otras leucemias; miopatías (por ejemplo, metabolismo de proteínas musculares, especialmente en la sepsis); osteoporosis; enfermedad de Parkinson; dolor; parto prematuro; psoriasis; lesión por reperfusión; shock séptico; efectos secundarios de la radioterapia, enfermedad de la articulación mandibular temporal, metástasis tumoral; o una afección inflamatoria resultante de una esguince, torcedura, daño del cartílago, traumatismo, cirugía ortopédica, infección u otros procesos de enfermedades.

20 Dado que la osteoartritis causa dolor en las articulaciones, se cree que está causada por una deficiencia en la producción de matriz extracelular que incluye proteoglicanos sulfatados, ácido hialurónico (AH) y colágeno de tipo II, las composiciones farmacéuticas también pueden incluir un vehículo cargado negativamente, como AH. El AH es un mucopolisacárido de alta viscosidad natural con enlaces alternativos, (1-3) glucurónidos y, (1-4) glucosaminídicos. Se encuentra en el cordón umbilical, en el humor vítreo y en los fluidos sinoviales. Cualquier fuente de AH es adecuada, sin embargo, el AH producido de forma recombinante (es decir, la proteína producida en cultivos de células bacterianas, de levadura o de mamíferos) puede ser preferente al aislamiento de fuentes de tejidos animales o humanos con el fin de asegurar la pureza de la composición. En las funciones del tejido conectivo de AH como agente de unión y de protección. Las fracciones de AH y las sales de AH se han usado para el tratamiento de articulaciones óseas dañadas y osteoartritis. (Véase, la patente de Estados Unidos 5.925.626; la patente de Estados Unidos n.º 5.631.241 y el documento EP 0.939.086). El AH también se usa en la viscoscirugía y en la viscosuplementación y como ayuda en cirugía oftálmica.

35 El AH se ha usado como un componente para el tratamiento terapéutico de diversas afecciones, tanto usando el AH como el principal agente terapéutico como un componente de una composición terapéutica útil para el tratamiento. En experimentos realizados por otros, se usaron armazones de AH para implantar condrocitos autólogos en las rodillas de los pacientes, con datos que muestran que los resultados sintomáticos y funcionales mejoran. Raynauld *et al.*, (*Osteoarthritis and Cartilage*, 10 (7):506-517, 2002) describen los resultados usando una formulación de AH junto con la atención adecuada en la que se mejoró clínicamente la efectividad de los resultados primarios y secundarios en comparación con la atención adecuada sola. En general, los resultados primarios se pueden medir como un cambio en el índice de osteoartritis de Western Ontario y McMaster (WOMAC), que es una medida del dolor. Las medidas de resultados secundarias incluirán la discapacidad funcional y la calidad de vida autoinformada. Si el resultado terapéutico incluye un agente modificador de la enfermedad, la morfología de la articulación también es una variable de resultado primaria. (Hochberg *et al.*, *J. of Rheumatolog.* 24(4):792-794, 1997).

45 La patente de Estados Unidos n.º 4.636.524 divulga geles reticulados de AH, solos y mezclados con otros polímeros hidrófilos y que contienen diversas sustancias o sustancias de bajo peso molecular unidas covalentemente y procesos para prepararlos. Estos productos son útiles en numerosas aplicaciones que incluyen formulaciones cosméticas y como sistemas de administración de fármacos. Se sabe que el AH es un polímero biológicamente tolerable en el sentido de que no causa ninguna respuesta inmune o de otro tipo cuando se introduce en un cuerpo humano, los geles de AH reticulados se pueden usar para diversas aplicaciones médicas. Los geles reticulados modificados con otros polímeros o sustancias de bajo peso molecular pueden usarse como dispositivos de administración de fármacos.

55 El certificado de patente canadiense 1.240.929 enseña la combinación de compuesto de sulfato de condroitina y un hialuronato para proteger las capas de células humanas y animales y el tejido sujeto a la exposición al trauma.

60 La patente de Estados Unidos 4.851.521 y la solicitud de patente europea 0.265.116, describen ambas fracciones de AH y ésteres reticulados de AH. La patente de Estados Unidos 4.851.521 describe ésteres de AH incorporados en preparaciones farmacéuticas como principio activo y como vehículos para medicamentos oftalmológicos para su uso tópico y en supositorios para un efecto sistémico debido al efecto de la absorción transcutánea, como en los supositorios.

La patente de Estados Unidos n.º 6.221.854 y 5.942.499 de CI (Reexam 4806) describen el uso de AH y FGF básico (FGF-2) para el tratamiento del hueso. La patente enseña una mezcla inyectable que se administra en un sitio ortotópico o intraóseo del crecimiento de hueso deseado.

5 A diferencia, la combinación del polipéptido FGF18 y el antagonista de IL-1 de la presente divulgación proporciona una composición y un método que incluye la estimulación y proliferación de condrocitos maduros y/o sus progenitores, en particular condrocitos diferenciados, capaces de inducir funciones celulares especializadas, normalmente asociadas con células terminales diferenciadas. Cuando la composición divulgada en el presente documento se administra localmente al cartílago articular, la proliferación de las células y la síntesis concomitante de
10 glicosaminoglicanos aumenta más allá de los resultados observados con FGF18 o el antagonista de IL-1 solo. Estos resultados indican que la composición divulgada en el presente documento puede desempeñar un papel terapéutico en el mantenimiento o reparación del tejido cartilaginoso, tales como articulaciones dañadas por osteoartritis, artritis reumatoide o lesión traumática.

15 Se ha demostrado que FGF18 aumenta la deposición de cartílago tanto *in vivo* como *in vitro*. La generación de cartílago hialino, cartílago elástico y fibrocartílago son valiosos tanto como un componente terapéutico como para las matrices biológicas. Las composiciones de FGF18 y antagonistas de IL-1 (con o sin AH) serán útiles para tratar los defectos del cartílago articular en las articulaciones sinoviales que se deben a la fibrilación superficial relacionada con la edad, la degeneración del cartílago debido a la osteoartritis y los defectos condrales y osteocondrales focales debidos a la
20 lesión o enfermedad. Las composiciones de FGF18, y antagonistas de IL-1 (con o sin AH) también serán útiles para tratar la enfermedad articular causada por osteocondritis disecante y la enfermedad articular degenerativa. En el campo de la cirugía reconstructiva y plástica, las composiciones de FGF18 y antagonistas de IL-1 (con o sin AH) serán útiles para la expansión y transferencia autógena o alogénica del cartílago para la reconstrucción de defectos tisulares extensos. Las expansiones de las células y la inducción de la producción de cartílago elástico serán útiles para la
25 generación y reparación del tejido del oído y la nariz.

Las composiciones de FGF18 y antagonista de IL-1 pueden administrarse por cualquier medio, ya sea por vía sistémica o local, conocido por un experto en la técnica tal como administración subcutánea, intraperitoneal o intravenosa. Dependiendo de la enfermedad que se esté tratando, un método preferente puede ser la aplicación por inyección
30 directa en el líquido sinovial de la articulación o directamente en el defecto, ya sea solo o en complejo con un vehículo adecuado para la liberación prolongada de proteínas. Sin embargo, cuando el FGF18 y el antagonista de IL-1 se administra directamente a la articulación sinovial, los efectos de las composiciones para estimular la proliferación de condrocitos exceden a los del polipéptido FGF18 o el antagonista de IL-1 solo.

35 El FGF18 también se puede usar para expandir las poblaciones de condrocitos, hueso o tejido nervioso en cultivo para trasplante alógeno o alogénico y luego administrarse con un tratamiento simultáneo que consiste en la administración del polipéptido FGF18 y las composiciones antagonistas de IL-1. En estos procedimientos, por ejemplo, los condrocitos pueden recogerse artroscópicamente de un área de carga menor no lesionada de la articulación dañada, y pueden cultivarse en presencia de composiciones de FGF18 para aumentar el número de células antes del trasplante. Los
40 cultivos expandidos se mezclarán luego con el polipéptido FGF18 y las composiciones antagonistas de IL-1, y se colocarán en el espacio articular o directamente en el defecto. Las composiciones de FGF18 y antagonista de IL-1 se pueden usar junto con injertos periósteos o pericondriales que contienen células que pueden formar cartílago y/o ayudar a mantener los condrocitos trasplantados o sus células precursoras en su lugar. Las composiciones de FGF18 y antagonista de IL-1 se pueden usar para reparar el daño del cartílago junto con el lavado de la articulación, la
45 estimulación de la médula ósea, la artroplastia de abrasión, la perforación subcondral o la microfractura del hueso subcondral. Además, después del crecimiento del cartílago debido a la administración de la composición de FGF18 y antagonista de IL-1, puede ser necesario un tratamiento quirúrgico adicional para contornear adecuadamente el cartílago recién formado, el hueso o la superficie del tejido nervioso.

50 Las composiciones de la presente invención son útiles para estimular la proliferación de condrocitos y la producción de cartílago en tejidos cartilaginosos que se han dañado debido a lesión traumática o condropatía. De particular importancia para el tratamiento son los tejidos que muestran superficies articuladas, tales como, la columna vertebral, el hombro, el codo, la muñeca, las articulaciones de los dedos, la cadera, la rodilla, el tobillo y las articulaciones de los pies. Ejemplos de enfermedades que pueden beneficiarse del tratamiento incluyen osteoartritis, artritis reumatoide,
55 otras enfermedades autoinmunes u osteocondritis desecante. Además, la malformación del cartílago se ve a menudo en formas de enanismo en los seres humanos, lo que sugiere que el FGF18 sería útil en estos pacientes.

Las composiciones de FGF18 y antagonista de IL-1 pueden aplicarse mediante inyección directa en el espacio sinovial de la articulación, en los tejidos cercanos o directamente en un defecto del cartílago junto con un vehículo que muestra
60 una carga negativa en condiciones fisiológicas. Dado que FGF18 tiene un punto isoeléctrico de > 9,0, a pH fisiológico, FGF18 muestra una carga neta positiva. Por lo tanto, las moléculas portadoras con una gran cantidad de carga negativa pueden unirse al FGF18 y aumentar su actividad. Dichos vehículos incluyen hialuronanos de bajo y alto peso molecular, proteoglicanos sulfatados, matrices de polilactida, polilactida-co-glicolidos, tetradecasulfato de ciclodextrina B, hidroxiapatita, microesferas de alginato, quitosanos, metilcelulosa y otros polímeros bien conocidos en la técnica.

65 Para su uso farmacéutico, las composiciones de la presente invención se formulan para la administración intraarticular

de acuerdo con los métodos convencionales. La pauta posológica se determinará usando diversas variables del paciente (por ejemplo, peso, edad, sexo), así como la presentación clínica (por ejemplo, alcance de la lesión, lugar de la lesión, etc.) En general, las formulaciones farmacéuticas incluirán una proteína FGF18 junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable, como solución salina, solución salina tamponada, dextrosa al 5 % en agua o similares.

5 Las formulaciones pueden incluir además uno o más excipientes, conservantes, solubilizantes, agentes tamponadores, albúmina para evitar la pérdida de proteínas en la superficie de los viales, prolongar la semivida, etc. El FGF18 y el antagonista de IL-1 puede administrarse por separado o en combinación como una única composición. Por lo tanto, las formulaciones pueden proporcionarse como una formulación única o como un kit de múltiples componentes. Los métodos de formulación son bien conocidos en la técnica y se divulgan, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton PA, 1990, que se incorpora en el presente documento por referencia. La determinación de la dosis está dentro del nivel del experto en la técnica. Las proteínas pueden administrarse para el tratamiento agudo, durante una semana o menos, a menudo durante un período de uno a tres días o pueden usarse en el tratamiento crónico, durante varios meses o años.

15 La administración de proteínas generalmente requiere una formulación que prolongue la semivida o la actividad biológica de la proteína activa al aumentar la resistencia a la degradación o agregación proteolítica. La administración de una composición terapéutica proteica también puede ser difícil cuando el sitio para la acción terapéutica se limita preferentemente a una ubicación específica en el cuerpo. La presente invención proporciona formulaciones de FGF18 y antagonistas de IL-1 que serán más fáciles de administrar y más efectivas, y otros usos que deberían ser evidentes para los expertos en la técnica a partir de las enseñanzas del presente documento.

25 En otras realizaciones, una composición farmacéutica de FGF18 y antagonista de IL-1 comprenderá una formulación para la liberación temporalizada de la proteína. Las formulaciones de liberación temporalizada generalmente incluyen un dispositivo de administración monolítica que comprende soluciones biocompatibles, geles, pastas y masillas en una matriz, en la que la composición está atrapada o disuelta. La liberación de dicha composición de liberación temporalizada se produce por difusión a través de la matriz y/o erosión de la matriz. También se puede usar un sistema de depósito, en el que la composición farmacéutica se difunde a través de una membrana.

30 Aunque la administración de FGF18 y antagonistas de IL-1 en una mezcla farmacéuticamente aceptable, es suficiente para proporcionar el método de tratamiento de la presente invención, puede haber situaciones clínicas en las que se combinen fármacos adicionales en la mezcla. Ejemplos de otros fármacos que pueden estar indicados clínicamente incluyen fármacos antiinflamatorios como los inhibidores de la ciclooxigenasa-2 específicos y no específicos, fármacos antiinflamatorios no esteroideos y esteroideos. Algunos de los inhibidores de COX no específicos que podrían usarse en la presente invención incluyen ácido salicílico y derivados, tales como aspirina o sulfasalazina, derivados de para-aminofenol, como acetaminofeno, indol y ácidos indenoacéticos, como indometacina o sulindaco, ácidos arilpropiónicos, como ibuprofeno, naproxeno u oxaprozina, ácidos antranílicos, como el ácido mefenámico, ácidos enólicos que incluyen oxicams o alcanonoes, como la nabumentona. Los inhibidores específicos de la COX-2 serían las furanonas sustituidas con diarilo (Refecoxib), los pirazoles sustituidos con diarilo (Celecoxib), los ácidos acéticos de indol (Etodolac) y las sulfonamidas (Nimesulida). Además, los esteroides, como la dexametasona, prednisona, triamcinolona o metilprednisona, se encuentran entre los fármacos que podrían usarse. Otros tipos de fármacos adecuados para la presente invención serían inhibidores de la familia del factor de necrosis tumoral, como Enbrel o TACI-Ig, antagonistas de IL-18 e IL-15, y fármacos inmunosupresores tales como ciclosporina. Además, el FGF18 puede administrarse con inhibidores de la familia de quimiocinas CC (MCP-1, RANTES, MIP-1 alfa y MIP-1beta) y CXC (IL-8 y GRO-alfa).

45 La invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos no limitantes.

Ejemplo 1

50 El efecto de IL-1 β en la actividad mitogénica de FGF18

Aislamiento de condrocitos articulares humanos normales

55 Los condrocitos humanos normales se aislaron del hueso del astrágalo obtenido del North West Tissue Center (Seattle, WA). Las muestras se digirieron durante una noche en colagenasa (Worthington Tipo II; 1 mg/ml) y se colocaron en placas al día siguiente en DMEM/F12 sin suero que contenía ITS (insulina/transferencia/selenio), glutamina, piruvato, Hepes (25 mM) y ácido ascórbico (50 μ g/ml). La mayoría de las células mostraron una morfología redondeada característica de los condrocitos bien diferenciados y > 90 % de las células expresaron colágeno tipo II, característico de los condrocitos bien diferenciados. Todos los ensayos se realizaron en células de primer pasaje.

60 Ensayo mitogénico (captación de 3 H-timidina)

Los condrocitos obtenidos de individuos normales se colocaron en placas de 96 pocillos a una densidad de 30.000 células por 96 pocillos, ya sea en medio sin suero o en medio sin suero que contenía suero al 1 %. Después de 4 días, el medio se cambió a medio sin suero que contenía BSA al 0,1 %. En ambos casos, los condrocitos conservaron su morfología bien diferenciada y redondeada. Se añadió FGF18 a los pocillos después de 48 horas adicionales de cultivo y se añadió ³H-timidina (2 µC/ml) 48 horas más tarde. Se usó suero de ternera fetal (10 %) como control positivo. Después de 24 h más, las células se recogieron con una solución de tripsina y colagenasa tipo II (2 mg/ml, Worthington) y se contaron para determinar el número de cpm incorporadas.

También se realizaron estudios para evaluar el efecto de la IL-1β sobre la actividad mitogénica de FGF18. Para estos ensayos, se colocaron condrocitos en medio sin suero y se añadieron FGF18 y/o IL-1β humana después de 48 horas. Se añadió ³H-timidina (2 µC/ml) 48 horas más tarde y las células recogidas y se contaron después de 24 horas. Los resultados de este experimento se representan gráficamente en la Figura 1. Este experimento indica que la IL-1 suprime parcialmente el efecto proliferativo de FGF18, de modo que la inhibición de la actividad de IL-1 beneficiará al efecto proliferativo de FGF18 en las células derivadas mesenquimales, como los condrocitos.

Ejemplo 2

Inyección intraarticular de FGF18 y antagonista IL-1

El FGF18 se liofiliza y se reconstituye a la concentración adecuada en PBS o hialuronano al 0,5 % (0,2 µm de filtro estéril). Se inyecta una dosis única de FGF18, vehículo PBS o hialuronano, o la combinación adecuada de FGF18 disuelto en PBS y hialuronano y antagonista de IL-1, contenido en un volumen final de 5 µl en el espacio intraarticular de la babilla (rodilla) izquierda de ratones hembra c57/B16 de 10 semanas de edad. Todas las dosis se realizan bajo anestesia con isoflurano y se administran 100 µl de buprenorfina tras la recuperación de la analgesia. Los animales se sacrifican 2 semanas después de la dosificación y se toman los tejidos para la histología habitual. Se usaron los siguientes grupos de dosis:

Grupo	tratamiento
1	Sin tratamiento
2	PBS
3	5 µg FGF18 en PBS + antagonista IL-1
4	0,5 µg FGF18 en PBS + antagonista IL-1
5	0,05 µg FGF18 en PBS + antagonista IL-1
6	Hialuronano 0,5 %
7	Hialuronano 0,5 % + 5,0 µg FGF18 + antagonista IL-1
8	Hialuronano 0,5 % + 0,5 µg FGF18 + antagonista IL-1
9	Hialuronano 0,5 % + 0,05 µg FGF18 + antagonista IL-1
10	Inyección simulada

Ejemplo 3

Tratamiento del modelo AR

1. Artritis adyuvante de rata

Las ratas se preparan como se describe en Benedele *et al.*, *Arth. Rheum.* 42(3):498-506, 1999. En resumen, a las ratas macho se les administran inyecciones subcutáneas únicas (SC) de 100 microlitros de CFA a las que se añadieron 5 mg/ml de lipoidalamina (LA). Los tratamientos se iniciaron el día 8, que fue 1-2 días antes del inicio de la artritis.

Las ratas se tratan con concentraciones variables de FGF18 y antagonista de IL-1, tanto solas como en combinación y preferentemente con y sin el vehículo de AH a través de inyección intraarticular. El peso de la pata, el diámetro de la articulación del tobillo y el área bajo la curva para el diámetro de la articulación del tobillo se encuentran entre las variables medidas después del tratamiento. Además, se emprende la evaluación histológica de la inflamación, la formación de pannus, el daño del cartílago y las lesiones óseas.

2. Artritis de rata inducida por colágeno tipo II

Las ratas se preparan como se describe en Benedele *et al.*, *Arth. Rheum.* 42(3):498-506, 1999. En resumen, a las ratas hembras se les administran inyecciones intradérmicas/SC de colágeno bovino tipo II (2 mg/ml en IFA) en la base de la cola y en tres sitios sobre la espalda el día 0 y el día 7. En el día 12 se les administra una inyección intraperitoneal de endotoxina (3 mg/kg). El inicio de la artritis se produce en los siguientes 5 días. A medida que las ratas desarrollan la enfermedad, se asignan al azar a los grupos de estudio y el tratamiento se inicia el primer día en que los signos clínicos de artritis son claramente visibles.

Las ratas se tratan con concentraciones variables de FGF18 y antagonista de IL-1, tanto solas como en combinación y preferentemente con y sin el vehículo de AH a través de inyección intraarticular. El peso de la pata, el diámetro de

la articulación del tobillo y el área bajo la curva para el diámetro de la articulación del tobillo se encuentran entre las variables medidas después del tratamiento. Además, se emprende la evaluación histológica de la inflamación, la formación de pannus, el daño del cartílago y las lesiones óseas.

5 Ejemplo 4

Tratamiento del modelo de osteoartritis

(Ejemplo comparativo)

10 Para evaluar si la combinación de FGF18 y el antagonista de IL-1 podría ser más efectiva que el FGF18 solo para generar tejido condral y revertir la degeneración del cartílago en un entorno de osteoartritis (OA), se induce la OA creando un desgarro meniscal en la articulación de la rodilla de las ratas. En este modelo, el daño al menisco induce la degeneración progresiva del cartílago y la formación de osteofitos que imitan los cambios que se producen en la osteoartritis espontánea.

15 El FGF18 se disuelve en un vehículo de hialuronano, se mezcla con un antagonista de IL-1 y se aplica a la rodilla operada mediante inyección intraarticular. La reparación de la degeneración del cartílago se evalúa 3 semanas después. Se transecciona el ligamento colateral medial de cada rata y el menisco medial se corta a través de todo el espesor para simular un desgarro completo. Tres semanas después de la cirugía, las ratas reciben inyecciones intraarticulares de vehículo (hialuronano al 0,5 %) o vehículo que contiene FGF18 humano recombinante procedente de *E. coli* (0,1, 1,0 o 5,0 g) o FGF18 combinado con antagonista de IL-1 dos veces por semana durante tres semanas. Cuatro días después de la última inyección, las articulaciones de la rodilla se recolectan, se recogen en formalina tamponada, se descalcifican y se embeben en parafina para histología. Las secciones frontales de las articulaciones de la rodilla se tiñen con azul de toluidina para evaluar la formación de tejido condral. Se captura una imagen de la meseta tibial de cada rodilla usando un sistema de análisis de imágenes Optimas. Se analizan microscópicamente múltiples secciones de la rodilla derecha y se puntúan subjetivamente para determinar la degeneración del cartílago (condrocitos/pérdida de matriz y fibrilación) y la formación de condrofitos. La atención estricta a las zonas (exteriores, medias y tercios interiores de la meseta tibial medial) se adhieren y se suman para reflejar la gravedad total de la degeneración tibial. Se evaluaron las mediciones micrométricas de la extensión total de la meseta tibial afectada por la degeneración, el ancho de las lesiones tibiales que se extendieron > 50 % del espesor del cartílago (ancho de degeneración del cartílago tibial), la profundidad de la lesión (relación de profundidad), el espesor del cartílago tibial medial a la línea tibal y el tamaño y número de condrofitos. El análisis estadístico de los parámetros histopatológicos se realiza comparando las medias de los grupos usando la prueba t de Student de dos colas o mediante análisis de varianza. Todas las inyecciones y la puntuación son realizadas por investigadores a ciegas a los grupos de tratamiento.

LISTADO DE SECUENCIAS

40 <110> Moore, Emma E.
Ellsworth, Jeff L.

<120> COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA QUE COMPRENDE FGF18 Y ANTAGONISTA DE IL-1 Y MÉTODO DE USO

45 <130> 04-07PC

<160> 5

50 <170> FastSEQ para la versión de Windows 4.0

<210> 1
<211> 917
<212> ADN
<213> Homo sapiens

55 <220>
<221> CDS
<222> (1)...(621)

60 <400> 1

ES 2 706 848 T3

```

atg tat tca gcg ccc tcc gcc tgc act tgc ctg tgt tta cac ttc
ctg   48
Met Tyr Ser Ala Pro Ser Ala Cys Thr Cys Leu Cys Leu His Phe
Leu
  1           5           10           15

ctg ctg tgc ttc cag gta cag gtg ctg gtt gcc gag gag aac gtg
gac   96
Leu Leu Cys Phe Gln Val Gln Val Leu Val Ala Glu Glu Asn Val
Asp
           20           25           30

ttc cgc atc cac gtg gag aac cag acg cgg gct cgg gac gat gtg
agc  144
Phe Arg Ile His Val Glu Asn Gln Thr Arg Ala Arg Asp Asp Val
Ser
           35           40           45

cgt aag cag ctg cgg ctg tac cag ctc tac agc cgg acc agt ggg
aaa  192
Arg Lys Gln Leu Arg Leu Tyr Gln Leu Tyr Ser Arg Thr Ser Gly
Lys
           50           55           60

cac atc cag gtc ctg ggc cgc agg atc agt gcc cgc ggc gag gat
ggg  240

```

ES 2 706 848 T3

His Ile Gln Val Leu Gly Arg Arg Ile Ser Ala Arg Gly Glu Asp
 Gly
 65 70 75
 80

 gac aag tat gcc cag ctc cta gtg gag aca gac acc ttc ggt agt
 caa 288
 Asp Lys Tyr Ala Gln Leu Leu Val Glu Thr Asp Thr Phe Gly Ser
 Gln
 85 90 95

 gtc cgg atc aag ggc aag gag acg gaa ttc tac ctg tgc atg aac
 cgc 336
 Val Arg Ile Lys Gly Lys Glu Thr Glu Phe Tyr Leu Cys Met Asn
 Arg
 100 105 110

 aaa ggc aag ctc gtg ggg aag ccc gat ggc acc agc aag gag tgt
 gtg 384
 Lys Gly Lys Leu Val Gly Lys Pro Asp Gly Thr Ser Lys Glu Cys
 Val
 115 120 125

 ttc atc gag aag gtt ctg gag aac aac tac acg gcc ctg atg tcg
 gct 432
 Phe Ile Glu Lys Val Leu Glu Asn Asn Tyr Thr Ala Leu Met Ser
 Ala
 130 135 140

 aag tac tcc ggc tgg tac gtg ggc ttc acc aag aag ggg cgg ccg
 cgg 480
 Lys Tyr Ser Gly Trp Tyr Val Gly Phe Thr Lys Lys Gly Arg Pro
 Arg
 145 150 155
 160

 aag ggc ccc aag acc cgg gag aac cag cag gac gtg cat ttc atg
 aag 528
 Lys Gly Pro Lys Thr Arg Glu Asn Gln Gln Asp Val His Phe Met
 Lys
 165 170 175

 cgc tac ccc aag ggg cag ccg gag ctt cag aag ccc ttc aag tac
 acg 576
 Arg Tyr Pro Lys Gly Gln Pro Glu Leu Gln Lys Pro Phe Lys Tyr
 Thr
 180 185 190

 acg gtg acc aag agg tcc cgt cgg atc cgg ccc aca cac cct gcc
 621
 Thr Val Thr Lys Arg Ser Arg Arg Ile Arg Pro Thr His Pro Ala

ES 2 706 848 T3

195

200

205

tagggcacc cgccgcggcc ctcaggctgc cctggccaca ctcacactcc
 cagaaaactg 681
 catcagagga atatTTTTac atgaaaaata aggattttat tgttgacttg
 aaacccccga 741
 tgacaaaaga ctcacgcaaa gggactgtag tcaaccacaca ggtgcttgtc
 tctctctagg 801
 aacagacaac tctaaactcg tccccagagg aggacttgaa tgaggaaacc
 aacactttga 861
 gaaaccaaag tcctTTTTcc caaaggttct gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa ctcgag
 917

<210> 2
 <211> 207
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 2

Met Tyr Ser Ala Pro Ser Ala Cys Thr Cys Leu Cys Leu His Phe
 Leu
 1 5 10 15
 Leu Leu Cys Phe Gln Val Gln Val Leu Val Ala Glu Glu Asn Val
 Asp
 20 25 30
 Phe Arg Ile His Val Glu Asn Gln Thr Arg Ala Arg Asp Asp Val
 Ser
 35 40 45
 Arg Lys Gln Leu Arg Leu Tyr Gln Leu Tyr Ser Arg Thr Ser Gly
 Lys
 50 55 60
 His Ile Gln Val Leu Gly Arg Arg Ile Ser Ala Arg Gly Glu Asp
 Gly
 65 70 75 80
 Asp Lys Tyr Ala Gln Leu Leu Val Glu Thr Asp Thr Phe Gly Ser
 Gln
 85 90 95
 Val Arg Ile Lys Gly Lys Glu Thr Glu Phe Tyr Leu Cys Met Asn
 Arg
 100 105 110
 Lys Gly Lys Leu Val Gly Lys Pro Asp Gly Thr Ser Lys Glu Cys
 Val
 115 120 125
 Phe Ile Glu Lys Val Leu Glu Asn Asn Tyr Thr Ala Leu Met Ser
 Ala
 130 135 140
 Lys Tyr Ser Gly Trp Tyr Val Gly Phe Thr Lys Lys Gly Arg Pro
 Arg
 145 150 155
 160

10

ES 2 706 848 T3

Lys Gly Pro Lys Thr Arg Glu Asn Gln Gln Asp Val His Phe Met
 Lys
 165 170 175
 Arg Tyr Pro Lys Gly Gln Pro Glu Leu Gln Lys Pro Phe Lys Tyr
 Thr
 180 185 190
 Thr Val Thr Lys Arg Ser Arg Arg Ile Arg Pro Thr His Pro Ala
 195 200 205

5 <210> 3
 <211> 1023
 <212> ADN
 <213> Mus musculus

10 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(624)

<400> 3

atg tat tca gcg ccc tcc gcc tgc act tgc ctg tgt tta cac ttt
 cta 48
 Met Tyr Ser Ala Pro Ser Ala Cys Thr Cys Leu Cys Leu His Phe
 Leu
 1 5 10 15
 ctg ctg tgc ttc cag gtt cag gtg ttg gca gcc gag gag aat gtg
 gac 96
 Leu Leu Cys Phe Gln Val Gln Val Leu Ala Ala Glu Glu Asn Val
 Asp
 20 25 30
 ttc cgc atc cac gtg gag aac cag acg cgg gct cga gat gat gtg
 agt 144
 Phe Arg Ile His Val Glu Asn Gln Thr Arg Ala Arg Asp Asp Val
 Ser
 35 40 45
 cgg aag cag ctg cgc ttg tac cag ctc tat agc agg acc agt ggg
 aag 192
 Arg Lys Gln Leu Arg Leu Tyr Gln Leu Tyr Ser Arg Thr Ser Gly
 Lys
 50 55 60
 cac att caa gtc ctg ggc cgt agg atc agt gcc cgt ggc gag gac
 ggg 240
 His Ile Gln Val Leu Gly Arg Arg Ile Ser Ala Arg Gly Glu Asp
 Gly
 65 70 75
 80

15

ES 2 706 848 T3

gac aag tat gcc cag ctc cta gtg gag aca gat acc ttc ggg agt
 caa 288

Asp Lys Tyr Ala Gln Leu Leu Val Glu Thr Asp Thr Phe Gly Ser
 Gln

85 90 95

gtc cgg atc aag ggc aag gag aca gaa ttc tac ctg tgt atg aac
 cga 336

Val Arg Ile Lys Gly Lys Glu Thr Glu Phe Tyr Leu Cys Met Asn
 Arg

100 105 110

aaa ggc aag ctc gtg ggg aag cct gat ggt act agc aag gag tgc
 gtg 384

Lys Gly Lys Leu Val Gly Lys Pro Asp Gly Thr Ser Lys Glu Cys
 Val

115 120 125

ttc att gag aag gtt ctg gaa aac aac tac acg gcc ctg atg tct
 gcc 432

Phe Ile Glu Lys Val Leu Glu Asn Asn Tyr Thr Ala Leu Met Ser
 Ala

130 135 140

aag tac tct ggt tgg tat gtg ggc ttc acc aag aag ggg cgg cct
 cgc 480

Lys Tyr Ser Gly Trp Tyr Val Gly Phe Thr Lys Lys Gly Arg Pro
 Arg

145 150 155

160

aag ggt ccc aag acc cgc gag aac cag caa gat gta cac ttc atg
 aag 528

Lys Gly Pro Lys Thr Arg Glu Asn Gln Gln Asp Val His Phe Met
 Lys

165 170 175

cgt tac ccc aag gga cag gcc gag ctg cag aag ccc ttc aaa tac
 acc 576

Arg Tyr Pro Lys Gly Gln Ala Glu Leu Gln Lys Pro Phe Lys Tyr
 Thr

180 185 190

aca gtc acc aag cga tcc cgg cgg atc cgc ccc act cac ccc ggc
 tag 624

Thr Val Thr Lys Arg Ser Arg Arg Ile Arg Pro Thr His Pro Gly *

195 200 205

gtccggccac actcaccccc ccagagaact acatcagagg aatattttta
 catgaaaaat 684

ES 2 706 848 T3

aaggaagaat ctctatTTTT gtacattgtg tttaaaagaa gacaaaaact
 gaacctaaag 744
 tcttgggagg aggggcgata ggattccact gttgacctga accccatgac
 aaaggactca 804
 cacaagggga ccgctgtcaa cccacagggtg cttgcctctc tctaggaggt
 gacaattcaa 864
 aactcatccc cagaggagga cttgaacgag gaaactgcca gaaaccaaag
 tcctttcccc 924
 ccaaaggttc tgaaagcaaa caaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
 aaaaaaaaaa 984
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa gggcggccgc tctagagga
 1023

<210> 4
 <211> 207
 5 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 4

Met	Tyr	Ser	Ala	Pro	Ser	Ala	Cys	Thr	Cys	Leu	Cys	Leu	His	Phe
Leu														
1				5				10					15	
Leu	Leu	Cys	Phe	Gln	Val	Gln	Val	Leu	Ala	Ala	Glu	Glu	Asn	Val
Asp														
			20					25					30	
Phe	Arg	Ile	His	Val	Glu	Asn	Gln	Thr	Arg	Ala	Arg	Asp	Asp	Val
Ser														
		35					40					45		
Arg	Lys	Gln	Leu	Arg	Leu	Tyr	Gln	Leu	Tyr	Ser	Arg	Thr	Ser	Gly
Lys														
	50					55					60			
His	Ile	Gln	Val	Leu	Gly	Arg	Arg	Ile	Ser	Ala	Arg	Gly	Glu	Asp
Gly														
65				70						75				80
Asp	Lys	Tyr	Ala	Gln	Leu	Leu	Val	Glu	Thr	Asp	Thr	Phe	Gly	Ser
Gln														
			85					90					95	
Val	Arg	Ile	Lys	Gly	Lys	Glu	Thr	Glu	Phe	Tyr	Leu	Cys	Met	Asn
Arg														
			100					105					110	
Lys	Gly	Lys	Leu	Val	Gly	Lys	Pro	Asp	Gly	Thr	Ser	Lys	Glu	Cys
Val														
		115						120					125	
Phe	Ile	Glu	Lys	Val	Leu	Glu	Asn	Asn	Tyr	Thr	Ala	Leu	Met	Ser
Ala														
	130						135					140		
Lys	Tyr	Ser	Gly	Trp	Tyr	Val	Gly	Phe	Thr	Lys	Lys	Gly	Arg	Pro
Arg														
145				150							155			
160														

10

ES 2 706 848 T3

Lys Gly Pro Lys Thr Arg Glu Asn Gln Gln Asp Val His Phe Met
 Lys
 165 170 175
 Arg Tyr Pro Lys Gly Gln Ala Glu Leu Gln Lys Pro Phe Lys Tyr
 Thr
 180 185 190
 Thr Val Thr Lys Arg Ser Arg Arg Ile Arg Pro Thr His Pro Gly
 195 200 205

5 <210> 5
 <211> 153
 <212> PRT
 <213> Homosapien

10 <220>
 <221> VARIANTE
 <222> 1
 <223> Xaa es Met o está ausente.

<400> 5

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

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende FGF18 y un antagonista de IL-1 seleccionado de entre el grupo que consiste en:
- 5 (i) IL-1ra, en donde dicha IL-1ra se selecciona de entre una IL-1ra recombinante o una proteína de fusión IL-1ra, comprendiendo dicha proteína de fusión la secuencia de IL-1ra mostrada en la SEQ ID NO:5 o un fragmento inhibidor de IL-1 de la misma y un dominio constante de una cadena pesada o una cadena ligera de inmunoglobulina humana en el extremo amino de dicho IL-1ra; o
- 10 (ii) un anticuerpo anti-IL-1R₁;
en donde dicha composición farmacéutica no comprende ácido hialurónico.
2. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicha IL-1ra es una IL-1ra recombinante.
- 15 3. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la que el dominio constante es un dominio constante de cadena pesada.
4. La composición farmacéutica de cualquier reivindicación anterior, en la que el FGF18 comprende del resto 28 al resto 207 de la SEQ ID NO:2.
- 20 5. La composición farmacéutica de cualquier reivindicación anterior, en la que el FGF18 comprende del resto 28 al resto 196 de la SEQ ID NO:2.
6. La composición farmacéutica de cualquier reivindicación anterior, que comprende además un vehículo cargado negativamente seleccionado de entre el grupo que consiste en proteoglicanos sulfatados, matrices de polilactida o polilactida-co-glicolida, tetradecasulfato de ciclodextrina B, hidroxapatita, microesferas de alginato, quitosanos y metilcelulosa.
- 25 7. La composición farmacéutica de cualquier reivindicación anterior, en la que dicha composición es una composición de liberación temporalizada.
- 30 8. La composición farmacéutica de la reivindicación 7, en la que dicha formulación de liberación temporalizada comprende una matriz seleccionada de entre el grupo que consiste en una solución, un gel, una pasta o una masilla.
- 35 9. La composición farmacéutica de la reivindicación 7, en la que dicha formulación de liberación temporalizada comprende un sistema de depósito.
10. La composición farmacéutica de cualquier reivindicación anterior, que comprende además un fármaco antiinflamatorio.
- 40 11. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que consiste en:
- FGF18,
el antagonista de IL-1,
45 y opcionalmente un vehículo farmacéuticamente aceptable, y uno o más excipientes, conservantes, solubilizantes, agentes tamponantes o albúmina.
12. La composición farmacéutica de cualquier reivindicación anterior, para su uso en medicina.
- 50 13. Una composición farmacéutica de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, para su uso en el tratamiento de una enfermedad articular degenerativa, afecciones articulares inflamatorias, condropatía, defectos del cartílago articular en las articulaciones sinoviales debidas a fibrilación superficial relacionada con la edad, defectos condrales u osteocondrales focales debidos a lesión o enfermedad, u osteocondritis disecante, en un paciente, mediante la estimulación de la proliferación de condrocitos y la reparación del cartílago a través de la potenciación de los efectos estimulantes de FGF18 por inhibición de la actividad de IL-1.
- 55 14. Una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde dicha composición debe administrarse mediante inyección intraarticular o por implantación quirúrgica.
- 60 15. FGF18 y un antagonista de IL-1 en ausencia de ácido hialurónico para su uso en el tratamiento de la enfermedad articular degenerativa, afecciones articulares inflamatorias, condropatía, defectos del cartílago articular en las articulaciones sinoviales debidas a fibrilación superficial relacionada con la edad, defectos condrales u osteocondrales focales debidos a lesión o enfermedad, u osteocondritis disecante, en un paciente, mediante la estimulación de la proliferación de condrocitos y la reparación del cartílago a través de la potenciación de los efectos estimulantes de FGF18 por inhibición de la actividad de IL-1;
- 65 en donde dicho antagonista de IL-1 se selecciona de entre el grupo que consiste en:

- 5 (i) IL-1ra, en donde dicha IL-1ra se selecciona de entre una IL-1ra recombinante o una proteína de fusión IL-1ra, comprendiendo dicha proteína de fusión la secuencia de IL-1ra mostrada en la SEQ ID NO:5 o un fragmento inhibidor de IL-1 de la misma y un dominio constante de una cadena pesada o una cadena ligera de inmunoglobulina humana en el extremo amino de dicho IL-1ra; o
(ii) un anticuerpo anti-IL-1R₁.
- 10 16. FGF18 y un antagonista de IL-1 para su uso de acuerdo con la reivindicación 15, en donde dicha IL-1ra es una IL-1ra recombinante.
- 15 17. FGF18 y un antagonista de IL-1 para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 15 o 16, en donde el FGF18 y el antagonista de IL-1 deben administrarse en combinación como una única composición o por separado.
18. FGF18 y un antagonista de IL-1 para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 15-17, en donde el FGF18 y el antagonista de IL-1 deben administrarse mediante inyección intraarticular.
19. FGF18 y un antagonista de IL-1 para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 15-17, en donde el FGF18 y el antagonista de IL-1 deben administrarse por implantación quirúrgica.

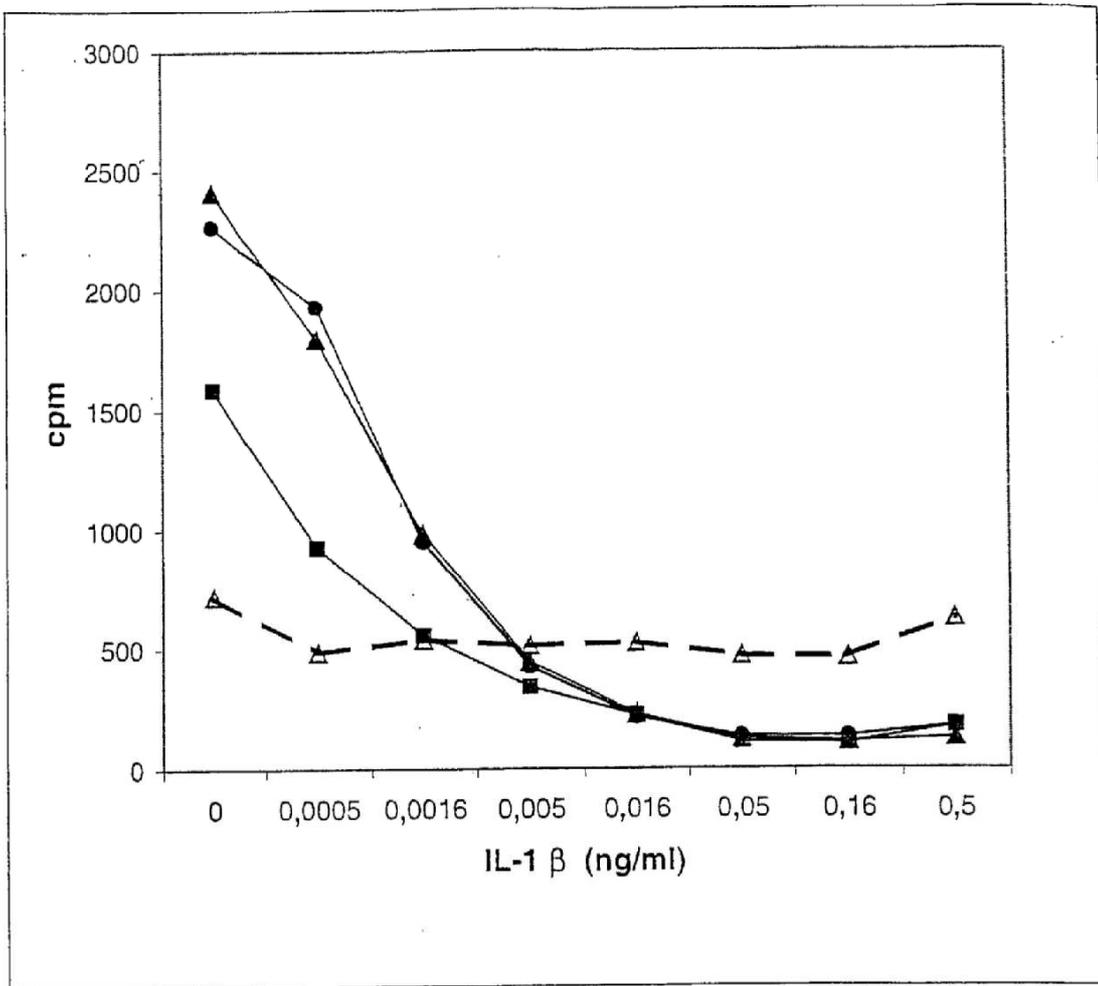


FIGURA 1