

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 794 082**

51 Int. Cl.:

A61P 1/18 (2006.01)

C07K 14/54 (2006.01)

A61K 38/20 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.11.2014 PCT/CN2014/090519**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.05.2015 WO15067198**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.11.2014 E 14860161 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.04.2020 EP 3065765**

54 Título: **Uso de dímeros de IL-22 en la fabricación de medicamentos para tratar la pancreatitis**

30 Prioridad:

07.11.2013 CN 201310549648

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

17.11.2020

73 Titular/es:

**GENERON (SHANGHAI) CORPORATION LTD.
(100.0%)
Suite 307, 1011 Ha Lei Road, China (Shanghai)
Pilot Free Trade Zone
Shanghai 201203, CN**

72 Inventor/es:

**YAN, XIAOQIANG;
HUANG, CHENG;
WU, DONGDONG;
TANG, KAIYANG y
HUANG, YULIANG**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 794 082 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

Uso de dímeros de IL-22 en la fabricación de medicamentos para tratar la pancreatitis

5 CAMPO DE INVENCION

Esta invención se refiere al área de tecnologías biológicas y médicas, en particular, esta invención se refiere al uso del dímero de interleucina-22 (IL-22) en el tratamiento de la pancreatitis.

10 ANTECEDENTES

En general, se cree que la pancreatitis está provocada por la conversión del tripsinógeno a tripsina seguido de autodigestión de las células acinares pancreáticas. De acuerdo con el curso de la enfermedad, la pancreatitis puede dividirse en dos formas, pancreatitis aguda (AP) y pancreatitis crónica (CP).

15 Las principales etiologías de la pancreatitis aguda son los cálculos biliares (incluyendo la microlitiasis biliar), la hipertrigliceridemia y el alcohol, etc. Otras causas incluyen comer en exceso, shock, embarazo, parasitación, hiperlipemia, hipercalcemia, parotitis, etc. Además, la AP también está asociada con factores iatrogénicos como operación abdominal, colangiopancreatografía retrógrada endoscópica (CPRE), ultrasonografía endoscópica (EUS), etc., y medicamentos como hidroclorotiazida, ácido etacrínico, indometacina, anticonceptivos orales, etc. Además, hay una serie de pacientes con etiología desconocida, concretamente, pancreatitis idiopática.

25 La pancreatitis aguda es una enfermedad clínicamente común, las lesiones básicas de la pancreatitis aguda incluyen edema, hemorragia y necrosis. Según los informes, en general, el 85% de los pacientes tienen pancreatitis intersticial, el 15% (intervalo del 4-47%) tienen pancreatitis necrosante. Aproximadamente el 10% de los pacientes con pancreatitis intersticial experimentan insuficiencia orgánica, pero en la mayoría es transitoria con una mortalidad muy baja. Entre los pacientes con pancreatitis necrosante, el 33% (intervalo del 16-47%) tienen necrosis infectada, la prevalencia media de insuficiencia orgánica en la pancreatitis necrosante es del 54% (intervalo del 29-78%). La prevalencia de insuficiencia orgánica es igual o algo mayor en la necrosis infectada (34-89%) que en la necrosis estéril (45-73%). La mortalidad general en la pancreatitis aguda es de aproximadamente el 5%: 3% en la pancreatitis intersticial, 17% en pancreatitis necrosante (30% en necrosis infectada, 12% en necrosis estéril). La mortalidad en ausencia de insuficiencia orgánica es 0, con insuficiencia de un solo órgano es del 3% (intervalo del 0-8%), con insuficiencia orgánica multisistémica el 47% (intervalo del 28-69%) (Peter A. Banks et al, Am J Gastroenterol, 101: 2379-2400, 2006). Actualmente, el tratamiento para la pancreatitis aguda es de apoyo y consiste de el reemplazo de fluidos y sal y el manejo del dolor. No hay fármacos específicamente efectivos disponibles.

40 La pancreatitis crónica es una inflamación pancreática localizada o difusa provocada por varios factores etiológicos. La pancreatitis aguda grave recurrente puede evolucionar a pancreatitis crónica (Klöppel G, Maillet B. Hepatogastroenterology, 38(5):408-12, 1991). Los mecanismos subyacentes a la patogénesis de la pancreatitis crónica no se comprenden completamente. Los tratamientos actuales incluyen principalmente una terapia alternativa mediante el suministro de tripsina y el tratamiento de complicaciones, como el tratamiento del dolor.

45 Feng et al. informaron que la interleucina-22 mejora la pancreatitis inducida por ceruleína en ratones (*Int. J. Biol. Sci.*, 8(2), 249-257, 2012). La US2013/171100 trata sobre el uso de interleucina-22 en el tratamiento de la hepatitis vírica. La WO2006073508 describe el uso de IL-22 para el tratamiento de afecciones de trastornos metabólicos. La WO2014145016 trata sobre polipéptidos de IL-22 y proteínas de fusión Fc de IL-22 y métodos de uso.

50 SUMARIO DE LA INVENCION

Es un objeto de la presente divulgación proporcionar el uso del dímero de IL-22 en la fabricación de un medicamento para la prevención y/o el tratamiento de la pancreatitis.

55 En un aspecto de la presente divulgación, se proporciona un uso del dímero de interleucina-22 (IL-22) en la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de la pancreatitis. La invención proporciona un dímero de IL-22 para su uso en un método para tratar la pancreatitis en un individuo, en donde el método comprende administrar al individuo una cantidad eficaz del dímero de IL-22, en donde el dímero de IL-22 se administra a una cantidad eficaz de 2 µg/kg a 200 µg/kg.

60 En algunas realizaciones, la pancreatitis se selecciona del grupo que consiste de pancreatitis aguda, pancreatitis crónica, pancreatitis alcohólica, pancreatitis recurrente, pancreatitis por reflujo biliar, pancreatitis intersticial, pancreatitis necrosante y pancreatitis post CPRE.

En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 se muestra como la Fórmula I:

65

en donde,

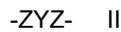
5 M1 es un primer monómero de IL-22,
M2 es un segundo monómero de IL-22, y
L es un conector que conecta dicho primer monómero y dicho segundo monómero y está dispuesto entre ellos.

10 En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 retiene la actividad biológica de IL-22 y tiene una vida media en suero de más de dos veces la del primer o el segundo monómero.

15 En algunas realizaciones, la vida media en suero del dímero de IL-22 es de más de tres, cinco o diez veces la del primer y/o el segundo monómero.

En una realización preferida, el conector L se selecciona del grupo que consiste de:

20 (i). un péptido corto que comprende de 3 a 50 aminoácidos; y
(ii) un polipéptido de fórmula II:



en donde,

25 Y es una proteína portadora,
Z no es nada, o un péptido(s) corto que comprende de 1 a 30 aminoácidos, y
"-" es un enlace químico o un enlace covalente.

30 En algunas realizaciones, el "-" es un enlace peptídico.

En algunas realizaciones, Z tiene una longitud de 5-50 residuos de aminoácidos.

En algunas realizaciones, Z comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 10.

35 En algunas realizaciones, Z tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 10.

En algunas realizaciones, la proteína portadora contiene por lo menos dos cisteínas capaces de formar enlaces disulfuro intermoleculares.

40 En algunas realizaciones, la proteína portadora está dispuesta en el extremo N-terminal del monómero de IL-22.

45 En algunas realizaciones, la proteína portadora está dispuesta en el extremo C-terminal del monómero de IL-22.

En algunas realizaciones, la proteína portadora es albúmina o un fragmento Fc de IgG humana.

En algunas realizaciones, el fragmento Fc contiene los dominios de CH2 y CH3.

50 En algunas realizaciones, el fragmento Fc comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 2 o la SEQ ID NO: 9.

En algunas realizaciones, el fragmento Fc tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 2 o la SEQ ID NO: 9.

55 En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 está formado por dos subunidades monoméricas en donde cada subunidad monomérica comprende un dominio de IL-22, un dominio de dimerización y opcionalmente un conector que conecta el dominio de IL-22 y el dominio de dimerización.

60 En algunas realizaciones, el dominio de IL-22 es el monómero de IL-22, el dominio de dimerización comprende el fragmento Fc de inmunoglobulina humana (como IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4), el conector opcional es un péptido que conecta el monómero de IL-22 y el fragmento Fc, y el dímero está formado por la conexión de dos dominios de dimerización (como el fragmento Fc) a través de uno o más enlaces disulfuro.

En algunas realizaciones, el número de dicho enlace disulfuro es 2-4.

65 En algunas realizaciones, la subunidad monomérica de cada dímero de IL-22 comprende una secuencia de

aminoácidos seleccionada de la SEQ ID NO: 4 y las SEQ ID NO: 6-8.

En algunas realizaciones, el primer monómero y el segundo monómero del dímero de IL-22 son idénticos.

5 En algunas realizaciones, el primer monómero y el segundo monómero son diferentes.

En algunas realizaciones, la actividad biológica del dímero de IL-22 se selecciona de una o más actividades biológicas en un grupo que consiste de:

- 10 (a) reducir los niveles de amilasa y/o lipasa in vivo,
(b) mejorar el edema pancreático in vivo,
(c) inhibir la necrosis de células acinares y/o adipocitos en el páncreas in vivo,
(d) mejorar la infiltración de células inflamatorias en el páncreas in vivo.

15 En otro aspecto de la presente divulgación, se proporciona una composición farmacéutica para la prevención y/o el tratamiento de la pancreatitis, que comprende un portador(es) farmacéuticamente aceptable y un dímero de IL-22 de Fórmula I:



20 en donde,

M1 es un primer monómero de IL-22;
M2 es un segundo monómero de IL-22; y
25 L es un conector que conecta dicho primer monómero y dicho segundo monómero y está dispuesto entre ellos.

En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 retiene la actividad biológica de IL-22 y tiene una vida media en suero de más de dos veces la del primer o el segundo monómero.

30 En otro aspecto de la presente divulgación, se proporciona un uso del dímero de IL-22 en la fabricación de un medicamento para aumentar el nivel en suero de la proteína amiloide A (SAA) y/o proteína C-reactiva (CRP), y/o reduciendo el nivel en suero de triglicéridos (TG).

35 En otro aspecto de la presente divulgación, se proporciona un método para tratar la pancreatitis en un individuo, que comprende administrar (como administrar por vía intravenosa) al individuo una cantidad eficaz de un dímero de IL-22.

40 En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 comprende dos subunidades monoméricas, en donde cada subunidad monomérica comprende un dominio de IL-22 y un dominio de dimerización.

En algunas realizaciones, cada subunidad monomérica del dímero de IL-22 comprende un dominio de IL-22 enlazado a un dominio de dimerización a través de una secuencia conectora opcional.

45 En algunas realizaciones, la secuencia conectora tiene de aproximadamente 5 a aproximadamente 50 aminoácidos.

En algunas realizaciones, la secuencia conectora comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 10.

50 En algunas realizaciones, la secuencia conectora tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 10.

55 En algunas realizaciones, el dominio de dimerización comprende por lo menos dos cisteínas capaces de formar enlaces disulfuro intermoleculares.

En algunas realizaciones, el dominio de dimerización comprende por lo menos una parte del fragmento Fc.

60 En algunas realizaciones, el fragmento Fc comprende los dominios CH2 y CH3.

En algunas realizaciones, el fragmento Fc comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 2 o la SEQ ID NO: 9.

En algunas realizaciones, el fragmento Fc tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 2 o la SEQ ID NO: 9.

65 En algunas realizaciones, el dominio de IL-22 de cada subunidad monomérica tiene la secuencia de la SEQ

ID NO: 3.

5 En algunas realizaciones, cada subunidad monomérica tiene la secuencia seleccionada de la SEQ ID NO: 4 y las SEQ ID NO: 6-8.

En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 se administra por vía intravenosa.

10 En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 se administra en una cantidad de aproximadamente 2 µg/kg a aproximadamente 200 µg/kg.

En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 se administra en una cantidad de aproximadamente 5 µg/kg a aproximadamente 80 µg/kg.

15 En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 se administra en una cantidad de aproximadamente 10 µg/kg a aproximadamente 45 µg/kg.

En algunas realizaciones, la pancreatitis es pancreatitis aguda.

20 En algunas realizaciones, la pancreatitis es pancreatitis crónica.

En algunas realizaciones, la pancreatitis es pancreatitis intersticial.

En algunas realizaciones, la pancreatitis es pancreatitis necrosante.

25 En algunas realizaciones, la pancreatitis es pancreatitis inducida por alcohol.

En algunas realizaciones, la pancreatitis es pancreatitis recurrente.

30 En algunas realizaciones, la pancreatitis es pancreatitis por reflujo biliar.

En algunas realizaciones, la pancreatitis es pancreatitis inducida por CPRE.

35 En algunas realizaciones, el individuo tiene amilasa en suero elevada, lipasa en suero elevada, amilasa en orina elevada o proteína C reactiva elevada.

En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 se administra no más de aproximadamente una vez a la semana.

40 En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 se administra no más de aproximadamente una vez al mes.

En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 se administra no más de aproximadamente una vez cada tres meses.

45 En algunas realizaciones, la cantidad eficaz del dímero de IL-22 lleva a un nivel incrementado de proteína A amiloide o proteína C reactiva en suero en el individuo.

En algunas realizaciones, la cantidad eficaz del dímero de IL-22 lleva a la inhibición de triglicéridos en el individuo.

50 En algunas realizaciones, la cantidad eficaz del dímero de IL-22 no lleva a un nivel elevado de una citoquina inflamatoria.

En algunas realizaciones, la citoquina inflamatoria se selecciona de TNF-α, IL-6, IL-1β e IL-8.

55 En algunas realizaciones, la cantidad eficaz del dímero de IL-22 lleva a un nivel disminuido de amilasa y/o lipasa in vivo.

En algunas realizaciones, la cantidad eficaz del dímero de IL-22 mejora el edema pancreático in vivo.

60 En algunas realizaciones, la cantidad eficaz del dímero de IL-22 inhibe la necrosis de células acinares y/o adipocitos en el páncreas in vivo.

En algunas realizaciones, la cantidad eficaz del dímero de IL-22 mejora la infiltración celular inflamatoria en el páncreas in vivo.

65

En algunas realizaciones, el dominio de dimerización está en el extremo N-terminal de la subunidad del dímero de IL-22.

5 En algunas realizaciones, el dominio de dimerización está en el extremo C-terminal de la subunidad del dímero de IL-22.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

10 La FIG. 1 es una ilustración de un dímero de IL-22 ejemplar de acuerdo con la presente invención. En la figura, "-" representa un conector y el objeto con forma ovalada marcado con "IL-22" representa un monómero de IL-22.

15 Las FIGS. 2A y 2B son ilustraciones de dímeros de IL-22 ejemplares de acuerdo con la presente invención. En las figuras, "-" representa un conector de aminoácido y el objeto con forma ovalada marcado con "IL-22" representa un monómero de IL-22. Como se ilustra en la FIG. 2A, el objeto con forma ovalada marcado con "C" representa una proteína portadora en la que la IL-22 está dispuesta en el extremo N-terminal de la proteína portadora. Como se ilustra en la FIG. 2B, el objeto con forma medio ovalada marcado con "Fc" representa un fragmento Fc que es un dominio de dimerización, que muestra que un dímero se forma mediante el acoplamiento de dos fragmentos Fc a través de enlaces de disulfuro.

20 Las FIGS. 3A y 3B son ilustraciones de dímeros de IL-22 ejemplares de acuerdo con la presente invención. En las figuras, "-" representa un conector de aminoácidos, el objeto con forma ovalada marcado con "IL-22" representa un monómero de IL-22. Como se ilustra en la FIG. 3A, el objeto con forma ovalada marcado con "C" representa una proteína portadora en la que la IL-22 está dispuesta en el extremo C-terminal de la proteína portadora. Como se ilustra en la FIG. 3B, el objeto con forma medio ovalada marcado con "Fc" representa un fragmento Fc que es un dominio de dimerización, que muestra que un dímero se forma mediante el acoplamiento de dos fragmentos Fc a través de enlaces de disulfuro.

25 La FIG. 4 muestra el efecto proliferativo de IL-22 y del dímero de IL-22 en células Colo205 en un experimento de actividad in vitro.

La FIG. 5 muestra el efecto de IL-22 y del dímero de IL-22 sobre la estimulación de STAT3 en células Colo205 en un experimento de actividad in vitro.

30 La FIG. 6 muestra la distribución del dímero de IL-22 en tejidos pancreáticos en ratas después de la administración. Las ratas SD recibieron una única inyección intravenosa de 30 µg/kg de dímero de IL-22 marcado con ¹²⁵I a través de la vena cauda. Los recuentos de radiactividad en tejidos de los órganos se midieron a las 2, 24 y 48 horas, respectivamente, después de la inyección.

35 La FIG. 7 muestra la distribución del dímero de IL-22 en tejidos pancreáticos en monos cynomolgus después de la administración. Los monos cynomolgus recibieron una única inyección intravenosa de 100 µg/kg de dímero de IL-22. Las concentraciones de fármaco en los tejidos de los órganos se midieron a las 2 horas después de la inyección.

La FIG. 8A muestra los cambios en los niveles en suero de proteína amiloide (SAA) en humanos con el tiempo después de la administración intravenosa de dímero de IL-22.

40 La FIG. 8B muestra los cambios de los niveles en suero de proteína C reactiva en humanos con el tiempo después de la administración intravenosa de dímero de IL-22.

La FIG. 8C muestra los cambios en los niveles en suero de triglicéridos en humanos con el tiempo después de la administración intravenosa de dímero de IL-22.

45 La FIG. 8D muestra el efecto sobre los niveles en suero de varias citoquinas en humanos con el tiempo después de la administración intravenosa de dímero de IL-22.

La FIG. 9A muestra el efecto de IL-22 y del dímero de IL-22 sobre los niveles de amilasa en suero en ratas en un modelo de pancreatitis.

50 La FIG. 9B muestra el efecto de IL-22 y del dímero de IL-22 sobre los niveles de lipasa en suero en ratas en un modelo de pancreatitis.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente solicitud proporciona un dímero de IL-22 para su uso en métodos para tratar la pancreatitis mediante la administración (como administrar por vía intravenosa) de una cantidad eficaz de un dímero de IL-22, en donde el dímero de IL-22 se administra a una cantidad eficaz de 2 µg/kg a 200 µg/kg. Usando un modelo animal bien establecido para la pancreatitis, los inventores han demostrado que los dímeros de IL-22 son altamente eficaces para tratar la pancreatitis y pueden reducir significativamente el nivel de amilasa y/o lipasa en suero en un individuo con pancreatitis, mejoran el edema pancreático in vivo, inhiben la necrosis de células acinares y/o adipocitos en el páncreas, y mejoran la infiltración de células inflamatorias en el páncreas in vivo. Sorprendentemente, se descubrió que, aunque los dímeros de IL-22 muestran actividades disminuidas en los ensayos in vitro, a una dosis molar igual, la bioactividad in vivo del dímero de IL-22 es significativamente más fuerte que la del monómero de IL-22. Además se descubrió sorprendentemente que, aunque la inyección subcutánea del dímero de IL-22 da como resultado eventos adversos retardados en los sitios de inyección, la inyección intravenosa del dímero de IL-22 muestra una tolerabilidad y seguridad excelentes. Además, la administración del dímero de IL-22 no lleva a un nivel en suero aumentado de una citoquina inflamatoria en humanos.

5 Por tanto, en algunas realizaciones, se proporciona un dímero de IL-22 para su uso en un método para tratar la pancreatitis, que comprende administrar (como administrar por vía intravenosa) al individuo una cantidad eficaz de un dímero de IL-22 en donde el dímero de IL-22 se administra a una cantidad eficaz de 2 µg/kg a 200 µg/kg. En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 se administra por empuje intravenoso (IVP). En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 se administra por infusión intravenosa. En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 se administra por infusión intravenosa continua.

10 También se divulga un método para inhibir la inflamación en un individuo que tiene pancreatitis, que comprende administrar (como administrar por vía intravenosa) al individuo una cantidad eficaz de un dímero de IL-22.

15 También se divulga un método para reducir uno o más síntomas de pancreatitis en un individuo, que comprende administrar (como administrar por vía intravenosa) al individuo una cantidad eficaz de un dímero de IL-22.

20 También se divulga un método para mejorar la calidad de vida en un individuo que tiene pancreatitis, que comprende administrar (como administrar por vía intravenosa) al individuo una cantidad eficaz de un dímero de IL-22.

25 En algunas realizaciones, la cantidad eficaz del dímero de IL-22 lleva a un nivel disminuido de amilasa en suero en un individuo que tiene pancreatitis. Se divulga un método para disminuir el nivel de amilasa en suero en un individuo que tiene pancreatitis, que comprende administrar (como administrar por vía intravenosa) al individuo una cantidad eficaz de un dímero de IL-22. En algunas realizaciones, el nivel de amilasa en suero se disminuye por lo menos aproximadamente cualquiera de 2x, 3x, 4x, 5x, 6x, 7x, 8x, 9x, 10x en comparación con el nivel anterior al tratamiento. En algunas realizaciones, la cantidad eficaz del dímero de IL-22 lleva a un nivel disminuido de lipasa en suero en un individuo que tiene pancreatitis. Se divulga un método para disminuir el nivel de lipasa en suero en un individuo que tiene pancreatitis, que comprende administrar (como administrar por vía intravenosa) al individuo una cantidad eficaz de un dímero de IL-22. En algunas realizaciones, el nivel de lipasa en suero se disminuye por lo menos aproximadamente cualquiera de 2x, 3x, 4x, 5x, 6x, 7x, 8x, 9x, 10x en comparación con el nivel anterior al tratamiento. En algunas realizaciones, la cantidad eficaz de dímero de IL-22 inhibe la necrosis de células acinares y/o adipocitos en el páncreas, mejora el edema y la infiltración de células inflamatorias en el páncreas en un individuo que tiene pancreatitis. Se divulga un método para inhibir la necrosis de células acinares y/o adipocitos en el páncreas de un individuo que tiene pancreatitis, que comprende administrar (como administrar por vía intravenosa) al individuo una cantidad eficaz de un dímero de IL-22. Se divulga un método para mejorar el edema y la infiltración de células inflamatorias en el páncreas de un individuo que tiene pancreatitis, que comprende administrar (como administrar por vía intravenosa) al individuo una cantidad eficaz de un dímero de IL-22.

40 Se divulga un método para prevenir y/o tratar la pancreatitis, que comprende administrar (como administrar por vía intravenosa) a un individuo una cantidad eficaz de un dímero de IL-22, en donde la cantidad eficaz del dímero de IL-22 lleva a un nivel aumentado de proteína amiloide A en suero en el individuo. Se divulga un método para aumentar el nivel de proteína amiloide A en suero en un individuo que tiene pancreatitis, que comprende administrar (como administrar por vía intravenosa) al individuo una cantidad eficaz de un dímero de IL-22. En algunas realizaciones, el nivel de proteína amiloide A en suero se aumenta por lo menos aproximadamente cualquiera de 5x, 10x, 15x, 20x, 25x, 30x, 50x, 100x, 150x, 200x, 500x, 1000x, 2000x o 2500x en comparación con el nivel antes del tratamiento. Se divulga un método para prevenir y/o tratar la pancreatitis, que comprende administrar (como administrar por vía intravenosa) a un individuo una cantidad eficaz de un dímero de IL-22, en donde la cantidad eficaz del dímero de IL-22 lleva a un nivel aumentado de Proteína C reactiva en el individuo. Se divulga un método para aumentar el nivel de proteína C reactiva en un individuo que tiene pancreatitis, que comprende administrar (como administrar por vía intravenosa) al individuo una cantidad eficaz de un dímero de IL-22. En algunas realizaciones, el nivel de proteína C reactiva se aumenta en por lo menos aproximadamente cualquiera de 2x, 3x, 4x, 5x, 10x, 15x, 20x, 25x, 30x, 50x o 100x en comparación con el nivel anterior al tratamiento. Se divulga un método para prevenir y/o tratar la pancreatitis, que comprende administrar (como administrar por vía intravenosa) a un individuo una cantidad eficaz de un dímero de IL-22, en donde la cantidad eficaz del dímero de IL-22 lleva a un nivel disminuido de triglicéridos en el individuo. Se divulga un método para disminuir el nivel de triglicéridos en un individuo que tiene pancreatitis, que comprende administrar (como administrar por vía intravenosa) al individuo una cantidad eficaz de un dímero de IL-22. En algunas realizaciones, el nivel de triglicéridos se disminuye en por lo menos aproximadamente cualquiera de 2x, 3x, 4x, 5x, 10x, 15x, 20x, 25x o 30x en comparación con el nivel anterior al tratamiento.

60 Se divulga un método para tratar la pancreatitis, que comprende administrar (como administrar por vía intravenosa) a un individuo una cantidad eficaz de un dímero de IL-22, en donde la cantidad eficaz del dímero de IL-22 no lleva a un nivel elevado de una citoquina inflamatoria (como cualquiera de las citoquinas inflamatorias seleccionadas del grupo que consiste de TNFα, IL-6, IL-1β e IL-8). Se divulga un método para tratar la pancreatitis, que comprende administrar (como administrar por vía intravenosa) a un individuo una cantidad eficaz de un dímero

de IL-22, en donde la cantidad eficaz del dímero de IL-22 lleva a dos o más de los puntos finales de tratamiento mencionados anteriormente, que incluyen, pero no están limitados a, nivel disminuido de amilasa en suero, nivel disminuido de lipasa en suero, inhibición de la necrosis en células acinares y/o adipocitos en el páncreas, edema e infiltración de células inflamatorias mejorados en el páncreas, nivel aumentado de proteína A amiloide en suero, nivel aumentado de proteína C reactiva, nivel disminuido de triglicéridos.

Como se usa en la invención y la divulgación, el término "terapia" se refiere a la administración del dímero de IL-22 a un sujeto con necesidad de ello para curar, mejorar, reducir, retrasar y/o afectar a la enfermedad, síntomas o la predisposición del sujeto.

El término "dosis eficaz" se refiere a una dosis del dímero de IL-22 que puede lograr el objetivo del tratamiento dentro del sujeto con necesidad de ello. Un experto en la técnica debe entender que la "dosis terapéuticamente eficaz" puede variar dependiendo de las vías de administración, los tipos de excipientes usados y la combinación con otros medicamentos. El término "el individuo a tratar" o "individuo" se refiere a un mamífero, como los humanos. Un individuo incluye, pero no está limitado a, humanos, bovinos, equinos, felinos, caninos, roedores o primates. En algunas realizaciones, el individuo es humano. En algunas realizaciones, el individuo a tratar tiene 16 años o menos, 18 años o menos, 25 años o menos, 35 años o menos, 45 años o menos, 55 años o menos, 65 años o menos, o 75 años o menos. En algunas realizaciones, el individuo a tratar tiene 16 años o más, 18 años o más, 25 años o más, 35 años o más, 45 años o más, 55 años o más, 65 años o más, o 75 años o más.

En algunas realizaciones, el individuo a tratar tiene una puntuación de criterio de Ranson de 1 o más, de 2 o más, de 3 o más, de 4 o más, de 5 o más, de 6 o más, de 8 o más, de 9 o más, de 10 o más, o de 11 o más. En algunas realizaciones, el individuo a tratar tiene una puntuación del índice de gravedad de CT de 1 o más, de 2 o más, de 3 o más, o de 4. En algunas realizaciones, el individuo tiene una puntuación del índice de gravedad de CT modificado de 1 o más, de 2 o más, de 3 o más, de 4 o más, de 5 o más, de 6 o más, de 7 o más, de 8 o más, de 9 o más, o de 10. En algunas realizaciones, el individuo tiene una puntuación de APACHE II de 1 o más, de 2 o más, de 3 o más, de 4 o más, 5 o más, de 6 o más, de 7 o más, de 8 o más, de 9 o más, de 10 o más, de 11 o más, de 15 o más, de 20 o más, de 25 o más, de 30 o más, de 35 o más, o de 40 o más. En algunas realizaciones, el individuo tiene una puntuación de APACHE III de 1 o más, de 2 o más, de 3 o más, de 4 o más, 5 o más, de 10 o más, de 15 o más, de 20 o más, de 25 o más, de 30 o más, de 35 o más, de 40 o más, de 45 o más, o de 50 o más. En algunas realizaciones, el individuo a tratar tiene una puntuación de Glasgow modificada de 1 o más, de 2 o más, de 3 o más, de 4 o más, de 5 o más, de 6 o más, de 7 o más, o de 8 o más. En algunas realizaciones, el individuo tiene dos o más de las características descritas anteriormente. En algunas realizaciones, el individuo a tratar se caracteriza por los cambios de imágenes típicos de la pancreatitis aguda. En algunas realizaciones, el individuo a tratar muestra uno o más síntomas de pancreatitis incluyendo, pero no limitados a, náuseas, dolor o sensibilidad abdominal, vómitos, indigestión, pérdida de peso, esteatorrea, cambio patológico, inflamación aguda, vacuolización (como vacuolización acinar), infiltración de neutrófilos, edema, piedras en el páncreas, cálculos biliares, piedras biliares, quistes, temperatura corporal elevada o disminuida, ritmo cardíaco elevado, ritmo respiratorio elevado, hemorragias internas, ictericia, diabetes, necrosis (como necrosis acinar), cáncer de páncreas, e insuficiencia orgánica.

En algunas realizaciones, el individuo a tratar tiene niveles de amilasa en suero elevados (como más de aproximadamente 120 U/l, más de aproximadamente 150 U/l, más de aproximadamente 200 U/l, más de aproximadamente 300 U/l, o más de aproximadamente 400 U/l), amilasa en orina elevada (como más de aproximadamente 40 U/h, más de aproximadamente 80 U/h, más de aproximadamente 120 U/h, o más de aproximadamente 160 U/h). En algunas realizaciones, el individuo a tratar tiene niveles de lipasa en suero elevados (como más de aproximadamente 150 U/l, más de aproximadamente 200 U/l, más de aproximadamente 300 U/l o más de aproximadamente 400 U/l, o más de aproximadamente 500 U/l). En algunas realizaciones, el individuo a tratar tiene un nivel de amilasa en suero y/o un nivel de lipasa en suero que es/son por lo menos 3 veces más del límite superior del valor normal. En algunas realizaciones, el individuo a tratar tiene una proteína C reactiva en suero elevada (como más de aproximadamente 25 mg/l, más de aproximadamente 50 mg/l, más de aproximadamente 100 mg/l, más de aproximadamente 150 mg/l, más de aproximadamente 200 mg/l, más de aproximadamente 250 mg/l, más de aproximadamente 300 mg/l, o más de aproximadamente 400 mg/l).

En algunas realizaciones, el individuo a tratar tiene una alanina transaminasa en suero elevada (como más de aproximadamente 40 U/l, más de aproximadamente 50 U/l, más de aproximadamente 60 U/l, más de aproximadamente 75 U/l, o más de aproximadamente 150 U/l). En algunas realizaciones, el individuo a tratar tiene niveles de IL-6 o IL-8 en suero elevados o fosfolipasa A₂ en sangre elevada (como más de aproximadamente 3 U/l, más de aproximadamente 7 U/l, más de aproximadamente 15 U/l, más de aproximadamente 30 U/l, más de aproximadamente 60 U/l o más de aproximadamente 100 U/l). En algunas realizaciones, el individuo a tratar tiene un nivel de procalcitonina en suero elevado (como más de aproximadamente 3 ng/ml, más de aproximadamente 4 ng/ml, más de aproximadamente 5 ng/ml o más de aproximadamente 7,5 ng/ml) En algunas realizaciones, el individuo a tratar tiene un péptido de activación de tripsinógeno urinario elevado (como más de aproximadamente 3 ng/ml, más de aproximadamente 6 ng/ml, más de aproximadamente 10 ng/ml, más de aproximadamente 20 ng/ml, o más de aproximadamente 30 ng/ml). En algunas realizaciones, el individuo a tratar tiene un péptido de activación de tripsinógeno en suero elevado. En algunas realizaciones, el individuo a tratar tiene un nivel de elastasa pancreática

en heces disminuido (como menos de aproximadamente 200 µg/g, menos de aproximadamente 150 µg/g, menos de aproximadamente 100 µg/g, o menos de aproximadamente 50 µg/g). En algunas realizaciones, el individuo a tratar tiene un recuento de glóbulos blancos elevado (como más de aproximadamente 12000 células/mm³, más de aproximadamente 14000 células/mm³, más de aproximadamente 16000 células/mm³, más de aproximadamente 18000 células/mm³, o más de aproximadamente 20000 células/mm³). En algunas realizaciones, el individuo a tratar tiene un nivel de calcio en suero disminuido (como menos de aproximadamente 10 mg/ml, menos de aproximadamente 8 mg/ml, menos de aproximadamente 6 mg/ml, menos de aproximadamente 4 mg/ml, o menos de aproximadamente 2 mg/ml). En algunas realizaciones, el individuo a tratar tiene una transaminasa de aspartato en suero elevada (como más de aproximadamente 30 U/l, más de aproximadamente 40 U/l, más de aproximadamente 50 U/l, más de aproximadamente 60 U/l, o más de aproximadamente 75 U/l). En algunas realizaciones, el individuo a tratar tiene una lactato deshidrogenasa en suero elevada (como más de aproximadamente 250 U/l, más de aproximadamente 300 U/l, más de aproximadamente 350 U/l, más de aproximadamente 400 U/l, o más de aproximadamente 450 U/l). En algunas realizaciones, el individuo a tratar tiene un nivel de glucosa en sangre elevado (como más de aproximadamente 180 mg/dl, más de aproximadamente 200 mg/dl, más de aproximadamente 220 mg/dl, más de aproximadamente 260 mg/dl o más de aproximadamente 300 mg/dl). En algunas realizaciones, el individuo a tratar tiene un déficit de base (como más de aproximadamente 3 mEq/l, más de aproximadamente 4 mEq/l, más de aproximadamente 5 mEq/l o más de aproximadamente 6 mEq/l).

Como se usa en la presente, pueden prevenirse o tratarse varios tipos de pancreatitis.

En algunas realizaciones, la pancreatitis es pancreatitis crónica, que incluye, pero no está limitada a, pancreatitis alcohólica (por ejemplo, uso crónico de alcohol), pancreatitis hereditaria, pancreatitis por fibrosis quística, pancreatitis inducida por trauma, pancreatitis tropical, pancreatitis inducida por desnutrición, pancreatitis por hipercalcemia, pancreatitis calcificada (por ejemplo, provocada por cálculos calcificados como cálculos pancreáticos, cálculos biliares o piedras biliares), pancreatitis autoinmune o pancreatitis idiopática.

En algunas realizaciones, la pancreatitis es pancreatitis aguda. En algunas realizaciones, la pancreatitis aguda es un incidente aislado. En algunas realizaciones, la pancreatitis aguda es recurrente. La pancreatitis aguda incluye, pero no está limitada a, pancreatitis inducida por alcohol (por ejemplo, uso de alcohol agudo), pancreatitis por cálculos biliares, pancreatitis biliar, pancreatitis por colangiopancreatografía retrógrada post endoscópica, o pancreatitis idiopática. En algunas realizaciones, la pancreatitis aguda está provocada por una infección viral, como *coxsackievirus*, *citomegalovirus*, *hepatitis B*, *virus de herpes simple*, *papera* y *virus de varicela-zoster*. En algunas realizaciones, la pancreatitis aguda está provocada por infecciones bacterianas, como infecciones provocadas por *Legionella*, *Leptospira*, *Mycoplasma* o *Salmonella*. En algunas realizaciones, la pancreatitis aguda es el resultado de infecciones fúngicas por *Aspergillus*. En algunas realizaciones, la pancreatitis aguda está provocada por infecciones parasitarias, como *Ascaris*, *Cryptosporidium* y *Toxoplasma*.

En algunas realizaciones, la pancreatitis es el resultado del uso de fármacos, como los que se usan para tratar varias afecciones médicas o de uso ilícito. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la pancreatitis puede tratarse cuando está asociada con la administración de didanosina, asparaginasa, mesalamina, hormonas, opiáceos, tetraciclina, citarabina, inhibidores de ACE, ácido valpórico, azatioprina, sulfasalazina, furosemida, sulindaco, esteroides o inhibidores de HMG-CoA reductasa.

En algunas realizaciones, puede tratarse la pancreatitis hereditaria o la pancreatitis familiar. Por ejemplo, en algunas realizaciones, puede tratarse la pancreatitis en individuos con variaciones en tripsina-1 (también denominada tripsinógeno catiónico o PRSS1), inhibidor de serina proteasa Kazal-tipo 1 (SPINK1) o regulador de conductancia de transmembrana de la fibrosis quística (CFTR). En algunas realizaciones, las variaciones están provocadas por truncamientos de un gen responsable o proteína codificada.

En algunas realizaciones, la pancreatitis está asociada con otros factores, incluyendo, pero no limitados a, hipercalcemia, hiperlipidemia, hiperamilasemia, traumatismo abdominal, úlceras gástricas, picaduras de escorpión, hipotermia, división del páncreas, embarazo, diabetes, cirugía, cáncer de páncreas y vasculitis. En algunas realizaciones, puede tratarse la pancreatitis que es resultado de una enfermedad autoinmune. En algunas realizaciones, puede tratarse la pancreatitis idiopática.

En algunas realizaciones, la pancreatitis está provocada por cálculos biliares u otro bloqueo de los conductos biliares. Como la vesícula biliar y el páncreas comparten un solo conducto de drenaje que conecta los órganos con el tracto gastrointestinal, los cálculos biliares que se alojan en el conducto pueden bloquear el flujo de enzimas digestivas que salen del páncreas, dando como resultado pancreatitis por cálculos biliares aguda. Otras formas de pancreatitis biliar pueden ser el resultado del paso del lodo biliar o variaciones anatómicas dentro de los conductos biliares que dan como resultado reflujo biliopancreático.

En algunas realizaciones, la pancreatitis es el resultado de la colangiopancreatografía retrógrada endoscópica (CPRE). La CPRE se usa a menudo para diagnosticar o tratar problemas o anomalías dentro de los sistemas ductales biliares o pancreáticos, por ejemplo, cálculos biliares, ictericia o tumores. Sin embargo, el

procedimiento ocasionalmente ocasiona pancreatitis.

La pancreatitis puede diagnosticarse y el tratamiento puede evaluarse con varios métodos, que incluyen, pero no están limitados a, ultrasonido (como ultrasonidos endoscópicos), tomografía computarizada (TC), obtención de imágenes por resonancia magnética (MRI) u otras tecnologías de visualización interna. La colangiopancreatografía retrógrada endoscópica (CPRE) o la colangiopancreatografía por resonancia magnética (MRCP) también pueden usarse para visualizar el páncreas, la vesícula biliar y los conductos biliares para diagnosticar o evaluar el punto final del tratamiento para la pancreatitis.

Para el diagnóstico y la evaluación del tratamiento usando ultrasonidos endoscópicos, los criterios de evaluación pueden incluir uno o más focos hiperecoicos, cadenas hiperecoicas o lóbulos hiperecoicos en el parénquima pancreático, quistes pancreáticos, contorno del conducto pancreático irregular, o conductos pancreáticos dilatados. También puede usarse el índice de gravedad de CT, como se describe en Balthazar, et al., *Radiology* 156:767-772 (1985), Balthazar, *Radiology* 174:331-336 (1990), o Mortelet, et al., *Am. J. Roentgenology*, 183:1261-1265 (2004). En algunas realizaciones, pueden usarse los descubrimientos de edema de la pared abdominal o puntuación elevada en un índice de gravedad de MRI (MRSI) como se describe en Yang, et al., *Eur. J. Radiology*, 81:3041-3047 (2012) como criterio de evaluación. En algunas realizaciones, puede usarse como un criterio evaluativo la visualización de piedras biliares o de la vesícula biliar.

IL-22

Como se usa en la presente, el término "interleucina-22" o "IL-22" se refiere a una proteína, que (a) tiene esencialmente la misma secuencia de aminoácidos que la IL-22 humana/murina como se describe por Dumoutier et al. en la Patente de Estados Unidos N° 6.359.117 y (b) la misma actividad biológica que la IL-22 natural. La IL-22 de la presente invención incluye, pero no está limitada a, IL-22 humana, IL-22 humana recombinante, IL-22 murina y/o IL-22 murina recombinante.

Específicamente, la interleucina-22 (IL-22), también conocida como factor inducible derivado de células T relacionado con IL-10 (IL-TIF), es una glicoproteína expresada y secretada por las células T activadas y las células asesinas naturales (células NK). Las células T activadas son principalmente células CD4+, especialmente las células T_H1 activadas por la vía CD28, las células T_H17 y las células T_H22, entre otras. La expresión del ARNm de IL-22 se identificó originalmente en células T simuladas con IL-9 y mastocitos en células de bazo murinas, así como estimuladas con Concanavilina A (Con A) (Dumoutier, et al., *J. Immunology*, 164:1814-1819, 2000). El ARNm de IL-22 humano se expresa principalmente en células T periféricas tras la estimulación con anti-CD3 o Con A.

El péptido precursor de IL-22 nativo consiste de 179 residuos de aminoácidos, mientras que el péptido maduro consiste de 146 residuos de aminoácidos. Dumoutier informó primero de las secuencias de ADN clonadas con IL-22 de ratón y humanas (Dumoutier, et al., 2000; Patente de Estados Unidos N° 6.359.117 y la Patente de Estados Unidos N° 6.274.10). La IL-22 se expresa principalmente en células T activadas (especialmente células Th17), células de bazo estimuladas por lectina (Duroutier *Jl* 2002), células NK estimuladas por IL-2/IL-12 (Wolk, K et al, *J. Immunology*, 168:5379-5402, 2002), y en una serie de órganos y tejidos, incluyendo el intestino, hígado, estómago, riñón, pulmón, corazón, timo, bazo, tras la estimulación con LPS, en los que puede medirse un aumento de la expresión de IL-22 en esos órganos y tejidos. IL-22 expresa su función biológica a través de la combinación del receptor IL-22R1 y el receptor IL-10R2. IL-22R1 es un receptor específico para IL-22 y se expresa en la piel, los riñones, el sistema digestivo (páncreas, intestino delgado, hígado, intestino grueso, colon), y el sistema respiratorio (pulmón, bronquios). Investigaciones publicadas demostraron que IL-22 es un inmunomodulador.

Dímero de IL-22

La estructura del dímero de IL-22 de la presente invención se ejemplifica como la Fórmula I. Las Figs. 1-3 ilustran las estructuras representativas del dímero de IL-22 de la presente invención, en la que la proteína portadora incluye pero no está limitada al fragmento Fc de IgG humana (como IgG1, IgG2, IgG3 o IgG 4), o albúmina humana.

En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 de la presente invención comprende dos subunidades monoméricas, en donde cada subunidad monomérica comprende un dominio de IL-22 y un dominio de dimerización. Cada subunidad monomérica comprende un dominio de IL-22 enlazado a un dominio de dimerización a través de una secuencia conectora opcional. El dominio de IL-22 puede estar en el extremo C-terminal o el extremo N-terminal del dominio de dimerización. La proteína portadora del dímero de IL-22 está formada por dos dominios de dimerización por dimerización. En la SEQ ID NO: 5 se muestra una secuencia de aminoácidos de un dímero de IL-22 ejemplar en el que los residuos de aminoácidos 1-146 representan IL-22, los residuos de aminoácidos 147-162 representan el conector, y los residuos 163-308 representan otra IL -22.

En la SEQ ID NO: 4 se muestra una secuencia de aminoácidos de un monómero de IL-22 ejemplar con fragmento Fc, que se usa para formar el dímero de IL-22 de esta realización, en la que los residuos de aminoácidos 1-146 representan una IL-22, los residuos de aminoácidos 147-162 representan el conector, y los residuos 163-385

representan el fragmento Fc de IgG2 humana. Un dímero está formado por los dos monómeros de IL-22 con el fragmento Fc mediante el acoplamiento de los fragmentos Fc.

5 En la SEQ ID NO: 6 se muestra una secuencia de aminoácidos de un monómero de IL-22 ejemplar con fragmento Fc, que se usa para formar el dímero de IL-22 de esta realización, en la que los residuos de aminoácidos 1-146 representan una IL-22, los residuos de aminoácidos 147-152 representan el conector, y los residuos 153-375 representan el fragmento Fc de IgG2 humana. Un dímero está formado por los dos monómeros de IL-22 con el fragmento Fc mediante el acoplamiento de los fragmentos Fc. En la SEQ ID NO: 7 se muestra una secuencia de aminoácidos de un monómero de IL-22 con fragmento Fc, que se usa para formar el dímero de IL-22 de esta
10 realización, en la que los residuos de amino 1-223 representan el fragmento Fc de IgG2 humana, los residuos de amino 224-239 representan el conector, y los residuos 240-385 representan una IL-22. Un dímero está formado por los dos monómeros de IL-22 con el fragmento Fc mediante el acoplamiento de los fragmentos Fc. En la SEQ ID NO: 8 se muestra una secuencia de aminoácidos de un monómero de IL-22 con fragmento Fc, que se usa para formar el dímero de IL-22 de esta realización, en la que los residuos de aminoácidos 1-223 representan un fragmento Fc de IgG2 humana, los residuos de aminoácidos 224-229 representan el conector, y los residuos 230-375 representan una IL-22. Un dímero está formado por los dos monómeros de IL-22 con el fragmento Fc mediante el acoplamiento de los fragmentos Fc.

20 Como se usa en la presente y en las reivindicaciones, el término "péptido conector" o "conector" se refiere al oligopéptido dispuesto entre un monómero de IL-22 y una proteína portadora, o un monómero de IL-22 (o dominio de IL-22) y un dominio de dimerización y que conecta los dos dominios entre sí. No hay restricción especial en la longitud del conector. Un conector tiene habitualmente 5-50 residuos de aminoácidos de longitud. En general, un conector no afecta o afecta significativamente el pliegue y la conformación apropiados formados por la configuración de los dos monómeros de IL-22. Algunos ejemplos de conectores incluyen (pero no están limitados a):

25 Preferiblemente, el conector contiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de

- (a) una secuencia de aminoácidos con 3-16 residuos de aminoácidos hidrófobos Gly o Pro, como Gly-Pro-Gly-Pro-Gly-Pro;
- 30 (b) una secuencia de aminoácidos codificada por múltiples sitios de clonación. Dichas secuencias contienen habitualmente 5-20 residuos de aminoácidos, preferiblemente, 10-20 residuos de aminoácidos;
- (c) una secuencia de aminoácidos de una proteína distinta del monómero de IL-22, como una secuencia de aminoácidos de IgG o albúmina; y
- 35 (d) una secuencia de aminoácidos que comprende cualquier combinación de (a), (b) y (c) anteriores.

En una realización preferida, el conector tiene la secuencia de GSGGGSGGGGSGGGGS (es decir, residuos de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1) y ASTKGP (es decir, residuos de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10).

40 Además, puede añadirse una secuencia de aminoácidos que no afecta a la actividad biológica del monómero de IL-22 al extremo N-terminal o al extremo C-terminal de la proteína de fusión. En una realización preferida, dicha secuencia de aminoácidos añadida es beneficiosa para la expresión (por ejemplo, péptido señal), purificación (por ejemplo, secuencia 6 x His, el sitio de escisión del péptido señal del factor α de *Saccharomyces cerevisiae* (Glu-Lys-Arg), o la mejora de actividad biológica de la proteína de fusión.

45 En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 comprende dos subunidades monoméricas, en donde cada subunidad monomérica comprende un dominio de IL-22 y un dominio de dimerización. En algunas realizaciones, el dominio de IL-22 está fusionado con el extremo N-terminal del dominio de dimerización. En algunas realizaciones, el dominio de IL-22 está fusionado con el extremo C-terminal del dominio de dimerización. En algunas realizaciones, el dominio de IL-22 y el dominio de dimerización están enlazados a través de un conector peptídico opcional (por ejemplo, un conector peptídico de aproximadamente 5 a aproximadamente 50 aminoácidos de longitud, por ejemplo, un conector que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 10). En algunas realizaciones, el dominio de dimerización del dímero de IL-22 comprende cremalleras de leucina.

55 En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 comprende dos subunidades monoméricas de IL-22, en donde cada subunidad monomérica comprende un monómero de IL-22 y por lo menos una parte de un fragmento Fc de inmunoglobulina ("el fragmento Fc", o concretamente la región Fc). En algunas realizaciones, el dominio de IL-22 está fusionado con el extremo N-terminal del fragmento Fc. En algunas realizaciones, el dominio de IL-22 está fusionado con el extremo C-terminal del fragmento Fc. En algunas realizaciones, el dominio de IL-22 y el fragmento Fc están enlazados a través de un conector peptídico opcional (por ejemplo, un conector peptídico de aproximadamente 5 a aproximadamente 50 aminoácidos de longitud, por ejemplo un conector que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 10). En algunas realizaciones, el dominio de IL-22 tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 3. En algunas realizaciones, el fragmento Fc comprende por lo menos dos cisteínas capaces de formar enlaces disulfuro intermoleculares. En algunas realizaciones, el fragmento Fc se trunca en el extremo N-terminal, por ejemplo, carece de los primeros 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos de un dominio Fc de inmunoglobulina completo. En algunas realizaciones, el fragmento Fc es de tipo IgG2. En algunas realizaciones, el fragmento Fc es

de tipo IgG4. En algunas realizaciones, el fragmento Fc tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 2 o la SEQ ID NO: 9.

En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 comprende dos subunidades monoméricas de IL-22, en donde cada subunidad monomérica comprende (por ejemplo tiene) la secuencia de cualquiera de la SEQ ID NO: 4 o las SEQ ID NO: 6-8.

La invención abarca modificaciones a los polipéptidos descritos en la presente, incluyendo proteínas funcionalmente equivalentes que no afectan significativamente a sus propiedades y variantes que tienen actividad mejorada o disminuida. La modificación de polipéptidos es una práctica rutinaria en la técnica y no necesita describirse en detalle en la presente. Los ejemplos de polipéptidos modificados incluyen polipéptidos con sustituciones conservadoras de residuos de aminoácidos, una o más deleciones o adiciones de aminoácidos que no cambian significativamente de manera perjudicial la actividad funcional, mutaciones no conservadoras que no cambian significativamente de manera perjudicial la actividad funcional, o el uso de análogos químicos.

Las inserciones de secuencia de aminoácidos incluyen fusiones amino y/o carboxilo terminales que varían en longitud desde un residuo hasta polipéptidos que contienen cien o más residuos, así como inserciones intrasecuencia de residuos de aminoácidos individuales o múltiples. Los ejemplos de inserciones terminales incluyen un residuo de metionilo N-terminal o un marcador de epítipo. Otras variantes de inserción de las subunidades monoméricas de IL-22 incluyen la fusión al extremo N- o C-terminal del polipéptido, o un polipéptido que aumenta la vida media en suero del dímero de IL-22.

En las proteínas se encuentran comúnmente veinte aminoácidos. Esos aminoácidos pueden agruparse en nueve clases o grupos en base a las propiedades químicas de sus cadenas laterales. La sustitución de un residuo de aminoácidos por otro dentro de la misma clase o grupo es referida en la presente como una sustitución "conservadora". Las sustituciones conservadoras de aminoácidos pueden hacerse frecuentemente en una proteína sin alterar significativamente la conformación o función de la proteína. Por el contrario, las sustituciones de aminoácidos no conservadoras tienden a alterar la conformación y la función de una proteína. En la técnica se han definido las familias de residuos de aminoácidos que tienen cadenas laterales similares. Estas familias incluyen aminoácidos con cadenas laterales básicas (por ejemplo, lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas (por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares sin carga (por ejemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína), cadenas laterales no polares (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano), cadenas laterales beta-ramificadas (por ejemplo, treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina). (Ver la Tabla 1 a continuación).

Tabla 1: Ejemplo de clasificación de aminoácidos.

Residuos pequeños/alifáticos	Gly, Ala, Val, Leu, Ile
Ácido Imino Cíclico:	Pro
Residuos que contienen hidroxilo	Ser, Thr
Residuos ácidos:	Asp, Glu
Residuos de amida:	Asn, Gln
Residuos básicos:	Lys, Arg
Residuos de imidazol:	His
Residuos aromáticos:	Phe, Tyr, Trp
Residuos que contienen azufre:	Met, Cys

En algunas realizaciones, la sustitución de aminoácidos conservadora comprende sustituir cualquiera de glicina (G), alanina (A), isoleucina (I), valina (V) y leucina por cualquiera de estos aminoácidos alifáticos; serina (S) por treonina (T) y viceversa; ácido aspártico (D) por ácido glutámico (E) y viceversa; glutamina (Q) por asparagina (N) y viceversa; lisina (K) por arginina (R) y viceversa; fenilalanina (F), tirosina (Y) y triptófano (W) por cualquiera de estos aminoácidos aromáticos; y metionina (M) por cisteína (C) y viceversa. Otras sustituciones también pueden considerarse conservadoras, dependiendo del entorno del aminoácido particular y su papel en la estructura tridimensional de la proteína. Por ejemplo, la glicina (G) y la alanina (A) pueden ser frecuentemente intercambiables, al igual que la alanina (A) y la valina (V). La metionina (M), que es relativamente hidrófoba, puede intercambiarse frecuentemente con leucina e isoleucina, y a veces con valina. La lisina (K) y la arginina (R) son frecuentemente intercambiables en localizaciones en las que la característica significativa del residuo de aminoácido es su carga y las diferentes pK de estos dos residuos de aminoácidos no son significativas. Otros cambios más pueden considerarse "conservadores" en entornos particulares (ver, por ejemplo, Biochemistry en pp.13-15, 2ª ed. Lubert Stryer ed. (Universidad de Stanford); Henikoff et al., Proc. Nat'l Acad. Sci USA (1992) 89:10915-10919, Lei et al., J.

Biol. Chem. (1995) 270 (20):11882-11886).

Se descubrió sorprendentemente que, aunque ciertos dímeros de IL-22 tienen menos actividades que IL-22 en ensayos in vitro, son significativamente más activos en un contexto in vivo en el tratamiento de la pancreatitis. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el dímero de IL-22 descrito en la presente tiene una EC50 de no menos de aproximadamente 20 ng/ml (incluyendo, por ejemplo, no menos de aproximadamente 100 ng/ml, 200 ng/ml, 300 ng/ml, 400 ng/ml o más) en un ensayo de proliferación celular in vitro. En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 tiene una EC50 que es por lo menos aproximadamente 5x (incluyendo, por ejemplo, por lo menos aproximadamente 10x, 30x, 50x, 100x, 150x, 300x, 400x, 500x, 600x, 1000x o más) que una IL-22 monomérica de tipo salvaje (por ejemplo, la IL-22 monomérica que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 3) en un ensayo de proliferación celular in vitro. En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 tiene una EC50 de no menos de aproximadamente 10 ng/ml (incluyendo, por ejemplo, no menos de aproximadamente cualquiera de 50 ng/ml, 100 ng/ml, 200 ng/ml, 300 ng/ml, 400 ng/ml o más) en un ensayo de estimulación STAT3 in vitro. En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 tiene una EC50 que es por lo menos aproximadamente 10x (incluyendo, por ejemplo, por lo menos aproximadamente 50x, 100x, 200x, 300x, 400x, 500x, 600x, 700x, 800x, 900x, 1000x, 1500x, o más) que la de una IL-22 monomérica de tipo salvaje (por ejemplo, la IL-22 monomérica que tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 3) en un ensayo de estimulación STAT3 in vitro.

En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 tiene una vida media en suero que es significativamente más larga que la del monómero de IL-22. En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 tiene una vida media en suero de por lo menos aproximadamente cualquiera de 15, 30, 50, 100, 150, 200, 250, 300 o 350 horas. En algunas realizaciones, aunque la dosis de dímero de IL-22 es de 2 µg/kg, la vida media en suero es de por lo menos aproximadamente cualquiera de 15, 30, 50, 100, 150 o 200 horas. En algunas realizaciones, aunque la dosis de dímero de IL-22 es de 10 µg/kg, la vida media en suero es de por lo menos aproximadamente cualquiera de 50, 100, 150 o 200 horas. En algunas realizaciones, aunque la dosis de dímero de IL-22 es de 30 µg/kg, la vida media en suero es de por lo menos aproximadamente cualquiera de 100, 150, 200 o 250 horas. En algunas realizaciones, mientras que la dosis de dímero de IL-22 es de 45 µg/kg, la vida media en suero es de por lo menos aproximadamente 100, 150, 200, 250, 300 o 350 horas.

Preparación de dímeros de IL-22

Las subunidades monoméricas de IL-22 de los dímeros de IL-22 pueden expresarse usando tecnología de ADN recombinante. La secuencia de nucleótidos que codifica las subunidades monoméricas de IL-22 puede insertarse en un vector de clonación o expresión de proteínas replicable en sitios de restricción usando técnicas conocidas. En algunas realizaciones, se inserta una secuencia de nucleótidos individual que codifica subunidades monoméricas de IL-22 en un vector de clonación o expresión. En algunas realizaciones, pueden insertarse por separado una secuencia de nucleótidos que codifica la región de IL-22 y una secuencia de nucleótidos que codifica la región del péptido de extensión en un vector de clonación o expresión de tal manera que cuando la secuencia de nucleótidos se expresa como una proteína, se forma un polipéptido continuo. En algunas realizaciones, puede insertarse una secuencia de nucleótidos que codifica un conector, una secuencia de nucleótidos que codifica un dominio de dimerización, y una secuencia de nucleótidos que codifica una región de IL-22 por separado en un vector de clonación o expresión de tal manera que cuando la secuencia de nucleótidos se expresa como una proteína, se forma un polipéptido continuo. En algunas realizaciones, la secuencia de nucleótidos que codifica la subunidad monomérica de IL-22 puede fusionarse con una secuencia de nucleótidos que codifica un marcador de afinidad o identificación como, pero no limitado a, un marcador His, marcador FLAG, marcador SUMO, marcador GST, marcador de anticuerpo o marcador MBP. En algunas realizaciones, el vector de clonación o expresión puede luego transfectarse o transformarse en células eucariotas o procariotas usando técnicas conocidas. En algunas realizaciones, IL-22 o las subunidades monoméricas de IL-22 pueden expresarse in vitro.

La expresión célula huésped puede ser cualquier célula capaz de expresar dímeros de IL-22. Las células huésped de expresión procariotas adecuadas pueden incluir, pero no están limitadas a, *Escherichia coli*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Pseudomonas* y *Streptomyces*. Las células eucariotas, como hongos o levaduras, también pueden ser adecuadas para la expresión de subunidades monoméricas de IL-22, por ejemplo, pero no limitadas a, *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Kluyveromyces waltii*, *Kluyveromyces drosophilum*, *Kluyveromyces thermotolerans*, *Kluyveromyces marxianus*, *Pichia pastoris*, *Neurospora crassa*, *Schwanniomyces*, *Penicillium*, *Tolypocladium*, *Synechococcus* y *Aspergillus*. Las células vegetales o de algas también pueden ser adecuadas para la expresión de subunidades monoméricas de IL-22, como *Chlamydomonas*. Las células eucariotas derivadas de organismos multicelulares también pueden ser adecuadas para la expresión de subunidades monoméricas de IL-22, por ejemplo, pero no limitado a, células de invertebrados como *Drosophila* S2 y *Spodoptera* Sf9, o células de mamífero como células de ovario de hámster chino (CHO), Células COS, células de riñón embrionario humano (como células HEK293), células trofoblásticas de testículo murino, células de pulmón humano y células de cáncer de mama murino. Después de que el plásmido de clonación de la subunidad monomérica de IL-22 se transforma o transfecta en una célula huésped, las células huésped pueden cultivarse en medios nutrientes convencionales e inducirse la expresión de proteínas, si es necesario. En algunas realizaciones, la expresión de

subunidades monoméricas de IL-22 no requiere inducción.

En algunas realizaciones, las subunidades monoméricas de IL-22 expresadas formarán dímeros de IL-22. En algunas realizaciones, las subunidades monoméricas de IL-22 requerirán inducción adicional, como suministrando un compuesto de oxidación (como peróxido de hidrógeno o un metal catalítico), luz UV o un reticulador químico (como formaldehído, 1,6-bismaleimidohexano, 1, 3-dibromo-2-propanol, bis(2-cloroetil)sulfuro o glutaraldehído).

En algunas realizaciones, la formación de dímeros de IL-22 no requiere inducción. En algunas realizaciones, la célula huésped usada para expresar dímeros de IL-22 es de ovario de hámster chino (célula CHO). En algunas realizaciones, los dímeros de IL-22 pueden purificarse usando cualquiera de una serie de técnicas de purificación de proteínas. Por ejemplo, los dímeros de IL-22 pueden purificarse usando cromatografía de afinidad, cromatografía de intercambio iónico, HPLC de fase inversa, cromatografía de exclusión por tamaño, precipitación o ultracentrifugación. En algunas realizaciones, puede eliminarse un marcador de afinidad fusionado con el polipéptido de la subunidad monomérica de IL-22.

Los métodos de preparación de dímeros de IL-22 pueden referirse a la solicitud de patente PCT/CN2011/079124 (WO2012/028089) presentada por Generon (Shanghai) Corporation, LTD el 30 de agosto del 2011.

Administración de dímeros IL-22

Los dímeros de IL-22 descritos en la presente pueden administrarse a un individuo a través de varias vías. En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 puede administrarse por vía parenteral, intravenosa, oral, intramuscular o subcutánea.

En algunas realizaciones, el individuo es un mamífero, incluyendo preferiblemente cualquiera de humanos, roedores o primates.

La dosis de la composición de la invención de los dímeros de IL-22 administrados a un individuo (como un humano) variará con la composición particular, el método de administración y el tipo particular de pancreatitis que se está tratando. La dosis debe ser suficiente para lograr una respuesta deseable, como una respuesta terapéutica o profiláctica contra una enfermedad en particular. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz es una cantidad suficiente para retrasar el desarrollo de la enfermedad. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz es una cantidad suficiente para prevenir la aparición y/o la recurrencia. Puede administrarse una cantidad eficaz en una o más administraciones. Una dosificación divulgada del dímero de IL-22 incluye, por ejemplo, aproximadamente de a,5 µg/kg a aproximadamente 500 µg/kg. De acuerdo con la invención, el dímero de IL-22 se administra a la cantidad eficaz de 2 µg/kg a 200 µg/kg, incluyendo por ejemplo de aproximadamente 5 µg/kg a aproximadamente 80 µg/kg, de aproximadamente 10 µg/kg a aproximadamente 45 µg/kg, o de aproximadamente 30 µg/kg a aproximadamente 40 µg/kg.

En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 se administra una vez por semana. En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 se administra una vez cada 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o 24 semanas. En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 se administra una vez cada 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o 12 meses. En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 se administra solo una vez.

También se divulga la administración del dímero de IL-22 por vía intravenosa a la dosis de por lo menos aproximadamente cualquiera de 10 µg/kg, 20 µg/kg, 30 µg/kg, 40 µg/kg o 50 µg/kg. En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 se administra no más frecuentemente que una vez a la semana, una vez al mes, una vez cada dos meses o una vez cada seis meses.

Kits y Medicinas

También se proporcionan kits, medicamentos, dosificaciones unitarias o productos adecuados para cualquiera de los métodos descritos en la presente. Por ejemplo, en algunas realizaciones, se proporciona un kit que comprende un dímero de IL-22 e instrucciones para usar el dímero de IL-22 para tratar la pancreatitis.

Los dímeros de IL-22 descritos en la presente pueden formularse con excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento de la pancreatitis.

La composición farmacéutica de la presente divulgación comprende una cantidad segura y eficaz de dicho dímero de IL-22, o una sal farmacéuticamente aceptable, o un excipiente o portador farmacéuticamente aceptable. "Cantidad segura y eficaz" se refiere a una cantidad de un compuesto suficiente para mejorar sustancialmente la condición del paciente con necesidad de ello sin provocar efectos secundarios graves. La cantidad segura y eficaz se determina en base a las circunstancias específicas, como la edad, el estado y el régimen asociados con un sujeto

de tratamiento.

"Excipiente o portador farmacéuticamente aceptable" se refiere a uno o más materiales de relleno sólidos o líquidos o de gelatina compatibles que son adecuados para ser usados en humanos con suficiente pureza y toxicidad suficientemente baja. "Compatibilidad" se refiere a la capacidad de cada ingrediente de la composición para mezclarse mutuamente con el compuesto de la presente divulgación y la capacidad de mezcla mutua entre los ingredientes, sin disminuir sustancialmente la eficacia clínica del compuesto. Algunos de los ejemplos de excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables incluyen celulosa y sus derivados (por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa de sodio, acetato de celulosa, etc.), gelatina, estearita, agente lubricante sólido (por ejemplo, ácido esteárico, estearato de magnesio), sulfato de calcio, aceite vegetal (por ejemplo, aceite de guisante, aceite de sésamo, aceite de cacahuete, aceite de oliva, etc.), polioles (por ejemplo, propilenglicol, glicerol, manitol, sorbitol, etc.), emulsionante (por ejemplo Tween®) agente humectante (por ejemplo, laurilsulfato de sodio), colorante, agente aromatizante, estabilizador, antioxidante, antiséptico, agua libre de pirógenos, etc.

La vía de administración del dímero de IL-22 de la presente invención comprende administración oral, administración rectal, administración parenteral (intravenosa, intramuscular o subcutánea) y administración local.

La forma sólida para administración oral comprende cápsulas, comprimidos, píldoras, polvo y gránulos. En estas formas sólidas, el compuesto activo se mezcla con por lo menos uno de los excipientes (o portadores) inertes convencionales, como citrato de sodio, fosfato dicálcico o cualquiera de los siguientes ingredientes: (a) agente de relleno o de carga, por ejemplo, almidón, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico; (b) agente de adhesión, por ejemplo carboximetilcelulosa, alginato, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y acacia; (c) humectantes, por ejemplo, glicerol; (d) agente disgregante, por ejemplo, agar, carbonato cálcico, almidón de patata o almidón de yuca, ácido alginico, silicato compuesto y carbonato de sodio; (e) agente de tamponamiento, por ejemplo, cera de parafina; (f) agente acelerador de la absorción, por ejemplo, compuesto de amina cuaternaria; (g) agente humectante, por ejemplo cetanol y monoestearato de glicerina; (h) absorbente, por ejemplo, bolo de alba; e (i) agente lubricante, por ejemplo, estearita, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicol sólido, laurilsulfato de sodio o cualquier mezcla de los mismos. Las cápsulas, comprimidos y píldoras también pueden comprender un agente de tamponamiento.

Las formas sólidas comprimidos, píldoras de azúcar, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con materiales de recubrimiento y núcleo-cubierta, como carcasas y otros materiales conocidos en la técnica. Estos materiales pueden comprender un agente opacificante y el compuesto activo o el compuesto en dicha composición puede liberarse de manera retardada de tal manera que la liberación se realice en cierta parte del canal alimentario. Pueden usarse componentes de integración como materiales poliméricos y materiales de cera. Si se desea, los compuestos activos pueden mezclarse con uno o más de los excipientes descritos anteriormente para formular una forma de microcápsula.

Las formas líquidas para administración oral comprenden emulsión, solución, suspensión, jarabe o tintura farmacéuticamente aceptables. Además de los compuestos activos, las formas líquidas también pueden comprender diluyentes inertes usados convencionalmente en la técnica, como agua u otro solvente, agente solubilizante y emulsionante como etanol, isopropanol, acetato de carbonato, acetato de etilo, propan-2-ol, 1,3-butan-2-ol, dimetilfomamida y aceite, en particular aceite de algodón, aceite de cacahuete, aceite de embrión de maíz, aceite de oliva, aceite de ricino y aceite de sésamo o cualquier mezcla de los mismos.

Aparte de estos diluyentes inertes, la composición también puede comprender aditivos, como agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes de suspensión, agentes edulcorantes, correctivos y especias.

Aparte de los compuestos activos, la suspensión también puede comprender un agente de suspensión, como alcohol etoxílico isoesteárico, polioxietileno sorbitol, sorbitano, celulosa microcristalina, metóxido de aluminio, agar o cualquier mezcla de los mismos.

Las composiciones usadas para la administración parenteral también pueden comprender combinaciones líquidas fisiológicamente aceptables como agua estéril o solución anhidra, solución de dispersión, suspensión o emulsión, etc. Los portadores hidratados o anhidros apropiados, el agente diluyente, el solvente o el excipiente comprenden agua, etanol, polioles (como propilenglicol, polietilenglicol, glicerina, etc.), y mezclas apropiadas de los mismos, se describen en la farmacopea china o en las farmacopeas de otros países. Preferiblemente, las composiciones líquidas también pueden comprender aditivos farmacéuticamente aceptables usados comúnmente, siempre que los aditivos no inhiban las funciones de los dímeros de IL-22. Los aditivos representativos incluyen (pero no están limitados a): tampón, ajustador de PH y similares.

Las composiciones usadas para la administración parenteral también pueden comprender polvo esterilizado (por ejemplo, polvo liofilizado) que puede reconstituirse en una solución inyectable o solución de dispersión. Preferiblemente, el polvo liofilizado también puede comprender aditivos farmacéuticamente aceptables usados comúnmente, siempre que los aditivos no inhiban las funciones de los dímeros de IL-22. Los aditivos representativos

incluyen (pero no están limitados a): tampón, ajustador de PH. Preferiblemente, los solventes usados para disolver el polvo liofilizado incluyen (pero no están limitados a) solución de glucosa, solución de cloruro de sodio.

5 En algunas realizaciones, el dímero de IL-22 descrito en la presente puede administrarse por vía intravenosa, por ejemplo, empuje intravenoso o infusión intravenosa.

10 Las formas del dímero de IL-22 de la presente invención usadas para administración parcial comprenden pomada, polvo, parche, pulverizador e inhalante. En condiciones estériles, los componentes activos pueden mezclarse con un portador fisiológicamente aceptable y cualquier antiséptico, agente de tamponamiento o propelente si se desea.

El dímero de IL-22 de la presente invención puede administrarse únicamente o administrarse junto con cualquier otro compuesto farmacéuticamente aceptable.

15 La microcápsula que contiene el dímero de IL-22 de la presente invención puede usarse como un sistema de liberación sostenida. El sistema de microcápsula de liberación sostenida de proteína recombinante se ha aplicado con éxito a la hormona de crecimiento humana recombinante (rhGH), interferón humano recombinante (rhIFN), IL-2 y MNrpg120 (Johnson et al., Nat. Med., 2:795-799 (1996); Yasuda, Biomed. Ther 27:1221-1223 (1993); WO 97/03692, WO 96/40072, WO 96/07399; US5.654.010).

20 El sistema de liberación sostenida del dímero de IL-22 de la presente invención puede prepararse con poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) que tiene buena compatibilidad biológica y una amplia degradabilidad biológica. El ácido láctico y el ácido glicólico, los productos degradantes de PLGA, pueden depurarse rápidamente en el cuerpo humano. Además, la degradabilidad de ese polímero puede variar de varios meses a varios años dependiendo de su peso y composición molecular (Lewis, "La liberación controlada de agentes bioactivos forman el polímero de lactida/glicólido", en: M. Chasin y R. Langer (Eds.), Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems (Marcel Dekker: Nueva York, 1990), págs. 1-41)).

25 La dosificación y concentración de la composición farmacéutica de la presente invención puede ajustarse de acuerdo con la situación de uso real. Un experto en la técnica debe saber cómo elegir la dosificación y la vía de administración adecuadas de acuerdo con las necesidades prácticas. El principio para el ajuste entre diferentes especies como ratones y humanos puede verse en Mordenti, J. y Chappell, W. "The use of interspecies scaling in toxicokinetics" en Toxicokinetics and New Drug Development, Yacobi et al.; Pergamon Press, Nueva York 1989, págs. 42-96.

30 También se divulgan artículos de fabricación que comprenden las composiciones descritas en la presente en un envase adecuado. Los envases adecuados para las composiciones descritas en la presente son conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, viales (como viales sellados), recipientes (como recipientes sellados), ampollas, botellas, frascos, envases flexibles (por ejemplo, Mylar sellado o bolsas de plástico), y similares. Estos artículos de fabricación pueden además esterilizarse y/o sellarse. También se proporcionan formas de dosificación unitarias que comprenden las composiciones descritas en la presente. Estas formas de dosificación unitarias pueden almacenarse en un envase adecuado en dosificaciones unitarias individuales o múltiples y también pueden esterilizarse y sellarse adicionalmente.

35 La presente divulgación también proporciona kits que comprenden composiciones (o formas de dosificación unitarias y/o artículos de fabricación) descritos en la presente y pueden comprender además instrucciones sobre los métodos de uso de la composición, como los usos descritos adicionalmente en la presente. En algunas realizaciones, el kit de la divulgación comprende el envase descrito anteriormente. En otras realizaciones, el kit de la divulgación comprende el envase descrito anteriormente. Los kits descritos en la presente pueden incluir además otros materiales deseables desde el punto de vista comercial y del usuario, incluyendo otros tampones, diluyentes, filtros, agujas, jeringuillas y prospectos con instrucciones para realizar cualquiera de los métodos descritos en la presente.

40 Las principales ventajas de la presente invención incluyen, pero no están limitadas a:

- 45 1. En comparación con el monómero de IL-22, la bioactividad del dímero de IL-22 es significativamente más potente que la del monómero de IL-22 in vivo.
- 50 2. El dímero de IL-22 ha demostrado ser eficaz para prevenir y/o tratar la pancreatitis en el modelo animal. El dímero de IL-22 puede reducir significativamente el nivel de amilasa y/o lipasa en suero en un individuo que tiene pancreatitis, mejora el edema pancreático in vivo, inhibe la necrosis de células acinares y/o adipocitos y mejora la infiltración de células inflamatorias en el páncreas in vivo. A dosis molares iguales de IL-22, el dímero de IL-22 muestra una mejor eficacia terapéutica en el modelo animal de pancreatitis en comparación con el monómero de IL-22.
- 55 3. Se descubrió sorprendentemente por primera vez que la inyección intravenosa de dímero de IL-22 muestra una excelente tolerabilidad y seguridad, mientras que la inyección subcutánea de dímero de IL-22 produce

eventos adversos retrasados en los sitios de inyección.

4. El dímero de IL-22 tiene una actividad biológica significativa en humanos, aumentando significativamente los niveles en suero de CRP, SAA y reduciendo el nivel de TG en suero.

5. La administración del dímero de IL-22 no lleva a un nivel en suero aumentado de una citoquina inflamatoria en humanos. Se entiende que el aspecto y las realizaciones de la invención descritas en la presente incluyen aspectos y realizaciones "que consisten" y/o "que consisten esencialmente de".

La referencia a "aproximadamente" un valor o parámetro en la presente incluye (y describe) variaciones que se dirigen a ese valor o parámetro per se. Por ejemplo, la descripción que hace referencia a "aproximadamente X" incluye la descripción de "X".

Como se usa en la presente y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "o" y "el" incluyen referentes plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Se entiende que los aspectos y variaciones de la invención descritos en la presente incluyen aspectos y variaciones "que consisten" y/o "que consisten esencialmente de".

Las siguientes realizaciones ejemplares describen adicionalmente la presente invención. Además, para las realizaciones en las que no se describen detalles de los métodos experimentales, dichos métodos se llevan a cabo de acuerdo con condiciones convencionales tales como las descritas en Sambrook et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Nueva York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989), o como lo sugieran los fabricantes.

EJEMPLOS

Ejemplo 1 Efecto de proliferación de IL-22 o el dímero de IL-22 en células Colo205

Se cultivaron células Colo205 en medio FBS al 10% RPMI1640 y las células se cultivaron hasta la fase logarítmica. Se descartó el sobrenadante y se añadió PBS para lavar el medio de cultivo residual, seguido de la adición de 2-5 ml de tripsina-EDTA al 0,25% para la digestión. Luego se añadió medio y se mezcló hasta uniformidad pipeteando. La mezcla se centrifugó a 1500 rpm durante 5 min y las células se recogieron y prepararon en suspensión celular a $5,0 \times 10^5$ células/ml con medio básico. La suspensión se añadió a los pocillos de la placa de 96 pocillos (100 μ l/pocillo) y se mantuvo durante la noche a 37° C, en una incubadora con 5% de CO₂. Al día siguiente, se retiró la placa de 96 pocillos de la incubadora de CO₂ y se centrifugó a 800 rpm durante 5 minutos a 4° C. Luego, se extrajeron 90 μ l de sobrenadante celular de cada pocillo y se añadieron 90 μ l de BSA/RPMI 1640 al 0,1% a cada pocillo, seguido de la adición de dímero de IL-22 (que consiste de dos subunidades monoméricas, cada una comprendiendo una secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 4) a la concentración final de 1,4, 4,1, 12,3, 37,0, 111,1, 333,3, 1000, 3000 ng/ml, IL-22 (rhIL-22, concretamente, IL-22 humana recombinante) a la concentración final de 0,01, 0,04, 0,12, 0,37, 1,1, 3,3, 10, 30 ng/ml. La mezcla se incubó durante 20 horas a 37° C en una incubadora de CO₂ al 5% y se recogió el sobrenadante celular y el valor de DO del mismo se probó usando el kit IL-22 ELISA (R&D, Cat: S1000B).

Como se muestra en la FIG. 4, el valor de la concentración eficaz media (EC50) del dímero de IL-22 es 229 ng/ml (2.675 pM) y el de IL-22 es 0,54 ng/ml (32,4 pM). Muestra que la bioactividad del dímero de IL-22 es muy inferior a la del monómero de IL-22 en el experimento de actividad in vitro.

Ejemplo 2 Efecto de IL-22 o del dímero de IL-22 sobre la activación de STAT3 en células Colo205

Se cultivaron células Colo205 en medio FBS al 10% RPMI1640 y las células se cultivaron hasta la fase logarítmica. Se descartó el sobrenadante y se añadió PBS para lavar el medio de cultivo residual, seguido de la adición de 2-5 ml de tripsina-EDTA al 0,25% para la digestión. Luego se añadió medio y se mezcló hasta uniformidad pipeteando. La mezcla se centrifugó a 1500 rpm durante 5 minutos y las células se recogieron y prepararon en $2,0 \times 10^5$ células/ml de suspensión celular con medio básico RPMI1640. La suspensión se añadió a los pocillos de la placa de 96 pocillos (100 μ l/pocillo) y se mantuvo a 37° C durante 6 horas, en una incubadora de CO₂ al 5%. La suspensión se trató, respectivamente, con varias concentraciones de rhIL-22 o dímero de IL-22 (que consiste de dos subunidades monoméricas, cada una de las cuales comprendiendo una secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 4) durante 1 hora. Después de descartar el sobrenadante, se añadieron 40 μ l de tampón de lisis celular (N° de Cat. 9803S, Cell Signaling) en cada pocillo. El sobrenadante se recogió por centrifugación. La concentración de proteínas se determinó usando el método de Bradford. Además, el nivel de fosforilación de STAT3 se midió usando un método ELISA (kit de ELISA de fósforo STAT3 [pY705] (Invitrogen, Cat: KH00481). El contenido de pSTAT3 se calcula dividiendo la concentración detectada de pSTAT3 por la concentración de proteína.

Como se muestra en la FIG. 5, el valor de la concentración media eficaz (EC50) del dímero de IL-22 que activa STAT3 es 119,5 ng/ml (1394 pM, calculado usando el peso molecular teórico del dímero de IL-22 que es 85,7 KD) y el de IL-22 es 0,14 ng/ml (6,9 pM, calculado usando el peso molecular de IL-22 que es de 16,7KD).

Ejemplo 3 Distribución de dímero de IL-22 en tejidos de órganos en ratas SD

Se dividieron aleatoriamente 18 ratas SD en 3 grupos con 6 animales por grupo (mitad machos y mitad hembras). Los animales recibieron una inyección en la vena de la cola del dímero ^{125}I -IL-22 marcado por el método Iodogen (que consiste de dos subunidades monoméricas, cada una de las cuales comprende una secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 4) a una dosis de 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Los animales se sacrificaron a las 2, 24 y 48 horas después de la inyección, respectivamente. Los tejidos de los órganos se recogieron y pesaron, y los recuentos de radiactividad se midieron directamente. Luego se calcularon los recuentos de radiactividad por gramo de los tejidos.

Los resultados mostraron que el dímero de IL-22 era estable en el páncreas durante 48 horas después de la inyección. Como se muestra en la FIG. 6, las concentraciones de dímero de IL-22 en el páncreas a las 24, 48 h disminuyeron al 56% y 21% de la del dímero de IL-22 a las 2 h después de la inyección, respectivamente. Las concentraciones de dímero de IL-22 en los hígados a las 24 h y 48 h disminuyeron al 28% y 9% de la del dímero de IL-22 a las 2 h después de la inyección, respectivamente. A las 2 horas después de la inyección, las concentraciones de dímero de IL-22 en el páncreas fueron de aproximadamente 1/5 de la del dímero de IL-22 en el hígado.

Ejemplo 4 Distribución del dímero de IL-22 en tejidos de órganos en mono cynomolgus

3 monos cynomolgus macho, con un peso de 4,3-4,6 kg, recibieron una inyección intravenosa de dímero de IL-22 (que consiste de dos subunidades monoméricas, cada una de las cuales comprende una secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 4) a una dosis de 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Los animales se sacrificaron a las 2 horas después de la inyección. Los tejidos de los órganos se recogieron y almacenaron en nitrógeno líquido. Los tejidos se pesaron y se lisaron añadiendo el tampón de lisis para obtener el homogeneizado de tejidos. Después de la centrifugación, el sobrenadante se separó y se sometió a determinación de concentración de proteína. Las concentraciones de dímero de IL-22 en los tejidos se midieron usando un método ELISA (kit de ELISA para IL-22 humano, Biolegend, N° de Cat. 434506).

Los resultados mostraron que la concentración de dímero de IL-22 en el páncreas era bastante baja (aproximadamente 0,76 ng/mg de proteína). Como se muestra en la FIG. 7, esta concentración fue muy inferior a la del dímero de IL-22 en el hígado (aproximadamente 1/5 de la concentración en el hígado).

Ejemplo 5 Seguridad clínica del dímero de IL-22 en un sujeto humano sano

Métodos:

Se inscribieron y asignaron aleatoriamente voluntarios varones sanos en 6 grupos de dosis:

Grupo de placebo (n=8): recibió una única dosis de igual volumen de 5% de glucosa/solución salina por infusión intravenosa.

Grupo de dosis SC de 2,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de dímero de IL-22 (n=6) (grupo SC): recibió una única dosis subcutánea de dímero de IL-22 a 2,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Grupo de dosis IV de 2,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de dímero de IL-22 (n=6) (grupo IV): El dímero de IL-22 se disolvió en 100 ml de solución salina/glucosa al 5% y se administró en una dosis única de 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ por infusión intravenosa.

Grupo de dosis IV de 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de dímero de IL-22 (n=6) (grupo IV): el dímero de IL-22 se disolvió en 100 ml de solución salina/glucosa al 5% y se administró en una única dosis de 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mediante infusión intravenosa.

Grupo de dosis IV de 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de dímero de IL-22 (n=6) (grupo IV): el dímero de IL-22 se disolvió en 100 ml de solución salina/glucosa al 5% y se administró en una dosis única de 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mediante infusión intravenosa.

Grupo de dosis IV de 45 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de dímero de IL-22 (n=6) (grupo IV): el dímero de IL-22 se disolvió en 100 ml de solución salina/glucosa al 5% y se administró en una única dosis de 45 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mediante infusión intravenosa.

En donde, el dímero de IL-22 consistía de dos subunidades monoméricas, cada una de las cuales comprendía una secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 4.

La seguridad se evaluó mediante un examen físico, una prueba de laboratorio, peso corporal, signos vitales, electrocardiograma y ultrasonidos del abdomen, etc. Además, se analizó el nivel en suero de concentración del fármaco, SAA-1, PCR, TG y citoquinas.

Resultados:

A. eventos adversos

5 Grupo de dosis SC de 2,0 µg/kg de dímero de IL-22: se consideraron en total seis eventos adversos relacionados con el fármaco investigado, que incluían piel seca en el lugar de inyección (x 3), eritema (x 2) y eccema numular (x 1).

10 Grupo de dosis IV de 2,0 µg/kg de dímero de IL-22: no se observaron eventos adversos.

Grupo de dosis IV de 10 µg/kg de dímero de IL-22: se observaron dos eventos adversos, que incluían escalofríos (una reacción relacionada con la perfusión) (x 1) y dolor de cabeza (x 1).

15 Grupo de dosis IV de 30 µg/kg de dímero de IL-22: se observaron seis eventos adversos, que incluían piel seca local (x 4), dermatitis alérgica (x 1) y reacción relacionada con la perfusión (x 1).

20 Grupo de dosis IV de 45 µg/kg de dímero de IL-22: se observaron doce eventos adversos, que incluían piel seca local (6), prurito ocular (x 3), erupción eritematosa (x 2) y somnolencia (x 1).

Grupo de placebo: se observaron eventos adversos que incluían infección del tracto respiratorio superior (x 1), letargo (x 1) e hiperhidrosis (x 1).

25 Los resultados de los eventos adversos, el examen físico, las pruebas de laboratorio, el peso corporal, los signos vitales, el electrocardiograma y los datos de ultrasonidos del abdomen, etc., mostraron que una única administración intravenosa de dímero de IL-22 a una dosis tan alta como 45 µg/kg demostró un buen perfil de seguridad sin eventos adversos graves observados o eventos adversos potencialmente mortales. Se informaron menos eventos adversos después de la dosificación del dímero de IL-22 por vía IV en comparación con SC a un nivel de dosis de 2,0 µg/kg, lo que indica que la IV fue mucho mejor tolerada por los sujetos del estudio (Tabla 2).
30 Los resultados demostraron que la administración intravenosa del dímero de IL-22 tiene una mejor seguridad y tolerabilidad en comparación con la administración subcutánea.

Tabla 2 Eventos adversos en el sitio de inyección y la piel después de la administración del dímero de IL-22

Grupo de dosificación	Sitio de inyección	piel
placebo	No observado	No observado
2 µg/kg, SC	se observaron piel seca(33) ,eritema(32), y eczema nummular (31) 10-17 días después de la administración	No observado
2 µg/kg, IV	No observado	No observado
10 µg/kg, IV	No observado	No observado
30 µg/kg, IV	No observado	Piel seca local(X4), dermatitis alérgica (X 1)
45 µg/kg, IV	No observado	Piel seca local(X6), prurito ocular (X3), erupción eritematosa (X2)

B. farmacocinética del dímero de IL-22 en humanos

55 Se recogieron muestras de sangre de la vena antes de la administración y en diferentes puntos temporales después de la administración. Después de la centrifugación, el suero se separó y se almacenó a <70° C. La concentración de fármaco en el suero se midió usando un método ELISA (kit de ELISA para IL-22 humana, Biolegend, N° de Cat. 434506). Los parámetros farmacocinéticos se analizaron usando un modelo no compartimental en los resultados detectados (software de análisis: Phoenix™ (Pharsight Corporation, Versión 6.2.1). Los resultados mostraron que el dímero de IL-22 tenía una vida media muy excelente en humanos, entre los cuales, la dosis única del grupo de 45 µg/kg tenía una vida media de 206 horas, que era significativamente mejor que la del monómero de IL-22.
60

65

Tabla 3 Parámetros Farmacocinéticos (valor medio, n=6)

Dosificación ($\mu\text{g}/\text{kg}$, IV)	T_{max} (hrs)	C_{max} (ng/ml)	T_{last} (hrs)	C_{last} (ng/ml)	AUC_{0-t} (hr*ng/ml)	$\text{AUC}_{0-\infty}$ (hr*ng/ml)	AUC_{0-24h} (hr*ng/ml)	$T_{1/2}$ (hrs)	Cl (ml/hr/kg)	Vz (ml/kg)
2	0.7	15.5	60	3.75	437	650	247	39.4	3.35	177
10	0.2	62.3	284	4.41	4150	4840	1050	108	2.15	330
30	0.2	176	528	6.12	15400	16900	3230	161	1.82	419
45	0.2	247	528	7.73	18000	20400	4340	206	2.26	654

C. El dímero de IL-22 puede aumentar significativamente los niveles en suero de SAA, CRP y disminuir los niveles en suero de TG

a. proteína amiloide en suero (SAA)

5 La concentración de SAA-1 en suero se midió usando un método ELISA (kit ELISA de SAA humana, N° de Cat KHA0011C, Invitrogen).

10 Los resultados mostraron que la administración IV del dímero de IL-22 puede aumentar significativamente la concentración en suero humana de SAA, lo que indica una actividad biológica muy significativa. Como se muestra en la FIG. 8A, en comparación con el grupo placebo, la concentración de SAA-1 aumentó significativamente a las 12 horas después de la administración del dímero de IL-22. La alta concentración en suero de SAA sigue siendo bastante alta en el grupo de dosis de 45 µg/kg el día 15 después de la administración.

15 Tabla 4 la concentración máxima (Cmax) y el aumento de veces de SAA-1

Grupo (IV) (µg/kg)	SAA-1 Cmax	Veces de aumento de Cmax (con respecto al grupo placebo)
Placebo	6*	1
Dímero de IL-22 2 µg/kg ,IV	71	12
Dímero de IL-22 10 µg/kg ,IV	402	67
Dímero de IL-22 30 µg/kg ,IV	2355	393
Dímero de IL-22 45 µg/kg ,IV	3194	532

25 * indica valor medio del grupo placebo

30 b. Proteína C-reactiva

Los niveles de proteína C reactiva (PCR) se midieron usando turbidez de transmisión de inmunidad.

35 Como se muestra en la FIG. 8B, la administración IV del dímero de IL-22 aumentó significativamente la concentración en suero de proteína C reactiva en comparación con el grupo placebo.

c. triglicéridos

40 Los cambios de los triglicéridos en suero antes y después de la administración se detectaron usando un analizador de bioquímica sanguínea automático.

45 Como se muestra en la FIG. 8C, la administración IV del dímero de IL-22 redujo significativamente los niveles en suero de triglicéridos, mostrando una relación de respuesta a la dosis obvia en comparación con el grupo placebo.

d. ensayo de citoquinas

50 Las muestras de suero del grupo de placebo y del grupo IV de 45 µg/kg de dímero de IL-22 se recogieron antes de la administración y a las 24, 48 horas después de la administración, y se midieron usando Proteome Profiler Arrays-Human Cytokine Array Panel A (N° de Cat. ARY005, R&D Systems) para obtener los niveles de varias citoquinas. Las PBMC (células mononucleares de sangre periférica humana) se trataron con 50 ng/ml de PMA (acetato de miristato de forbol) durante 24 horas y luego se usó el sobrenadante como control positivo. Se cargaron 200 µl de cada muestra de suero y se midieron siguiendo las instrucciones del kit.

55 Como se muestra en la FIG. 8D, los niveles de citoquinas inflamatorias como TNFα, IL-6, IL-1β, IL-8, etc. aumentaron notablemente en el control positivo (PBMCs+PMA). Mostrando un perfil similar al grupo placebo, los niveles de CD54, MIF, Serpina E1 y CCL5 fueron relativamente más altos para las muestras de suero tomadas a las 24 y 48 horas después de la administración en el grupo IV de 45 µg/kg de dímero de IL-22, y los niveles de citoquinas inflamatorias como TNFα, IL-6, IL-1β, IL-8 no cambiaron notablemente en comparación con el de las muestras de suero tomadas antes de la administración. Estos demostraron que la administración del dímero de IL-22 no lleva a niveles aumentados de citoquinas inflamatorias en suero.

60 **Ejemplo 6 Eficacia preventiva y terapéutica de IL-22 o del dímero de IL-22 en el modelo de rata de pancreatitis aguda inducida por inyección retrógrada de taurocolato de sodio en el conducto biliopancreático.**

65

El modelo de pancreatitis aguda inducida por inyección retrógrada de taurocolato de sodio en el conducto biliopancreático ha sido usado ampliamente para evaluar la patogénesis de la pancreatitis por reflujo biliar y la eficacia de un medicamento. En este experimento, el modelo de rata de pancreatitis aguda se produjo mediante inyección retrógrada de 0,1 ml/100g de taurocolato de sodio al 3,5% en el conducto biliopancreático.

5 Las ratas SD se dividieron aleatoriamente en 3 grupos:

El grupo de control del modelo (n=6) recibió una única inyección intravenosa de igual volumen de solvente dos horas antes de la cirugía.

10 El grupo de 40 µg/kg de monómero de IL-22 (n=7), recibió una única inyección intravenosa de 40 µg/kg de IL-22 humana recombinante (rhIL-22) dos horas antes de la cirugía.

15 El grupo de 100 µg/kg de dímero de IL-22 (n=7), recibió una única inyección intravenosa de 100 µg/kg de dímero de IL-22 (que comprende una dosificación de molécula IL-22 molar igual en comparación con el grupo de 40 µg/kg de monómero de IL-22) dos horas antes de la cirugía.

20 El dímero de IL-22 consistía de dos subunidades monoméricas, cada una de las cuales comprendía una secuencia mostrada en la SEQ ID NO: 4.

A los animales se les proporcionó acceso libre al agua y ayunaron durante 12 horas antes de la cirugía.

Procedimientos quirúrgicos:

25 Las ratas en el grupo modelo se anestesiaron con éter dietílico. Se abrió el abdomen mediante una incisión en la línea media, se identificaron el duodeno y el conducto biliar común, luego se ocluyó temporalmente el conducto biliar común en la confluencia del conducto hepático del hilio hepático con una pinza microvascular. Tras encontrar un área avascular del mesenterio en la pared lateral del duodeno, se usó una aguja de tamaño 0,4 para perforar e insertar el inserto en el conducto pancreático biliar en el área avascular del mesenterio, y luego se retiró. Luego se insertó un tubo de polietileno (PE) 10 en el conducto biliar-pancreático a lo largo de la papila duodenal durante 8-10 mm a través del orificio, y se fijó para evitar que se cayese. Se infundió lentamente taurocolato sódico al 3,5% (0,1 ml/100 g) de forma retrógrada, y el núcleo de la aguja se mantuvo durante 8 minutos después de la inyección. Tras retirar el tubo de polietileno y la pinza microvascular, se cerró el abdomen. A las ratas se les proporcionó acceso libre a alimentos y agua después de la cirugía. A las 12 horas después de la cirugía, se tomaron muestras de sangre del plexo venoso orbitario de rata, y luego el suero se separó por centrifugación. Se midieron los niveles en suero de amilasa y lipasa.

40 Los animales se sacrificaron 48 horas después de la cirugía. Se tomaron los tejidos del páncreas de las ratas y se fijaron en solución de formalina al 10%. Se cortaron tejidos en la cabeza, el medio y la cola del páncreas y se hicieron secciones de parafina de 3 µm, respectivamente. Las secciones se tiñeron con HE, y los cambios patológicos se observaron bajo un microscopio óptico. Las puntuaciones de edema, necrosis, hemorragia, infiltración de células inflamatorias, etc. se evaluaron de manera de doble ciego, de acuerdo con las escalas de Schmidt (Schmidt et al. Ann Surg, 1992, 215(1): 44-56). Se realizó la puntuación de 3 secciones, incluyendo la cabeza, el medio y la cola del páncreas para cada rata.

45 Resultados:

50 El modelo animal de pancreatitis se estableció con éxito, como lo demuestra una elevación significativa en los niveles en suero de amilasa y lipasa. Como se muestra en la FIG. 9A y 9B, en comparación con el grupo modelo, el monómero de IL-22 tiene una tendencia a disminuir los niveles en suero de amilasa, pero no hubo diferencias significativas. Los niveles en suero de amilasa disminuyeron significativamente después del tratamiento con dímero de IL-22 (P=0,03). En comparación con el grupo modelo, los niveles en suero de lipasa disminuyeron significativamente (P=0,03) después del tratamiento con monómero de IL-22, mientras que los niveles en suero de lipasa disminuyeron significativamente después del tratamiento con dímero de IL-22 (P=0,008). Merece la pena señalar que, a una dosificación de IL-22 molar igual, el dímero de IL-22 fue terapéuticamente eficaz en el modelo de pancreatitis en ratas, y la eficacia fue mejor que la de IL-22. Bajo un microscopio, se observaron un edema obvio, una masa de infiltración de células inflamatorias, necrosis de células acinares y células adiposas parcial, y una pequeña cantidad de hemorragia en los tejidos pancreáticos del grupo modelo. El dímero de IL-22 puede mejorar significativamente la puntuación de patología en animales de pancreatitis, mostrando una función protectora en el páncreas. A igual dosificación molar de IL-22, no se observó ningún efecto protector significativo del monómero de IL-22 sobre el páncreas.

65

Tabla 5 Las puntuaciones de patología del tejido pancreático en ratas

	Edema	Infiltración de células inflamatorias	Necrosis de célula acinar	Hemorragia	Necrosis de célula adiposa	Total	
5							
	Grupo de modelo	6.2 ± 1.8	7.0 ± 1.2	3.8 ± 2.2	2.4 ± 2.1	1.4 ± 0.9	20.8 ± 4.0
	Grupo de monómero de IL-22 40µg/kg	7.4 ± 1.7	5.7 ± 1.6	2.4 ± 1.7	3.7 ± 3.4	0.9 ± 0.7	20.1 ± 4.0
10	Grupo de monómero de IL-22 40µg/kg	4.3 ± 2.7b	5.7 + 2.3	2.3 ± 0.5	2.3 ± 2.1	0.5 ± 0.8	15.2 ± 3.8

a indica P<0,05 en comparación con el grupo de modelo.

b indica P<0,05 en comparación con el grupo de monómero de IL-22

LISTADO DE SECUENCIAS

- <110> Generon (Shanghai) Corporation Ltd.
- <120> Uso de DIMEROS DE IL-22 EN LA FABRICACION DE UN MEDICAMENTO PARA TRATAR LA PANCREATITIS
- <130> P2014-1426
- <150> CN201310549648X
- <151> 2013-11-07
- <160> 10
- <170> Patent In versión 3.5
- <210> 1
- <211> 16
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- <221> CARACTERISTICA_MISCELANEA
- <223> péptido corto
- <400> 1
- Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
- 1 5 10 15
- <210> 2
- <211> 223
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- <221> CARACTERISTICA_MISCELANEA
- <223> IgG2 Fc
- <400> 2

ES 2 794 082 T3

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
 1 5 10 15
 5 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 20 25 30
 10 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 35 40 45
 15 Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 50 55 60
 20 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
 65 70 75 80
 Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 85 90 95
 25 Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile
 100 105 110
 30 Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 115 120 125
 35 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 130 135 140
 40 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 145 150 155 160
 45 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
 165 170 175
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 180 185 190
 50 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 195 200 205
 55 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 210 215 220
 60 <210> 3
 <211> 146
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 65 <220>
 <221> CARACTERISTICA_MISCELANEA

ES 2 794 082 T3

<223> IL-22

<400> 3

5 Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn Phe Gln Gln
1 5 10 15

10 Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser Leu
20 25 30

15 Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe His
35 40 45

20 Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu Asn
50 55 60

25 Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro
65 70 75 80

30 Tyr Met Gln Glu Val Val Pro Phe Leu Ala Arg Leu Ser Asn Arg Leu
85 90 95

35 Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn Val
100 105 110

40 Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu Ile
115 120 125

45 Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala
130 135 140

50 Cys Ile
145

45 <210> 4
<211> 385
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

50 <220>
<221> CARACTERISTICA_MISCELANEA
<223> IL-22£-conector£-lgG2 Fc

55 <400> 4

60

65

ES 2 794 082 T3

	Ala	Pro	Ile	Ser	Ser	His	Cys	Arg	Leu	Asp	Lys	Ser	Asn	Phe	Gln	Gln
	1				5					10					15	
5	Pro	Tyr	Ile	Thr	Asn	Arg	Thr	Phe	Met	Leu	Ala	Lys	Glu	Ala	Ser	Leu
				20					25					30		
10	Ala	Asp	Asn	Asn	Thr	Asp	Val	Arg	Leu	Ile	Gly	Glu	Lys	Leu	Phe	His
			35					40					45			
15	Gly	Val	Ser	Met	Ser	Glu	Arg	Cys	Tyr	Leu	Met	Lys	Gln	Val	Leu	Asn
		50					55					60				
20	Phe	Thr	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Phe	Pro	Gln	Ser	Asp	Arg	Phe	Gln	Pro
	65					70					75					80
25	Tyr	Met	Gln	Glu	Val	Val	Pro	Phe	Leu	Ala	Arg	Leu	Ser	Asn	Arg	Leu
					85					90					95	
30	Ser	Thr	Cys	His	Ile	Glu	Gly	Asp	Asp	Leu	His	Ile	Gln	Arg	Asn	Val
35																
40																
45																
50																
55																
60																
65																

ES 2 794 082 T3

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 355 360 365

5 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 370 375 380

10 Lys
 385

<210> 5
 <211> 308
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <221> CARACTERISTICA_MISCELANEA
 <223> IL-22f-conectorf-IL-22

20 <400> 5

25 Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn Phe Gln Gln
 1 5 10 15

30 Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser Leu
 20 25 30

35 Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe His
 35 40 45

40 Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val Leu Asn
 50 55 60

45 Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe Gln Pro
 65 70 75 80

50 Tyr Met Gln Glu Val Val Pro Phe Leu Ala Arg Leu Ser Asn Arg Leu
 85 90 95

55 Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg Asn Val
 100 105 110

60 Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly Glu Ile
 115 120 125

65 Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala
 130 135 140

Cys Ile Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 145 150 155 160

ES 2 794 082 T3

Gly Ser Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn Phe
 165 170 175
 5
 Gln Gln Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala
 180 185 190
 10
 Ser Leu Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu
 195 200 205
 15
 Phe His Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met Lys Gln Val
 210 215 220
 20
 Leu Asn Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser Asp Arg Phe
 225 230 235 240
 25
 Gln Pro Tyr Met Gln Glu Val Val Pro Phe Leu Ala Arg Leu Ser Asn
 245 250 255
 30
 Arg Leu Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His Ile Gln Arg
 260 265 270
 35
 Asn Val Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Gly Glu Ser Gly
 275 280 285
 40
 Glu Ile Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg
 290 295 300
 45
 Asn Ala Cys Ile
 305
 <210> 6
 <211> 375
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <221> CARACTERISTICA_MISCELANEA
 <223> IL-22-conector-IgG2 Fc
 <400> 6
 55
 Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys Ser Asn Phe Gln Gln
 1 5 10 15
 60
 Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala Lys Glu Ala Ser Leu
 20 25 30
 65
 Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly Glu Lys Leu Phe His
 35 40 45

ES 2 794 082 T3

	Gly	Val	Ser	Met	Ser	Glu	Arg	Cys	Tyr	Leu	Met	Lys	Gln	Val	Leu	Asn
	50						55					60				
5	Phe	Thr	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Phe	Pro	Gln	Ser	Asp	Arg	Phe	Gln	Pro
	65					70					75					80
10	Tyr	Met	Gln	Glu	Val	Val	Pro	Phe	Leu	Ala	Arg	Leu	Ser	Asn	Arg	Leu
					85					90					95	
15	Ser	Thr	Cys	His	Ile	Glu	Gly	Asp	Asp	Leu	His	Ile	Gln	Arg	Asn	Val
				100					105					110		
20	Gln	Lys	Leu	Lys	Asp	Thr	Val	Lys	Lys	Leu	Gly	Glu	Ser	Gly	Glu	Ile
			115					120					125			
25	Lys	Ala	Ile	Gly	Glu	Leu	Asp	Leu	Leu	Phe	Met	Ser	Leu	Arg	Asn	Ala
		130					135					140				
30	Cys	Ile	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala
	145					150					155					160
35	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
					165					170						175
40	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
				180					185					190		
45	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
			195					200					205			
50	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe
		210					215					220				
55	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp
	225					230					235					240
60	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu
					245					250					255	
65	Pro	Ala	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg
				260					265					270		
70	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys
			275					280					285			
75	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp

ES 2 794 082 T3

	290		295		300														
5	Ile 305	Ala	Val	Glu	Trp	Glu 310	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro 315	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys 320			
10	Thr	Thr	Pro	Pro	Met 325	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly 330	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr 335	Ser			
15	Lys	Leu	Thr	Val 340	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp 345	Gln	Gln	Gly	Asn	Val 350	Phe	Ser			
20	Cys	Ser	Val	Met 355	His	Glu	Ala	Leu 360	His	Asn	His	Tyr	Thr 365	Gln	Lys	Ser			
25	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys 375												
	<210>	7																	
	<211>	385																	
	<212>	PRT																	
	<213>	Secuencia artificial																	
	<220>																		
	<221>	CARACTERISTICA_MISCELANEA																	
	<223>	IgG2 Fc-conector-IL-2																	
	<400>	7																	
35	Val 1	Glu	Cys	Pro	Pro 5	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro 10	Val	Ala	Gly	Pro	Ser 15	Val			
40	Phe	Leu	Phe	Pro 20	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp 25	Thr	Leu	Met	Ile	Ser 30	Arg	Thr			
45	Pro	Glu	Val 35	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp 40	Val	Ser	His	Glu 45	Asp	Pro	Glu			
50	Val 50	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val 55	Asp	Gly	Val	Glu	Val 60	His	Asn	Ala	Lys			
55	Thr 65	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu 70	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr 75	Phe	Arg	Val	Val	Ser 80			
60	Val	Leu	Thr	Val	Val 85	His	Gln	Asp	Trp	Leu 90	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr 95	Lys			
65	Cys	Lys	Val	Ser 100	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro 105	Ala	Ser	Ile	Glu	Lys 110	Thr	Ile			

ES 2 794 082 T3

	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	
			115					120					125				
5	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	
		130					135					140					
10	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	
	145					150					155					160	
15	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	
					165					170					175		
20	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	
				180					185					190			
25	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	
			195					200					205				
30	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Gly	
	210						215					220					
35	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	
	225					230					235					240	
40	Pro	Ile	Ser	Ser	His	Cys	Arg	Leu	Asp	Lys	Ser	Asn	Phe	Gln	Gln	Pro	
					245					250					255		
45	Tyr	Ile	Thr	Asn	Arg	Thr	Phe	Met	Leu	Ala	Lys	Glu	Ala	Ser	Leu	Ala	
				260					265					270			
50	Asp	Asn	Asn	Thr	Asp	Val	Arg	Leu	Ile	Gly	Glu	Lys	Leu	Phe	His	Gly	
		275						280					285				
55	Val	Ser	Met	Ser	Glu	Arg	Cys	Tyr	Leu	Met	Lys	Gln	Val	Leu	Asn	Phe	
		290					295					300					
60	Thr	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Phe	Pro	Gln	Ser	Asp	Arg	Phe	Gln	Pro	Tyr	
	305					310					315					320	
65	Met	Gln	Glu	Val	Val	Pro	Phe	Leu	Ala	Arg	Leu	Ser	Asn	Arg	Leu	Ser	
					325					330					335		
70	Thr	Cys	His	Ile	Glu	Gly	Asp	Asp	Leu	His	Ile	Gln	Arg	Asn	Val	Gln	
				340					345					350			
75	Lys	Leu	Lys	Asp	Thr	Val	Lys	Lys	Leu	Gly	Glu	Ser	Gly	Glu	Ile	Lys	
			355					360					365				

ES 2 794 082 T3

Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met Ser Leu Arg Asn Ala Cys
 370 375 380

5 Ile
 385

10 <210> 8
 <211> 375
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <221> CARACTERISTICA_MISCELANEA
 <223> IgG2 Fc-conector-IL-22

<400> 8

20 Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
 1 5 10 15

25 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 20 25 30

30 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 35 40 45

35 Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 50 55 60

40 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
 65 70 75 80

45 Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 85 90 95

50 Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile
 100 105 110

55 Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 115 120 125

60 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 130 135 140

65 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 145 150 155 160

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
 165 170 175

ES 2 794 082 T3

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 180 185 190
 5 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 195 200 205
 10 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ala
 210 215 220
 15 Ser Thr Lys Gly Pro Ala Pro Ile Ser Ser His Cys Arg Leu Asp Lys
 225 230 235 240
 20 Ser Asn Phe Gln Gln Pro Tyr Ile Thr Asn Arg Thr Phe Met Leu Ala
 245 250 255
 25 Lys Glu Ala Ser Leu Ala Asp Asn Asn Thr Asp Val Arg Leu Ile Gly
 260 265 270
 30 Glu Lys Leu Phe His Gly Val Ser Met Ser Glu Arg Cys Tyr Leu Met
 275 280 285
 35 Lys Gln Val Leu Asn Phe Thr Leu Glu Glu Val Leu Phe Pro Gln Ser
 290 295 300
 40 Asp Arg Phe Gln Pro Tyr Met Gln Glu Val Val Pro Phe Leu Ala Arg
 305 310 315 320
 45 Leu Ser Asn Arg Leu Ser Thr Cys His Ile Glu Gly Asp Asp Leu His
 325 330 335
 50 Ile Gln Arg Asn Val Gln Lys Leu Lys Asp Thr Val Lys Lys Leu Gly
 340 345 350
 55 Glu Ser Gly Glu Ile Lys Ala Ile Gly Glu Leu Asp Leu Leu Phe Met
 355 360 365
 60 Ser Leu Arg Asn Ala Cys Ile
 370 375
 65 <210> 9
 <211> 228
 <212> PRT
 <213> homo sapiens
 <400> 9
 Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
 1 5 10 15

ES 2 794 082 T3

Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 20 25 30

5 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 35 40 45

10 His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 50 55 60

15 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
 65 70 75 80

20 Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn
 85 90 95

25 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro
 100 105 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 115 120 125

30 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 130 135 140

35 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ser Val
 145 150 155 160

40 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 165 170 175

45 Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 180 185 190

50 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 195 200 205

55 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 210 215 220

Ser Pro Gly Lys
 225

60 <210> 10
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

65 <220>
 <221> CARACTERISTICA_MISCELANEA

ES 2 794 082 T3

<223> péptido corto

<400> 10

5

Ala Ser Thr Lys Gly Pro
1 5

REIVINDICACIONES

- 5 **1.** Un dímero de IL-22 para su uso en un método para tratar la pancreatitis en un individuo, en donde el método comprende administrar al individuo una cantidad eficaz del dímero de IL-22, en donde el dímero de IL-22 se administra a la cantidad eficaz de 2 µg/kg a 200 µg/kg.
- 10 **2.** El dímero de IL-22 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el dímero de IL-22 comprende dos subunidades monoméricas, en donde cada subunidad monomérica comprende un dominio de IL-22 y un dominio de dimerización, opcionalmente en donde la subunidad monomérica comprende un dominio de IL-22 enlazado al dominio de dimerización a través de una secuencia conectora opcional.
- 15 **3.** El dímero de IL-22 para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde la secuencia conectora tiene de aproximadamente 5 a aproximadamente 50 aminoácidos, opcionalmente en donde la secuencia conectora comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 10, por ejemplo en donde la secuencia conectora consiste de la secuencia de la SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 10.
- 20 **4.** El dímero de IL-22 para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el dominio de dimerización comprende por lo menos dos cisteínas capaces de formar enlaces disulfuro intermoleculares.
- 25 **5.** El dímero de IL-22 para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el dominio de dimerización comprende por lo menos una parte del fragmento Fc, opcionalmente en donde el fragmento Fc comprende los dominios de la CH2 y la CH3, y/o en donde el fragmento Fc comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 2 o la SEQ ID NO: 9, por ejemplo en donde el fragmento Fc consiste de la secuencia de la SEQ ID NO:2 o la SEQ ID NO:9.
- 30 **6.** El dímero de IL-22 para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2-5, en donde el dominio de IL-22 de cada una de las subunidades monoméricas tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 3.
- 35 **7.** El dímero de IL-22 para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2-6, en donde cada una de las subunidades monoméricas comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de la SEQ ID NO: 4 y las SEQ ID NO: 6-8.
- 40 **8.** El dímero de IL-22 para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde el dímero de IL-22 se administra por vía intravenosa.
- 45 **9.** El dímero de IL-22 para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde el dímero de IL-22 se administra en la cantidad de :
 (i) 5 µg/kg a 80 µg/kg; o
 (ii) 10 µg/kg a 45 µg/kg.
- 50 **10.** El dímero de IL-22 para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde la pancreatitis es:
 (i) pancreatitis aguda;
 (ii) pancreatitis crónica;
 (iii) pancreatitis inducida por alcohol;
 (iv) pancreatitis recurrente;
 (v) pancreatitis por reflujo biliar;
 (vi) pancreatitis intersticial;
 (vii) pancreatitis necrosante; o
 (viii) pancreatitis posterior a CPRE.
- 55 **11.** El dímero de IL-22 para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde el individuo tiene amilasa en suero elevada, lipasa en suero elevada, amilasa en urina elevada, o proteína C reactiva elevada.
- 60 **12.** El dímero de IL-22 para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde el dímero de IL-22 se administra:
 (i) no más de aproximadamente una vez a la semana;
 (ii) no más de aproximadamente una vez al mes; o
 (iii) no más de aproximadamente una vez cada tres meses.
- 65 **13.** El dímero de IL-22 para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde la cantidad eficaz del dímero de IL-22:

- 5 (i) lleva a un nivel aumentado de proteína A amiloide en suero o proteína C reactiva en el individuo;
(ii) lleva a la inhibición de triglicéridos en el individuo; o
(iv) no lleva a un nivel elevado de una citoquina inflamatoria, opcionalmente en donde la citoquina inflamatoria se selecciona del grupo que consiste de TNF α , IL-6, IL-1 β , e IL-8.
14. El dímero de IL-22 para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2-13, en donde el dominio de dimerización está:
- 10 (i) en el extremo N-terminal de cada subunidad monomérica de IL-22; o
(ii) en el extremo C-terminal de cada subunidad monomérica de IL-22.

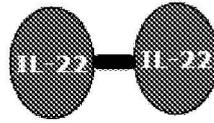


FIG.1

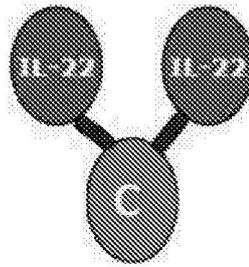


FIG.2A

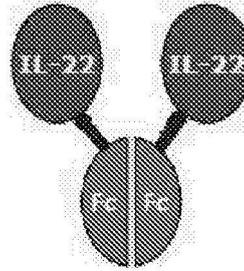


FIG.2B

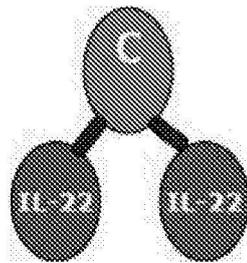


FIG.3A

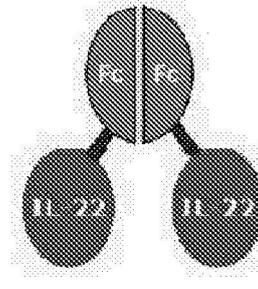


FIG.3B

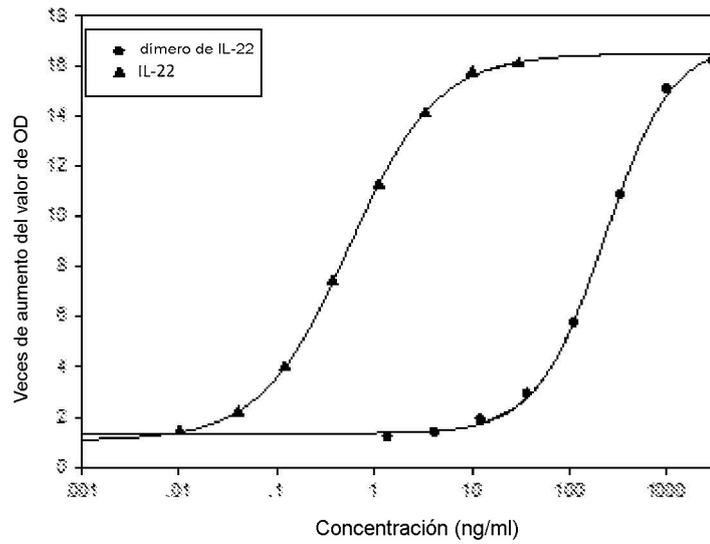


FIG.4

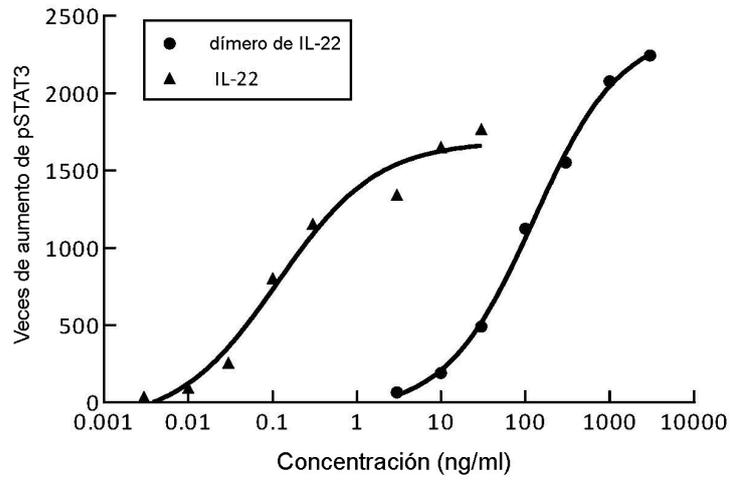


FIG. 5

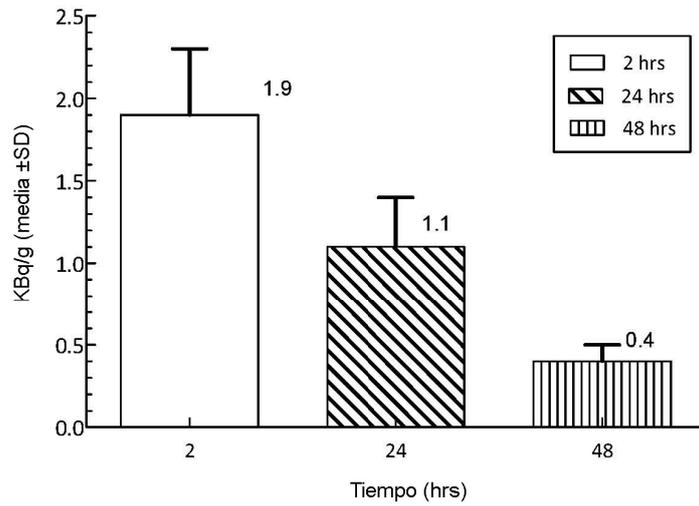


FIG. 6

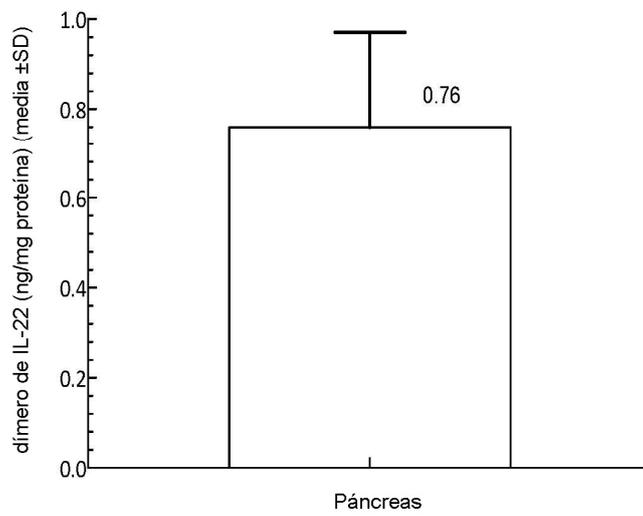


FIG. 7

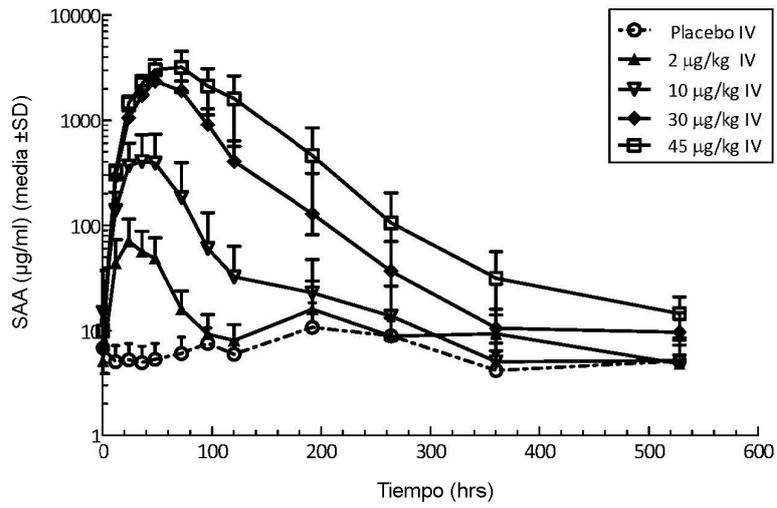


FIG. 8A

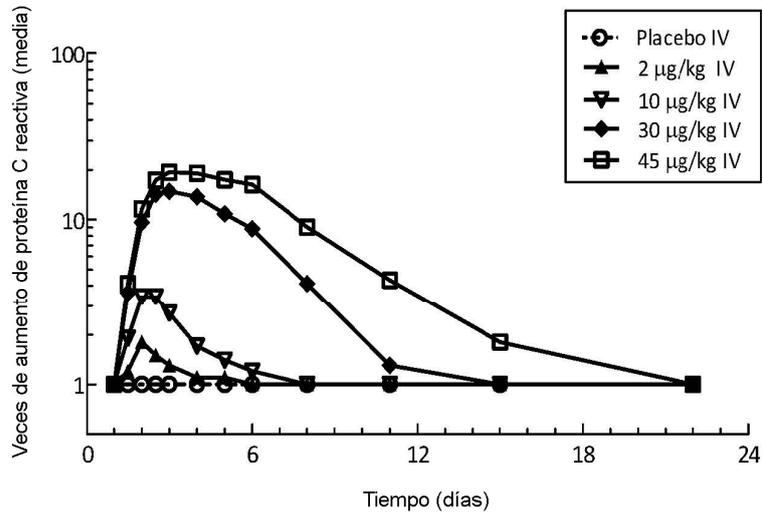


FIG. 8B

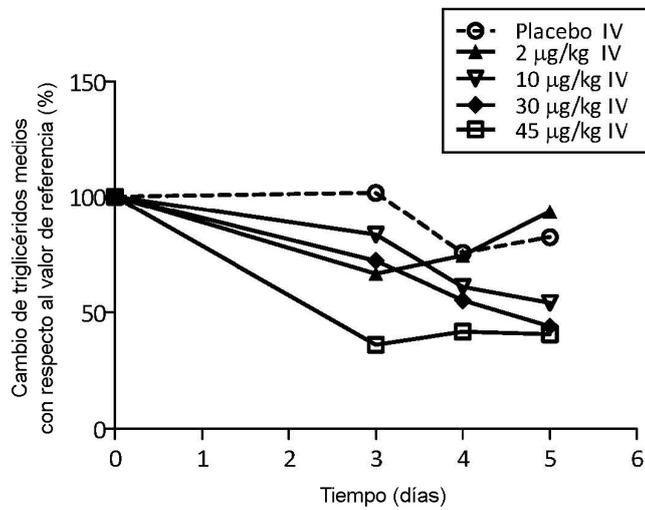


FIG. 8C

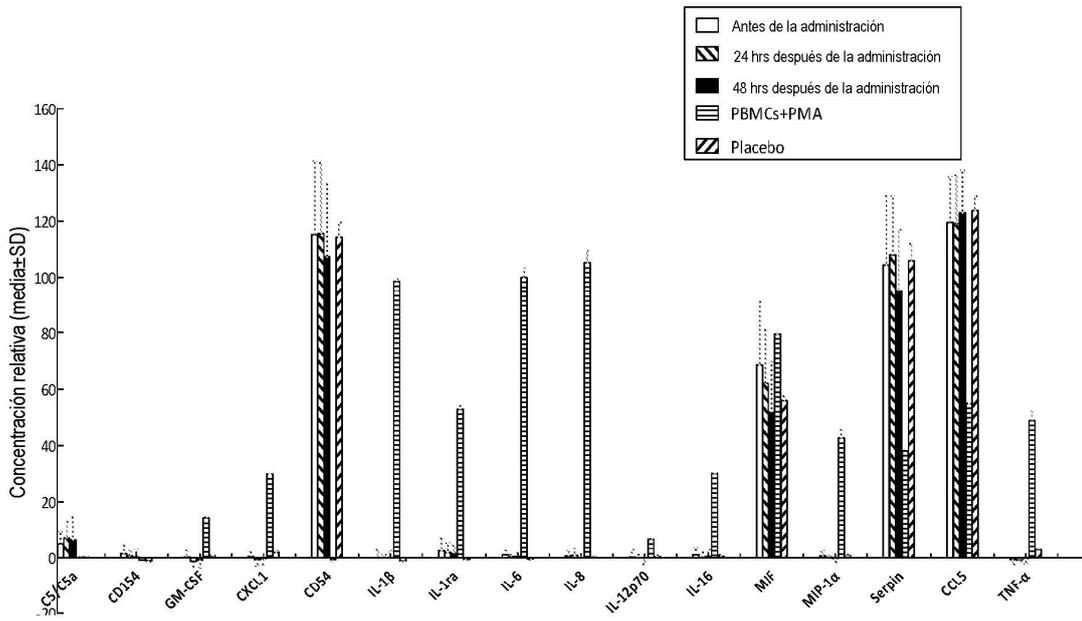


FIG.8D

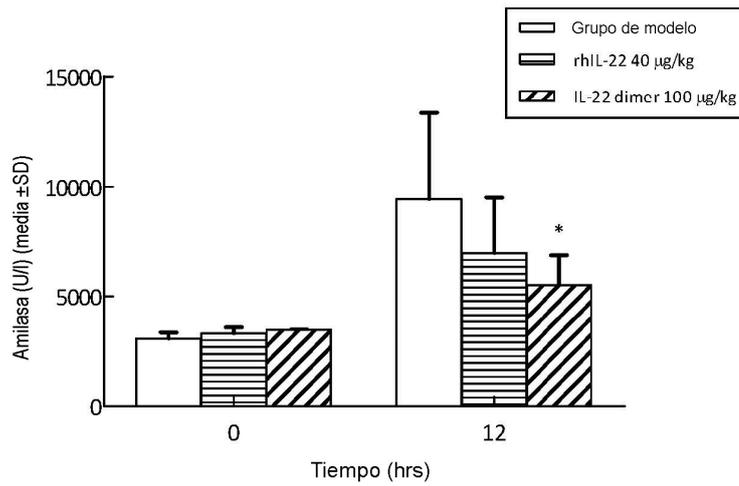


FIG.9A

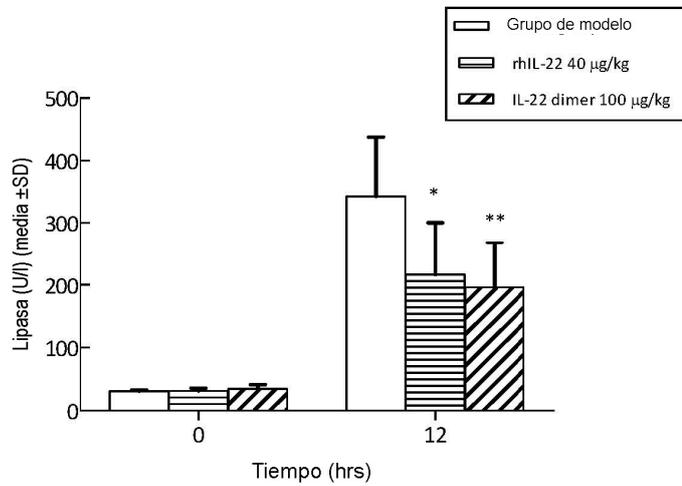


FIG.9B