



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e Comércio Exterior
Instituto Nacional de Propriedade Industrial

(21) **PI0615297-0 A2**

(22) Data de Depósito: 30/08/2006
(43) Data da Publicação: 17/05/2011
(RPI 2106)



* B R P I 0 6 1 5 2 9 7 A 2 *

(51) *Int.Cl.:*
A61K 39/395
A61P 27/00

(54) Título: **ANTAGONISTAS DE IL-23 E DE IL-17 PARA TRATAR DOENÇA INFLAMATÓRIA OCULAR AUTO-IMUNE E SEUS USOS**

(30) Prioridade Unionista: 01/09/2005 US 60/713,792,
11/08/2006 US 60/837,312

(73) Titular(es): SCHERING CORPORATION, THE GOVERNMENT OF THE UNITED STATES OF AMERICA AS REPRESENTED BY THE SECRETARY OF THE DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES

(72) Inventor(es): DANIEL J. CUA, DROR LUGER, PHYLLIS SILVER, RACHEL CASPI, ROBERT A. KASTELEIN, VANT T. TSAI

(74) Procurador(es): Dannemann ,Siemsen, Bigler & Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT US2006033840 de 30/08/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2007/027761 de 08/03/2007

(57) Resumo: ANTAGONISTAS DE IL-23 E DE IL-17 PARA TRATAR DOENÇA INFLAMATÓRIA OCULAR AUTO-IMUNE E SEUS USOS. A presente invenção refere-se a novos métodos e produtos de fármaco para o tratamento de doença inflamatória ocular auto-imune que são descritos, que envolvem administração de agentes que antagonizam uma ou ambas de atividade de IL-17 e de IL-23.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**ANTAGONISTAS DE IL-23 E DE IL-17 PARA TRATAR DOENÇA INFLAMATÓRIA OCULAR AUTO-IMUNE E SEUS USOS**".

5 Afirmação com referência à pesquisa e desenvolvimento de patrocínio federal

Esta invenção foi feita em parte com suporte governamental sob pesquisa cooperativa e concordância de desenvolvimento (CRAD) número M-0169-04, e emendas à mesma, executadas entre Schering-Plough Biopharma e o National Eye Institute, National Institutes of Health. O governo dos Estados Unidos da América tem certos direitos nessa invenção.

Campo da Invenção

15 A presente invenção refere-se em geral à modulação de respostas imune no olho. Mais especificamente, a invenção refere-se ao uso de antagonistas de interleucina-23 (IL-23) e interleucina-17 (IL-17) para tratar doença inflamatória ocular auto-imune.

Antecedentes da Invenção

20 Doença inflamatória ocular (OID) é um termo geral que inclui numerosas doenças e condições em que efeitos inflamatórios afeta o olho ou tecidos envolventes. O nome de diagnóstico dado a uma OID é tipicamente com base na localização da inflamação ocular. Por exemplo, uveíte é a inflamação no trato uveal; esclerite é a inflamação da esclera, inflamação da retina periférica é a inflamação dos orbículos ciliares, e assim por diante. OIDs causam dor, irritação e encher de lágrimas, e pode resultar em perda da função visual. Por exemplo, uveíte é a terceira causa principal de cegueira no mundo desenvolvido. OIDs podem ser causadas por infecções, malignidade, exposição a toxinas, resposta a cirurgia ou lesão, e distúrbios auto-
25 imunes.

30 Numerosas doenças auto-imunes existem em que o olho ou várias partes do olho se torna um alvo para um ataque inflamatório mediado imune. Pacientes com uma OID mediada imune (AOID) freqüentemente exibem respostas celulares e humorais a antígenos da retina tais como arrestina da retina (antígeno solúvel da retina, S-Ag), proteína de ligação retinóide

de interfotorreceptor (IRB), e antígenos relacionados com melanina e seu metabolismo, incluindo GP100, MART1, TRP1 e TRP2 (Pennesi, G. e outros (2003) *J. Clin. Invest.* 111:1171-1180; Gocho, K. e outros (2001) *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 42:2004-2009; Sugita S. e outros, (1996) *Int. Immunol.* 8:799-803; Yamake, K. e outros (2000) *J. Immunol.* 165 :7323-7329. No entanto, em muitos casos de AOID, o(s) antígeno(s)-alvo não são conhecidos.

Freqüentemente, OID é uma manifestação de uma doença auto-imune sistêmica, e o olho é uma variedade de órgãos através de todo o corpo que estão sendo atacados. Exemplos de tais doenças auto-imunes sistêmicas incluem artrite reumatóide, lúpus eritematoso sistêmico, poliarterite nodosa, policondrite recidivante, granulomatose de Wegener, escleroderma, doença de Behcet, doença de Reiter, doença de intestino inflamatório (colite ulcerativa e doença de Crohn) e espondilite anquilosante. No entanto, o olho pode ser o alvo específico ou apenas afetado nas doenças auto-imunes tais como penfigóide cicatricial ocular, úlcera de Mooren, e várias formas de uveíte.

AOIDs tal como uveíte foram tratadas por várias classes dos compostos incluindo e agentes antiinflamatórios não estereoidais tais como dexametasona, fluorometolona, prednisolona, indometacina, aspirina, flubiprofeno e diclofenac. No entanto, numerosos casos de uveíte não são suscetíveis a ou se tornam refratários a esses fármacos (vide, por exemplo, Kulkarni, P. (2001) *Journal of Ocular Pharmacology And Therapeutics* 17:181-187). Também, essas fármacos estão associados a sérios efeitos colaterais tais como cataratas, glaucoma, cura de ferimento atrasada, produção de prostaglandina alterada, complicações corneais, pressão ocular aumentada, superinfecções e imunidade reduzida a infecção (vide, por exemplo, Id., at 181; Guidera, A.C., e outros (2001) *Ophthalmology* 108:936-944; Olsen, E.G. & Davanger M. (1984) *Acta Ophthalmol.* 62:893-899).

Por causa das terapias existentes para AOID têm menos do que efeitos colaterais indesejáveis ou ótima eficácia, novos regimes de tratamento são necessários. Foi sugerido que pode ser clinicamente benéfico modular os mecanismos imunorreguladores envolvidos na patogênese de AOID (Caspi, R.R. (2002) *Int Rev Immunol* 21:197-208).

Esses mecanismos patogênicos foram investigados usando-se uveíte auto-imune experimental (EAU), que é um modelo de animal de uveíte auto-imune de ser humano. EAU é induzida nos animais experimentais tais como camundongo, rato, porquinho-da-índia, coelho, e macaco por imunização com um antígeno retinal demonstrou ser reativo em pacientes com uveíte (por exemplo, arrestina, IRBP, rodopsina/fosfudicina, recoverina) ou por infusão de células T específicas para esses antígenos. Estudos usando-se o modelo de EAU proveram evidência aparentemente contraditória sobre os mecanismos para a indução e progressão dessa doença. Os resultados de algumas experiências indicavam que a principal trajetória patogênica em EAU era devido ao papel de interleucina-12 (IL-12) na promoção da geração de células efetoras de Th1 produtoras de IFN- γ (Caspi, R.R. (2002) Int Rev Immunol 21:197-208; Tarrant, T.K. e outros, (1998) J. Immunol. 161:122-127; Caspi, R.R. (1998) Clin Immunol Immunopathol 88:4-13; Xu, H. e outros (1997) Cell Immunol 178:69-78. No entanto, outras experiências mostravam que camundongos nocauteados deficiente de IFN- γ eram suscetíveis a EAU, aquela EAU é exacerbada por neutralização de IFN- γ endógena, e aquela de níveis elevados de IFN- γ foram protegidas contra EAU em camundongos de tipo selvagem (Caspi, R.R. e outros (1994) J. Immunol. 152:890-899; Jones e tal., J. Immunol. 158:5997-6005; Tarrant, T.K., e outros (1999) J. Exp. Med. 189:219-230.

Assim, antes da presente invenção, não estava claro que trajetórias auto-imunes seriam direcionadas nas terapias em desenvolvimento para a preparação ou tratamento de doença inflamatória ocular auto-imune.

25 Sumário da Invenção

A presente invenção é com base nas revelações que (1) bloqueio de atividade de interleucina-23 (IL-23) ou interleucina-17 (IL-17) previne indução de EAU; (2) depois da indução, neutralização de atividade de IL-17 inibe ou reverte progressão de EAU, mas neutralização de atividade de IL-23 tem pouco a nenhum efeito; e (3) atividade de IL-17 não é necessária para a indução de EAU. A presente invenção usa antagonistas de IL-23 e/ou de IL-17 em métodos e composições para o tratamento ou prevenção de

doença inflamatória ocular auto-imune. Esses antagonistas antagonizam ou a própria citocina alvo ou um receptor funcional para a citocina alvo.

IL-23 é uma citocina heterodimérica constituída de duas subunidades: p19, que é única para IL-23; e p40, que é partilhada com IL-12. IL-23 media sinalização por ligação a um receptor heterodimérico, constituído de IL-23R e IL-12Rbeta1 (IL12RB1), que é partilhado pelo receptor de IL-12. Um papel recente relatado que IL-23 promove uma população de células T caracterizadas pela produção de IL-17, IL-17F, TNF, IL-6 e outros fatores, e chamadas essas células de “células Th₁₇” (Langrish e outros (2005) J. Exp. Med. 201:233-240)).

IL-17, que foi originariamente chamado de antígeno 8 associada a linfócito T citotóxico (CTLA8) é uma citocina homodimérica que se liga a IL-17RA (também chamada de IL17R) e IL-17C. Acredita-se que o receptor funcional para IL-17 seja um complexo de receptor multimérico compreendendo uma ou ambas das IL-17RA e IL-17RC (por exemplo, um homodímero de IL-17RA, um homodímero de IL-17RC, ou um heterodímero de IL-17RA/IL-17RC) e possivelmente uma terceira proteína como ainda desconhecida (Toy, D. e outros, (2006) J. of Immunol. 177(1):36-39; dados não publicados).

Em um aspecto, a invenção provê um método de tratamento de um paciente com uma doença inflamatória ocular auto-imune, compreendendo administração ao paciente de um antagonista de IL-17. A presença de uma AOID não necessita ser diretamente diagnosticada, mas pode ser submetida a infravermelho por um diagnóstico que o paciente tem uma inflamação de paciente ocular que é uma etiologia auto-imune putativa e/ou que exibe uma ou mais características de uma resposta auto-imune. Uma AOID particularmente preferida é uma uveíte autoimune, por exemplo, uveíte sem uma etiologia infecciosa.

O antagonista de IL-17 pode exibir que a expressão de IL-17 ou IL-17R ou IL-17RC pode inibir sinalização de IL-17 por interação direta ou indireta com um ou mais desses polipeptídeos para prevenir uma interação de ligante-receptor funcional. Em algumas concretizações preferidas, o an-

tagonista de IL-17 é um anticorpo ou um fragmento de anticorpo que se liga e inibe a atividade de ou IL-17, IL17R ou IL17C. Em uma concretização particularmente preferida, o antagonista de IL-17 é um anticorpo monoclonal que especificamente se liga IL-17. Em outras concretizações preferidas, o antagonista de IL-17 é um anticorpo biespecífico que se liga a e inibe a atividade de IL-23p19 and IL-17; IL-23p19 e IL-17RA; IL-23R e IL-17; ou IL-23R e IL-17RA. Em uma outra concretização particulmente preferida, o antagonista de IL-17 é um anticorpo biespecífico que se liga a e inibe a atividade de IL-23p19 e IL-17.

10 Em algumas concretizações, o antagonista de IL-17 é administrado de acordo com um regime de tratamento especificado. Por exemplo, em uma concretização, uma dose especificada do antagonista é administrada a um intervalo específico durante um primeiro período de tratamento, que pode terminar depois do desaparecimento de um ou mais sintomas da AOID, 15 ou dentro de um período de tempo especificado. Em uma concretização preferida, o regime de tratamento ulteriormente compreende redução gradual da dose do antagonista de IL-17 durante um segundo período de tratamento que começa no fim do primeiro período de tratamento e termina quando a terapia com o antagonista de IL-17 é parada. A duração do segundo período 20 de tratamento está tipicamente entre um e doze meses, e um a nove meses, um e seis meses ou um e três meses.

Em algumas concretizações preferidas, o regime de tratamento especificado também compreende a administração de um antagonista de IL-23 ao paciente durante cada um dos primeiro e segundo períodos de tratamento, ou durante apenas o segundo período de tratamento. O antagonista 25 de IL-23 pode exibir a expressão de qualquer subunidade da citocina (IL-23p19 ou p40), ou subunidade do receptor funcional (IL-23R ou IL-12beta1), ou pode inibir sinalização de IL-23 por interação direta ou indireta com um ou mais desses polipeptídeos para prevenir uma interação de receptor-ligante 30 funcional. Em algumas concretizações preferidas, o antagonista de IL-23 é um anticorpo ou um fragmento de anticorpo que se liga a e inibe a atividade ou de IL-23p19 ou de IL-23R. Em uma concretização particularmente prefe-

rida, o antagonista de IL-23 é um anticorpo monoclonal que especificamente se liga a IL-23p19.

O antagonista de IL-23 pode ser administrado a uma dose especificada a um intervalo especificado durante um ou ambos dos primeiro e segundo períodos de tratamento. A dose do antagonista de IL-23 administrada no segundo período de tratamento pode ser mais do que a dose administrada no primeiro período. Também, em qualquer ou ambos os períodos de tratamento, as doses dos antagonistas de IL-17 e de IL-23 podem ser iguais ou diferentes entre si. Similarmente, as duas antagonistas podem ser administradas nos intervalos iguais ou diferentes durante cada período de tratamento. Durante o segundo período de tratamento, a dose do antagonista de IL-17 pode ser reduzida enquanto a dose do antagonista de IL-23 é mantida constante, ou a dose de cada antagonista pode ser gradualmente reduzida.

Em outras concretizações preferidas, a dose do antagonista de IL-23 é mantida constante durante o segundo regime e tratamento de tratamento com o antagonista de IL-23 é continuada durante um terceiro período de tratamento que começa no fim do segundo período de tratamento (isto é, quando a terapia com o antagonista de IL-17 é parada). Durante o terceiro período de tratamento, o antagonista de IL-23 pode ser administrado na mesma dose e intervalo como no segundo período de tratamento ou pode ser administrada a um dose mais baixa e/ou um intervalor menos freqüente do que usada no período anterior. A dose do antagonista de IL-23 pode também ser gradualmente reduzida durante o terceiro período de tratamento. A duração do terceiro período de tratamento está tipicamente entre um e doze meses, um e nove meses, um e seis meses, ou um e três meses.

Em ainda outras concretizações, o regime de tratamento especificado também compreende a administração de um agente terapêutico que não antagoniza atividade de IL-17 ou IL-23 mas é capaz de aliviar pelo menos um sintoma da AOID ou pelo menos um efeito colateral dos antagonistas de IL-17 ou IL-23 durante qualquer ou a totalidade dos períodos de tratamento. Em algumas concretizações preferidas, o agente terapêutico é um

esteróide ou agente antiinflamatório não esteroidal (por exemplo,, NSAID) que é conhecida como tendo eficácia no tratamento de uveíte. Em outras concretizações preferidas, o agente terapêutico direciona uma citocina que promove a resposta de Th1.

5 Um outro aspecto da invenção provê um método de tratamento profilático de um paciente que é diagnosticado como sendo suscetível a uma doença inflamatória ocular autoimmune, que compreende a administração ao paciente de um antagonista de uma ou ambos de IL-23 e IL-17. Em algumas concretizações preferidas desse método profilático, o diagnóstico de
10 suscetibilidade é baseado no paciente tendo uma incidência ocular anterior de inflamação ocular. Em outras concretizações preferidas, o diagnóstico de suscetibilidade é com base no paciente tendo uma doença auto-imune sistêmica. O antagonista pode ser administrado em uma dose especificada a um intervalo especificado durante um primeiro período de tratamento, que
15 tipicamente termina depois de três meses, seis meses, nove meses ou depois de dois anos de terapia com o antagonista. Em algumas concretizações preferidas, a dose do antagonista é gradualmente reduzida durante um segundo período de tratamento que começa no fim do primeiro período de tratamento, e tipicamente tem uma duração de entre um e três meses.

20 Em ainda um outro aspecto, a invenção provê um método de tratamento de um paciente para uma doença inflamatória ocular auto-imune, compreendendo a administração ao paciente de um antagonista de IL-23. O antagonista de IL-23 pode ser administrado a um intervalo especificado durante um primeiro período de tratamento, que é seguido por um segundo
25 período de tratamento em que o antagonista de IL-23 é administrado a uma dose mais baixa ou a intervalos menos freqüentes, ou doses gradualmente reduzidas. Terapia com o antagonista de IL-23 tipicamente continuará por pelo menos três a seis meses e pode continuar por tanto quanto 12 meses, 18 meses ou 24 meses.

30 Um outro aspecto da invenção é o uso de um antagonista de IL-17 ou um antagonista de IL-23 para a preparação de uma composição farmacêutica para o tratamento ou prevenção de uma doença inflamatória ocu-

lar auto-imune (AOID) em um paciente. Em concretizações preferidas, a composição farmacêutica é para a administração do antagonista de acordo com qualquer um dos regimes de tratamento descrito aqui.

5 Em ainda um outro aspecto, a invenção provê um produto de fármaco fabricado para o tratamento de uma doença inflamatória ocular auto-imune. O produto de fármaco compreende (i) uma primeira formulação farmacêutica compreendendo um antagonista de IL-17; e (ii) uma segunda formulação farmacêutica de um antagonista de IL-23. Em concretizações preferidas, o produto de fármaco inclui informação de produto que compre-
10 ende instruções para a administração das formulações farmacêuticas de acordo com qualquer um dos regimes de tratamento descrito aqui.

Descrição Detalhada

Definições

De modo que a invenção pode ser mais prontamente entendida,
15 certos termos científicos e técnicos são especificamente definidos abaixo. A não ser que especificamente definido em outro lugar nesse documento, todos os termos científicos e técnicos usados aqui têm o mesmo significado que seria comumente entendido por aquele versado na técnica à qual essa invenção pertence quando usado em contextos similares como usado aqui.

20 Como usado aqui incluindo as reivindicações anexas, as formas singulares de palavras tais como “um”, “uma” e “o” “a”, incluem suas referências de plural correspondentes a não ser que o contexto claramente mostra de outra maneira.

“Antagonista” significa qualquer molécula que pode prevenir,
25 neutralizar, inibir ou reduzir uma atividade direcionada, isto é, a atividade de uma citocina tal como IL-17 ou IL-23, ou in vivo ou in vitro. Antagonistas de citocina incluem, mas não são limitados a, anticorpos antagonísticos, peptídeos, miméticos de peptídeo, polipeptídeos e pequenas molécula que se ligam a uma citocina (ou qualquer uma de suas subunidades), ou seu recep-
30 tor funcional (ou qualquer uma de suas subunidades) de um modo que interfere com transdução de sinal de citocina e atividade a jusante. Exemplos de antagonista de peptídeo e polipeptídeo incluem versões truncadas ou frag-

mentos do receptor de citocina (por exemplo, domínios extracelulares solúveis) que se ligam à citocina de modo que ou reduz a quantidade de citocina disponível a ser ligar a seu receptor funcional ou de outro modo previne a citocina contra ligação a seu receptor funcional. Antagonistas também incluem moléculas que previnem expressão de qualquer subunidade que compreende a citocina ou seu receptor, tais como, por exemplo, oligonucleotídeos de anti-sentido que direcionam mRNA, e interferência de RNA mensageiro (vide, por exemplo, Arenz and Schepers (2003) *Naturwissenschaften* 90:345-359; Sazani and Kole (2003) *J. Clin. Invest.* 112:481-486; Pirollo, e outros (2003) *Pharmacol. Therapeutics* 99:55-77; Wang, e outros (2003) *Antisense Nucl. Acid Drug Devel.* 13:169-189). O efeito inibitório de um antagonista pode ser medido por técnicas rotineiras. Por exemplo, para avaliar o efeito inibitório na atividade induzida por citocina, células humanas que expressam um receptor funcional para uma citocina são tratadas com a citocina e a expressão de genes conhecidos como sendo ativados ou inibidos por aquela citocina é medida na presença ou na ausência de um antagonista potencial. Antagonistas úteis na presente invenção inibem a atividade direcionada por pelo menos 25%, de preferência por pelo menos 50%, mais de preferência por pelo menos 75%, e com mais preferência por pelo menos 90%, quando comparada com o controle adequado.

“Anticorpo” refere-se a qualquer forma de anticorpo que exibe a atividade biológica desejada, tal como ligação por inibição de um ligante a seu receptor, ou por inibição de sinalização induzida por ligante de um receptor. Assim, “anticorpo” é usado no sentido mais amplo e especificamente cobre, mas não é limitado a, anticorpos monoclonais (incluindo anticorpos monoclonais de comprimento longo), anticorpos policlonais, e anticorpos multiespecíficos (por exemplo, anticorpos biespecíficos).

“Fragmento de anticorpo” e “fragmento de ligação de anticorpo” significam fragmentos de ligação de antígeno e análogos de um anticorpo, tipicamente incluindo pelo menos uma porção das regiões variáveis ou ligação de antígeno (por exemplo, um ou mais CDRs) do anticorpo de origem. Um fragmento de anticorpo retém pelo menos alguma especificidade de li-

ração do anticorpo de origem. Tipicamente, um fragmento de anticorpo re-
tém pelo menos 10% da atividade de ligação de origem quando a atividade é
expressa em uma base molar. De preferência, um fragmento de anticorpo
retém pelo menos 20%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% ou 100% ou mais da
5 afinidade de ligação do anticorpo de origem para o alvo. Exemplos de frag-
mentos de anticorpo incluem, mas não são limitados a, fragmentos de Fab,
Fab', F(ab')₂, e Fv; diacorpos; anticorpos lineares; moléculas de anticorpo de
cadeia simples, por exemplo, sc-Fv; e anticorpos multiespecíficos formados
a partir de fragmentos de anticorpo. Variantes de anticorpo engenheirados
10 são revistas em Holliger and Hudson (2005) Nat. Biotechnol. 23:1126-1136.

Um "fragmento de Fab" é constituído de uma cadeia leve e as
regiões variáveis de C_{H1} de uma cadeia pesada. A cadeia pesada de uma
molécula de Fab não pode formar uma ligação de dissulfeto com uma outra
molécula pesada.

15 Uma região de "Fc" contém dois fragmentos de cadeia pesada
compreendendo os domínios de C_{H1} e C_{H2} de um anticorpo. Os dois frag-
mentos de cadeia pesada são mantidos juntos por uma ou mais ligações de
dissulfeto e por interações hidrofóbicas dos domínios de C_{H3}.

Um fragmento de "Fab" contém uma cadeia leve e uma porção
20 de uma cadeia pesada que contém um domínio de V_H e o domínio de C_{H1} e
também a região entre os domínios de C_{H1} e C_{H2}, tal que uma ligação de
dissulfeto de intercadeia pode ser formada entre as duas cadeias pesadas
de dois fragmentos de Fab' para formar uma molécula de F(ab')₂.

Um fragmento de "F(ab')₂" contém duas cadeias leves e duas
25 cadeias pesadas contendo uma porção da região constante entre os domí-
nios de C_{H1} e C_{H2}, tal que uma ligação de dissulfeto de intercadeia é forma-
da entre as duas cadeias pesadas. Um fragmento de F(ab')₂ assim é consti-
tuído de dois fragmentos de Fab' que são mantidos juntos por uma ligação
de de dissulfeto entre as duas cadeias pesadas.

30 A "região de Fv" compreende as regiões variáveis de tanto as
cadeias pesadas quanto leves, mas carece das regiões constantes.

Um "anticorpo de Fv de cadeia simples (ou "anticorpo de scFv")

refere-se a fragmentos de anticorpo compreendendo os domínios de V_H e V_L de um anticorpo, em que esses domínios estão presentes em uma cadeia de polipeptídeo simples. Em geral, o polipeptídeo de Fv ulteriormente compreende um ligador de polipeptídeo entre os domínios de V_H e V_L que permite o

5 scFv para formar a estrutura desejada para uma ligação de antígeno. Para a revisão de scFv, vide Pluckthun (1994) THE PHARMACOLOGY OF MONOCLONAL ANTIBODIES, vol. 113, Rosenberg and Moore eds. Springer-Verlag, New York, pp. 269-315. Vide também, Publicação de Pedido de Patente Internacional No. WO 88/01649 e nas patentes U.S. nos. 4.946.778 e 5.260.203.

10 Um "diacorpo" é um fragmento de anticorpo pequeno com dois sítios de ligação de antígeno. Os fragmentos compreendem um domínio variável de cadeia pesada (V_H) ligado a um domínio variável de cadeia leve (V_L) na mesma cadeia de polipeptídeo (V_H-V_L ou V_L-V_H). Por uso de um ligador que demasiadamente curto para permitir emparelhamento entre os dois

15 domínio na mesma cadeia, os domínios são forçados para emparelhar com os domínios complementares de uma outra cadeia e criar dois sítios de ligação de antígeno. Diacorpos são descritos mais totalmente, na, por exemplo, EP 404.097; WO 93/11161; e Holliger e outros (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448.

20 Um "fragmento de anticorpo de domínio" é um fragmento de imunoglobulina imunologicamente funcional contendo apenas a região variável de uma cadeia pesada ou a região variável de uma cadeia leve. Em alguns casos, duas ou mais regiões de V_H são covalentemente unidas com um ligador de peptídeo para cariar um fragmento de anticorpo de domínio

25 bivalente. As duas regiões de V_H de um fragmento de anticorpo de domínio bivalente pode direcionar os antígenos iguais ou diferentes.

Doença inflamatória ocular mediada auto-imune (AOID) significa qualquer doença ou condição em que (a) inflamação está presente em qualquer parte do olho ou tecidos envolventes (incluindo o nervo ótico, vasos

30 sanguíneos, músculos) e (b) a inflamação é parte de uma resposta imune que exige ou é promovida por uma ou ambas IL-23 e IL-17. Inflamação intraocular sem uma etiologia infecciosa é tipicamente considerada uma AOID.

Exemplos não limitantes de AOIDs são listadas abaixo.

5 Retinocorioidopatia de Birdshot (BSRC): Uma doença inflamatória intraocular crônica que afeta principalmente a parte de trás (posterior) do olho. BSRC é distinta de outras formas de uveíte posterior que têm uma forte associação com o antígeno de HLA-A29.2. Sua etiologia permanece desconhecida. Um mecanismo auto-imune é provável desempenhar um papel patogênico importante.

10 Penfigóide cicatricial ocular (OCP): Uma doença auto-imune sistêmica. Evidência de montagem suporta o conceito de disfunção imunorreguladora: anticorpos são dirigidos contra a zona de membrana basal (BMZ) da conjuntiva e outras membranas de mucosa derivadas de epitélios escamosos estratificados e ocasionalmente a pele. OCP é uma doença ameaçadora de visão que usualmente exige tratamento com imunossupressão.

15 Ceratite, ceratite ulcerativa periférica: ceratite é a inflamação do córnea, a estrutura de tipo cúpula, transparente, externa que forma a parte mais anterior do revestimento externo do olho. Se úlceras se desenvolvem na córnea periférica, ela é chamada de ceratite ulcerativa periférica.

20 "Oftalmia simpática" é uma AOID em que um trauma a um olho precipita em um tempo posterior uma inflamação destrutiva no outro olho ("acometido por oftalmia), aparentemente devido a uma resposta auto-imune a antígenos liberados a partir do olho lesionado.

25 Síndrome de Vogt-Koyanagi Harada (VKH): Síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada (VKH), antigamente conhecido como síndrome uveomeningítico é uma distúrbio sistêmica que envolve sistemas de múltiplos órgãos, incluindo os sistemas ocular, nervoso e intergumelar (pele). Panuveíte bilateral severa associada com acúmulo de fluido subretinal é a marca de VKH ocular.

30 Iridociclite heterocrômico de Fuchs: Uma uveíte anterior unilateral crônica caracterizada por heterocromia de íris, uma condição em que um olho é um de cor diferente do outro. A uveíte tipicamente ocorre no olho de cor mais clara de um adulto jovem.

"Composto de ligação" refere-se a uma molécula, uma molécula

pequena, macromolécula, anticorpo, um fragmento ou seu análogo, ou receptor solúvel, capaz de ligar a um alvo especificado. "Composto de ligação" podem também referir-se a qualquer um dos seguintes que são capazes de se ligar ao alvo especificado: um complexo de moléculas (por exemplo, um
5 complexo molecular não covalente); uma molécula ionizada; e uma molécula covalentemente e não covalentemente modificada (por exemplo, modificada por fosforilação, acilação, reticulação, ciclização ou clivagem limitada). Em casos onde o composto de ligação pode ser dissolvido ou suspenso em solução, "ligação" pode ser definida como uma associação do composto de
10 ligação com um alvo onde a associação resulta em redução no movimento de Brownian normal do composto de ligação.

"Composição de ligação" refere-se a um composto de ligação em combinação com pelo menos uma outra substância, tal como um estabilizador, excipiente, sal, tampão, solvente ou aditivo.

15 "Anticorpo biespecífico" significa um anticorpo que tem dois sítios de ligação de antígeno tendo especificidades para dois epítomos diferentes, que podem estar no mesmo antígeno, ou em dois antígenos diferentes. Anticorpos biespecíficos incluem fragmentos de anticorpo biespecíficos. Vide, por exemplo, Hollinger, e outros (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:
20 6444-48, Gruber, e outros, J. Immunol. 152: 5368 (1994).

"Consiste essencialmente em" e variações tal como "consiste essencialmente em" ou "consiste essencialmente em" como usado através de todo o relatório e reivindicações, indicam a inclusão de qualquer elementos ou grupo de elementos relatados, e a ótima inclusão de outros elementos,
25 de natureza similar ou diferente do que os elementos relatados, que não materialmente mudam as propriedades básicas ou novas do regime de dosagem, método ou composição especificado. Como um exemplo não limitante, uma citocina que consiste essencialmente em de uma seqüência de aminoácidos relatada pode também incluir um ou mais aminoácidos que não
30 materialmente afetam as propriedades da citocina.

"Interleucina-12R beta1" ou "IL12RB1" significa uma cadeia de polipeptídeo simples que consiste essencialmente na seqüência da forma

madura de IL12RB1 de ser humano como descrita em NCBI Protein Sequence Database Accession Numbers NP714912, NP005526 ou suas variantes de ocorrência natural.

5 "Interleucina-17" (ou "IL-17") significa uma proteína que consiste em uma ou duas cadeias de polipeptídeo, com cada cadeia que consiste essencialmente na seqüência da forma madura de IL17A de ser humano como descrita em qualquer uma de NCBI Protein Sequence Database Accession Numbers NP002181, AAH67505, AAH67503, AAH67504, AAH66251, AAH66252 ou suas variantes de ocorrência natural.

10 "IL-17R" ou "IL-17RA" significa uma cadeia de polipeptídeo simples que consiste essencialmente na seqüência da forma madura de IL-17RA de ser humano como descrita no WO 96/29408 ou em qualquer uma de NCBI Protein Sequence Database Accession Numbers: NP 055154, Q96F46, CAJ86450, ou variantes de ocorrência natural dessas seqüências.

15 "IL-17RC" significa uma cadeia de polipeptídeo simples que consiste essencialmente na seqüência da forma madura de IL-17RC de ser humano como descrita na WO 238764A2 ou em qualquer uma de NCBI Protein Sequence Database Accession Numbers NP703191, NP703190 e NP116121, ou variantes de ocorrência natural dessas seqüências.

20 "Interleucina-23 (ou "IL-23) significa uma proteína que consiste em duas cadeias de polipeptídeo. Uma cadeia consiste essencialmente na seqüência da forma madura de IL23 de ser humano, subunidade p19 (também conhecida como IL23A) como descrita em qualquer uma de NCBI Protein Sequence Database Accession Numbers NP057668, AAH67511, AAH66267, AAH66268, AAH66269, AAH667512, AAH67513 ou variantes de ocorrência natural dessas seqüências. A outra cadeia consiste essencialmente na seqüência da forma madura de IL12 ser humano, subunidade p40 (também conhecida como IL12B e IL23, subunidade p40) como descrita em qualquer uma de NCBI Protein Sequence Database Accession Numbers
25 NP002178, P29460, AAG32620, AAH74723, AAH67502, AAH67499, AAH67498, AAH67501 ou variantes de ocorrência natural dessas seqüências.

30 "Interleucina-23R" ou "IL-23R" significa uma cadeia de polipeptí-

deo simples que consiste essencialmente na seqüência da forma madura de IL23R de ser humano como descrita em NCBI Protein Sequence Database Accession Number NP653302 ou suas variantes de ocorrência natural.

5 “Anticorpo monoclonal” de “mAb” significa um anticorpo obtido a partir da população de anticorpos substancialmente homogêneas, e não deve ser interpretado como a produção necessária do anticorpo por qualquer método particular.

“Administração parenteral” significa uma injeção intravenosa, subcutânea, ou intramuscular.

10 “Molécula pequena” significa uma molécula com um peso molecular que é menos do que 10 kD, tipicamente menos do que 2 kD, e de preferência menos do que 1 kD. Moléculas pequenas incluem, mas não são limitadas a, moléculas inorgânicas, moléculas orgânicas contendo um componente inorgânico, moléculas compreendendo um átomo radioativo, moléculas sintéticas, miméticos de peptídeo, e miméticos de anticorpo. Miméticos de peptídeo de anticorpos e citocinas são conhecidos na técnica. Vide, por exemplo, , Casset, e outros (2003) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 307:198-205; Muyldermans (2001) *J. Biotechnol.* 74:277-302; Li (2000) *Nat. Biotechnol.* 18:1251-1256; Apostolopoulos, e outros (2002) *Curr. Med.* 15 *Chem.* 9:411-420; Monfardini, e outros (2002) *Curr. Pharm. Des.* 8:2185-2199; Domingues, e outros (1999) *Nat. Struct. Biol.* 6:652-656; Sato and So-
20 ne (2003) *Biochem. J.* 371:603-608; a Patente U.S. n°. 6.326.482 expedida por Stewart, e outros.

25 “Específico” ou “especificamente”, quando referindo-se à interação de ligação entre os membros de um par de ligação, tais como uma citocina e seu receptor, e anticorpo e seu antígeno ou epítipo, indica uma reação de ligação com é determinativa da presença de um membro do par de ligação em uma população heterogênea de proteínas e outros biológicos. Assim, sob condições designadas, um membro de um par de ligação tem
30 uma afinidade significativamente maior para o outro membro do par de ligação do que as proteínas irrelevantes. Por exemplo, um anticorpo é considerado ser específico para uma proteína particular se ela se ligar àquela prote-

ina com uma afinidade que é pelo menos 10 vezes, e de preferência 50 vezes mais alta do que sua afinidade para uma proteína diferente. Um anticorpo que “especificamente se liga” a uma proteína compreendendo um epítopo particular não se liga a qualquer grau mensurável que não compreende aquele epítopo. De preferência, um anticorpo que é específico para uma proteína-alvo terá uma afinidade em relação à proteína-alvo que é maior do que cerca de 10^9 litros/mol, como determinada, por exemplo, por análise de Scatchard (Munsen, e outros (1980) *Analyt. Biochem.* 107:220-239).

“Tratar” ou “tratamento” significa administrar um agente terapêutico, tal como uma composição contendo qualquer um dos antagonistas de IL-17 e IL-23 descritos aqui, internamente ou externamente a um paciente que necessita do agente terapêutico. Tipicamente, o agente é administrado em quantidade eficaz para prevenir ou aliviar um ou mais sintomas de doença, ou um ou mais efeitos adversos de tratamento com um agente terapêutico diferente, se por prevenção o desenvolvimento de, indução da regressão de, ou inibição da progressão de tal(tais) sintoma(s) ou efeito(s) adverso(s) por qualquer grau clinicamente mensurável. A quantidade de um agente terapêutico que é eficaz para aliviar qualquer efeito adverso ou sintoma da doença particular (também chamada da “quantidade terapêuticamente eficaz”) pode variar de acordo com os fatores tais como o estado da doença, a idade, e o peso do paciente, e a capacidade do agente terapêutico de eliciar uma resposta desejado no paciente. Se um efeito adverso ou um sintoma da doença foi aliviado pode ser avaliado por qualquer medição clínica tipicamente usada por médicos ou outros provedores de cuidado de saúde para avaliar o estado de severidade ou progressão daquele sintoma ou efeito adverso. Quando um agente terapêutico é administrado a um paciente que tem uma doença ativa, uma quantidade terapêuticamente eficaz tipicamente resultará em uma redução do sintoma medido por pelo menos 5%, usualmente por pelo menos 10%, mais usualmente pelo menos 20%, mais usualmente pelo menos 30%, de preferência pelo menos 40%, com mais preferência pelo menos 50%, ainda de preferência pelo menos 60%, de modo ideal pelo menos 70%, e ainda de modo mais ideal pelo menos 80%, e de modo ainda

mais ideal pelo menos 90%. Embora uma concretização da presente invenção (por exemplo, um método de tratamento ou artigo de fabricação) não possa ser eficaz na prevenção ou alívio o(s) efeito(s) adverso(s) ou sintoma(s) da doença-alvo em cada paciente, aliviaria tal(tais) efeito(s) adverso(s) ou sintoma(s) em um número estatisticamente significativo de pacientes como determinado por qualquer teste estatístico conhecido na técnica como o teste t de Student, o teste χ^2 , ou teste U de acordo com Mann e Whitney, o teste de Kruskal-Wallis (teste H), teste de Jonckheere-Terpstra e o teste de Wilcoxon.

10 Uveíte significa afecção por inflamação de uma ou mais das três partes do olho que formam a úvea: a íris (a parte colorida do olho), o corpo ciliar (atrás da íris, responsável pela fabricação do fluido dentro do olho) e a coróide (tecido de revestimento vascular sob a retina). Panuveíte significa a presença de inflamação nas múltiplas partes do mesmo olho (seções anterior, intermediária e posterior).

15 Uveíte pode ser ou aguda ou crônica. A forma crônica está mais freqüentemente associada a distúrbios sistêmicos incluindo espondilite anquilosante, síndrome de Behçet, doença de intestino inflamatório, artrite reumatóide juvenil, síndrome de Reiter, sarcoidose, sífilis, tuberculose e doença de Lyme.

20 Uveíte anterior, que envolve a inflamação da parte da frente do olho, é a forma mais comum de uveíte. A inflamação é usualmente isolada na íris; assim, uveíte anterior é freqüentemente chamada irite. Em alguns pacientes, uveíte anterior pode ser associada à presença de uma doença auto-imune tal como artrite reumatóide ou espondilite anquilisante, mas na maioria dos casos de uveíte anterior ocorrem de outro modo em pessoas saudáveis e não indicam uma doença sistêmica subjacente. Essa OID pode afetar apenas um olho e é mais comum em pessoas jovens ou de idade média. Uma história de uma doença auto-imune é um fator de risco. A maioria dos ataques de uveíte anterior dura de poucos dias ate semanas com tratamento, mas recaídas são comuns.

30 Uveíte intermediária significa uma síndrome inflamatória idiopáti-

ca principalmente envolvendo vítreo anterior, retina periférica, e corpo ciliar, com sinais inflamatórios mínimos ou nenhum segmento anterior ou coriorretinianos.

5 Inflamação da retina periférica é inflamação dos orbículos ciliares, uma área estreita entre a íris e a coróide. Inflamação da retina periférica ocorre em homens jovens e está em geral associada a qualquer outra doença. No entanto, havia pouco relatos de casos de uma associação com doença de Crohn e alguns técnicos sugerem uma possível associação com esclerose múltipla. Por essa razão, esses técnicos recomendavam que pacientes
10 acima de 25 anos de idade diagnosticados com inflamação da retina periférica recebem um MRI de seu cérebro e espinha dorsal.

 Uveíte posterior afeta a porção de trás do trato uveal e envolve principalmente a coróide. Isso é chamado cloroidite. Uveíte posterior é caracterizada por inflamação da camada de vasos sanguíneos subjacentes a
15 retina, e também usualmente da retina. Se a retina adjacente for também envolvida, a condição é tipicamente chamada coriorretinite. Uveíte posterior pode seguir uma infecção sistêmica ou ocorre em associação com uma doença auto-imune. Na uveíte posterior, a inflamação pode durar de meses até anos e pode causar dano de visão permanente, mesmo com tratamento.

20 II. Geral

 A presente invenção provê métodos de uso de antagonistas de atividade de IL-17 e IL-23 para tratar doença inflamatória ocular auto-imune.

 A atividade de IL-17, que é revisada em Kolls, J. e outros (2004) Immunity Vol. 21, 467-476, inclui promoção de acúmulo de neutrófilos em
25 uma área localizada e a ativação de neutrófilos. IL17 pode induzir ou promover a produção de qualquer uma das citocinas de mobilização de neutrófilo e pró-inflamatórias, dependendo do tipo de célula: IL-6, MCP-1, CXCL8 (IL-8), CXCL1, CXCL6, TNF α , IL-1 β , G-CSF, GM-CSF, MMP-1, e MMP-13.

 A atividade de IL-23 inclui a indução da proliferação de células T
30 de memória, blastos de PHA, célula T de CD45RO T, células T de CD45RO T; e produção aumentada de interferon-gama (IFN γ) por blastos de PHA blasts ou células T de CD45RO. Em contraste com isso IL-12, IL-23 de pre-

ferência estimula memória em oposição a populações de células T nativas tanto em seres humanos quanto camundongo. IL-23 ativa numerosas moléculas de sinalização de célula intracelular, por exemplo, Jak2, Tyk2, Stat1, Stat2, Stat3, e Stat4. IL-12 ativa esse mesmo grupo de moléculas, mas resposta de Stat4 a IL-23 é relativamente fraca, enquanto resposta de Stat4 a IL-12 é forte (Oppmann, e outros, supra; Parham, e outros (2002) *J. Immunol.* 168:5699-5708). IL-23 estava também implicado na manutenção e proliferação de células produtoras de IL-17, também conhecidas como células de Th₁₇ (vide, Cua and Kastelein (2006) *Nature Immunology* 7:557 – 559).

10 Antagonistas úteis na presente invenção incluem um receptor solúvel compreendendo o domínio extracelular compreendendo o domínio extracelular de um receptor funcional para IL-17 ou IL-23. Receptores solúveis podem ser preparados e usados de acordo com os métodos-padrão (vide, por exemplo,, Jones, e outros (2002) *Biochim. Biophys. Acta* 1592:251-263; Prudhomme, e outros (2001) *Expert Opinion Biol. Ther.* 1:359-373; Fernandez-Botran (1999) *Crit. Rev. Clin. Lab Sci.* 36:165-224).

20 Antagonistas de IL-17 para o uso na presente invenção são anticorpo que especificamente se ligam a, e inibem a atividade de, de qualquer uma de IL-17, IL-17RA, IL-17RC, e um complexo heteromérico compreendendo IL-17RA e IL-17RC. Mais de preferência, o alvo do antagonista de IL-17 é IL-17 ou IL-17RA. Antagonistas particularmente preferidos de IL-17 especificamente se ligam a, e inibem a atividade de IL-17.

25 Um outro antagonista de IL-17 preferido para o uso na presente invenção é um anticorpo biespecífico ou fragmento de anticorpo biespecífico, que também antagoniza atividade de IL-23. Tais antagonistas biespecíficos especificamente se ligam a, e inibe a atividade de cada membro em qualquer uma das seguintes combinações: IL-17 e IL-23; IL-17 e IL-23p19; IL-17 e IL-12p40; IL-17 e um complexo de IL-23R/IL12RB1; IL-17 e IL-23R; IL-17 e IL12RB1; IL17RA e IL-23; IL-17RA e IL-23p19; IL-17RA e IL-12p40; IL-17RA e um complexo de IL-23R/IL12RB1; IL-17RA e IL-23R; IL-17RA e IL12RB1; IL17RC e IL-23; IL-17RC e IL-23p19; IL-17RC e IL-12p40; IL-17RC e um complexo de IL-23R/IL12RB1; IL-17RC e IL-23R; IL-17RC e IL12RB1; um

complexo de IL-17RA/IL-17RC e IL-23; um complexo de IL-17RA/IL-17RC e IL-23p19; um complexo de IL-17RA/IL-17RC e IL-12p40; um complexo de IL-17RA/IL-17RC e um complexo de IL-23R/IL12RB1; um complexo de IL-17RA/IL-17RC e IL-23R; e um complexo de IL-17RA/IL-17RC e IL12RB1.

- 5 Combinações direcionadas preferidas por anticorpos biespecíficas usadas na presente invenção são: IL-17 e IL-23; IL-17 e IL-23p19; IL17RA e IL-23; e IL-17RA e IL-23p19. Um anticorpo biespecífico particularmente preferido se liga a, inibie a atividade de, cada uma de IL-17 e IL-23p19.

10 Antagonistas de IL-23 preferidos são anticorpos que se ligam a, e inibem a atividade de, qualquer uma de IL-23, IL-23p19, IL-12p40, IL23R, IL12RB1, e um complexo de IL-23R/IL12RB1. Um outro agonista de IL-23 preferido é um polipeptídeo de ligação de IL-23 que consiste essencialmente no domínio extracelular de IL-23R, por exemplo, aminoácidos 1-353 de GenBankAAM44229, ou um seu fragmento.

15 Antagonistas de anticorpo para o uso na invenção podem ser preparados por qualquer método conhecido na técnica para a preparação de anticorpos. A preparação de anticorpos monoclonais, policlonais e humanizados é descrita em Sheperd e Dean (eds.) (2000) *Monoclonal Antibodies*, Oxford Univ. Press, New York, NY; Kontermann e Dubel (eds.) (2001) *Antibody Engineering*, Springer-Verlag, New York; Harlow e Lane (1988) *Antibodies A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, pp. 139-243; Carpenter, e outros (2000) *J. Immunol.* 165:6205; He, e outros (1998) *J. Immunol.* 160:1029; Tang, e outros (1999) *J. Biol. Chem.* 274:27371-27378; Baca, e outros (1997) *J. Biol. Chem.* 272:10678-20 10684; Chothia, e outros (1989) *Nature* 342:877-883; Foote e Winter (1992) *J. Mol. Biol.* 224:487-499; e a Patente U.S. nº. 6.329.511 expedido por Vasquez, e outros.

30 Qualquer forma antigênica do alvo desejado pode ser usada para gerar anticorpos, que pode ser triados para aqueles tendo a atividade de antagonização desejada. Assim, o antígeno de eliciamento pode ser um peptídeo contendo um único epítipo ou múltiplos epítipos, ou pode ser a proteína total sozinha ou em combinação com um ou mais agentes de aumento

de imunogenicidade conhecidos na técnica. Para aperfeiçoar imunogenicidade de um peptídeo antigênico, o peptídeo pode ser conjugado a uma proteína de veículo. O antígeno pode também ser uma proteína de comprimento total isolada, uma proteína de superfície de célula (por exemplo, imunização com células transfectadas com pelo menos uma porção do antígeno), ou uma proteína solúvel (por exemplo, imunização com apenas a porção de domínio extracelular da proteína). O antígeno pode ser expresso por célula geneticamente modificada, em que o DNA que codifica o antígeno é genômico ou não genômico (por exemplo, em um plasmídeo).

Um peptídeo que consiste essencialmente em de uma região de alta antigenicidade prevista pode ser usado para a geração de anticorpo. Por exemplo, regiões de alta genecidade de p19 ocorrem nos aminoácidos 16-28; 57-87; 110-114; 136-154; e 182-186 do GenBank AAQ89442 (gi:37183284) e regiões de alta antigenicidade de IL-23R de ser humano ocorrem nos aminoácidos 22-33; 57-63; 68-74; 101-112; 117-133; 164-177; 244-264; 294-302; 315-326; 347-354; 444-473; 510-530; e 554-558 do GenBank AAM44229 (gi: 21239252), como determinao por análise com um diagrama de Parker usando-se Vector NTI® Suite (Informax, Inc, Bethesda, MD).

Qualquer método adequado de imunização pode ser usado. Tais métodos podem incluir uso de auxiliares, outros imunoestimulantes, imunizações de reforço repetidas, e o uso de uma ou mais rotas de imunização. Imunização pode também ser realizada por imunização com vetor de DNA, vide, por exemplo, Wang, e outros (1997) *Virology* 228:278-284. Alternativamente, animais podem ser imunizados com células que portam o antígeno de interesse, que pode prover geração de anticorpo mais alta do que imunização com antígeno purificado (Kaithamana, e outros (1999) *J. Immunol.* 163:5157-5164).

Antagonistas de anticorpo preferidos são anticorpos monoclonais, que podem ser obtidos por uma variedade de técnicas familiares aos técnicos versados. Métodos para a geração de anticorpos monoclonais são em geral descritos em

Stites, e outros (eds.) BASIC AND CLINICAL IMMUNOLOGY (4th ed.) Lange Medical Publications, Los Altos, CA, and references cited therein; Harlow and Lane (1988) ANTICORPOS: A LABORATORY MANUAL CSH Press; Goding (1986) MONOCLONAL ANTICORPOS: PRINCIPLES AND PRACTICE (2d ed.) Academic Press, New York, NY. Tipicamente, esplenócitos isolados de um hospedeiro de mamífero imunizado, comumente por fusão com uma célula mieloma para produzir um hibridoma. Vide Kohler and Milstein (1976) Eur. J. Immunol. 6:511-519; Meyaard, e outros (1997) Immunity 7:283-290; Wright, e outros (2000) Immunity 13:233-242; Preston, e outros (1997) Eur. J. Immunol. 27:1911-1918. Métodos alternativos de imortalização incluem transformação com Vírus de Epstein Barr, oncogenes, ou retrovírus, ou outros métodos conhecidos na técnica. Vide, por exemplo, Doyle, e outros (eds. 1994 e suplementos periódicos) CELL AND TISSUE CULTURE: LABORATORY PROCEDURES, John Wiley and Sons, New York, NY. Colônias que se originam de células imortalizadas simples são triadas para a produção de anticorpos da atividade de especificidade, afinidade e inibição desejada usando-se ensaios biológicos e de ligação adequados. Por exemplo, anticorpo para direcionar propriedades de ligação pode ser medido, por exemplo, por ressonância de plasmônio superficial (Karlsson, e outros (1991) J. Immunol. Methods 145:229-240; Neri, e outros (1997) Nat. Biotechnol. 15:1271-1275; Jonsson, e outros (1991) Biotechniques 11:620-627) ou por ELISA de competição (Friguet, e outros (1985) J. Immunol. Methods 77:305-319; Hubble (1997) Immunol. Today 18:305-306).

Alternativamente, pode-se isolar seqüências de DNA que codificam um anticorpo monoclonal ou um seu fragmento de ligação por triagem de uma biblioteca de DNA a partir de células B de ser humano, vide por exemplo, Huse, e outros (1989) Science 246:1275-1281. Outras técnicas adequadas envolvem triagem de bibliotecas de exibição de anticorpo de fago. Vide, por exemplo, Huse e outros, Science 246:1275-1281 (1989); and Ward e outros, Nature 341:544-546 (1989); Clackson e outros (1991) Nature 352:624-628 and Marks e outros (1991) J. Mol. Biol. 222: 581-597; Presta (2005) J. Allergy Clin. Immunol. 116:731.

Anticorpos monoclonais preferidos para o uso na presente invenção são anticorpos “quiméricos” (imunoglobulinas) em que o domínio variável é do anticorpo de origem gerado em um animal de mamífero experimental, tal como um rato ou camundongo, e os domínios constantes são obtidos a partir de um anticorpo humano, de modo que os anticorpos quiméricos fossem menos prováveis para eliciar uma resposta imune adversa em um indivíduo humano do que o anticorpo de mamífero de origem. Mais de preferência, um anticorpo monoclonal usado na presente invenção é um “anticorpo humanizado”, em que a totalidade ou substancialmente a totalidade dos laços hipervariáveis (por exemplo, as regiões de determinação de complementaridade ou CDRs) nos domínios variáveis correspondem àqueles de uma imunoglobulina não humana, e a totalidade ou substancialmente a totalidade das regiões de estrutura (FR) nos domínios variáveis são aquelas de uma seqüência de imunoglobulina de ser humano. Um anticorpo monoclonal particularmente preferido para o uso na presente invenção é um “anticorpo humano total”, por exemplo, um anticorpo que compreende apenas seqüências de proteínas de imunoglobulina de ser humano. Um anticorpo humano total pode conter cadeias de carboidrato a partir da espécie de célula que é produzida, , por exemplo, se produzida em um camundongo, em uma célula de camundongo, ou um hibridoma derivado de uma célula de camundongo, um anticorpo humano total tipicamente conterá cadeias de carboidrato de amurino.

Anticorpos monoclonais usados na presente invenção podem também incluir anticorpos de domínio simples camelizados. Vide, por exemplo, Muyldermans e outros (2001) Trends Biochem. Sci. 26:230; Reichmann e outros (1999) J. Immunol. Methods 231:25; WO 94/04678; WO 94/25591; a Patente U.S. nº. 6.005.079.

Os anticorpos antagonísticos usados na presente invenção podem ter regiões de Fc modificadas (ou bloqueadas) para prover funções efetoras alteradas. Vide, por exemplo, a Patente U.S. nº. 5.624.821; WO2003/086310; WO2005/120571; WO2006/0057702. Alterações da região de Fc incluem mudanças de aminoácido (substituições, deleções ou inserções), glicosilação ou desglicosilação, e adição de Fc múltiplo. Mudanças no Fc pode alterar a meia-

vida de anticorpos terapêuticos, permitindo administração dosada menos frequente e assim conveniência aumentada e uso diminuído do material. Vide Presta (2005) *J. Allergy Clin. Immunol.* 116:731 at 734-35.

Os anticorpos podem também ser conjugados (por exemplo, covalentemente ligados) a moléculas que aperfeiçoam estabilidade do anticorpo durante a armazenagem ou aumentar a meia-vida do anticorpo in vivo. Exemplos de moléculas que aumentam a meia-vida são albumina (por exemplo, albumina de soro de ser humano) e polietileno glicol (PEG). Derivados PEGilados ou ligados a albumina de anticorpos podem ser preparados usando-se técnicas bem-conhecidas na técnica. Vide, por exemplo, Chapman, A.P. (2002) *Adv. Drug Deliv. Rev.* 54:531-545; Anderson and Tomasi (1988) *J. Immunol. Methods* 109:37-42; Suzuki, e outros (1984) *Biochim. Biophys. Acta* 788:248-255; and Brekke and Sandlie (2003) *Nature Rev.* 2:52-62).

Anticorpos biespecíficos que antagonizam tanto atividade de IL-17 quanto IL-23 podem ser produzidos por qualquer técnica conhecida na técnica. Por exemplo, anticorpos biespecíficos podem ser produzidos recombinantemente usando-se a co-expressão de dois pares de cadeia pesada/cadeia leve. Vide, por exemplo, Milstein e outros (1983) *Nature* 305: 537-39. Alternativamente, anticorpos biespecíficos podem ser preparados usando-se ligação química. Vide, por exemplo, Brennan, e outros (1985) *Science* 229: 81. Esses anticorpos bifuncionais podem também ser preparados por troca de dissulfetos, produção de hibridomas híbridos (quadromas), por transcrição ou tradução para produzir uma cadeia de polipeptídeo simples que expresa um anticorpo biespecífico, ou transcrição ou tradução para produzir mais do que uma cadeia de polipeptídeo que pode se associar covalentemente para produzir um anticorpo biespecífico. O anticorpo biespecífico complementado pode também ser produzido totalmente por síntese química. O anticorpo biespecífico pode compreender duas regiões variáveis, duas regiões constantes diferentes, uma região variável e uma região constante, ou outras variações.

Anticorpos usados na presente invenção usualmente se ligarão com pelo menos a K_D de cerca de 10^{-3} M, mais usualmente pelo menos 10^{-6}

M, tipicamente pelo menos 10^{-7} M, mais tipicamente pelo menos 10^{-8} M, de preferência pelo menos 10^{-9} M, e mais de preferência pelo menos 10^{-10} M, e com mais preferência pelo menos 10^{-11} M (vide, por exemplo, Presta, e outros (2001) *Thromb. Haemost.* 85:379-389; Yang, e outros (2001) *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 38:17-23; Carnahan, e outros (2003) *Clin. Cancer Res. (Suppl.)* 9:3982s-3990s).

Antagonistas de IL-17 e antagonistas de IL-23 são tipicamente administrados a um paciente como uma composição farmacêutica em que o antagonista é misturado com um excipiente ou veículo farmacêuticamente aceitável, vide, por exemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences and U.S. Pharmacopeia: National Formulary, Mack Publishing Company, Easton, PA (1984). A composição farmacêutica pode ser formulada de qualquer modo adequado para a rota pretendida de administração. Exemplos de formulações farmacêuticas incluem pós liofilizados, pastas fluida, soluções aquosas, suspensões e formulações de liberação sustentada (vide, por exemplo, Hardman, e outros (2001) *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, McGraw-Hill, New York, NY; Gennaro (2000) *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, NY; Avis, e outros (eds.) (1993) *Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications*, Marcel Dekker, NY; Lieberman, e outros (eds.) (1990) *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets*, Marcel Dekker, NY; Lieberman, e outros (eds.) (1990) *Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems*, Marcel Dekker, NY; Weiner and Kotkoskie (2000) *Excipient Toxicity and Safety*, Marcel Dekker, Inc., New York, NY).

A rota de administração dependerá das propriedades do antagonista ou outro agente terapêutico usado na composição farmacêutica. Uma rota de administração possível é administrar a composição farmacêutica topicamente ao olho na forma de uma pomada, gel ou líquidos gotejáveis usando-se um sistema de fornecimento ocular conhecido na técnica tal como um aplicador ou conta-gotas ocular. Alternativamente, a composição farmacêutica pode ser administrada intraocularmente via um implante de polímero que é colocado sob a conjuntiva do olho ou através de injeção para dentro

do olho. De preferência, as composições farmacêuticas contendo Antagonistas de IL-17 e Antagonistas de IL-23 são administradas sistematicamente por ingestão oral, injeção ou infusão por rotas intravenosa, intraperitoneal, intracerebral, intramuscular, intraocular, intraarterial, intracerebroespinal, intralesional, ou pulmonar, ou por sistemas de liberação sustentada tais como implantes. Injeção de vetores de transferência de genes no sistema nervoso central foi também descrito (vide, por exemplo, Cua, e outros (2001) *J. Immunol.* 166:602-608; Sidman e outros (1983) *Biopolymers* 22:547-556; Langer, e outros (1981) *J. Biomed. Mater. Res.* 15:167-277; Langer (1982) *Chem. Tech.* 12:98-105; Epstein, e outros (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:3688-3692; Hwang, e outros (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4030-4034; as patentes U.S. nos. 6.350466 e 6.316.024).

As composição farmacêuticas usadas na invenção podem ser administradas de acordo com qualquer regime de tratamento que melhora ou previne um ou mais sintomas da AOID. Seleção do do regime de tratamento dependerá de vários fatores dependentes de composição e dependentes do paciente, incluindo mas não limitado à meia-vida do antagonista, da severidade dos sintomas do paciente, e do tipo o comprimento de quaisquer efeitos adversos. De preferência, um regime de administração maximiza a quantidade de agente terapêutico fornecida ao paciente consistente com um nível aceitável de efeitos colaterais. Guia na seleção de doses apropriadas de anticorpos terapêuticos e moléculas pequenas está disponível (vide, por exemplo, Wawrzynczak (1996) *Anticorpo Therapy*, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK; Kresina (ed.) (1991) *Anticorpos monoclonais, Cytokines and Arthritis*, Marcel Dekker, New York, NY; Bach (ed.) (1993) *Anticorpos monoclonais and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases*, Marcel Dekker, New York, NY; Baert, e outros (2003) *New Engl. J. Med.* 348:601-608; Milgrom, e outros (1999) *New Engl. J. Med.* 341:1966-1973; Slamon, e outros (2001) *New Engl. J. Med.* 344:783-792; Beniaminovitz, e outros (2000) *New Engl. J. Med.* 342:613-619; Ghosh, e outros (2003) *New Engl. J. Med.* 348:24-32; Lipsky, e outros (2000) *New Engl. J. Med.* 343:1594-1602).

Antagonistas biológicos tais como anticorpos podem ser provi-

dos por infusão contínua, ou por doses a intervalos de, por exemplo, uma vez por dia, uma vez por semana, ou de 2 a 7 vezes por semana, uma vez em semanas alternadas, ou uma vez por mês. Uma dose semanal total para um anticorpo é em geral pelo menos de 0,05 µg/kg de peso de corpo, mais em geral pelo menos de 0,2 µg/kg, mais em geral pelo menos de 0,5 µg/kg, tipicamente pelo menos de 1 µg/kg, mais tipicamente pelo menos de 10 µg/kg, e ainda tipicamente pelo menos de 100 µg/kg, de preferência pelo menos de 0,2 mg/kg, mais de preferência pelo menos de 1,0 mg/kg, com mais preferência pelo menos de 2,0 mg/kg, otimamente pelo menos de 10 mg/kg, mais otimamente pelo menos de 25 mg/kg, e melhor pelo menos de 50 mg/kg (vide, por exemplo, Yang, e outros (2003) *New Engl. J. Med.* 349:427-434; Herold, e outros (2002) *New Engl. J. Med.* 346:1692-1698; Liu, e outros (1999) *J. Neurol. Neurosurg. Psych.* 67:451-456; Portielji, e outros (20003) *Cancer Immunol. Immunother.* 52:133-144). A dose desejada de molécula terapêutica pequena, por exemplo, um peptídeo mimético, produto natural ou produto químico orgânico, é cerca do mesmo que para um anticorpo ou polipeptídeo, em uma base de mols/kg. Determinação da dose apropriada é feita pelo médico, por exemplo, usando-se parâmetros ou fatores conhecidos ou suspeitos na técnica de afetar o tratamento ou previstos para afetar o tratamento. Em geral, a dose inicial é uma quantidade um pouco menos do que a dose ótima e a dose é aumentada por aumentos pequenos aqui em seguida até que o efeito desejado ou ótimo seja alcançado em relação a quaisquer efeitos colaterais negativos.

Regimes de tratamento usando-se Antagonistas de IL-17 ou de IL-23 tipicamente serão determinados pelo tratamento do médico e levarão em conta a idade do paciente, a história médica, os sintomas da doença, e a tolerância para diferentes tipos de medicações e regimes de dosagem. Em geral o regime de tratamento é projetado para suprimir o sistema imune excessivamente agressivo, permitindo que o corpo finalmente se auto-regule, com o resultado freqüentemente sendo que o paciente seja mantido nas medicações sistêmicas para suprimir a resposta imune inapropriada por um período de tempo finito (por exemplo, um ano), medicação pode então ser

diminuída e parada sem recorrência do ataque auto-imune. Algumas vezes retomada do ataque ocorre, caso esse em que o paciente deve ser re-tratado.

Assim, em alguns casos, o médico pode prescrever ao paciente um certo número de doses do antagonista a ser tomado durante um período de tempo prescrito, depois do qual terapia com o antagonista é descontinuada. De preferência, depois de um período de tratamento inicial em que um ou mais dos sintomas agudos da doença desaparecem, o médico continuará a terapia de agonista por algum período de tempo, em que a quantidade e/ou a frequência de antagonista administrado é gradualmente reduzida antes que o tratamento seja parado.

A presente invenção também contempla regimes de tratamento em que um IL-17 antagonista é usado em combinação com um antagonista de IL-23. Tais regimes podem ser especialmente úteis no tratamento da fase aguda de AOID, em que o antagonista de IL-17 inibe a atividade de células de Th₁₇ existentes, enquanto o antagonista de IL-23 previne a geração de novas células de Th₁₇. Tal terapia de combinação pode prover tratamento eficaz de AOID usando-se uma dose mais baixa do antagonista de IL-17 e/ou administração do antagonista de IL-17 por um período mais curto de tempo. Uma vez que sintomas melhoram, terapia com antagonista de IL-17 é de preferência descontinuada, enquanto a administração do antagonista de IL-23 é continuada para prevenir a geração de novas células de Th₁₇ autorreativas que poderiam levar a recorrência da doença. Os dois antagonistas podem ser administrados ao mesmo tempo em uma única composição, ou em composições separadas. Alternativamente, os dois antagonistas podem ser administrados a intervalos separados. Doses diferentes dos antagonistas podem ser também usadas. Similarmente, um antagonista biespecífico pode também ser administrado durante a fase aguda e gradualmente retirado, seguido por tratamento com um antagonista de IL-23 para manter repressão da doença.

O regime de tratamento pode também incluir o uso de outros agentes terapêuticos, para melhorar um ou mais sintomas da AOID ou prevenir ou melhorar efeitos adversos da terapia de antagonista. Exemplos de

agentes terapêuticos que foram usados para tratar sintomas de AOID são esteróides e outros antiinflamatórios. Exemplos de tais terapias incluem, mas não são limitados a, esteróides tais como dexametasona, fluometolon, e prednisolona, bem como antiinflamatórios não esteroidais tais como indometacina, aspirina, flubiprofeno e diclofenac, antimetabólitos (por exemplo, metotrexato, azatioprina), inibidores de fatores de transcrição (por exemplo, ciclosporina, tacrolimus), e agentes de reticulação de DNA (por exemplo, ciclofosfamida, clorambucila). Novos agentes dirigidos contra citocinas e seus receptores, muitos dos quais agem por inibição de citocina de Th1 importante em vez de trajetórias de sinalização, estão começando a ser usados para o tratamento de pacientes com uveíte. Esses incluem inibidores de TNF tais como Infliximab (Remicade®, Centocor, Malvern, PA), Etanercept (Enbrel®, Amgen, Thousand Oaks, CA), and Adalimumab (Humira®, Abbott Laboratories, Abbott Park, IL) e inibidores específicos de sinalização IL-2, incluindo Daclizumab (Zenapax®, Roche Laboratories, Nutley, NJ) and Basiliximab (Simulect®, Novartis Pharmaceutical Co., East Hanover, NJ).

Em qualquer uma das terapias descritas aqui em que duas ou mais substâncias terapêuticas diferentes são usadas (por exemplo, um antagonista de IL-17 e um antagonista de IL-23, um antagonista de IL-17 e um agente terapêutico que não antagoniza atividade de IL-17 ou de IL-23), será entendido que as substâncias terapêuticas diferentes são administradas em associação entre si, isto é, elas são administradas concorrentemente na mesma composição farmacêutica ou como composições separadas ou as substâncias podem ser administradas a tempos separados, e em ordens diferentes.

Diagnóstico da presença de uma AOID em um paciente tipicamente envolverá o exame do paciente para os sintomas conhecidos como sendo com tais doenças. Por exemplo, a apresentação típica de uveíte anterior envolve dor, fotofobia, e hiperlacrimação. Pacientes relatam uma dor profunda, vaga do olho envolvido e órbita envolvente. Sensibilidade associada a luzes pode ser severa. Lágrima excessiva ocorre de estímulo neural secundário a aumentado da glândula lacrimal e o paciente não relata uma

5 sensação estranha ao corpo. Acuidade visual é variável que varia de borrão suave a perda de visão significativa de membranas ciclílicas ou sinéquias estão presentes. Um exame pode revelar inchamento da pálpebra suave a moderado que resulta em pseudoptose. Uma injeção perilimbal, profunda da conjuntiva e episclera é típica, embora a conjuntiva palpebral é caracteristicamente normal. A córnea pode exibir edema suave.

10 Os sinais de marca de uveíte anterior incluem células e brilho na câmara anterior. Se a reação de câmara anterior for significativa, depósitos pequenos de cinza a marrom conhecidos como precipitados ceráticos podem estar presentes. Isso pode então levar a disfunção de célula endotelial e edema corneal. Constatações de íris pode incluir adesões à cápsula da lente (sinéquias posteriores) ou, menos comumente, à córnea periférica (sinéquias anteriores). Adicionalmente, nódulos granulomatosos podem aparecer sobre a superfície da íris. Pressão intraocular é inicialmente reduzida no

15 olho envolvido devido a hipotonia secretora do corpo ciliar. No entanto, uma vez que a reação persiste, subprodutos inflamatórias podem acumular na trabécula. Se esse fragmento forma forma significativamente, e se o corpo ciliar recupera sua saída secretória normal, IOP pode elevar abruptamente resultando em um glaucoma uveítico secundário.

20 Identificação de pacientes os quais são suscetíveis para uma AOID tipicamente levará uma história médica familiar e pessoal, e pode incluir testagem genética. Por exemplo, alguns indivíduos terão predisposição genética a uveíte que está relacionada a processos de doença auto-imune. O mais comum desses "genes" é o haplotipo de HLA B27 que pode predispor a uveíte sozinho ou também espondiloartropatias soronegativas e as artropatias enteropáticas. Exemplos são espondilite aquilossante, artrite reativa (síndrome de Reiters), artrite psoriática, doença intestino irritável e doença de Crohn. Uma paciente pode também ser diagnosticado como suscetível

25 para uma doença AOID se houvesse uma história familiar de qualquer uma das doenças auto-imunes, ou o paciente já foi diagnosticado com tal doença.

30

A eficácia da terapia de antagonista para a prevenção ou tratamento de AOID em um paciente particular pode ser determinada usando-se

medições de diagnósticos tal como redução ou ocorrência de sintomas inflamatórios, por exemplo, da quantidade de inflamação ocular ou nível de citocinas inflamatórias no(s) olho(s) afetado(s). Os sintomas de inflamação ocular para a maior parte dependem da área afetada do olho. Sinais e sintomas mais comuns são: vermelhidão de dor, flutuantes, visão diminuída, e sensibilidade a luz. O nível de citocinas inflamatórias pode ser medida, por exemplo, por contato de um composto de ligação para a citocina inflamatória de interesse com uma amostra oriunda do olho do paciente bem como com uma amostra oriunda de um indivíduo de controle ou oriunda de de tecido não afetado ou tecido oriundo do paciente, e então comparação dos níveis de citocina detectados pelo composto de ligação. Expressão ou atividade oriundo da amostra de controle ou indivíduo de controle pode ser provida como um valor predeterminado, por exemplo, obtido a partir de um grupo estatisticamente apropriado de indivíduos de controle.

15 Exemplos

A presente invenção é com base nos estudos de camundongos de inativação (KO) de IL-23p19 e administração de anticorpos de anti-IL-23p19 e de anti-IL-17 a modelos de murino de uveíte auto-imune. Essas experiências foram realizadas de acordo com os materiais e métodos descritos na seção II abaixo.

20 I. Resultados e Discussão

Nas experiências que envolvem camundongos de KO de IL-23p19, a suscetibilidade a EAU de camundongos de inativação de IL-23p19 (deficiente de IL-23) foram comparados com a suscetibilidade de camundongos de KO de IL-12p35 (deficiente de IL-12) e de KO de IL-12p40 (deficientes de IL-12 e IL-23). Todos os camundongos estavam na experiência de C57BL/6 e a indução de EAU e classificação foi descrita em métodos gerais abaixo. Verificou-se que IL-12p35 não é exigido para a geração de destruição de tecido de olho específico de IRBP. Em contraste com isso, IL-23p19 é essencial para o desenvolvimento de EAU (Tabela 1). Análise de citocina de culturas de célula de nódulo linfático derivadas de camundongos imunizados com IRBP mostrou que os camundongos deficientes de IL-12 suscetí-

veis a EAU (IL-12p35KO) tinham níveis elevados de IFN- γ , IL-6, IL-17 e IL-18, comparados com camundongos deficientes de IL-23 (IL-23p19KO e IL-12p40KO). Respostas de hipersensibilidade atrasada (DTH) a IRBP das 3 cepas de KO, examinadas pelo ensaio de inchamento, mostraram que resposta de DTH a IRBP estava bem correlacionada com as classificações de EAU ou os camundongos respectivos, com respostas significativamente mais baixas para KO de p19 e p40 e respostas significativamente mais altas em KO de p35 em comparação com o tipo selvagem (WT).

Tabela 1: IL-23, mas não IL-12, é essencial para o desenvolvimento de EAU.

10

	classificação média de EAU +/- SE	inchamento específico de DTH +/- SE ($\mu\text{M} \times 10^{-1}$)	IFN- γ (ng/ml)	IL-6 (ng/ml)	IL-17 (ng/ml)	IL-18 (ng/ml)
de tipo selvagem	0,21 \pm 0,11	44 \pm 7	39	3,2	2,2	0,25
IL-12p35KO	0,57 \pm 0,12	57 \pm 2	16	1,9	4,9	0,29
IL-23p19KO	0	25 \pm 4	6,5	0,55	1,2	0,10
IL-12p40KO	0	22 \pm 3	<1	,08	0,85	0,11

Esses resultados foram ulteriormente suportados por experiências usando-se anticorpo de IL-23p19 de anti-camundongo em um modelo de camundongo de uvéite, na cepa de B10.RIII altamente suscetível. Verificou-se que tratamento com anticorpo de IL-23p19 de anti-camundongo significativamente bloqueou inflamação de olho mediada imune. Na dose de 330 μg por camundongo em dias alternados, o índice de doença de EAU de camundongos tratados com anti-IL-23p19 foi dramaticamente reduzido em comparação com anticorpo de anti-isótipo tratado e nenhum controle de anticorpo como determinado por histopatologia de olhos coletados no dia 11 depois da imunização (Tabela 2). Além disso, terapia de anti-IL-23p19 era tão eficaz quanto Prednisona no bloqueamento de EAU. Os níveis de expressão de IL-17, mas não mRNA de IFN- γ nos olhos de camundongos tratados com anti-IL-23p19 eram mais baixos do que os grupos de controle sugerindo que direcionamento de IL-23 inibiu EAU por bloqueamento de infil-

15

20

- tração de células produtoras de IL-17 ou prevenção da expansão das células produtoras de IL-17 patogênicas dentro dos olhos. Níveis de elastase de neutrófilo e níveis de mRNA de mieloperoxidase de camundongos tratados com anti-IL-23p19 eram comparáveis com nativos bem como grupos de controle de Prednisona, enquanto que os camundongos tratados com controle de isótipo e “nenhum anticorpo” exibiam aumento de 10 a 100 vezes na expressão desses genes inflamatórios. Outros fatores pró-inflamatórios tais como IL-1beta, TNF, IL-6, NOS2 e COX2 foram um pouco reduzidos nos camundongos tratados com anti-IL-23p19. Esses resultados demonstram que direcionamento de IL-23 inibe o desenvolvimento de uveíte auto-imune.

Tabela 2: Tratamento de Anti-IL-23p19 inibe EAU e expressão de citocinas inflamatórias no olho.

	histopatologia 0=normal 1= infiltração com pouco monócito 4 = dano severo (olhos individuais)	análise de expressão de gene de PCR quantitativo de olho (mostrada como expressão em relação a ubiquitina). Amostras de tecido coletadas no dia 11 depois da imunização de IRBP								
		IF N- γ	IL-6	IL-17	TNF	IL-1 β	NOS 2	COX2	Neutrophil Elastase	Myeloperoxidase
camundongos nativos	0 0 0 0 0	0,44	0,16	0	0	3,8	2,7	4,8	0,1	0
nenhum isótipo de controle anti-IL23p19 de controle de Ab prednisona	4 4 4 4 4 3 3 3 2 2 2 1 1 1 1 1 1 1 1	6,2	37,6	7,1	37,8	117,8	22,2	24,6	1,23	4,11
anti-IL23p19 de controle de Ab prednisona	4 4 4 4 4 4 2 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 0	NA	13,6	3,1	28,3	103,0	19,2	14,5	1,35	3,09
	1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 0 0 0 0 0	6,9	10,3	,013	12,5	64,3	14,7	8,9	0,08	0
	4 4 2 1 1 1 1 1 1 0 0 0 0 0 0	0,51	1,2	0	17,9	74,6	5,2	14,6	0,55	0

- Um outro conjunto de experiências em comparação com o tratamento com anticorpos de anti-IL-23p19 para o tratamento com anticorpos de anti-IL-12p19 foi também realizado. Nessa experiência camundongos receberam 500 μ g dos anticorpos indicados em dias alternados, partindo do dia antes da imunização, e os olhos e órgãos linfóides foram coletados 17

dias depois da imunização, ou 6-7 dias depois da início da doença nos controles. Os dados indicavam que anticorpo de anti-IL-23p19 era tão eficaz quanto anticorpo de anti-p40 no bloqueio do início de uveíte. Os dados são mostrados na tabela 3.

5 **Tabela 3:** Tratamento de anti-IL-23p19 inibe EAU e respostas de citocina sistêmica ao antígeno de uveíte

amostra	classificação de EAU dos olhos individuais	IL-2 pg/ml	IL-4 pg/ml	IL-5 pg/ml	IL-6 pg/ml	IL-10 pg/ml	IFN- γ pg/ml	TNF- α pg/ml	IL-12 pg/ml	IL-17 pg/ml
controle	3, 3, 3, 3, 3, 3, 3, 3, 0, 0,25	247,6	0,4	< 3,1	145,7	8,6	1295,3	46,5	2,7	72,9
Anti IL-23p19	3, 3, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0	115,0	1,3	19,1	163,7	5,5	1453,3	87,5	2,1	37,0
anti-isótipo	3, 3, 3, 3, 3, 3, 3, 3, 3, 3, 3	205,2	1,4	< 3,1	206,7	12,4	2759,6	51,2	3,1	198,0
Anti IL-12p40	0, 25, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0	101,9	0,4	< 3,1	26,5	4,4	305,5	16,6	<0,8	29,7

Uma segunda parte dessa experiência examinou o estágio do processo patogênico durante o qual IL-23 era exigida. Camundongos foram tratados com 500 μ g de anticorpo de anti-IL-23p19 em dias alternados partindo 7 dias depois da imunização e a doença foi comparada com camundongos que foram tratados a partir do dia antes da imunização (como acima). EAU poderia ser evitado por tratamento precoce com ou anti-p19 ou anticorpos de anti-p19. No entanto, quando o tratamento foi iniciado 7 dias depois da imunização, um ponto de tempo quando células T efetoras uveitogênicas já foram inicializadas e podem ser isoladas do LN e baço, desenvolvimento de EAU não poderia ser abortado e as classificações de doença desenvolveriam por camundongos tratados eram similares a controle. Isso sugere que a exigência para IL-23 ocorre em um estágio anterior da patogênese da doença. Os dados são mostrados na tabela 4.

Tabela 4: Tratamento com anticorpo de anti-p19 previne, não reverte, EAU.

início do tratamento	anticorpo	classificação de EAU ± SE
day -1	anti-isótipo	2,9 ± 0,1
	Anti P19	0,6 ± 0,6
	Anti P40	0 ± 0
day 7	anti-isótipo	2,05 ± 0,5
	Anti P19	2,35 ± 0,5
	Anti P40	2,075 ± 0,5

No agregado, essas experiências demonstram a neutralização de IL-23 previne, mas não reverte, uveíte em modelos de animal, e indicam o tratamento com antagonistas de IL-23 teria um efeito benéfico em uveíte crônica em seres humanos por prevenção de recrutamento de novas células T na combinação de efator, desse modo reduzindo a severidade de progressão de detenção da doença.

Para testar se deficiência de IL-17 pode afetar desenvolvimento de EAU, camundongos de IL-17A^{-/-} (vide, por exemplo, Nakae e outros (2002) *Immunity* 17:375-387) foram imunizados com um regime uveitogênico de IRBP. Inibição de EAU por deficiência de IL-17 genética era apenas parcial (tabela 5). A redução relativamente modesta de classificações de EAU em camundongos de IL-17A^{-/-} precisa ser explicada pelo fato de que esses camundongos são deficientes para o isoforma de IL-17A da citocina, e sob condições de eficiência congênita precisou compensar com o isoforma de IL-17F menos abundantemente produzida.

Tabela 5: Deficiência de IL-17 genética reduz, mas não abole, suscetibilidade a EAU.

<i>Expt #</i>	<i>WT</i>	<i>IL-17A^{-/-}</i>
1	0,5*	0,5
	1,5	1,0
	0,8	0,9
	0,8	0,1
	0,4	0,9
	1,3	0,6
		0,5
2	0,5	0,5
	0,9	0,0
	1,8	0,3
	1,0	0,0
	1,5	
	0,5	
classificação média ± SE	0,9± 0,1	0,5± 0,1

- Em contraste com isso, neutralização de IL-17A com anticorpos de IL-17A em camundongos de tipo selvagem, ou através da curso total da doença ou através da fase efetora apenas (partindo do dia 7), era protetora. De modo importante, ao contrário de neutralização de IL-23, neutralização de IL-17 poderia inibir doença quando administrada partindo do dia 7 pós imunização, quando efetores uveitogênicos já foram gerados. Redução nas classificações de EAU com redução das respostas imunológicas associadas, hipersensibilidade de tipo atrasaa (DTH) e proliferação de célula de LN específica de antígeno. Assim, IL-17 tem um papel na patogênese de EAU, e ao contrário de IL-23, parece participar na fase efetora da doença. Os dados são mostrados na tabela 6.

Tabela 6: Tratamento com anticorpos de anti-IL-17A previne e reverte EAU

início de tratamento	anticorpo	classificação de EAU ± SE	DTH ± SE	proliferação ± SE (x10 ⁻³)
day -1	anti-isótipo	1,6±0,7	16±1	19,2 ± 1,2
	Anti IL-17	0,025± 0,025	7,6±2	6,6 ± 6,4
day 7	anti-isótipo	1,6±0,6	20,2±3	25,4 ± 1,4
	Anti IL-17	0,5±0,5	6,0±2	5,9 ± 0,3

Seção II. Materiais e Métodos.**A. Geral**

- 5 Métodos-padrão em biologia molecular são descritos (Maniatis, e outros (1982) *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Sambrook and Russell (2001) *Molecular Cloning*, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Wu (1993) *Recombinant DNA*, Vol. 217, Academic Press, San Diego, CA). Standard methods also appear in Ausbel, e outros (2001) *Current Protocols in Molecular Biology*, Vols.1-4, John Wiley and Sons, Inc. New York, NY, que descreve clonagem nas células bacterianas ou mutagênese de DNA (Vol. 1), clonagem na levedura e células de mamífero (Vol. 2), glycoconjugates e expressão de proteína (Vol. 3), e bioinformáticos (Vol. 4).
- 10
- 15 Métodos para a purificação de proteína incluindo immunoprecipitação, cromatografia, eletroforese, centrifugação e recristalização são descritos (Coligan, e outros (2000) *Current Protocols in Protein Science*, Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., New York). Análise química, modificação química, modificação pós-transducional, produção de proteínas de fusão, glicosilação de proteínas são descritas (vide, por exemplo, Coligan, e outros (2000) *Current Protocols in Protein Science*, Vol. 2, John Wiley and Sons, Inc., New York; Ausubel, e outros (2001) *Current Protocols in Molecular Biology*, Vol. 3, John Wiley and Sons, Inc., NY, NY, pp. 16.0.5-16.22.17; Sigma-Aldrich, Co. (2001) *Products for Life Science Research*, St. Louis, MO; pp. 45-89; Amersham Pharmacia Biotech (2001) *BioDirectory*, Piscataway, N.J., pp. 384-
- 20
- 25 391). Produção, purificação e fragmentação de anticorpo policlonais e mo-

noclonais são descritas (Coligan, e outros (2001) *Current Protocols in Immunology*, Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., New York; Harlow and Lane (1999) *Using Antibodies*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Harlow and Lane, *supra*). Técnicas padrão para a caracterização de interações de ligante/receptor estão disponíveis (vide, por exemplo, 5 Coligan, e outros (2001) *Current Protocols in Immunology*, Vol. 4, John Wiley, Inc., New York).

Métodos para citometria de fluxo, incluindo classificação de célula ativada de fluorescência (FACS), estão disponíveis (vide, por exemplo, 10 Owens, e outros (1994) *Flow Cytometry Principles for Clinical Laboratory Practice*, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ; Givan (2001) *Flow Cytometry*, 2nd ed.; Wiley-Liss, Hoboken, NJ; Shapiro (2003) *Practical Flow Cytometry*, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ). Reagentes fluorescentes adequados para a modificação de ácidos nucleicos, incluindo sondas e iniciadores de 15 ácido nucleico, polipeptídeos, e anticorpos, para o uso, por exemplo, como reagentes de diagnósticos, estão disponíveis (Molecular Probes (2003) *Catálogo*, Molecular Probes, Inc., Eugene, OU; Sigma-Aldrich (2003) *Catálogo*, St. Louis, MO).

Métodos-padrão de histologia do sistema imune são descritos 20 (vide, por exemplo, Muller-Harmelink (ed.) (1986) *Human Thymus: Histopathology and Pathology*, Springer Verlag, New York, NY; Hiatt, e outros (2000) *Color Atlas of Histology*, Lippincott, Williams, and Wilkins, Phila, PA; Louis, e outros (2002) *Basic Histology: Text and Atlas*, McGraw-Hill, New York, NY).

Base de dados e embalagens de software para a determinação, 25 por exemplo, de fragmentos antigênicos, seqüências líder, dobramento de proteína, domínios funcionais, sítios de glicosilação, alinhamentos de seqüência, estão disponíveis (vide, por exemplo, GenBank, Vector NTI® Suite (Informax, Inc, Bethesda, MD); GCG Wisconsin Package (Accelrys, Inc., San Diego, CA); DeCypher® (TimeLogic Corp., Crystal Bay, Nevada); Menne, e 30 outros (2000) *Bioinformatics* 16: 741-742; Menne, e outros (2000) *Bioinformatics Applications Note* 16:741-742; Wren, e outros (2002) *Comput. Métodos Programs Biomed.* 68:177-181; von Heijne (1983) *Eur. J. Biochem.*

133:17-21; von Heijne (1986) *Nucleic Acids Res.* 14:4683-4690).

B. Animais

IL-23 KO (KO de p19) foi descrita em Cua, e outros (2003) *Nature* 421:744-748. Camundongos de IL-17^{-/-} foram produzidos como descritos em Nakae, e outros (2002) *Immunity* 17:375-387. IL-12p35 KO (P35 KO), IL-12p40 KO (P40 KO), KO de IFN- γ (GKO) (a totalidade na experiência de C57BL/6) e C57BL/6 e B10RIII, camundongos foram adquiridos dos Jackson Laboratories. Animais foram mantidos em uma instalação livre de patógeno e deram água e comida de laboratório ad libitum. Cuidado de animal e uso eram em concordância com as diretrizes institucionais e com a (Associação para pesquisa em visão e oftamologia para o uso de animais em pesquisa e de visão).

C. Classificação e indução de EAU

CFA foi adquirido da Sigma. Cepa de *Mycobacterium Tuberculosis* H37RA foi adquirida de Thomas Scientific. *Bordetella* PT purificada foi adquirida da Sigma-Aldrich. IRBP foi isolada das retinas de bovino, como descrito anteriormente, usando-se cromatografia por afinidade de Con A-Sepharose e cromatografia líquida de alto desempenho (vide, por exemplo, Pepperberg e outros (1991) *Photochem Photobiol* 54:1057-1060). Alíquotas de preparações de IRBP foram retiradas e armazenadas a -70°C . Peptídeo derivado de IRBP 161-180 (Karabekian, Z. e outros, (2005) *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 46(10):3769-76) foi sintetizado por química de Fmoc (sintetizador de peptídeo modelo 432A; Applied Biosystems, Foster City, CA).

Neutralização de anticorpos de IL-23 anti-camundongo e de IL-17A de anti-camundongo foram providas por Schering-Plough Biopharma (Palo Alto, CA). IL-23 de anti-camundongo foi descrita anteriormente (vide, por exemplo, Langrish e outros (2005) *J Exp Med* 201:233-240). O hibridoma de C17.8 (anti-IL-12p40, IgG2a de rato) foi provido pela Wistar Institute, Philadelphia, PA. Anticorpo monoclonal foi produzido em ascites e foi purificado por HPLC de troca de íons por Harlan Bioproducts for Science (Indianapolis, IN). CD4 de anti-camundongo marcado com FITC (clone-L3T4), IL-17 de anti-camundongo marcada com PE (clone-TC11-18H10) e anti-IFN- γ marca-

do com APC (clone-XMG1.2) e bloqueador de secreção de citocina (GolgiS-top®) foram adquiridos da Becton Dickinson (San Diego, CA). PMA, Ionomi-cina foram adquiridos dos LC Laboratories (Boston, MA).

5 EAU foi induzido por imunização ativa com 150 µg de IRBP para camundongos de C57BL/6 e com 7 µg de peptídeo de IRBP 161-180 para camundongos B10R/III (Jackson Labs, Maine). Para camundongos C57BL/6, toxina de Bordetella pertussis (0,5 µg/camundongo) em PBS contendo 2% de soro de camundongo normal foi dada por injeção intraperitoneal concorrentemente com imunização e em algumas experiências a IRBP foi impedida
10 com 500 µg de peptídeo de IRBP 1-20 (Avichezer, D. e outros (2000), Invest Ophthalmol Vis Sci. 41(1):127-31) para aumentar as classificações de doença usualmente modestas vista nessa cepa. Solução de antígeno foi emulsificada 1:1 v/v em CFA que tinha sido suplementada com cepa de Mycobacterium tuberculosis H37RA a 2.5 mg/ml. Um total de 200 µl de emulsão foram
15 injetados s.c., foram divididos em 3 sítios (base do rabo e ambas as coxas).

Alternativamente, EAU foi induzido por transferência adotivo de uma linha de célula T uveitogênico (vide abaixo). 1-2 milhões de células, frescamente estimuladas com antígeno, foram injetadas intraperitonealmente. EAU clínico foi avaliado por fundoscopia sob um microscópio binocular
20 depois da dilatação da pupila e foi graduado em uma escala de 0–4 usando-se critérios com base na extensão das lesões inflamatórias, como descrito em detalhes em outro lugar (vide, por exemplo, Agarwal and Caspi, (2004) Métodos Mol Med 102:395-419; and Chan e outros (1990) J Autoimmun 3:247-255). Olhos coletados de 17-21 dias depois da imunização, ou 14 dias
25 depois da transferência adotiva, foram pré-fixados em 4% de glutaraldeído tamponado por fosfato por 1 h (para prevenir deslocamento artificial da retina) e então foram transferidos para 10% de formaldeído tamponado por fosfato até o processamento. Tecido fixado ou desidratado foi embebido em metacrilato, e seções de 4 a 6 µm foram manchadas com H&E padrão. Se-
30 ções de olho cortadas através de planos de nervo ótico pupilar foram classificadas em uma forma mascarada. Severidade de EAU foi graduada em uma escala de 0–4 em aumentos de metade de ponto usando-se os critérios des-

critos anteriormente, com base no tipo, número e tamanho das lesões (vide, Agarwal and Caspi, supra; and Chan e outros supra).

D. Determination of immunological responses

Hiperensibilidade de tipo atrasado (DTH) até IRBP foi avaliada
5 pela ensaio de inchamento de orelha (vide, por exemplo, Tarrant e outros
(1998) J Immunol 161:122-127). Para a proliferação de linfócito específico de
Ag e a produção de citocina em culturas primárias, o baço e nódulos linfáti-
cos de drenagem (ingüinal e ilíaco) (5 por grupo) foram coletados no fim de
10 cada experiência como indicado. Células linfóides foram combinadas dentro
do grupo, e foram incubadas com doses graduadas de Ag em triplicata 0,2
ml de culturas, essencialmente como descritas (vide, por exemplo, Avichezer
e outros (2000) Invest Ophthalmol Vis Sci 41:127-131). Proliferação foi de-
terminada por captação de [³H]timidina. Citocinas foram quantificadas em
sobrenadantes de Ag por 48 h usando-se the Pierce Multiplex SearchLight
15 Arrays technology (vide, por exemplo, Moody e outros . (2001) Biotechniques
31:186-190, 192-184).

E. Neutralização de camundongos de IL-23, IL-12p40, e IL-17

B10RIII foram imunizados com IRBP ou peptídeo ureitogênico
de IRBP (161-180) como indicado. Aos camundongos foram injetados intra-
20 peritonealmente com 0,5 mg por dose de anti-p19, anti-p40, ou anti-IL-17.
Tratamento foi dado em dias alternados partindo do dia 1 até 15 dias depois
da imunização, cobrindo tanto inicialização quanto fase efetora (protocolo de
prevenção) ou partindo do dia 7 até o dia 15, cobrindo apenas a fase efetora
(tratamento). Aos controles foram dados o mesmo regime de isótipo (IgG1
25 de rato). Olhos e órgãos linfóides foram coletados no dia 16, 6-7 depois do
início da doença.

F. Linha de célula T uveitogênica

A linha de célula de Th1 uveitogênica específica para um peptí-
deo de IRBP de ser humano (p16-180) foi descrita (vide, por exemplo, Silver
30 e outros (1995) Invest Ophthalmol Vis Sci 36:946-954). Resumidamente, a
linha foi derivada de nódulos linfáticos de drenagem de camundongos
B10.RIII imunizados com peptídeo de IRBP de ser humano 161-180, polari-

zados in vitro em relação ao fenótipo de Th1 por cultura na presença de antígeno, IL-12, e anti-IL-4. Aqui em seguida as células são mantidas por ciclos alternantes de expansão em IL-2 e restimulação com 1 µg/ml de p161-180 a cada 2 a 3 semanas na presença de esplenócitos sinérgicos, irradiadas com 3000 rads, como APCs. Para a indução de EAU, células frescamente estimuladas com Ag por 48 h foram injetadas i.p. para dentro de receptores sin-
5 genêico nativos.

G. Detenção de IL-17 e IFN γ intracelular

Estimulação curta: linha de célula T foi estimulada com 1 µg/ml de peptídeo de IRBP 161-180 na presença de APCs irradiados por 24 h com a adi. de inibidor de transferência de proteína GolgiStop[®] (BD Biosciences, San Jose, CA) nas últimas 4 h. Depois disso, células foram separadas em Ficoll, foram lavadas e foram manchadas com CD4 extracelular. Do que células foram manchadas, foram fixadas, foram permeabilizadas com fixação de Cytotfix/Cytoperm[®] e tampão de permeabilização (BD Biosciences) e fo-
10 ram manchadas com PE-conjugated anti IL-17 e anti IFN- γ conjugado por APC para análise de FACS.
15

Estimulação por longo tempo: linha de célula T foi estimulada por 5 dias com antígeno (1 µg/ml de peptídeo de IRBP 161-180) ou antígeno + rIL-23 (10ng/ml) ou antígeno + IL-23 + anti IFN- γ (10 µg/ml) na presença de APCs irradiados. Durante as últimas 4 h de células de incubação foram estimuladas com PMA e Ionomicina com a adição do inibidor de transferência de proteína GolgiStop[®] (BD Biosciences). Depois disso células foram tratadas e foram manchadas para IL-17 e IFN- γ intracelular como menciona-
20 do acima.
25

H. Ensaio de IL-17 e IFN γ

Depois de 48 h de estimulação com 1 µg/ml de peptídeo de IRBP 161-180 na presença de APCs irradiados a linha de célula T foi adotivamente transferida (2×10^6 /camundongo) i.v. para camundongos heterozigotos Thy1.1/.2 nativos. Noventa horas mais tarde baços foram coletados e esplenócitos foram estimulados com peptídeo de IRBP 161-180 por 24 h com a presença de PMA, Ionomicina e inibidor de transferência de proteína
30

GolgiStop® (BD Biosciences) nas últimas 4 h. Depois disso células foram tratadas e manchadas para IL-17 e IFN- γ intracelular como mencionado acima.

I. Análise Estatística

5 Experiências foram repetidas pelo menos duas vezes, e usualmente três ou mais vezes. Tabelas mostram dados compilados a partir de uma experiência representativa. Análise estatística de classificações de E-AU, era por teste de Snedecor and Cochran para a tendência linear em proporções (baseado em seqüência, não paramétricas) (vide, por exemplo, 10 Snedecor and Cochran (1967) Statistical Métodos Iowa State University Press, Ames, IA:p. 248). Cada camundongo (média de ambos os olhos) foi tratado como um evento estatístico. DTH e proliferação foram examinados por teste t (de 2 caudas). Respostas de citocina foram analisadas em amostras combinadas (usualmente 5 camundongos por grupo).

15 Muitas modificações e variações dessa invenção podem ser feitas sem se afastar de seu espírito e escopo, como será evidente por aqueles versados na técnica. Concretizações específicas descritas aqui são oferecidas a título de exemplo, e a invenção deve ser limitada pelo termos das reivindicações anexas, juntamente com o escopo total de equivalentes ao quais 20 tais reivindicações são intituladas; e a invenção não deve ser limitada pelas concretizações específicas que foram apresentadas aqui a título de exemplo.

Todas as citações aqui são incorporadas aqui por referência na mesma extensão como se cada publicação ou documento de patente individual fosse especificamente e individualmente indicado para ser incorporado por referência. No entanto, pretende-se que citação aqui de qualquer publicação ou documento de patente como uma admissão que a referência relacionada não seja da técnica anterior pertinente, nem constitue qualquer admissão quanto ao conteúdo ou eficácia dos dados da técnica anterior da referência.

REIVINDICAÇÕES

1. Antagonista de IL-17, caracterizado pelo fato de que é para uso no tratamento de um paciente com uma doença inflamatória ocular auto-imune (AOID).
- 5 2. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o paciente foi diagnosticado como tendo uma inflamação ocular de etiologia auto-imune putativa.
3. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que uma dose especificada do antagonista de IL-17 é
10 administrada a um intervalo especificado durante um primeiro período de tratamento.
4. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que o primeiro período de tratamento termina depois do desaparecimento de um ou mais sintomas da AOID.
- 15 5. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que o primeiro período de tratamento termina no período de 30 dias depois do desaparecimento de todos os sintomas da AOID.
6. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que a dose do antagonista de IL-17 administrada é gradualmente reduzida durante um segundo período de tratamento que começa
20 no fim do primeiro período de tratamento.
7. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que a duração do segundo período de tratamento é de pelo menos um ano.
- 25 8. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o antagonista de IL-17 é um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo monoclonal.
9. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que o antagonista de IL-17 é um anticorpo monoclonal humanizado ou um anticorpo monoclonal totalmente humano.
30
10. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que o antagonista de IL-17 é um fragmento de anticor-

po monoclonal humanizado ou um fragmento de anticorpo monoclonal totalmente humano.

5 11. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que o anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo monoclonal é pegilado.

12. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que o anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo monoclonal se liga a e inibe a atividade de IL-17.

10 13. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que o anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo monoclonal se liga a e inibe a atividade de IL-17RA ou de IL-17RC.

15 14. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o antagonista de IL-17 é um anticorpo biespecífico ou um fragmento de anticorpo biespecífico que se liga a e inibe a atividade de

a) IL-17 e IL-23p19; ou

b) IL-17 e IL-23R.

20 15. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que compreende ainda a administração de um antagonista de IL-23 ao paciente durante o primeiro período de tratamento.

16. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de que uma dose especificada do antagonista de IL-23 é administrada em um intervalo especificado durante o primeiro período de tratamento.

25 17. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que o primeiro período de tratamento termina depois do desaparecimento de um ou mais sintomas da AOID.

30 18. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que o primeiro período de tratamento termina no período de 30 dias depois do desaparecimento de todos os sintomas da AOID.

19. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 18, ca-

racterizado pelo fato de que a dose de cada um do antagonista de IL-17 e do antagonista de IL-23 é gradualmente reduzida durante um segundo período de tratamento que começa no fim do primeiro período de tratamento.

5 20. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 18, caracterizado pelo fato de que a dose do antagonista de IL-17 é gradualmente reduzida durante um segundo período de tratamento que começa no fim do primeiro período de tratamento, e em que a dose do antagonista de IL-23 administrada durante o segundo período de tratamento é a mesma que a dose administrada no primeiro período de tratamento, e em que o segundo
10 período de tratamento termina quando terapia com o antagonista de IL-17 é parada.

21. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 20, caracterizado pelo fato de que a duração do segundo período de tratamento está entre um mês e três meses.

15 22. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 20, caracterizado pelo fato de que compreende ainda a administração do antagonista de IL-23 durante um terceiro período de tratamento que começa no fim do segundo período de tratamento.

20 23. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 22, caracterizado pelo fato de que a duração do terceiro período de tratamento está entre seis meses e doze meses.

24. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 22, caracterizado pelo fato de que a dose do antagonista de IL-23 é gradualmente reduzida durante o terceiro período de tratamento.

25 25. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de que o antagonista de IL-23 é um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo monoclonal.

30 26. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 25, caracterizado pelo fato de que o antagonista de IL-23 é um anticorpo monoclonal humanizado ou um anticorpo monoclonal totalmente humano.

27. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 25, caracterizado pelo fato de que o antagonista de IL-23 é um fragmento de anti-

corpo monoclonal humanizado ou um fragmento de anticorpo monoclonal totalmente humano.

28. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 25, caracterizado pelo fato de que o anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo monoclonal é pegilado.

29. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 25, caracterizado pelo fato de que o antagonista de IL-23 se liga a e inibe a atividade de IL-23p19.

30. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 25, caracterizado pelo fato de que o antagonista de IL-23 se liga a e inibe a atividade de IL-23R.

31. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a AOID é uveíte.

32. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que compreende ainda a administração de um agente terapêutico que não antagoniza atividade de IL-17 ou de IL-23, em que o agente terapêutico é capaz de aliviar pelo menos um sintoma da AOID ou pelo menos um efeito colateral do antagonista de IL-17.

33. Antagonista de IL-17 de acordo com a reivindicação 32, caracterizado pelo fato de que o agente terapêutico é capaz de aliviar pelo menos um sintoma da AOID e é um esteróide, um antiinflamatório não esteroi-
dal ou um inibidor de TNF.

34. Antagonista, caracterizado pelo fato de que é selecionado do grupo que consiste em um antagonista de IL-23, um antagonista de IL-17, um antagonista tanto de IL-17 quanto de IL-23, para uso em tratamento profilático de um paciente que é diagnosticado como sendo suscetível a uma doença inflamatória ocular auto-imune (AOID).

35. Antagonista de acordo com a reivindicação 34, caracterizado pelo fato de que o diagnóstico de suscetibilidade é baseado no paciente tendo um incidente anterior de inflamação ocular.

36. Antagonista de acordo com a reivindicação 34, caracterizado pelo fato de que o diagnóstico de suscetibilidade é baseado no paciente ten-

do uma doença auto-imune sistêmica.

37. Antagonista de acordo com a reivindicação 36, caracterizado pelo fato de que o antagonista é um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo monoclonal.

5 38. Antagonista de acordo com a reivindicação 37, caracterizado pelo fato de que o antagonista é um anticorpo monoclonal humanizado ou um anticorpo monoclonal totalmente humano.

39. Antagonista de acordo com a reivindicação 37, caracterizado pelo fato de que o antagonista é um fragmento de anticorpo monoclonal humanizado ou um fragmento de anticorpo monoclonal totalmente humano.

10 40. Antagonista de acordo com a reivindicação 37, caracterizado pelo fato de que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo é pegilado.

41. Antagonista de acordo com a reivindicação 37, caracterizado pelo fato de que o anticorpo monoclonal ou fragmento de anticorpo monoclonal se liga a e inibe a atividade de IL-23p19 ou de IL-23R.

15 42. Antagonista de acordo com a reivindicação 41, caracterizado pelo fato de que o anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo monoclonal se liga a e inibe a atividade de IL-23p19.

43. Antagonista de acordo com a reivindicação 37, caracterizado pelo fato de que o anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo monoclonal se liga a e inibe a atividade de IL-17 ou de IL-17RA.

20 44. Antagonista de acordo com a reivindicação 43, caracterizado pelo fato de que o anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo monoclonal se liga a e inibe a atividade de IL-17.

25 45. Antagonista de acordo com a reivindicação 34, caracterizado pelo fato de que uma dose especificada do antagonista é administrada a um intervalo especificado durante um primeiro período de tratamento.

30 46. Antagonista de acordo com a reivindicação 45, caracterizado pelo fato de que a duração do primeiro período de tratamento está entre três meses e dois anos.

47. Antagonista de acordo com a reivindicação 46, caracterizado pelo fato de que a duração do primeiro período de tratamento está entre seis

meses e um ano.

5 48. Antagonista de acordo com a reivindicação 45, caracterizado pelo fato de que a dose do antagonista é gradualmente reduzida durante um segundo período de tratamento que começa no fim do primeiro período de tratamento.

49. Antagonista de acordo com a reivindicação 48, caracterizado pelo fato de que a duração do segundo período de tratamento está entre um mês e seis meses.

10 50. Antagonista de IL-23, caracterizado pelo fato de que é para uso no tratamento de um paciente para uma doença inflamatória ocular auto-imune (AOID).

15 51. Antagonista de IL-23 de acordo com a reivindicação 50, caracterizado pelo fato de que o antagonista de IL-23 é um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo monoclonal que se liga a e inibe a atividade de IL-23p19 ou de IL-23R.

20 52. Antagonista de IL-23 de acordo com a reivindicação 50, caracterizado pelo fato de que uma dose especificada do antagonista de IL-23 é administrada a um intervalo especificado durante um primeiro período de tratamento.

20 53. Antagonista de IL-23 de acordo com a reivindicação 50, caracterizado pelo fato de que a duração do primeiro período de tratamento está entre três meses e dois anos.

25 54. Antagonista de IL-23 de acordo com a reivindicação 51, caracterizado pelo fato de que a duração do primeiro período de tratamento está entre seis meses e um ano.

55. Antagonista de IL-23 de acordo com a reivindicação 50, caracterizado pelo fato de que a dose do antagonista de IL-23 é gradualmente reduzida durante um segundo período de tratamento que começa no fim do primeiro período de tratamento.

30 56. Uso de um antagonista de IL-17, caracterizado pelo fato de que é para a preparação de uma composição farmacêutica para o tratamento de uma doença inflamatória ocular auto-imune (AOID) em um paciente.

57. Uso de acordo com a reivindicação 56, caracterizado pelo fato de que a composição farmacêutica é para a administração de uma dose especificada do antagonista de IL-17 em um intervalo especificado durante um primeiro período de tratamento.
- 5 58. Uso de acordo com a reivindicação 57, caracterizado pelo fato de que o primeiro período de tratamento termina depois do desaparecimento de um ou mais sintomas da AOID.
59. Uso de acordo com a reivindicação 57, caracterizado pelo fato de que o primeiro período de tratamento termina no período de 30 dias
10 depois do desaparecimento de todos os sintomas da AOID.
60. Uso de acordo com a reivindicação 57, caracterizado pelo fato de que a dose do antagonista de IL-17 na composição farmacêutica é gradualmente reduzida durante um segundo período de tratamento que começa no fim do primeiro período de tratamento.
- 15 61. Uso de acordo com a reivindicação 60, caracterizado pelo fato de que a duração do segundo período de tratamento é de pelo menos um ano.
62. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações de 56 a 61, caracterizado pelo fato de que o antagonista de IL-17 é um anticorpo
20 monoclonal ou um fragmento de anticorpo monoclonal.
63. Uso de acordo com a reivindicação 62, caracterizado pelo fato de que o antagonista de IL-17 é um anticorpo monoclonal humanizado ou um anticorpo monoclonal totalmente humano.
64. Uso de acordo com a reivindicação 62, caracterizado pelo
25 fato de que o antagonista de IL-17 é um fragmento de anticorpo monoclonal humanizado ou um fragmento de anticorpo monoclonal totalmente humano.
65. Uso de acordo com a reivindicação 62, caracterizado pelo fato de que o anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo monoclonal é pegilado.
- 30 66. Uso de acordo com a reivindicação 62, caracterizado pelo fato de que o anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo monoclonal se liga a e inibe a atividade de IL-17.

67. Uso de acordo com a reivindicação 62, caracterizado pelo fato de que o anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo monoclonal se liga a e inibe a atividade de IL-17RA ou de IL-17RC.

5 68. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 56 a 61, caracterizado pelo fato de que o antagonista de IL-17 é um anticorpo biespecífico ou um fragmento de anticorpo biespecífico que se liga a e inibe a atividade de a) IL-17 e IL-23p19; ou b) IL-17 e IL-23R.

10 69. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 56 a 61, caracterizado pelo fato de que um antagonista de IL-23 deve ser administrado em associação com a composição farmacêutica.

70. Uso de acordo com a reivindicação 69, caracterizado pelo fato de que a composição farmacêutica e o antagonista de IL-23 devem ser administrados ao mesmo tempo ou consecutivamente.

15 71. Uso de acordo com a reivindicação 70, caracterizado pelo fato de que o antagonista de IL-23 é um anticorpo monoclonal humanizado, um anticorpo monoclonal totalmente humano, um fragmento de anticorpo monoclonal humanizado ou um fragmento de anticorpo monoclonal totalmente humano.

20 72. Uso de acordo com a reivindicação 71, caracterizado pelo fato de que o antagonista de IL-23 se liga a e inibe a atividade de IL-23p19 ou IL23R.

25 73. Uso de um antagonista de IL-23, caracterizado pelo fato de que é para a preparação de uma composição farmacêutica para o tratamento de uma doença inflamatória ocular auto-imune (AOID) em um paciente, em que a composição farmacêutica deve ser administrada em associação com um antagonista de IL-17.

30 74. Uso de acordo com a reivindicação 73, caracterizado pelo fato de que a composição farmacêutica é para a administração de uma dose especificada do antagonista de IL-23 em um intervalo especificado durante um primeiro período de tratamento.

75. Uso de acordo com a reivindicação 74, caracterizado pelo fato de que a composição farmacêutica é ainda administrada durante um

segundo período de tratamento que começa no fim do primeiro período de tratamento e em que a dose do antagonista de IL-17 a ser administrada é gradualmente reduzida durante o segundo período de tratamento.

5 76. Uso de acordo com a reivindicação 75, caracterizado pelo fato de que o segundo período de tratamento termina quando terapia com o antagonista de IL-17 é parada.

77. Uso de acordo com a reivindicação 75, caracterizado pelo fato de que a duração do segundo período de tratamento está entre um mês e três meses.

10 78. Uso de acordo com a reivindicação 75, caracterizado pelo fato de que a composição farmacêutica é ainda administrada durante um terceiro período de tratamento que começa no fim do segundo período de tratamento.

15 79. Uso de acordo com a reivindicação 78, caracterizado pelo fato de que a duração do terceiro período de tratamento está entre seis meses e doze meses.

80. Uso de acordo com a reivindicação 78, caracterizado pelo fato de que a dose do antagonista de IL-23 na composição farmacêutica é gradualmente reduzida durante o terceiro período de tratamento.

20 81. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 73 a 80, caracterizado pelo fato de que a composição farmacêutica e o antagonista de IL-17 devem ser administrados ao mesmo tempo ou consecutivamente.

25 82. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações de 73 a 80, caracterizado pelo fato de que o antagonista de IL-23 é um anticorpo monoclonal humanizado, um anticorpo monoclonal totalmente humano, um fragmento de anticorpo monoclonal humanizado ou um fragmento de anticorpo monoclonal totalmente humano.

30 83. Uso de acordo com a reivindicação 82, caracterizado pelo fato de que o antagonista de IL-23 se liga a e inibe a atividade de IL-23p19 ou IL-23R.

84. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações de 73 a 80, caracterizado pelo fato de que o antagonista de IL-17 é um anticorpo

monoclonal humanizado, um anticorpo monoclonal totalmente humano, um fragmento de anticorpo monoclonal humanizado ou um fragmento de anticorpo monoclonal totalmente humano.

5 85. Uso de acordo com a reivindicação 82, caracterizado pelo fato de que o antagonista de IL-17 se liga a e inibe a atividade de IL- 17, IL-17RA ou IL-17RC.

86. Uso de acordo com a reivindicação 56 ou 73, caracterizado pelo fato de que a AOID é uma uveíte.

10 87. Uso de acordo com a reivindicação 56 ou 73, caracterizado pelo fato de que a composição farmacêutica ainda compreende um agente terapêutico que não antagoniza atividade de IL-17 ou de IL-23, em que o agente terapêutico é capaz de aliviar pelo menos um sintoma da AOID ou pelo menos um efeito colateral do antagonista.

15 88. Uso de acordo com a reivindicação 87, caracterizado pelo fato de que o agente terapêutico é capaz de aliviar pelo menos um sintoma da AOID e é um esteróide, um antiinflamatório não esteroidal ou um inibidor de TNF.

20 89. Uso de um antagonista selecionado do grupo que consiste em um antagonista de IL-23, um antagonista de IL-17 e um antagonista tanto de IL-17 quanto de IL-23, caracterizado pelo fato de que é para a preparação de uma composição farmacêutica para o tratamento profilático de um paciente que é diagnosticado como sendo suscetível a uma inflamação auto-imune ocular.

25 90. Uso de acordo com a reivindicação 89, caracterizado pelo fato de que o diagnóstico de suscetibilidade é baseado no paciente tendo um incidente anterior de inflamação auto-imune ocular.

91. Uso de acordo com a reivindicação 89, caracterizado pelo fato de que o diagnóstico de suscetibilidade é baseado no paciente tendo uma doença auto-imune sistêmica.

30 92. Uso de acordo com a reivindicação 89, caracterizado pelo fato de que o antagonista é um antagonista de IL-23.

93. Uso de acordo com a reivindicação 92, em que o antagonista

é um anticorpo monoclonal humanizado, um anticorpo monoclonal totalmente humano, um fragmento de anticorpo monoclonal humanizado ou um fragmento de anticorpo monoclonal totalmente humano.

5 94. Uso de acordo com a reivindicação 93, caracterizado pelo fato de que o anticorpo ou o fragmento de anticorpo se liga a e inibe a atividade de IL-23 ou IL-23R.

95. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações de 89 a 94, caracterizado pelo fato de que a composição farmacêutica é para a administração de uma dose especificada do antagonista em um intervalo especificado durante um primeiro período de tratamento.

96. Uso de acordo com a reivindicação 95, caracterizado pelo fato de que a duração do primeiro período de tratamento está entre três meses e dois anos.

15 97. Uso de acordo com a reivindicação 96, caracterizado pelo fato de que a duração do primeiro período de tratamento está entre seis meses e um ano.

98. Uso de acordo com a reivindicação 97, caracterizado pelo fato de que a dose do antagonista na composição farmacêutica é gradualmente reduzida durante um segundo período de tratamento que começa no fim do primeiro período de tratamento.

20 99. Uso de acordo com a reivindicação 98, caracterizado pelo fato de que a duração do segundo período de tratamento está entre um mês e seis meses.

25 100. Produto de fármaco fabricado para o tratamento de doença inflamatória auto-imune ocular (AOID), caracterizado pelo fato de que compreende (a) uma primeira formulação farmacêutica compreendendo um antagonista de IL-17; e

(b) uma segunda formulação farmacêutica compreendendo um antagonista de IL-23,

30 opcionalmente compreendendo ainda instruções para administrar as formulações farmacêuticas como definidas em qualquer uma das reivindicações 15 a 24.

RESUMO

Patente de Invenção: **"ANTAGONISTAS DE IL-23 E DE IL-17 PARA TRATAR DOENÇA INFLAMATÓRIA OCULAR AUTO-IMUNE E SEUS USOS"**.

A presente invenção refere-se a novos métodos e produtos de fármaco para o tratamento de doença inflamatória ocular auto-imune que são descritos, que envolvem administração de agentes que antagonizam uma ou ambas de atividade de IL-17 e de IL-23.