

(19)대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl.

A61K 31/573 (2006.01)  
A61K 39/395 (2006.01)  
C07K 16/18 (2006.01)  
A61P 21/04 (2006.01)

(11) 공개번호 10-2006-0026860  
(43) 공개일자 2006년03월24일

(21) 출원번호 10-2005-7023105

(22) 출원일자 2005년12월02일

번역문 제출일자 2005년12월02일

(86) 국제출원번호 PCT/US2004/017049

(87) 국제공개번호 WO 2004/108157

국제출원일자 2004년06월01일

국제공개일자 2004년12월16일

(30) 우선권주장 60/474,603 2003년06월02일 미국(US)

(71) 출원인 와이어쓰  
미합중국 뉴저지주 07940-0874 매디슨 파이프 지랄다 팜즈

(72) 발명자 위트모어 리저-앤  
미국 02032 매사추세츠주 노퍽 이스트 윌폴 탱글우드 로드 11  
리 샹핑  
미국 01778 매사추세츠주 웨이랜드 라이스 로드 30

(74) 대리인 특허법인코리아나

심사청구 : 없음

(54) 신경근 장애의 치료를 위한, 코르티코스테로이드와 조합된미오스타틴 (G D F 8) 저해제의 용도

요약

본 개시내용은 포유동물에서 신경근 장애를 치료하는 방법을 제공한다. 개시된 방법은 치료적 유효량의 GDF-8 저해제 및 코르티코스테로이드를 신경근 장애에 걸리기 쉽거나 이미 걸린 대상체에 목적한 수준의 근기능을 유지하도록 투여하는 것을 포함한다.

명세서

본 출원은, 2003년 6월 2일자로 출원된 미국 가특허출원 제 60/474,603 호에 대해 우선권을 주장하며, 상기 가특허출원은 그 전체 개시 내용이 본원에 참조 병합된다.

기술분야

본 발명은 임상 병리생리학 분야, 및 보다 구체적으로는 근육퇴행위축과 같은 신경근 장애의 치료 방법에 관한 것이다. 본 발명은 또한 코르티코스테로이드 및 성장 및 분화 저해제를 함유하는 약학적 제형에 관한 것이다.

## 배경기술

근육퇴행위축 (MD) 은 근육 소모 및 허약에 의해 특징지어지는 진행성 유전성 신경근 장애이다 (Emery (2002) The Lancet, 359: 687-695). 다수의 형태의 근육퇴행위축은 치명적이며 현재 불치병이다.

뒤시엔느 근육퇴행위축 (Duchenne muscular dystrophy; DMD) 는 가장 흔한 X-연관 신경근 질환이다. 상기 질환은 디스트로핀 (dystrophin) 을 코딩하는 DMD 유전자에서의 돌연변이에 의해 야기된다. 이러한 단백질의 변형 또는 부재는 비정상적인 횡문근형질막 (sarcolemmal membrane) 파괴를 야기한다. 근위근 내의 근섬유의 직경의 비정상적 변화 (위축 및 비대 섬유) 및 계속되는 근육 손상은 상기 질환의 징후이다. 손상된 근육은 세포내 효소인 크레아틴 키나아제 (CK) 를 방출한다. 결과적으로, DMD 환자 내의 혈청 CK 수준은 특징적으로 높다 (정상의 10 배 이하). 병리생리학적 캐스케이드는 조직 염증, 근섬유 괴사 및 근육의 섬유지방 조직으로의 대체에 의해 이루어진다.

DMD 유전자의 다른 대립 변형체는 베커 (Becker) 근육퇴행위축 (BMD) 으로 알려져 있는 보다 경미한 형태의 MD 를 야기한다. BMD 는 임상적으로 DMD 와 유사하지만, 증상의 시작이 살아 가면서 차후에 일어난다.

다수의 약리학적 제제가 MD 에 시도되어 왔지만, 상기 질환의 과정을 정지시키는 데 효과적인 것으로 증명된 것은 아무 것도 없었다. 현재의 치료법은 여전히 물리적 요법 및 재활의 범위에 머무른다.

코르티코스테로이드를 이용한 수많은 시도 (예컨대, 프레드니손 및/또는 그의 유도체) 로서, MD 환자에 대한 특히 단기간에 걸친 개선이 입증되었다. 코르티코스테로이드가 상기 질환의 표현형을 경감시키는 정확한 메카니즘은 불명확하지만, 코르티코스테로이드는 염증 감소, 면역계 억제, 칼슘 항상성 개선, 보상 단백질 (compensatory protein) 발현의 상향조절, 및 근아세포 (myoblast) 증식의 증가에 의해 작용하는 것으로 생각된다 (Khurana 등 (2003) Nat. Rev. Drug Discovery 2: 279-386). 그러나, 장기간에 걸쳐 투여된 코르티코스테로이드는 근위축을 유도할 수 있으며, 이는 주로 근위근 (DMD 및 BMD 에서 영향을 받는 바로 그 근육) 에 영향을 미친다. 코르티코스테로이드-유도된 근육 및 다른 부작용은 코르티코스테로이드 치료의 장기적인 유효성을 제한할 수 있다.

GDF-8 은 TGF- $\beta$  상과 (superfamily) 의 구성원이며, 근육 성장의 음성 조절제로서 작용한다. 상기 상과의 다른 구성원과 유사하게, GDF-8 은 전구체 분자로서 합성되지만, 분비 전에, 이는 N-말단 저해 프로펩티드 및 C-말단, 활성의 성숙한 GDF-8 로 분해된다. 프로펩티드는 GDF-8 에 결합된 채로 남아 있어, 성숙한 GDF-8 의 생물학적 활성을 저해할 수 있다. 프로펩티드는 GDF-8 에 대한 복합체로부터 해리되어 제 II 형 액티빈 (activin) 수용체 (ActRIIB) 에 결합해야 한다. 결합 시, ActRIIB 는 신호화 캐스케이드를 개시하여, 궁극적으로 근아세포 진행을 저해시킨다. 생체 내 GDF-8 의 항체-매개 저해는 정상적인 성체 마우스에서 골격근 크기를 상당히 증가시키는 것으로 나타났으며 (Whittemore 등 (2003) BBRC, 300: 965-971), DMD 의 *mdx* 마우스 모델에서 퇴행위축성 (dystrophic) 표현형을 경감시키는 것으로 나타났다 (Bogdanovich 등 (2002) Nature, 420 (28): 418-421).

## 발명의 상세한 설명

### 발명의 개요

본 발명의 목적 중 하나는, 근기능 저하의 위협에 의해 특징지어지거나 또는 그와 관련된 장애의 치료 방법 및 치료용 조성물을 제공하는 것이다. 본 발명의 추가적 목적은 하기 상세한 설명에서 기술될 것이며, 부분적으로는 하기 상세한 설명으로부터 이해될 것이거나, 또는 본 발명의 실시예에 의해 알 수 있을 것이다.

본 발명은 부분적으로, DMD 의 마우스 모델에서, 중화 항-GDF-8 항체 및 프레드니손의 투여에 의한 치료가 프레드니손 단독 치료에 비해 근량 및 강도를 증가시키는 데 있어서 보다 효과적이라는 발견 및 그의 입증에 근거한다. 본 발명은 또한 부분적으로, 프레드니손과 항-GDF-8 항체의 투여가 프레드니손-유도 근위축을 감소시킨다는 발견 및 그의 입증에 근거한다.

따라서, 본 발명은 포유동물에서의 신경근 장애의 치료 방법을 제공한다. 개시된 방법은 신경근 장애에 걸리기 쉽거나 상기 장애에 걸린 대상체에 하나 이상의 GDF-8 저해제 및 하나 이상의 코르티코스테로이드의 치료적 유효량을 투여하여, 예를 들어 크레아틴 키나아제 (CK) 의 혈청 농도, 근육 조직구조학 (muscle histology), 조직 화상진찰 (tissue imaging), 일상적인 활동, 근육 강도 및/또는 질량에 의해 평가하였을 때 목적인 수준의 근육 완전성 또는 기능을 유지하는 것을 포함

한다. 본 발명의 방법으로 치료된 집단에는 예를 들어, DMD 또는 BMD 와 같은 근육퇴행위축을 갖거나 이의 발생 위험이 있는 환자, 및 상기 장애 및 기타 장애를 위한 코르티코스테로이드 치료를 경험한 대상체가 포함되나, 이에 제한되지는 않는다.

본 발명은 또한 근육 허약의 치료 방법 및 코르티코스테로이드-유도 근위축의 치료 방법을 제공한다. 본 발명은 심근병증의 치료 방법을 포함한다.

본 발명의 방법에서 사용되는 조성물 및 투여 방법이 제공된다. 개시된 방법에서는, GDF-8 저해제 및 코르티코스테로이드가 동시에 투여되거나, 교대로 중복 또는 비(非)중복 간격에 걸쳐 투여된다.

본 발명의 방법에서 사용되는 GDF-8 저해제에는, GDF-8 에 대한 항체; GDF-8 수용체에 대한 항체; 가용성 GDF-8 수용체 및 이의 단편 (예컨대, ActRIIB 가 면역글로불린의 Fc 부분에 결합된 가용성 ActRIIB 수용체를 포함하는, 미국 특허 출원 제 10/689,677 호에 기재된 바와 같은 ActRIIB 융합 폴리펩티드); GDF-8 프로펩티드 및 이의 개질된 형태 (예컨대, GDF-8 프로펩티드가 면역글로불린의 Fc 부분에 결합된 형태 및/또는 GDF-8 이 아스파르테이트 (asp) 잔기, 예를 들어, 마우스 GDF-8 프로펩티드 내의 asp-99 및 인간 GDF-8 프로펩티드 내의 asp-100 에서 변이된 형태를 포함하는, WO 02/068650 또는 미국 특허 출원 제 10/071,499 호에 기재된 바와 같은 형태); GDF-8 의 소분자 저해제; 폴리스타틴 (예컨대, 미국 특허 제 6,004,937 호에 기재된 바와 같음) 또는 폴리스타틴-도메인-함유 단백질 (예컨대, 미국 특허 출원 제 10/369,736 호 및 제 10/369,738 호에 기재된 바와 같은 GASP-1 또는 기타 단백질); 및 미국 특허 출원 제 10/662,438 호에 기재된 바와 같은, GDF-8 활성화에 영향을 미치는 메탈로프로테아제 (metalloprotease) 활성 조절제가 포함되지만, 이에 제한되지는 않는다.

일부 구현예에서, GDF-8 저해제는 GDF-8 의 수용체에 대한 GDF-8 결합을 차단하는 모노클로날 항체 또는 그의 단편이다. 비제한적이며 예시적인 구현예에는, 비인간 모노클로날 항-GDF-8 항체, 예컨대, 마우스 모노클로날 항체 JA-16 (미국 특허 출원 제 10/253,532 호에 기재된 바와 같음; ATCC 기탁 번호 PTA-4236); 그의 유도체, 예컨대, 인간화된 항체; 및 완전한 인간 모노클로날 항-GDF-8 항체 (예컨대, 미국 특허 출원 제 10/688,925 호에 기재된 바와 같은 Myo29, Myo28, 및 Myo22; 각각, ATCC 기탁 번호 PTA-4741, PTA-4740, 및 PTA-4739) 또는 그의 유도체가 포함된다.

본 발명의 방법에 사용되는 코르티코스테로이드에는, 베클로메타손, 디프로피오네이트, 부데소나이드 (budesonide), 코르티솔 (cortisol), 텍사메타손, 플루티카손 프로피오네이트, 모메타손 푸로에이트 (mometasone furoate), 프레드니손, 트리암시놀론 아세토나이드 (triamcinolone acetonide), 및 그의 유도체가 포함되지만, 이제 제한되지는 않는다.

하기의 제반적 기술사항 및 하기의 상세한 설명은 모두 단지 예시적이며 설명적인 것이며, 청구된 바와 같은 본 발명을 제한하는 것이 아닌 것으로 이해되어야 한다.

## **발명의 상세한 설명**

### **I. 정의**

본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위해, 특정 용어를 먼저 정의한다. 추가 정의는 발명의 상세한 설명 전반에 걸쳐 기술된다.

본원에서 사용되는 바와 같은 용어 "항체" 는 면역글로불린 또는 이의 부분을 말하며, 공급원, 제조 방법, 및 기타 특징에 관계없이 항원-결합 부위를 포함하는 임의의 폴리펩티드를 포함한다. 비제한적 예로서, 용어 "항체" 에는 인간, 오랑우탄, 마우스, 래트, 염소, 양, 및 닭 항체가 포함된다. 상기 용어에는 폴리클로날, 모노클로날, 1특이적 (monospecific), 다특이적 (polyspecific), 비특이적 (non-specific), 인간화된, 단쇄, 키메라, 합성, 재조합, 하이브리드, 변이된, 및 CDR-그래프트된 항체가 포함되지만, 이에 제한되지는 않는다. 본 발명의 목적에 있어서, 이는 또한 달리 정의되지 않는 한, Fab, F(ab')<sub>2</sub>, Fv, scFv, Fd, dAb 와 같은 항체 단편, 및 항원-결합 기능을 보유한 다른 항체 단편을 포함한다.

항체는 예를 들어, 전통적인 하이브리도마 기술 (Kohler and Milstein (1975) Nature, 256: 495-499), 재조합 DNA 방법 (미국 특허 제 4,816,567 호), 또는 항체 라이브러리를 이용한 파지 표시 기술 (phage display techniques) (Clackson 등 (1991) Nature, 352: 624-628; Marks 등 (1991) J. Mol. Biol., 222: 581-597) 에 의해 제조될 수 있다. 다양한 기타 항체 제조 기술은, 문헌 [Antibodies: A Laboratory Manual, eds. Harlow 등, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988] 을 참조한다.

용어 "**항원-결합 도메인**" 은 항원의 일부 또는 전부에 특이적으로 결합하거나 이에 상보적인 영역을 포함하는 항체 분자의 부분을 말한다. 항원이 클 경우, 항체는 단지 항원의 특정 부분에만 결합할 수 있다. 에피토프 또는 항원 결정자는 항체의 항원-결합 도메인과의 특이적 상호작용을 책임지는 항원 분자의 부분이다. 항원-결합 도메인은 하나 이상의 항체 가변 도메인 (예컨대, 소위 VH 도메인으로 이루어진 Fd 항체 단편) 에 의해 제공될 수 있다. 항원-결합 도메인은 항체 경쇄 가변 영역 (VL) 및 항체 중쇄 가변 영역 (VH) 을 포함한다.

용어 "**항-GDF-8 항체**" 또는 "**GDF-8 에 대한 항체**" 는 GDF-8 의 하나 이상의 에피토프에 특이적으로 결합하는 임의의 항체를 말한다. 용어 "**GDF-8 수용체 항체**" 및 "**GDF-8 수용체에 대한 항체**" 는 ActRIIB 와 같은 GDF-8 수용체의 하나 이상의 에피토프에 특이적으로 결합하는 임의의 항체를 말한다. 용어 "**중화 항체**" 는 GDF-8 저해제인 항체를 말한다.

용어 "**특이적 상호작용**" 또는 "**특이적으로 결합함**" 등은 두 개의 분자가 생리적 조건 하에서 상대적으로 안정한 복합체를 형성하는 것을 의미한다. 상기 용어는 또한, 예컨대, 항원-결합 도메인이 다수의 항원에 존재할 수 있는 특정 에피토프에 대해 특이적인 경우에 적용가능하다. 특이적 결합은 고친화성 및 저 내지 중 수용력 (capacity) 에 의해 특징화된다. 비특이적 결합은 보통 중 내지 고 수용력 (capacity) 과 함께 저친화성을 갖는다. 전형적으로, 결합은 친화도 상수  $K_a$  가  $10^6 M^{-1}$  보다,  $10^7 M^{-1}$  보다, 바람직하게는  $10^8 M^{-1}$  보다 큰 경우에 특이적인 것으로 간주된다. 필요한 경우, 비특이적 결합은 결합 조건을 변화시킴으로써 특이적 결합에 실질적으로 영향을 미치지 않고 감소될 수 있다. 상기 조건은 당해 기술 분야에 공지되어 있으며, 통상의 기술을 사용하는 숙련된 기술자는 적절한 조건을 선택할 수 있다. 상기 조건은 통상 항체의 농도, 용액의 이온 강도, 온도, 결합에 허여된 시간, 비관련 분자의 농도 (예컨대, 혈청 알부민, 우유 카세인) 등에 의해 한정될 수 있다.

용어 "**근기능**" 은 근육의 생리적 기능을 수행하는 능력, 예컨대 연속 (twitch) 또는 강축 (tetanus) 동안 발생한 힘의 양으로 측정된 수축을 말한다. 근기능의 다른 평가 방법은 당해 기술 분야에 잘 알려져 있으며, 근량의 측정, 악력 강도 (grip strength), 혈청 CK 수준, 일상 활동, 운동 또는 강도 시험, 조직 조직구조학 (예컨대, E & A 염색, 또는 콜라겐 III 염색), 또는 조직 화상진찰이 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 비제한적이고 예시적인 근기능 평가 방법은 실시예에 기술되어 있다.

용어 "**GDF-8**" 은 특이적 성장 및 분화 인자-8, 및 적절한 경우, GDF-8 과 구조적으로 또는 기능적으로 관련된 인자, 예를 들어, BMP-11 및 TGF- $\beta$  상과에 속하는 다른 인자를 말한다. 상기 용어는, 번역 후 절단에 의해 야기된 GDF-8 의 전체길이의 (full-length) 비가공 전구체 형태 뿐만 아니라, 성숙한 형태 및 프로펩티드 형태를 말한다. 상기 용어는 또한 변형된 서열을 포함하는, 본원에서 논의된 바와 같은 성숙한 GDF-8 과 연관된 적어도 일부의 생물학적 활성을 유지하는 GDF-8 의 임의의 단편 및 변형체를 말한다. 본 발명은, 인간, 소, 닭, 마우스, 래트, 돼지, 양, 칠면조, 비비원숭이 (baboon) , 및 어류를 포함하지만 이에 제한되지는 않는 모든 척추동물 중으로부터의 GDF-8 에 관한 것이다 {서열 정보에 관해서는 예컨대, 문헌 (McPherron 등 (1997) Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. , 94: 12457-12461) 을 참조}.

용어 "**성숙한 GDF-8**" 은 GDF-8 전구체 단백질의 카르복시-말단 도메인으로부터 절단된 단백질을 말한다. 성숙한 GDF-8 은 단량체, 동종이합체 (homodimer) 로서, 또는 GDF-8 잠재 (latent) 복합체로 존재할 수 있다. 조건에 따라, 성숙한 GDF-8 은 임의의 또는 모든 상기 상이한 형태 간에 평형을 수립할 수 있다. 이의 생물학적 활성 형태에서, 성숙한 GDF-8 은 또한 "**활성 GDF-8**" 이라 한다.

용어 "**GDF-8 프로펩티드**" 는 GDF-8 전구체 단백질의 아미노-말단 도메인으로부터 절단된 폴리펩티드를 말한다. GDF-8 프로펩티드는 성숙한 GDF-8 상의 프로펩티드 결합 도메인에 결합할 수 있다.

용어 "**GDF-8 잠재 복합체**" 는 성숙한 GDF-8 동종이합체 및 GDF-8 프로펩티드 간에 형성된 단백질의 복합체를 말한다. 두 개의 GDF-8 프로펩티드는 동종이합체 내의 성숙한 GDF-8 의 두 개의 분자와 연관되어 불활성 4량체 복합체를 형성하는 것으로 생각된다. 잠재 복합체는 하나 이상의 GDF-8 프로펩티드 대신 또는 이에 부가하여 다른 GDF 저해제를 포함할 수 있다.

용어 "**GDF-8 활성**" 은 활성 GDF-8 단백질과 관련된 하나 이상의 생리학적 성장-조절 (growth-regulatory) 또는 형태 형성 (morphogenetic) 활성을 말한다. 예를 들어, 활성 GDF-8 는 골격근량의 음성 (negative) 조절제이다. 활성 GDF-8 은 또한 근육-특이적 효소 (예컨대, 크레아틴 키나아제) 를 조절할 수 있고, 근아세포 증식을 자극할 수 있으며, 전구지방 세포 (preadipocyte) 의 지방세포로의 분화를 조절할 수 있다. 생체 내 및 시험관 내에서 GDF-8 활성을 측정하기 위한 예시적 절차는 예를 들어, 미국 특허 출원 제 10/688,925 호에서 찾아볼 수 있다.

본원에서 사용된 바와 같이, "GDF-8 저해제" 는 일반적으로 GDF-8 의 활성을 하향조절하는 임의의 화합물을 말하며, GDF-8 의 활성, 발현, 진행, 또는 분비를 저해할 수 있는 임의의 체제를 포함한다. GDF-8 저해제는 예를 들어, 전구체 분자를 활성화된 성숙한 형태로의 전환 또는 안정성에 영향을 줄 수 있거나; GDF-8 이 하나 이상의 수용체에 결합하는 것을 방해할 수 있거나; 또는 GDF-8 수용체 ActRIIB 의 세포내 신호화를 방해할 수 있다. 상기 저해제로는, 단백질, 항체, 펩티드, 펩티드유사체 (peptidomimetics), 리보자임, 안티센스 (antisense) 올리고뉴클레오타이드, 이중 가닥 (double-stranded) RNA, 및 GDF-8 을 특이적으로 저해하는 기타 소분자가 포함된다. 상기 저해제는 GDF-8 의 생물학적 활성을 "저해," "중화," 또는 "감소" 시킨다고 할 수 있다.

용어 "중화시킨다," "중화," "저해," 및 이들의 동계 언어는 GDF-8 저해제가 없는 경우의 GDF-8 의 활성에 비해, GDF-8 저해제에 의해 GDF-8 의 활성이 감소되는 것을 말한다. 활성의 감소는 바람직하게는 적어도 약 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 그 이상이다. GDF-8 저해제의 중화 또는 저해 생물 활성의 평가 방법은 당해 기술 분야에 공지되어 있으며, 예를 들어 ActRIIB 분석 (예컨대, Whittemore 등 (2003) BBRC, 300: 965-97; 또는 미국 특허 출원 제 10/253,532 호에 기재된 바와 같은) 및 RGA 분석 (Thies (2001) Growth Factors, 18: 251-259 또는 미국 특허 출원 제 10/253,532 호에 기재된 바와 같은) 을 이용하여 수행될 수 있다.

용어 "치료적 유효 투여량," 또는 "치료적 유효량" 은 환자에서 증상의 예방, 발생 위험의 감소, 또는 경감을 가져오는 화합물의 양, 또는 목적인 생물학적 결과, 예컨대, 개선된 근기능, 임상 증상의 지연된 개시 등을 초래하는 양을 말한다. 유효량은 후속 단락에서 기술되는 바와 같이 측정될 수 있다.

용어 "치료," "치료 방법" 및 그의 동계 언어는 치료 또는 예방/방지 수단을 말한다. 치료를 필요로 하는 것들에는, 이미 특정한 의학적 장애를 갖고 있는 개체 및 궁극적으로는 상기 장애에 걸릴 수 있는 개체가 포함될 수 있다. 치료에는, 본원에 기재된 장애의 임의의 증상의 임의의 감소가 포함된다. 증상의 감소 또는 축소 뿐만 아니라, 치료는 또한 악화가 예상되는 환자의 현상태를 유지하는 것, 또는 증상, 장애, 또는 질환의 개시가 예상되는 개체에서 증상의 발생을 예방하는 것도 포함한다. 치료는 정상으로부터의 하나 이상의 생리적 기능의 감소 또는 축소가 포함할 수 있다. 이는 또한 상태, 장애, 또는 질환의 예상되는 증상 또는 예상되는 진행에 비한 감소를 포함할 수도 있다.

## II. 본 발명의 방법에서 사용되는 성분

본 발명의 방법에서는, 하나 이상의 GDF-8 저해제가 하나 이상의 코르티코스테로이드와 조합 사용된다.

### A. GDF-8 저해제

본 발명의 방법에서 사용되는 GDF-8 저해제에는, GDF-8 에 대한 항체; GDF-8 수용체에 대한 항체; 가용성 GDF-8 수용체 및 그의 단편 (예컨대, ActRIIB 가 면역글로불린의 Fc 부분에 결합된 가용성 ActRIIB 수용체를 포함하는, 미국 특허 출원 제 10/689,677 호에 기재된 바와 같은 ActRIIB 융합 폴리펩티드); GDF-8 프로펩티드 및 그의 변형된 형태 (예컨대, GDF-8 프로펩티드가 면역글로불린의 Fc 부분에 결합된 형태 및/또는 GDF-8 이 마우스의 GDF-8 프로펩티드 내의 asp-99 및 인간 GDF-8 프로펩티드 내의 asp-100 와 같은 아스파르테이트 (asp) 잔기에서 변이된 형태를 포함하는, WO 02/068650 또는 미국 특허 출원 제 10/071,499 호에 기재된 바와 같은 형태); 폴리스타틴 (예컨대, 미국 특허 제 6,004,937 호에 기재된 바와 같은) 또는 폴리스타틴-도메인-함유 단백질 (예컨대, 미국 특허 출원 제 10/369,736 호 및 제 10/369,738 호에 기재된 바와 같은 기타 단백질 또는 GASP-1); 및 미국 특허 출원 제 10/662,438 호에 기재된 바와 같이, GDF-8 활성화에 영향을 미치는 메탈로프로테아제 활성의 조절제가 포함되지만, 이에 제한되지는 않는다.

일부 구현예에서, GDF-8 저해제는 GDF-8 의 수용체에 대한 그의 결합을 차단하는 모노클로날 항체 또는 그의 단편이다. 비제한적이며 예시적인 구현예에는, 비인간 모노클로날 항-GDF-8 항체, 예컨대, 마우스 모노클로날 항체 JA-16 (미국 특허 출원 제 10/253,532 호에 기재된 바와 같은; ATCC 기탁 번호 PTA-4236); 그의 유도체, 예컨대, 인간화된 항체; 및 완전한 인간 모노클로날 항-GDF-8 항체 (예컨대, 미국 특허 출원 제 10/688,925 호에 기재된 바와 같은, Myo29, Myo28, 및 Myo22; 각각, ATCC 기탁 번호 PTA-4741, PTA-4740, 및 PTA-4739) 또는 그의 유도체가 포함된다.

일부 구현예에서, GDF-8 저해제는 GDF-8 또는 GDF-8 수용체에 결합함으로써, GDF-8 가 그의 수용체에 결합하는 것을 차단한다. 다양한 구현예에서, GDF-8 저해제는 친화도 상수 ( $K_a$ ) 로 표현된 GDF-8 에 대한 친화도를 갖는 항-GDF-8 항체이다 (여기서,  $K_a$  는 적어도  $10^5 M^{-1}$ ,  $10^6 M^{-1}$ ,  $10^7 M^{-1}$ ,  $10^8 M^{-1}$ ,  $10^9 M^{-1}$ ,  $10^{10} M^{-1}$ ,  $10^{11} M^{-1}$  또는  $10^{12} M^{-1}$  임). 또한 본원에 인용된 특허 출원, 또는 문헌 [Antibody Engineering, ed. Borrebaeck, 제 2 판, Oxford University Press

발행, 1995 년; 및 Antibodies: A Laboratory Manual, eds. Harlow 등, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988] 에 기재된 임의의 척추동물 종으로부터 유래된 비인간 항체의 유도체 및 인간화된 형태인 저해제는 인간에 이용되는 것으로 생각된다.

## B. 코르티코스테로이드

본 발명의 방법에서 사용되는 코르티코스테로이드에는, 베클로메타손 디프로피오네이트, 부테소나이드, 코르티솔, 텍사메타손, 플루티카손 프로피오네이트, 프레드니손, 모메타손 푸로에이트, 트리암시놀론 아세토나이드, 및 이들의 유도체가 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다.

본원에 개시된 화합물의 약학적으로 허용가능한 염 또한 사용될 수 있다.

코르티코스테로이드는 다양한 약학적 제형으로 시판중이다 (Physician's Desk Reference (PDR) 2003, 57th ed., Medical Economics Company, 2002). 예를 들어, 경구용 제형은 코르티손, 히드로코르티손 Corte<sup>®</sup>, 프레드니손 (Deltasone<sup>®</sup>, Meticorteno, Orasone<sup>®</sup>), 프레드니솔론 (Delta-Cortef<sup>®</sup>, Pediapred<sup>®</sup>, Prelone<sup>®</sup>), 트리암시놀론 (Aristocort<sup>®</sup>, Kenacort<sup>®</sup>), 메틸프레드니솔론 (Medrol<sup>®</sup>), 텍사메타손 (Decadron<sup>®</sup>, Dexone<sup>®</sup>, Hexadrol<sup>®</sup>), 베타메타손 (Celestone<sup>®</sup>), 및 데플라자코르트 (Calcort<sup>®</sup>) 로 시판중이다.

## C. 치료 및 예방법

본 발명은 근기능의 손실, 근무력, 및/또는 코르티코스테로이드-유도 근위축의 치료 방법을 포함하는, 포유동물 대상체의 치료 방법을 제공한다.

본 발명의 방법은 치료적 유효량의 하나 이상의 GDF-8 저해제 및 치료적 유효량의 하나 이상의 코르티코스테로이드를 근기능의 손실, 근량, 근무력, 근위축, 또는 심근병증 중 하나 이상을 치료하기에 충분한 기간 동안 상기 양으로 포유동물에게 투여하는 것을 포함한다. 상기 방법은 근육퇴행위축과 같은 신경근 장애의 치료에 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 근기능은 GDF-8 저해제 또는 코르티코스테로이드의 부재 하에서의 동일한 치료에 비해 개선된다. 치료되는 근육에는, 비복근, 앞정강근 (tibialis anterior), 사두근 (quadriceps), 지신근 (extensor digitorum), 심근, 또는 횡경막근이 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다.

신경근 장애에는, 근기능을 떨어뜨리고, 근손상을 야기하거나, 아니면 근량 및/또는 근기능의 감소를 야기하는 임의의 급성 또는 만성 질환 또는 장애가 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다. 다양한 질환 또는 장애가 공지되어 있으며, 예를 들어, 근육퇴행위축, 예컨대 뒤시엔느 근육퇴행위축, 베커 근육퇴행위축, 에머리 드라이퍼스 (Emery Dreifuss) 근육퇴행위축, 지대형 (limb girdle) 근육퇴행위축, 경직척추증후군 (rigid spine syndrome), 울리히 증후군 (Ullrich syndrome), 후쿠야마 (Fukuyama) 근육퇴행위축, 워커-워버그 증후군 (Walker-Warburg syndrome), 근육-눈-뇌 질환 (muscle-eye-brain disease), 안면견갑상완 (facioscapulohumeral) 근육퇴행위축, 선천성 근육퇴행위축, 근육긴장퇴행위축 (슈타이네르트병; Steinert's disease), 비(非)퇴행위축성 근강직증, 주기적 마비 척수근육위축 (periodic paralysis spinal muscular atrophy), 가족 근위축성측삭경화증 (familial amyotrophic lateral sclerosis), 유전성 운동 및 감각 신경병증, 샤르코-마리-투스병 (Charcot-Marie-Tooth disease), 만성 염증성 신경병증, 원위성 근병증, 근세관성 (myotubular)/중심핵성 (centronuclear) 근병증, 네말린 근병증, 미세핵병 (mini core disease), 중심핵병 (central core disease), 인대병 (desminopathy), 봉입체 근염 (inclusion body myositis), 사립체근육병증 (mitochondrial myopathy), 선천성 근육무력증후군, 포스트-폴리오 근기능장애 (post-polio muscle dysfunction), 및 문헌 [Emery (2002) The Lancet, 359: 687-695; 및 Khurana 등 (2003) Nat. Rev. Drug Disc., 2: 379-386] 에 기재된 장애가 포함된다. 환자는 경증, 중등도 또는 중증의 근무력, 근육 소모, 상기 장애와 관련된 독립 보행에 대한 영향을 나타낼 수 있다. 상기 장애를 갖거나 이의 발병 위험이 있는 환자는 GDF-8 저해제 및 코르티코스테로이드로부터 혜택을 받을 것이다.

일반적으로, GDF-8 저해제와 코르티코스테로이드의 공동투여의 혜택을 받을 환자는 2-10 배 이상의 혈청 CK 활성 증가, 양성 가족력, 근섬유 직경의 비정상적 변화, 디스트로핀 결핍 또는 디스트로핀 유전자의 변이, 근량의 손실, 근무력, 심근병증, 및/또는 근육 강도의 손실을 나타내는 환자이다. 적절한 유전적 시험을 포함하는 진단 절차는 문헌 [Diagnostic Criteria for Neuromuscular Disorders, ed. Emery, 2nd ed., Royal Society of Medicine Press, 1997] 에 기재되어 있다. 조합 치료는 또한 신경근 장애가 아닌 장애에 대한 코르티코스테로이드 치료를 경험하고 있는 대상체, 및/또는 코르티코스테로이드를 너무 오랫동안 장기 사용한 이력이 있어 근무력, 근량의 손실 및/또는 근위축 등에 의해 특징화되는 근기

능의 감소를 나타내거나 그러한 위험이 있는 대상체에게 유익할 수 있다. 코르티코스테로이드 치료가 종종 사용되는 장애의 예로는, 천식, 알레르기, 관절염, 피부과적 장애 (예컨대, 염증성 피부병, 습진, 건선 등), 홍반성루푸스, 및 기타 만성 염증 상태가 포함되지만, 이에 제한되는 것은 아니다.

본 발명의 방법에서 사용되는 투여 방법 및 조성물이 제공된다. 투여는 어떠한 특정 전달 시스템에 제한되지 않으며, 제한 없이, 비경구 (피하, 정맥내, 골수내, 관절내, 근육내, 또는 복강내 주사), 직장내, 국소, 경피, 또는 경구 (예를 들어, 캡슐, 현탁액, 또는 정제로) 를 포함한다. 단일 투여량으로 또는 반복 투여로, 및 다양한 생리적으로 허용가능한 염 형태 중 어느 하나로, 및/또는 허용가능한 약학적 담체 및/또는 첨가제와 함께 약학 조성물의 일부로서 개체에 투여될 수 있다. 생리적으로 허용가능한 염 형태 및 표준 약학 제형 기술 및 부형제는 당업자에게 잘 알려져 있다 (예컨대, Physician's Desk Reference (PDR) 2003, 57th ed., Medical Economics Company, 2002; 및 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, eds. Gennado 등, 20th ed, Lippincott, Williams & Wilkins, 2000 에 기재된 바와 같음).

GDF-8 저해제 및 코르티코스테로이드는 동시에, 또는 중복 또는 비(非)중복적 간격에 걸쳐 연속적으로 투여된다. 연속 투여 시, GDF-8 저해제 및 코르티코스테로이드는 임의의 순서로 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 중복 또는 비중복적인 간격의 길이는 2 주, 4 주, 6 주, 12 주, 24 주 또는 48 주 이상이다.

코르티코스테로이드에 대해, 처방의사는 통상적으로 투여량 및 투여계획 (regimen) 을 선택한다. 예를 들어, 프레드니손은 하루에 체중 1 kg 당 약 0.1 ~ 2 mg, 가장 통상적으로는 0.5 ~ 1 mg/kg/일, 예컨대, 0.75 mg/kg/일로 사용된다. 코르티코스테로이드는 체중 1 kg 당 약 1 ~ 14 mg 의 평균 1 주 투여량으로 투여될 수 있으며, 상기 투여량에는 1 주에 체중 1 kg 당 1, 2, 5, 7, 10, 12 또는 15 mg 이 포함되고, 처방 의사는 투여 빈도를 적절히 선택할 수 있다. 매시, 매일, 격주, 매주, 또는 다른 주기적 간격을 포함하는 주기적 또는 연속적 코르티코스테로이드 투여, 단일 투여량을 선택할 수 있다. 코르티코스테로이드는 경구적으로 또는 하루에 1 ~ 4 회 주사에 의해 투여된다. 코르티코스테로이드 투여량은 조합 치료에 맞게 최적화될 수 있으며, 투여량을 낮추어 현저한 투여 부작용을 감소시킬 수 있다.

GDF-8 저해제는 단독으로, 또는 코르티코스테로이드 또는 다른 화합물과의 혼합물로 투여될 수 있다. GDF-8 저해제는 생리학, 증상의 경중 및 질병의 진행도에 따라, 대략 1  $\mu$ g/kg 내지 25 mg/kg 의 투여량으로 투여될 수 있다. 매시, 매일, 격주, 매주, 격월, 매월 또는 다른 적절한 간격으로부터 선택된 GDF-8 저해제 투여량 간의 간격을 갖는 주기적 또는 연속적 투여, 단일 투여를 선택할 수 있다. 예를 들어, 항체와 같은 GDF-8 저해제는 정맥내 (IV) 주입, 복강내 또는 피하 주사에 의해 약 0.1 ~ 10 mg/kg 투여량으로 매주 투여되도록 설정하여 외래 환자에 투여될 수 있다. 일반적으로, GDF-8 저해제의 적절한 치료적 유효 투여량은 치료 임상상에 의해 선택될 수 있으며, 대략 1  $\mu$ g/kg 내지 20 mg/kg, 1  $\mu$ g/kg 내지 10 mg/kg, 1  $\mu$ g/kg 내지 1 mg/kg, 10  $\mu$ g/kg 내지 1 mg/kg, 10  $\mu$ g/kg 내지 100  $\mu$ g/kg, 100  $\mu$ g 내지 1 mg/kg, 및 500  $\mu$ g/kg 내지 5mg/kg 의 범위일 것이다. GDF-8 저해제의 예시적인 유효 투여량에는 대략 0.1, 0.3, 0.5, 1, 5, 10, 또는 20 mg/kg/wk 가 포함된다. 부가적으로, 실시예 또는 문헌 [the Physician's Desk Reference (PDR) 2003, 57th ed., Medical Economics Company, 2002] 에 제시된 특정 투여량이 사용될 수 있다.

#### D. 치료 효능에 대한 화합물의 시험 방법

본 발명은 또한 동물, 예컨대, 설치류 또는 영장류에서, 치료용 화합물이 하나 이상의 GDF-8 저해제 및 하나 이상의 코르티코스테로이드와 조합 투여될 경우 효능이 있는지 여부를 시험하기 위한 방법을 제공한다. 일부 구현예에서, 화합물의 효능을 평가하는 방법은 하기 단계를 포함한다: 첫번째 동물에 상기 화합물을 GDF-8 저해제 및 코르티코스테로이드와 조합 투여하는 단계; 두번째 동물에 GDF-8 저해제 및 코르티코스테로이드를 투여하는 단계; 투여 후 첫번째 및 두번째 동물에서 근기능의 수준을 측정하는 단계; 근기능의 수준을 비교하는 단계. 첫번째 동물의 수준이 두번째 동물의 수준보다 낮을 경우, 이는 상기 화합물 또는 상기 조합물이 효능이 있음을 나타낸다.

다른 구현예에서, 상기 화합물을 GDF-8 저해제 및/또는 코르티코스테로이드와 조합 투여한 경우 근육퇴행위축의 치료에 있어서의 효능에 대해 평가할 수 있다.

몇몇 동물 모델이 상기 평가 목적으로 이용가능하다. 예를 들어, *mdx* 모델은 예를 들어, 문헌 [Torres 등 (1987) Brain, 110: 269-299, 및 Hoffman 등 (1987) Science, 238: 347-350] 에 기재되어 있다. 극히 높은 수준의 CK 는 *mdx* 마우스 및 DMD 인간에서 횡문근형질막 손상으로 인한 디스트로핀-결핍과 일치하는 것으로 알려져 있다 (Bulfield 등 (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:1189-1192 ; 및 Matsuda 등 (1995) J. Biochem. (Tokyo), 118: 959-64). 다른 예로서, 하기의 두가지 다른 동물 모델이 사용될 수 있다: *utr-1-mdx* 마우스 (Gillis (2002) Neuromuscul. Disord., 12(1):90-84; 및 Deconick 등 (1997) Cell, 90: 729-738) 및 *nu-1-mdx* 마우스 (Morrison 등 (2000) Lab. Invest., 80:881-891).

**도면의 간단한 설명**

도 1A 및 1B 는, 항-GDF-8 중화 항체 JA-16 (60 mg/kg, 1 주에 1 회) 및 프레드니손 (2 mg/kg, 1 주에 3 회), 프레드니손 단독으로 4 주간 치료된 *mdx* 마우스의 횡경막근의 조직구조학적 분석 결과를 도시한다. 도 1A 는 시험 종료시의 근섬유 위축의 심각성을 0-4 등급으로 나타낸다.

도 1B 는 시험 종료시 영향을 받은 (위축된) 근섬유의 비율을 나타낸다. 각 막대는 한마리의 마우스를 나타낸다.

**실시예**

**실시예 1: 퇴행위축성 근육에 대한 GDF-8 중화 항체의 효과**

근육퇴행위축을 개선시키기 위한 GDF-8 의 저체 내 저해능을 DMD 의 *mdx* 마우스 모델에서 시험하였다. 5 내지 7 주령 수컷 C57BL/10ScSn-*mdx*/j 마우스 (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME) 에 GDF-8 중화 마우스 항체 JA-16 (60 mg/kg, 첫 주에는 이중 투여, n = 11), 및 비히클 단독 (대조군, n = 10) 을 12 주 동안 매주 복강내 주사하여 치료하였다. 이들 마우스를 또한 디스트로핀이 결핍되지 않은 동일한 배경 균주의 마우스 (C57BL/10, n = 12) 와 비교하였다.

치료 전, 도중 및 후에 체중을 측정하였다. 비히클 대조군의 마우스에 비해 치료군의 마우스의 체중이 증가하였다. 결과를 표 1 에 나타낸다.

**[표 1]**

전체 체중 (g) 평균 값과 SEM			
실험한 주	JA-16 ( <i>mdx</i> )	비히클 대조군 ( <i>mdx</i> )	비히클 대조군 (비- <i>mdx</i> )
0	21.92 ± 0.42	22.51 ± 0.36	19.18 ± 0.40
4	27.82 ± 0.43	26.76 ± 0.60	24.14 ± 0.27
8	29.59 ± 0.54	28.49 ± 0.58	25.31 ± 0.28
12	32.42 ± 0.57	31.12 ± 0.73	27.17 ± 0.39

또한, 투여 6 주 및 10 주 후에 마우스에 악력 시험을 행하였다. 4 주 및 10 주에서의 치료군의 마우스는 비히클 대조군의 마우스보다 악력 강도가 각각 9 % (p = 0.09) 및 19 % (p < 0.05) 더 컸다. 결과를 표 2 에 나타낸다.

**[표 2]**

악력 강도 (lb) 평균 값과 SEM			
실험한 주	JA-16 ( <i>mdx</i> )	비히클 대조군 ( <i>mdx</i> )	비히클 대조군 (비- <i>mdx</i> )
6	0.261 ± 0.011	0.239 ± 0.006	0.239 ± 0.011
10	0.249 ± 0.006	0.210 ± 0.014	0.247 ± 0.010

치료군 및 비히클 대조군 사이의 근량 차를 정량하기 위하여, 동물들을 희생시키고 사두근 및 비복근을 절개하여 중량을 재었다. 치료군의 동물들로부터의 사두근의 중량이 대조군보다 13 % 더 나갔다 (0.371 ± 0.009 대 0.317 ± 0.008 g; p < 0.05). 치료군의 동물들로부터의 비복근의 중량이 대조군보다 17 % 더 나갔다 (0.223 ± 0.008 대 0.197 ± 0.005 g; p < 0.0005).

**실시예 2: 정상 및 퇴행위축성 근육에 대한 GDF-8 중화 항체 및 프레드니손의 효과**

수컷 C57BL/10ScSn-*mdx*/j 및 C57BL/10 (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME). 마우스 모노클로날 항-GDF-8 항체 JA-16, 프레드니손 (P-9901, Sigma), 또는 비히클 (땅콩 오일) 을 5-7 주령에서 시작하여 4 주 동안 주사하였다. 마우스를 주 당 60 mg/kg 의 투여량 (첫 주에는 이중 투여) 의 JA-16 을 복강내 (IP) 주사하거나, 2 mg/kg 의 프레드니손을 주 당 3 회 피하 (SC) 주사하였다.

치료 전, 치료 도중 및 치료 후에 체중 및 악력 강도를 측정하였다. 결과를 각각 표 3 및 표 4 에 나타낸다.

[표 3]

총 체중 (평균 ± SEM, g)				
실험한 주	프레드니손 + JA-16 ( <i>mdx</i> )	프레드니손 ( <i>mdx</i> )	비히클 대조군 ( <i>mdx</i> )	비히클 대조군 (비- <i>mdx</i> )
0	17.7 ± 1.6	17.6 ± 1.8	16.0 ± 1.9	19.2 ± 0.4
1	22.1 ± 1.4	20.9 ± 1.8	19.1 ± 2.1	22.4 ± 0.3
2	25.9 ± 1.2	24.2 ± 1.6	23.7 ± 1.4	23.8 ± 0.4
3	26.5 ± 1.1	24.7 ± 1.5	24.8 ± 1.2	24.9 ± 0.4
4	28.1 ± 1.2	25.9 ± 1.6	25.7 ± 1.4	25.6 ± 0.5

[표 4]

악력 강도 (평균 ± SEM, lb)				
실험한 주	프레드니손 + JA-16 ( <i>mdx</i> )	프레드니손 ( <i>mdx</i> )	비히클 대조군 ( <i>mdx</i> )	비히클 대조군 (비- <i>mdx</i> )
0	0.161 ± 0.018	0.144 ± 0.010	0.164 ± 0.014	0.164 ± 0.009
3	0.219 ± 0.019	0.177 ± 0.006	0.168 ± 0.005	0.212 ± 0.010
4	0.281 ± 0.011	0.213 ± 0.011	0.217 ± 0.010	0.234 ± 0.018

연구 종료시, 마우스를 희생시키고 비복근 및 사두근을 절개하고 중량을 재어 근량을 평가하였다. 결과를 표 5 에 나타낸다. 프레드니손의 생물학적 활성을 확인하기 위하여, 별도의 마우스 무리로부터의 혈청을 모으고 IL6 및 IL1β (Ani Lytics, Inc., Gaithersburg, MD) 에 대하여 분석하였다. 프레드니손으로 처리한 마우스의 혈청에서 두가지 사이토카인이 모두 감소하였음을 알았다.

[표 5]

근육 중량 (평균 ± SEM, g)				
근육	프레드니손 + JA-16 ( <i>mdx</i> )	프레드니손 ( <i>mdx</i> )	비히클 대조군 ( <i>mdx</i> )	비히클 대조군 (비- <i>mdx</i> )
비복	0.364 ± 0.019	0.287 ± 0.023	0.299 ± 0.019	0.280 ± 0.010
사두	0.527 ± 0.030	0.417 ± 0.029	0.415 ± 0.030	0.392 ± 0.010

따라서, 상기 결과는 근육퇴행위축에 있어서, GDF-8 저해제, 즉 항-GDF-8 항체, 및 프레드니손의 투여가 프레드니손 단독 치료 또는 비히클 치료에 비하여 근량 및 강도를 증가시키는데 효과적이라는 것을 입증한다.

게다가, 이번 연구에서, JA16 + 프레드니손 치료 (실시예 2) 의 효과가 JA16 단독 치료 (실시예 1) 의 효과보다 더 컸다. 치료 4 주 후, 비히클과 비교한 체중 증가는 JA16 단독 치료에서보다 JA16 + 프레드니손 치료에서 더욱 극적이었다.

JA16 + 프레드니손 치료의 4 주 후, 비히클 대조군과 비교한 악력 강도의 증가는 JA16 단독 치료의 6 주 또는 10 주 후의 증가보다 더 컸다. JA16 + 프레드니손 치료의 4 주 후의 근량에 있어서의 비히클 대조군에 대한 증가 또한 JA16 단독 치료의 12 주 후의 증가보다 더 컸다.

**실시예 3: 프레드니손-유도 근위축에 대한 GDF-8 중화 항체의 효과**

실시예 2 에 기재한 바와 같이 처리한 마우스에서, 실시예 1 에 기재한 바와 같이 횡경막근을 조직학적으로 조사하였다. 치료군의 연구과제를 알지 못하는 독립적인 병리학 랩 (lab) 에 의해 형태학적 변화를 평가하였다. 심각성 등급을 0 내지 4 의 등급으로 할당하였다 (0 = 없음; 1 = 최소; 2 = 경미함; 3 = 보통; 및 4 = 현저함). 결과를 도 1A (심각성 등급) 및 도 1B (위축된 근섬유의 퍼센트) 에 나타낸다. 그 결과는 프레드니손과 함께 항-GDF-8 항체를 투여하면 프레드니손-유도 근위축이 감소된다는 것을 나타낸다.

**실시예 4: 근육퇴행위축의 치료**

인간에서의 MD 치료의 예로서, Myo29 항체를 프레드니손 또는 프레드니솔론과 조합하여 투여하였다. 비제한적인 예시적 치료 투여계획 및 결과를 표 6 에 요약한다. 다른 치료 투여계획이, 상기 논의한 바와 같은 코르티코스테로이드 및 GDF-8 저해제 투여량 및 투약 범위를 이용하여 치료의에 의해 결정될 수 있다.

**[표 6]**

환자 번호	치료 투여계획	치료 목적
환자 1	10 mg/kg/주의 Myo29 를 0.75 mg/kg/일의 프레드니손과 함께, 2 년 동안 또는 치료가 필요한 만큼 계속하여, 격주로 주사하여 투여함.	프레드니손 단독의 이익을 증가하는, 근량, 강도, 및 기능의 유지 및/또는 증가
환자 2	0.1 mg/kg/주의 Myo29 를 1.0 mg/kg/일의 프레드니손과 함께, 치료가 필요한 만큼 계속하여 매주 정맥주사하여 투여함.	프레드니손 단독의 이익을 증가하는, 근량, 강도, 및 기능의 유지 및/또는 증가
환자 3	1 mg/kg/주의 Myo29 를 0.50 mg/kg/일의 프레드니손과 함께, 2 년 동안 또는 치료가 필요한 만큼 계속하여 매달 주사하여 투여함.	프레드니손 단독의 이익을 증가하는, 근량, 강도, 및 기능 또는 아직은 손상되지 않은 근육 군에서의 증가된 기능 보전의 유지 및/또는 증가
환자 4	20 mg/kg/주의 Myo29 를 0.75 mg/kg/일의 프레드니손과 함께, 2 년 동안 또는 치료가 필요한 만큼 계속하여 정맥주사로 단일 투여량으로 투여함.	프레드니손 단독의 이익을 증가하는, 근량, 강도, 및 기능 또는 근육 군에서의 증가된 기능 보전의 유지 및/또는 증가
환자 5	1 mg/kg/주의 Myo29 를 5 mg/kg/주의 프레드니손과 함께, 필요한 만큼 정맥주사로 단일 투여량으로 투여함.	프레드니손 단독의 이익을 증가하는, 근량, 강도, 및 기능의 유지 및/또는 증가
환자 6	1 mg/kg/주의 Myo29 를 2 mg/kg/주의 프레드니손과 함께, 2 개월 이상 또는 필요한 만큼 매주 정맥주사하여 투여함.	프레드니손 단독의 이익을 증가하는, 근량, 강도, 및 기능의 유지 및/또는 증가
환자 7	10 mg/kg/주의 Myo29 를 7 mg/kg/주의 프레드니손과 함께, 6 개월 이상 또는 치료가 필요한 만큼 계속하여 피하주사에 의해 단일 투여량으로 투여함.	프레드니손 단독의 이익을 증가하는, 근량, 강도, 및 기능의 유지 및/또는 증가
환자 8	20 mg/kg/주의 Myo29 를 14 mg/kg/주의 프레드니손과 함께, 2 년 동안 또는 치료가 필요한 만큼 계속하여 매주 주사하여 투여함.	프레드니손 단독의 이익을 증가하는, 근량, 강도, 및 기능의 유지 및/또는 증가
환자 9	1 mg/kg/주의 Myo29 를 10 mg/kg/주의 프레드니손과 함께, 1 개월 이상 또는 치료가 필요한 만큼 계속하여 격월로 정맥주사하여 투여함.	프레드니손 단독의 이익을 증가하는, 근량, 강도, 및 기능의 유지 및/또는 증가
환자 10	0.3 mg/kg/주의 Myo29 를 0.75 mg/kg/일의 프레드니손과 함께, 1 년 동안 또는 치료가 필요한 만큼 계속하여 매달 피하주사하여 투여함.	프레드니손 단독의 이익을 증가하는, 근량, 강도, 및 기능 또는 근육 군에서의 증가된 기능 보전의 유지 및/또는 증가

인용한 모든 간행물 및 특허 및 본 명세서에서 등록 또는 데이터베이스 참조 번호로 식별된 서열은 그 전체가 참조병합되어 있다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

치료적 유효량의 하나 이상의 GDF-8 저해제 및 치료적 유효량의 하나 이상의 코르티코스테로이드를 근기능 저하를 치료하기에 충분한 기간 동안 상기 양으로 포유동물에 투여하는 것을 포함하는, 근기능이 저하된 포유동물의 치료 방법.

청구항 2.

제 1 항에 있어서, 하나 이상의 근육의 근기능이 근량, 근육 수축력, 혈청 CK 농도 또는 근육 형태학으로부터 선택된 하나 이상의 파라미터에 의해 평가되는 방법.

청구항 3.

제 1 항에 있어서, 근기능이 치료되는 근육이 비복근 (gastrocnemius), 앞정강근 (tibialis anterior), 사두근 (quadriceps), 장지신근 (extensor digitorum longus), 심근 또는 횡경막근 중 하나 이상으로부터 선택되는 방법.

청구항 4.

제 1 항에 있어서, 상기 포유동물의 치료가 상기 포유동물의 체중 증가를 야기하는 방법.

청구항 5.

제 1 항에 있어서, 상기 포유동물의 치료가 상기 포유동물의 악력 (grip) 강도 증가를 야기하는 방법.

청구항 6.

치료적 유효량의 하나 이상의 GDF-8 저해제 및 치료적 유효량의 하나 이상의 코르티코스테로이드를, 근육 강도의 손실을 치료하기에 충분한 기간 동안 상기 양으로 포유동물에 투여하는 것을 포함하는, 근무력의 치료 방법.

청구항 7.

코르티코스테로이드-유도 근위축을 치료하기에 충분한 치료적 유효량의 하나 이상의 GDF-8 저해제를 포유동물에 투여하는 것을 포함하는, 코르티코스테로이드-유도 근위축의 치료 방법.

청구항 8.

치료적 유효량의 하나 이상의 GDF-8 저해제 및 치료적 유효량의 하나 이상의 코르티코스테로이드를, 신경근 장애를 치료하기에 충분한 기간 동안 상기 양으로, 신경근 장애를 갖거나 상기 장애에 걸릴 위험이 있는 포유동물에 투여하는 것을 포함하는, 신경근 장애의 치료 방법.

청구항 9.

제 8 항에 있어서, 신경근 장애가 근육퇴행위축인 방법.

**청구항 10.**

제 9 항에 있어서, 근육퇴행위축이 뒤시엔느 (Duchenne) 근육퇴행위축인 방법.

**청구항 11.**

제 9 항에 있어서, 근육퇴행위축이 베커 (Becker) 근육퇴행위축인 방법.

**청구항 12.**

제 1 항 내지 제 11 항 중 어느 한 항에 있어서, 포유동물이 인간인 방법.

**청구항 13.**

제 1 항 내지 제 11 항 중 어느 한 항에 있어서, 코르티코스테로이드가 하기 중 하나 이상으로부터 선택되는 방법:

(a) 하나 이상의 베클로메타손 디프로피오네이트, 부테소나이드, 코르티솔, 텍사메타손, 플루티카손 프로피오네이트, 모메타손 푸로에이트, 프레드니손 또는 트리암시놀론 아세토나이드;

(b) 하나 이상의 베클로메타손 디프로피오네이트, 부테소나이드, 코르티솔, 텍사메타손, 플루티카손 프로피오네이트, 모메타손 푸로에이트, 프레드니손 또는 트리암시놀론 아세토나이드의 유도체; 또는

(c) 하나 이상의 베클로메타손 디프로피오네이트, 부테소나이드, 코르티솔, 텍사메타손, 플루티카손 프로피오네이트, 모메타손 푸로에이트, 프레드니손 또는 트리암시놀론 아세토나이드의 약학적으로 허용가능한 염.

**청구항 14.**

제 1 항 내지 제 11 항 중 어느 한 항에 있어서, 코르티코스테로이드가 프레드니손 또는 프레드니솔론인 방법.

**청구항 15.**

제 1 항 내지 제 11 항 중 어느 한 항에 있어서, 코르티코스테로이드가 0.1 내지 2.0 mg/kg/일의 투여량으로 투여되는 방법.

**청구항 16.**

제 1 항 내지 제 11 항 중 어느 한 항에 있어서, 코르티코스테로이드가 경구 투여되는 방법.

**청구항 17.**

제 1 항 내지 제 11 항 중 어느 한 항에 있어서, GDF-8 저해제가 GDF-8 에 대한 항체, GDF-8 수용체에 대한 항체, 가용성 GDF-8 수용체, GDF-8 프로펩티드, GDF-8 의 소분자 저해제, 폴리스타틴, 또는 폴리스타틴-도메인-함유 단백질로부터 선택되는 방법.

**청구항 18.**

제 17 항에 있어서, GDF-8 에 대한 항체가 JA-16, Myo29, Myo28, 또는 Myo22 로부터 선택되는 방법.

**청구항 19.**

제 17 항에 있어서, GDF-8 프로펩티드가 아스파르테이트 잔기에서 변이되는 방법.

**청구항 20.**

제 17 항에 있어서, GDF-8 프로펩티드가 면역글로불린의 Fc 부분에 결합되는 방법.

**청구항 21.**

제 17 항에 있어서, GDF-8 수용체가 ActRIIB 인 방법.

**청구항 22.**

제 17 항에 있어서, GDF-8 수용체가 면역글로불린의 Fc 부분에 결합되는 방법.

**청구항 23.**

제 17 항에 있어서, GDF-8 저해제가 폴리스타틴인 방법.

**청구항 24.**

제 17 항에 있어서, 폴리스타틴-도메인-함유 단백질이 GASP-1 인 방법.

**청구항 25.**

제 17 항에 있어서, GDF-8 저해제가 소분자 저해제인 방법.

**청구항 26.**

제 1 항에 있어서, 상기 방법이 상기 포유동물의 심근병증의 치료를 야기하는 방법.

**청구항 27.**

제 1 항에 있어서, GDF-8 저해제 및 코르티코스테로이드가 동시에 투여되는 방법.

**청구항 28.**

제 1 항에 있어서, GDF-8 저해제 및 코르티코스테로이드가 연속적으로 투여되는 방법.

**청구항 29.**

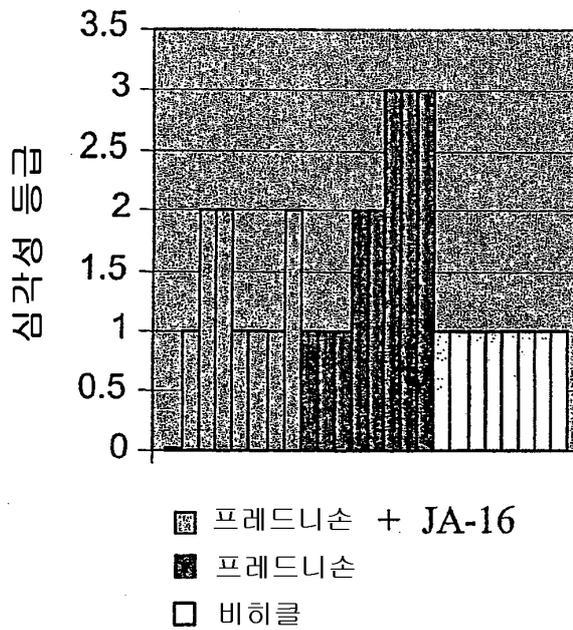
제 8 항에 있어서, GDF-8 저해제 및 코르티코스테로이드가 동시에 투여되는 방법.

**청구항 30.**

제 8 항에 있어서, GDF-8 저해제 및 코르티코스테로이드가 연속적으로 투여되는 방법.

**도면**

도면1A



도면1B

