202043482

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本　(11)公開編號：TW 202043482 A

(43)公開日： 中華民國 109 (2020) 年 12 月 01 日

(21)申請案號：109105227　(22)申請日： 中華民國 105 (2016) 年 07 月 29 日

(51)Int. Cl.：　*C12Q1/68*　*(2018.01)*

(30)優先權：2015/07/31　美國　62/199,434

2015/12/17　美國　62/268,788

(71)申請人：英商梅迪繆思有限公司 (英國) MEDIMMUNE LIMITED　(GB)

英國

美商阿斯特捷利康有限責任公司 (美國) ASTRAZENECA PHARMACEUTICALS LP　(US)

美國

(72)發明人：卡克爾　拉合 KAKKER, RAHUL (US)；達維拉而傑　曼德哈夫　N DEVALARAJA, MADHAV N. (US)；艾斯克特　凱瑟林　珍 ESCOTT, KATHERINE JANE (GB)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：有　申請專利範圍項數：120 項　圖式數：11　共 167 頁

(54)名稱

用於治療海帕西啶(HEPCIDIN)介導之病症之方法

(57)摘要

本發明提供用於治療海帕西啶(hepcidin)介導之病症之方法。

Methods for treating hepcidin-mediated disorders are provided.

202043482
專利案號：109105227
原申請案號：107134726
202043482

【發明摘要】

【中文發明名稱】

用於治療海帕西啶(HEPCIDIN)介導之病症之方法

【英文發明名稱】

METHODS FOR TREATING HEPCIDIN-MEDIATED DISORDERS

【中文】

本發明提供用於治療海帕西啶(hepcidin)介導之病症之方法。

【英文】

Methods for treating hepcidin-mediated disorders are provided.

【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

用於治療海帕西啶(HEPCIDIN)介導之病症之方法

【英文發明名稱】

METHODS FOR TREATING HEPCIDIN-MEDIATED DISORDERS

【技術領域】

【先前技術】

肽激素海帕西啶在全身鐵恆定中起主要作用。Hentze等人，*Cell* 142:24-38 (2010)。已知海帕西啶表現受*TMPRSS6*基因之產物間質蛋白酶-2影響，該間質蛋白酶-2為II型跨膜絲胺酸蛋白酶。已顯示*TMPRSS6*基因之常見變異體與鐵狀態相關，Benyamin等人，*Nature Genetics* 41(11):1173-1175 (2009)，其中已顯示在海帕西啶表現及血液血紅素含量方面，rs855791 SNP (2321G→A；A736V)與天然存在的變型相關。

海帕西啶表現亦涉及於人類鐵病症(Pietrangelo, *J. Hepatology* 54:173-181 (2011))及慢性疾病貧血(ACD)(亦稱為發炎貧血(AI))中。ACD流行於患有慢性感染、自體免疫疾病、癌症及慢性腎病(CKD)之患者中。Sun等人, *Am. J. Hematol.* 87(4):392-400 (2012)。

在此項技術中需要治療海帕西啶介導之病症之方法。

【發明內容】

已證實在患有海帕西啶介導之病症(包括慢性疾病貧血及海帕西啶介導之細胞毒性)之患者中，降低之IL-6信號傳導提供臨床效益，但僅在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本的彼等患

者中，其中在具有升高之IL-6含量之患者中具有最大作用。

因此，在第一態樣中，提供治療海帕西啶介導之病症之方法。該等方法包含向患有海帕西啶介導之病症之患者投與治療有效量之IL-6拮抗劑，該患者已經確定具有*TMPRSS6* rs855791 SNP處之主要對偶基因之至少一個複本。在第一系列之實施例中，先前已確定患者具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本。在另一系列實施例中，方法進一步包含確定患者具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之早前步驟。通常，患者具有升高之治療前血清IL-6含量。在一些實施例中，患者具有升高之治療前血清CRP含量。

在各種實施例中，海帕西啶介導之病症為慢性疾病貧血。

在一些貧血實施例中，患者為男性且治療前血紅素(Hb)含量小於14 g/dl；治療前Hb含量小於13 g/dl；治療前Hb含量小於12 g/dl；或治療前Hb含量小於11 g/dl。在一些貧血實施例中，患者為女性且治療前Hb含量小於12 g/dl；治療前Hb含量小於11 g/dl；治療前Hb含量小於10 g/dl；或治療前Hb含量小於9 g/dl。

在一些貧血實施例中，患者為男性且治療前血容比小於40%，小於35%或為30-34%。在一些實施例中，患者為女性且治療前血容比小於36%、小於35%、小於34%、小於33%、小於32%或小於31%。在一些實施例中，女性患者之治療前血容比為26-29%。

在各種貧血實施例中，患者已接受至少一次紅血球生成刺激劑(ESA)之治療前投與。在某些實施例中，患者已接受至少一次ESA之治療前投與且具有正常Hb含量或正常血容比。在各種實施例中，患者已接受至少一次鐵補充劑之治療前投與。在某些實施例中，患者已

接受至少一次鐵補充劑之治療前投與且具有正常Hb含量或正常血容比。在各種實施例中，患者已接受至少一次血液或紅血球濃厚液之治療前輸注。在某些實施例中，患者已接受至少一次血液或紅血球濃厚液之治療前輸注且具有正常Hb含量或正常血容比。

在各種貧血實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使患者之Hb含量增加而高於治療前含量之時間期。在各種實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使患者之血容比增加而高於治療前含量之時間期。在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以在不降低患者之Hb含量的情況下使患者之ESA劑量減少而低於治療前即刻存在之含量的時間期。在某些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以在不降低患者之血容比的情況下使患者之ESA劑量減少而低於治療前即刻存在之含量的時間期。

在各種實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續以下的時間期：足以使患者之ESA劑量相較於治療前ESA劑量減少至少10%、使患者之ESA劑量相較於治療前ESA劑量減少至少20%、使患者之ESA劑量相較於治療前ESA劑量減少至少30%、使患者之ESA劑量相較於治療前ESA劑量減少至少40%，或使患者之ESA劑量相較於治療前ESA劑量減少至少50%。

在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以逆轉功能性鐵缺乏之時間期。

在一系列實施例中，海帕西啶介導之病症為慢性疾病為慢性腎病(CKD)Z 慢性疾病貧血。

在一些CKD實施例中，患者具有KDOQI 1期慢性腎病、KDOQI 2期慢性腎病、KDOQI 3期慢性腎病、KDOQI 4期慢性腎病或KDOQI 5期慢性腎病。在特定實施例中，患者具有KDOQI 5期慢性腎病。

在一些CKD實施例中，患者患有心腎症候群(CRS)。在特定實施例中，患者患有4型CRS。在某些實施例中，患者已接受至少一次治療前透析治療。

在一些CKD實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續相較於年齡匹配且疾病匹配之歷史對照足以降低心血管(CV)死亡率之時間期。

在各種實施例中，海帕西啶介導之病症為慢性疾病為慢性發炎疾病之慢性疾病貧血。

在一些實施例中，慢性發炎疾病為類風濕性關節炎(RA)。在某些實施例中，患者之治療前DAS28得分大於5.1。在一些實施例中，患者之治療前DAS28得分為3.2至5.1。在特定實施例中，患者之治療前DAS28得分小於2.6。在所選擇實施例中，患者之治療前RA為中度活動性至重度活動性的。

在一些RA實施例中，患者已接受至少一次甲胺喋呤之治療前投與。在一些實施例中，患者已接受至少一次TNFα拮抗劑之治療前投與。在所選實施例中，TNFα拮抗劑選自由以下組成之群:依那西普(etanercept)、阿達木單抗(adalimumab)、英利昔單抗(infliximab)、賽妥珠單抗(certolizumab)及戈利木單抗(golimumab)。

在一些RA實施例中，患者已接受至少一次IL-6拮抗劑之治療前投與。在某些實施例中，治療前IL-6拮抗劑為托珠單抗(tocilizumab)

或托法替尼(tofacitinib)。

在一較佳系列之實施例中，治療IL-6拮抗劑為MEDI5117。

在各種實施例中，海帕西啶介導之病症慢性疾病選自由以下組成之群之慢性疾病貧血：幼年期特發性關節炎、僵直性脊椎炎、斑狀牛皮癬、牛皮癬性關節炎、發炎性腸病、克羅恩氏病(Crohn's disease)及潰瘍性結腸炎。

在一些實施例中，海帕西啶介導之病症為慢性疾病為癌症之慢性疾病貧血。在某些實施例中，癌症選自由以下組成之群：實體腫瘤、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、血液癌、多發性骨髓瘤、白血病、慢性淋巴細胞白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、淋巴瘤、霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)及肝腺瘤。

在一些實施例中，海帕西啶介導之病症為慢性疾病貧血，其中慢性疾病為慢性感染。

在一些實施例中，海帕西啶介導之病症為慢性疾病貧血，其中慢性疾病為充血性心臟衰竭(CHF)。

在一些實施例中，海帕西啶介導之病症為鐵難治性缺鐵性貧血(IRIDA)。

在一些實施例中，海帕西啶介導之病症為急性冠狀動脈症候群。在特定實施例中，患者在第一次投與IL-6拮抗劑之前之60天內、在第一次投與IL-6拮抗劑之前之30天內、在第一次投與IL-6拮抗劑之前之48小時內或在第一次投與IL-6拮抗劑之前之24小時內已罹患心肌梗塞(MI)。

在一些急性冠狀動脈症候群實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗

劑劑量，且持續相較於治療前程度足以改良心肌收縮性之時間期。在一些急性冠狀動脈症候群實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續相較於治療前程度足以提高心臟射血分數之時間期。在一些急性冠狀動脈症候群實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續相較於治療前程度足以降低心臟纖維化之時間期。

在一些實施例中，海帕西啶介導之病症為卡斯爾曼氏病(Castleman's Disease)。

在另一態樣中，提供用於改良對海帕西啶介導之病症之治療的方法。方法包含向患有海帕西啶介導之病症之患者中斷IL-6拮抗劑之投與，其中已確定該患者針對TMPRSS6 rs855791次要對偶基因為同型接合的。

在另一態樣中，提供藉由中斷為低效之療法而改良對海帕西啶介導之病症之治療的方法，從而在不喪失治療功效之情況下降低副作用且降低成本。該等方法包含向患有海帕西啶介導之病症之患者中斷IL-6拮抗劑之投與，其中已確定該患者針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合的。在一系列實施例中，先前已確定患者針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合的。在另一系列實施例中，方法進一步包含確定患者針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合之早前步驟。在典型實施例中，患者具有升高之治療前血清IL-6含量。在各種實施例中，患者具有升高之治療前血清CRP含量。在各種實施例中，患者患有選自本文中部分5.4.1中所描述之彼等病症之海帕西啶介導之病症。在某些實施例中，患者患有慢性疾病貧血。

實例2、3及5中所呈現之資料表明在具有升高之治療前IL-6含量

且具有*TMPRSS6*主要對偶基因之至少一個複本、甚至不存在貧血之個體中，IL-6拮抗劑提供治療效益。因此，在另一態樣中，提供用於治療無慢性發炎貧血之患者中的IL-6介導之發炎病症之方法。該等方法包含向患有IL-6介導之發炎病症之個體、通常人類患者投與治療有效量之IL-6拮抗劑，其中該患者不患有貧血，且其中已確定該個體具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本。在第一系列之實施例中，先前已確定個體具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本。在另一系列實施例中，方法進一步包含確定個體具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之早前步驟。通常，方法肯定地排除治療針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合之個體。通常，患者具有升高之治療前血清IL-6含量。

在治療方法中之任一者之特定實施例中，患者具有升高之治療前血清IL-6含量。在某些實施例中，患者之治療前血清IL-6含量大於2.5 pg/ml、大於5 pg/ml、大於7.5 pg/ml、大於10 pg/ml或大於12.5 pg/ml。

在各種實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使患者血清中之游離IL-6含量降低而低於治療前含量之時間期。在特定實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使游離IL-6含量相較於治療前含量降低至少10%、相較於治療前含量降低至少20%或相較於治療前含量降低至少50%之時間期。

在治療方法中之任一者之特定實施例中，患者具有升高之治療前C反應蛋白(CRP)含量。在某些實施例中，患者之治療前CRP含量大於2 mg/ml、大於3 mg/ml、大於5 mg/ml、大於7.5 mg/ml或甚至大於

10 mg/ml。

在各種實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使患者之CRP含量降低而低於治療前含量之時間期。在特定實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使患者之CRP含量相較於治療前含量降低至少50%之時間期。

在治療方法中之任一者之特定實施例中，使用TaqMan®即時PCR分析，已確定患者具有TMPRSS6 rs855791主要對偶基因之至少一個複本。

在治療方法中之任一者之實施例中，IL-6拮抗劑為抗IL-6抗體或其抗原結合片段或衍生物。

在某些實施例中，抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物對人類IL-6之結合性具有小於100 nM、小於50 nM、小於10 nM或小於1 nM之K_D。在某些實施例中，抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物在靜脈內投與之後具有至少7天、至少14天、至少21天或至少30天之消除半衰期。

在各種抗體實施例中，IL-6拮抗劑為全長單株抗IL-6抗體，諸如IgG1或IgG4抗體。

在所選實施例中，抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物為完全人類的。在一些實施例中，抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物為人類化的。

在目前較佳之實施例中，抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物包含MEDI5117之所有六個可變區CDR。在一些此等實施例中，抗體包含MEDI5117之VH及VL。且在特定實施例中，抗體為MEDI5117。

在各種實施例中，抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物包含選自由以下組成之群的抗體之所有六個可變區CDR：司妥昔單抗(siltuximab)、格里林祖單抗(gerilimzumab)、思魯庫單抗(sirukumab)、克拉雜奇單抗(clazakizumab)、奧諾奇單抗(olokizumab)、艾思莫單抗(elsilimomab)、VX30 (VOP-R003；Vaccinex)、EB-007 (EBI-029；Eleven Bio)、ARGX-109 (ArGEN-X)、FM101 (Femta Pharmaceuticals，Lonza)及ALD518/BMS-945429 (Alder Biopharmaceuticals，Bristol-Myers Squibb)。

在一些實施例中，抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物包含來自選自由以下組成之群的抗體之重鏈V區及輕鏈V區：司妥昔單抗、格里林祖單抗、思魯庫單抗、克拉雜奇單抗、奧諾奇單抗、VX30 (VOP-R003；Vaccinex)、EB-007 (EBI-029；Eleven Bio)、ARGX-109 (ArGEN-X)、FM101 (Femta Pharmaceuticals，Lonza)及ALD518/BMS-945429 (Alder Biopharmaceuticals，Bristol-Myers Squibb)。在特定實施例中，抗IL-6抗體為選自由以下組成之群的抗體：司妥昔單抗、格里林祖單抗、思魯庫單抗、克拉雜奇單抗、奧諾奇單抗、VX30 (VOP-R003；Vaccinex)、EB-007 (EBI-029；Eleven Bio)、ARGX-109 (ArGEN-X)、FM101 (Femta Pharmaceuticals，Lonza)及ALD518/BMS-945429 (Alder Biopharmaceuticals，Bristol-Myers Squibb)。

在一些實施例中，抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物為選自由以下組成之群的抗體：司妥昔單抗、格里林祖單抗、思魯庫單抗、克拉雜奇單抗、奧諾奇單抗、VX30 (VOP-R003；Vaccinex)、EB-007 (EBI-029；Eleven Bio)、ARGX-109 (ArGEN-X)、FM101 (Femta

Pharmaceuticals ， Lonza) 及 ALD518/BMS-945429 (Alder Biopharmaceuticals，Bristol-Myers Squibb)。在特定實施例中，抗IL-6抗體為選自由以下組成之群的抗體：司妥昔單抗、格里林祖單抗、思魯庫單抗、克拉雜奇單抗、奧諾奇單抗、VX30 (VOP-R003；Vaccinex)、EB-007 (EBI-029；Eleven Bio)、ARGX-109 (ArGEN-X)、FM101 (Femta Pharmaceuticals，Lonza)及ALD518/BMS-945429 (Alder Biopharmaceuticals，Bristol-Myers Squibb)。

在各種實施例中，IL-6拮抗劑為單域抗體、VHH奈米抗體、Fab或scFv。

在各種實施例中，IL-6拮抗劑為抗IL-6R抗體或其抗原結合片段或衍生物。在某些實施例中，抗IL-6R抗體、抗原結合片段或衍生物為托珠單抗或夫巴利珠單抗(vobarilizumab)。

在各種實施例中，IL-6拮抗劑為JAK抑制劑。在特定實施例中，JAK抑制劑選自由以下組成之群：托法替尼(Xeljanz)、得森替尼(decernotinib)、盧佐替尼(ruxolitinib)、尤帕達替尼(upadacitinib)、巴瑞替尼(baricitinib)、斐哥替尼(filgotinib)、來妥替尼(lestaurtinib)、帕瑞替尼(pacritinib)、皮非替尼(peficitinib)、INCB-039110、ABT-494、INCB-047986及AC-410。

在各種實施例中，IL-6拮抗劑為STAT3抑制劑。

在IL-6拮抗劑為抗體或抗原結合片段或衍生物之一些實施例中，IL-6拮抗劑非經腸投與。在特定實施例中，IL-6拮抗劑經皮下投與。

在IL-6拮抗劑為JAK抑制劑或STAT3抑制劑之一些實施例中，其中經口投與IL-6拮抗劑。

【圖式簡單說明】

圖1A及**1B**提供盒狀圖，其展示紅血球生成素(「EPO」)之增加量對於慢性腎病患者(CKD 5期透析個體)中之治療為所需的，該等慢性腎病患者具有升高之血清IL-6含量，及在*TMPRSS6*基因中之已知SNP rs855791處的主要對偶基因(核苷酸位置2321處之G或C，編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽；736A)之至少一個複本；但對於具有升高之IL-6含量且針對rs855791 *TMPRSS6*次要對偶基因(核苷酸位置2321處之T或A，編碼在位置736處具有纈胺酸之*TMPRSS6*多肽；736V)為同型接合之慢性腎病患者中的治療不需要。來自針對次要對偶基因為同型接合(A/A)之患者之資料展示於圖1A中；來自具有主要對偶基因(同型接合G/G及異型接合G/A)之至少一個複本之患者之資料收集且展示於圖1B中。基於血清IL-6含量之三分位：「低」位(IL-6 < 5 pg/ml)；「中」位(IL-6 = 5-15 pg/ml)；「最高」位(IL-6 > 15pg/ml)，兩個患者群體中之每一者之進一步分成組。具有誤差棒之盒狀圖在原始資料上方覆疊。基於IL-6含量及基因型兩者，各盒狀圖表示患者組。詳情提供於實例1中。

圖2A及**2B**提供存活曲線，其表明回應於慢性腎病5期透析個體中之升高之IL-6含量，*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因賦予更高之各種原因之死亡。圖2A展示來自針對次要對偶基因為同型接合(A/A)之患者之資料。圖2B展示來自具有主要對偶基因(同型接合G/G及異型接合G/A)之至少一個複本之患者的資料。使用用於圖1之IL-6含量將各組分成血清IL-6含量之三分位。詳情提供於實例1中。

圖3為一圖，其展示EPO之增加量對於慢性腎病患者(CKD 5期透

析個體)中之療法為所需的，該等慢性腎病患者具有升高之急性期反應物CRP之血清含量且具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本；但對於具有升高之急性期反應物CRP之血清含量且針對rs855791次要對偶基因為同型接合之慢性腎病患者中的療法不需要。相較於> 2 mg/L，各基因型組分成血清CRP含量< 2 mg/L。詳情提供於實例1中。

圖4A及**4B**提供曲線圖，其表明在心肌梗塞(「MI」)後之患者中，回應於升高之IL-6含量，*TMPRSS6 rs855791*主要對偶基因賦予更高之各種原因之死亡。圖4A描繪對於針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合之群體，相較於MI後之天數(x軸)，死亡事件隨時間推移之累積機率(y軸)。圖4B描繪對於具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之群體，死亡事件隨時間推移之累積機率。如所指示，各組分成血清IL-6含量之三分位。在心肌梗塞後一個月量測IL-6含量。在心肌梗塞後一至12個月量測死亡率。詳情提供於實例2中。

圖5A及**5B**提供曲線圖，其表明回應於MI後患者中之升高之IL-6含量，*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因賦予更高之心臟衰竭(「HF」)風險。圖5A描繪對於針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合之群體，相較於MI後之天數(x軸)，HF隨時間推移之累積機率(y軸)。圖5B描繪對於具有TMPRSS6 rs855791主要對偶基因之至少一個複本之群體，HF事件隨時間推移之累積機率。如所指示，各組分成血清IL-6含量之三分位。在心肌梗塞後一個月量測IL-6含量。在心肌梗塞後一至12個月量測HF。詳情提供於實例2中。

圖6A及**6B**展示來自人類iPS細胞之分析的結果，該等細胞已經組成性表現*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因或主要對偶基因之構築體轉染，且活體外暴露至BMP2+IL-6或僅BMP2時分化成心肌細胞，表明回應於IL-6，*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因賦予更高之細胞死亡(錐蟲藍(Trypan Blue)陽性)風險。圖6A展示常氧環境中之結果。圖6B展示暴露於低氧條件及再充氧後之結果。資料暗示降低之IL-6暴露應提高具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之患者中心肌細胞之存活率，但不提高具有*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因之患者中心肌細胞之存活率。詳情提供於實例3中。

圖7為展示實例4中所描述之心腎症候群研究之實驗設計的圖式。在基因型地類似於針對*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因為同型接合之人類之大鼠中誘導CRS4。該圖式展示沿時間線之研究中之各種事件。在研究中，在第0週在大鼠中誘導心肌梗塞(「MI」)。在第2週，在各個體中進行單腎切除(「Nx」)。在腎切除後直至研究結束，在第1天(D1)開始，每3天一次地投與抗IL-6抗體(ab9770，Abcam Plc, UK) (Rx)或同型對照抗體(「IgG」；ab171516，Abcam Plc, UK)。在Nx後直至研究結束，自第1天每天投與標準護理療法(ACE抑制劑-培哚普利(perindopril))。在第6週，將嚙齒動物處死。在『假』對照個體組中不進行MI及Nx。在藉由箭頭指示之時間點下進行嚙齒動物之各種評估。

圖8A-8D展示在概述於7圖中且詳細地描述於實例4中之心腎症候群模型中,相較於對照(「同型」)處理組及假手術動物，用抗IL-6抗體(「IL-6 ab」)、標準護理ACE抑制劑(培哚普利或「Peri」)治療之大鼠

之心臟射血分數。圖8A為展示心肌梗塞後兩週但腎切除之前所有組之基線射血分數程度的繪圖。圖8B為展示腎切除後一週、治療1週後，所有組之射血分數程度的繪圖。圖8C為展示腎切除後兩週、治療2週後，所有組之射血分數程度的繪圖。圖8D為展示腎切除後四週、治療4週後，所有組之射血分數程度的繪圖。結果表述為平均+/-SEM，且表明如藉由心臟射血分數之變化所量測，抗IL-6療法在心腎症候群模型中具有治療功效，等效於標準護理療法。

圖9描繪一繪圖，其展示在概述於圖7中且詳細地描述於實例4中之心腎症候群模型中，相較於對照(「同型」)處理組，用抗IL-6抗體(「IL-6 ab」)、標準護理(培哚普利或「Peri」)治療之大鼠之心肌收縮性。藉由量測dP/dt最大 (mmHb/msec)，其為心臟內壓力之量度，在結束研究時評估心肌收縮性。展示腎切除後四週、治療4週後所有組之量測結果。結果表述為平均+/-SEM，且表明如藉由用抗IL-6治療之嚙齒動物組中之增加的心肌收縮性所展示，抗IL-6療法具有等效於標準護理療法之治療作用。

圖10A-10C展示如藉由來自用抗IL-6(「IL-6 Ab」)、標準護理(培哚普利或「Peri」)及對照(「IgG」)治療之嚙齒動物組的心臟組織中纖維化程度所量測，抗IL-6療法具有等效於標準護理療法之抗心腎症候群作用。圖10A為展示用苦味酸天狼星紅(picrosirius-red)染色之心臟組織之組織學部分的顯微圖。分析組織之兩個區：「正常」區及「纖維化界限」區。實例「正常」區藉由組織切片之劃定部分指示。顯微圖中之插圖展示「正常」區之放大視圖，展示「正常」區之小部分具有纖維化組織。「纖維化界限」區為在纖維化組織周圍之「正

常」區中之組織區。圖10B為展示來自所有組之組織樣本中，指示為纖維化組織(亦即染色/暗區)之「正常」區之面積百分比的繪圖。圖10C為展示來自所有組之組織樣本中，指示為纖維化組織之「纖維化界限」區之面積百分比的繪圖。結果表述為平均+/-SEM。詳情提供於實例4中。

圖11A及11B展示來自活體內模型之資料，在該模型中，在基因型地類似於針對*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因為同型接合之人類之小鼠中誘導心肌梗塞。對照組不接受療法。實驗組用抗鼠類IL-6抗體治療。圖11A展示用抗IL-6進行之治療在射血分數方面提供統計學上顯著之提高。圖11B展示用抗IL-6進行之治療在量測為心臟左心室縮短分數之收縮性方面提供統計學上顯著之提高。資料表明在心肌梗塞後立即給出之抗IL-6療法提高了模仿具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之人類患者之嚙齒動物中左心室的功能恢復。詳情提供於實例5中。

僅出於說明的目的，圖式描繪本發明之各種實施例。熟習此項技術者將自以下論述容易認識到可在不偏離本文中所描述之本發明原則的情況下採用本文中所說明之結構及方法之替代實施例。

【實施方式】

相關申請案之交叉參考

本申請案主張2015年7月31日申請之美國臨時申請案第62/199,434號及2015年12月17日申請之美國臨時申請案第62/268,788號之優先權，其中之每一者以全文引用之方式併入。

5.1 實驗結果之概述

肽激素海帕西啶在全身鐵恆定中起主要作用。Hentze等人，*Cell* 142:24-38 (2010)。已知海帕西啶表現受*TMPRSS6*基因之產物間質蛋白酶-2影響，該間質蛋白酶-2為II型跨膜絲胺酸蛋白酶。已顯示*TMPRSS6*基因之常見變異體與鐵狀態相關，Benyamin等人，*Nature Genetics* 41(11):1173-1175 (2009)，其中已顯示在海帕西啶表現及血液血紅素含量方面，rs855791 SNP (2321G→A；A736V)與天然存在的變型相關。海帕西啶表現亦涉及於人類鐵病症(Pietrangelo, *J. Hepatology* 54:173-181 (2011))及慢性疾病貧血(ACD)(亦稱為發炎貧血(AI))中。ACD流行於患有慢性感染、自體免疫疾病、癌症及慢性腎病(CKD)之患者中。Sun等人, *Am. J. Hematol.* 87(4):392-400 (2012)。

為判定*TMPRSS6* rs855791 SNP處之基因型是否預測末期腎病中之貧血程度，結合新確定之SNP基因分型來分析先前在患有慢性腎病之患者之臨床研究中收集的資料。由於海帕西啶表現亦由IL-6調節，Casanovas等人, *PLOS Computational Biol.* 10(1):e1003421 (2014)，進一步分析資料以判定血清IL-6含量是否可預測末期腎病中之貧血程度。

如實例1中所描述且如圖1中所展示，在具有*TMPRSS6* rs855791 SNP處之主要對偶基因之至少一個複本的患者中，基礎貧血程度-量測為臨床上滴定之EPO劑量-僅與IL-6含量相關。在此等患者中，更高之血清IL-6含量與更高之所需EPO劑量相關(圖1B)。相反，具有次要對偶基因之兩個複本之患者的貧血程度不與血清IL-6含量相關(圖1A)。

類似地，在具有*TMPRSS6* SNP rs855791處之主要對偶基因之至

少一個複本的患者中，總存活率僅與IL-6含量相關。在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之個體中，存活率成反比地與血清IL-6含量相關，其中血清IL-6含量之最高位中之患者比IL-6含量之最低位中之彼等患者具有統計學上顯著更壞的存活率(圖2B)。相反，針對rs855791處之次要對偶基因為同型接合之患者之總存活率不受IL-6含量影響(圖2A)。

不意欲受理論束縛，在具有*TMPRSS6*主要對偶基因之至少一個複本之患者中，血清IL-6之增加可促進海帕西啶表現增加，從而增加貧血。增加之死亡風險為失調之鐵代謝、所得貧血及/或增加之紅血球生成刺激劑(諸如EPO，經投與以用於治療)劑量之結果。此等相關性提昇了以下可能性：降低之IL-6含量或IL-6信號傳導可降低貧血，減少所需EPO劑量，且增加患有慢性腎病之患者之存活率，但僅在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之彼等患者中，且在具有升高之血清IL-6含量之彼等患者中具有最大作用。

為判定在患有急性而非慢性之疾病之患者中*TMPRSS6* rs855791基因型是否影響IL-6敏感性，實例2中吾人結合新確定之SNP基因分型來分析先前在因急性冠狀動脈症候群住院之患者之臨床研究中收集的資料。

針對*TMPRSS6* rs855791 SNP次要對偶基因(A)為同型接合之個體之死亡不與IL-6之變型相關(圖4A)。然而，回應於心肌梗塞後個體中之升高之IL-6含量，主要對偶基因(G)之一或兩個複本賦予更高之各種原因之死亡(圖4B)。因此，*TMPRSS6*調節心肌梗塞後之IL-6介導之死亡風險。

亦評估*TMPRSS6*基因型對IL-6介導之心臟衰竭風險之影響。在針對次要對偶基因(A)為同型接合之個體之心臟衰竭不與IL-6之變型相關(圖5A)。然而，回應於心肌梗塞後個體中之升高之IL-6含量，*TMPRSS6*之G對偶基因賦予更高之心臟衰竭速率(圖5B)。因此，*TMPRSS6*調節心肌梗塞後之IL-6介導之心臟衰竭風險。

來自實例2之資料表明*TMPRSS6*基因型、IL-6含量及不利臨床結果之間的相關性不限於患有慢性腎病之患者。不意欲受理論束縛，在具有*TMPRSS6*主要對偶基因之至少一個複本之患者中，血清IL-6之增加可促進海帕西啶表現增加，隨後心肌細胞中鐵之螯合作用增加，繼之以鐵介導之細胞毒性。此等相關性提昇了以下可能性：降低之IL-6含量或IL-6信號傳導可降低患有急性冠狀動脈症候群之患者之心臟衰竭及死亡，但僅在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之彼等患者中，且在具有升高之血清IL-6含量之彼等患者中具有最大作用。

雖然實例1及2中所觀測之相關性強烈表明在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本、升高之IL-6含量及貧血或海帕西啶介導之細胞毒性之患者中，降低之IL-6介導之信號傳導應提供臨床效益，但所觀測相關性不能證明因果關係。因此，在實例3中，人類誘導之多能性幹(iPS)細胞心肌細胞經工程化以僅表現*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因或次要對偶基因，且活體外經測試。

海帕西啶表現藉由BMP6/SMAD及IL-6/STAT信號傳導路徑調節，其中BMP及IL-6兩者經由其各別受體起作用以促進海帕西啶表現增加。Casanovas等人, *PLOS Comp. Biol.* 10(1):e1003421 (2014)。活體

外用信號傳導路徑-重組BMP2及IL-6-之促效劑或單獨用BMP2之促效劑處理主要對偶基因及次要對偶基因iPS心肌細胞，以模型化IL-6含量(或信號傳導)降低之臨床干預。不用促效劑處理對照iPS細胞。在正常氧張力(常氧)下且亦在模擬低氧隨後模擬再充氧(再灌注)之條件下量測細胞死亡率。

圖6A展示當細胞在正常氧含量下處理時之結果。僅表現*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因(「736V次要對偶基因」)之iPS心肌細胞不顯著受IL-6信號傳導之消除影響(「n.s.」)：相較於用BMP2+IL-6進行之處理，當用BMP2處理細胞時，量測為錐蟲藍陽性細胞之百分比之細胞死亡率不顯著降低。相反，當消除IL-6信號傳導時，表現*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之iPS心肌細胞展示統計學上顯著更低之細胞死亡。

圖6B展示當細胞經歷低氧隨後經歷再充氧時之結果。相較於常氧條件，低氧/再充氧對iPS心肌細胞有毒性，其中相較於在常氧條件下殺死之約20%對照細胞，約40百分比之主要及次要對偶基因對照細胞經殺死(與圖6A相比較)。相對於此增加之背景毒性，次要對偶基因iPS心肌細胞不顯著受IL-6信號傳導之消除影響：相較於用BMP2+IL-6進行之處理，當單獨用BMP2處理細胞時，細胞死亡率不顯著降低。相反，當消除IL-6信號傳導時，表現*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之iPS心肌細胞展示統計學上顯著更低之細胞死亡。

此等資料增強了自實例1及實例2中之臨床試驗資料之後hoc分析所得出之推斷：IL-6信號傳導之降低有效地降低表現*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之心肌細胞中之IL-6介導之毒性，但在僅表現

次要對偶基因之心肌細胞中不如此。不意欲受理論束縛，促進主要對偶基因iPS心肌細胞中之毒性增加之IL-6可起因於海帕西啶表現之IL-6介導之增加，隨後細胞中增加之鐵螯合作用，繼之以鐵介導之細胞毒性。

患有慢性腎病之患者，諸如入選於在實例1中分析之MIMICK研究中之彼等患者，常常罹患減弱之心臟功能，其為總死亡率之主要促成者。初次慢性腎病後之此二次心臟損傷稱為4型心腎症候群(4型CRS)。為直接測試抗IL-6療法是否作為治療在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之CRS4患者中有效，如藉由實例1及3中之資料所表明，吾人使用基因型地類似於針對*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因為同型接合之人類之大鼠的CRS4模型。

治療4週後，與同型對照組相比，處理組-用抗IL-6抗體治療之組及用標準護理ACE抑制劑療法培哚普利治療之組-展示統計學上顯著增加之射血分數程度(圖8D) ($p<0.001$)。在治療4週後量測之抗IL-6及標準護理組中之類似射血分數程度展示抗IL-6療法具有與ACE抑制劑等效之功效。圖9展示在保持心肌收縮性方面，抗IL-6療法亦具有與ACE抑制劑等效之有效性。圖10A-10C表明抗IL-6療法同樣在降低心臟纖維化方面有效。

此等資料表明在基因型地類似於針對*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因為同型接合之人類之動物的心腎症候群活體內模型中，用抗IL-6劑進行之治療有效地降低心臟損傷且恢復功能。

類似地，實例2及3中之資料表明降低之IL-6含量或IL-6信號傳導可降低患有急性冠狀動脈症候群之患者之心臟衰竭及死亡，但僅在具

有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之彼等患者中，且在具有升高之血清IL-6含量之彼等患者中具有最大作用。

進行研究以確定在基因型地類似於針對*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因為同型接合之人類之小鼠中，急性心肌梗塞後抗IL-6療法之作用。

圖11A及11B展示來自活體內模型之資料，在該模型中，在基因型地類似於針對*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因為同型接合之人類之小鼠中誘導心肌梗塞。對照組不接受療法。實驗組用抗鼠類IL-6抗體治療。圖11A展示相較於對照，用抗IL-6進行之治療在射血分數方面提供統計學上顯著之提高。圖11B展示相較於對照，用抗IL-6進行之治療在量測為心臟縮短分數之收縮性方面提供統計學上顯著之提高。此等資料表明在心肌梗塞後立即給出之抗IL-6療法提高了基因型地類似於具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之人類患者之嚙齒動物中左心室的功能恢復。

總之，實驗資料表明在患有海帕西啶介導之病症(諸如貧血或海帕西啶介導之細胞毒性)之患者中，降低IL-6信號傳導之治療干預將提供臨床效益，但僅在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之彼等患者中，其中在具有升高之IL-6含量之患者中具有最大作用。

因此，如下文進一步描述，在第一態樣中，提供治療海帕西啶介導之病症之方法。該等方法包含向患有海帕西啶介導之病症之患者投與治療有效量之IL-6拮抗劑，該患者已經確定具有*TMPRSS6* rs855791 SNP處之主要對偶基因之至少一個複本。在第二態樣中，提

供用於改良對海帕西啶介導之病症之治療的方法，該方法包含向患有海帕西啶介導之病症之患者中斷IL-6拮抗劑之投與，其中已確定該患者針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合的。治療藉由中斷為低效之療法而改良，從而在不喪失治療功效的情況下降低副作用且降低成本。在另一態樣中，提供用於治療無慢性發炎貧血之患者中的IL-6介導之發炎病症之方法，該等方法包含向患者投與治療有效量之IL-6拮抗劑，該患者患有IL-6介導之發炎病症，不患有貧血，且已確定個體具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本。

5.2 定義

除非另外定義，否則本文所使用之所有技術及科學術語具有熟習本發明所屬領域者通常理解的含義。如本文中所使用，以下術語具有下文中賦予其之含義。

「**海帕西啶**」意謂與以NCBI寄存編號NP_066998(「海帕西啶前蛋白」)或其生物活性片段提供之胺基酸序列具有至少約85%或大於85%之胺基酸一致性的多肽。例示性海帕西啶生物活性包括結合且降低鐵輸出通道運鐵素之含量、抑制鐵轉運、抑制腸道鐵吸收且抑制鐵自巨噬細胞及肝臟之釋放。下文提供例示性海帕西啶前蛋白胺基酸序列：

```
  1   MALSSQIWAA CLLLLLLLAS LTSGSVFPQQ TGQLAELQPQ DRAGARASWM PMFQRRRRRD
 61   THFPICIFCC GCCHRSKCGM CCKT (SEQ ID NO:1)
```

參考上文序列，海帕西啶以各種形式存在，包括呈前激素原(preprohormone) (胺基酸25-84)、前激素(胺基酸25-84)形式，及稱為海帕西啶-25 (胺基酸60-84)、海帕西啶-22 (胺基酸63-84)及海帕西啶-20 (胺基酸65-84)之成熟形式。

「**海帕西啶介導之病症**」為海帕西啶表現促成病症或其症狀中之任一者之病因之任何病症。自一觀測可已知、可懷疑或可推斷海帕西啶對病因之貢獻，該觀測為相較於針對*TMPRSS6* rs855791 SNP次要對偶基因為同型接合之患有病症之患者，IL-6拮抗劑之投與在具有*TMPRSS6* rs855791 SNP主要對偶基因之至少一個複本的患有病症之患者中提供更大的治療效益。海帕西啶介導之病症在下文進一步描述於部分5.4.1中。

「**跨膜蛋白酶絲胺酸6 (*TMPRSS6*)多肽**」意謂與以NCBI寄存編號NP_001275929提供之胺基酸序列具有至少約85%或大於85%之胺基酸一致性且具有絲胺酸蛋白酶活性的多肽或其片段。*TMPRSS6*多肽，亦稱為間質蛋白酶-2 (MT2)，分解鐵調素調節蛋白且抑制骨形態生成蛋白信號傳導。下文提供在位置736處具有丙胺酸(736A)之例示性*TMPRSS6*胺基酸序列：

```
  1  MPVAEAPQVA GGQGDGGDGE EAEPEGMFKA CEDSKRKARG YLRLVPLFVL LALLVLASAG
 61  VLLWYFLGYK AEVMVSQVYS GSLRVLNRHF SQDLTRRESS AFRSETAKAQ KMLKELITST
121  RLGTYYNSSS VYSFGEGPLT CFFWFILQIP EHRRLMLSPE VVQALLVEEL LSTVNSSAAV
181  PYRAEYEVDP EGLVILEASV KDIAALNSTL GCYRYSYVGQ GQVLRLKGPD HLASSCLWHL
241  QGPKDLMLKL RLEWTLAECR DRLAMYDVAG PLEKRLITSV YGCSRQEPVV EVLASGAIMA
301  VVWKKGLHSY YDPFVLSVQP VVFQACEVNL TLDNRLDSQG VLSTPYFPSY YSPQTHCSWH
361  LTVPSLDYGL ALWFDAYALR RQKYDLPCTQ GQWTIQNRRL CGLRILQPYA ERIPVVATAG
421  ITINFTSQIS LTGPGVRVHY GLYNQSDPCP GEFLCSVNGL CVPACDGVKD CPNGLDERNC
481  VCRATFQCKE DSTCISLPKV CDGQPDCLNG SDEEQCQEGV PCGTFTFQCE DRSCVKKPNP
541  QCDGRPDCRD GSDEEHCDCG LQGPSSRIVG GAVSSEGEWP WQASLQVRGR HICGGALIAD
601  RWVITAAHCF QEDSMASTVL WTVFLGKVWQ NSRWPGEVSF KVSRLLLHPY HEEDSHDYDV
661  ALLQLDHPVV RSAAVRPVCL PARSHFFEPG LHCWITGWGA LREGALRADA VALFYGWRNQ
721  GSETCCCPIS NALQKADVQL IPQDLCSEVY RYQVTPRMLC AGYRKGKKDA CQGDSGGPLV
781  CKALSGRWFL AGLVSWGLGC GRPNYFGVYT RITGVISWIQ QVVT (SEQ ID NO:2)
```

下文提供在位置736處具有纈胺酸(736V)之例示性*TMPRSS6*胺基酸序列：

```
 61  VLLWYFLGYK AEVMVSQVYS GSLRVLNRHF SQDLTRRESS AFRSETAKAQ KMLKELITST
121  RLGTYYNSSS VYSFGEGPLT CFFWFILQIP EHRRLMLSPE VVQALLVEEL LSTVNSSAAV
181  PYRAEYEVDP EGLVILEASV KDIAALNSTL GCYRYSYVGQ GQVLRLKGPD HLASSCLWHL
 24  QGPKDLMLKL RLEWTLAECR DRLAMYDVAG PLEKRLITSV YGCSRQEPVV EVLASGAIMA
 30  VVWKKGLHSY YDPFVLSVQP VVFQACEVNL TLDNRLDSQG VLSTPYFPSY YSPQTHCSWH
 36  LTVPSLDYGL ALWFDAYALR RQKYDLPCTQ GQWTIQNRRL CGLRILQPYA ERIPVVATAG
 42  ITINFTSQIS LTGPGVRVHY GLYNQSDPCP GEFLCSVNGL CVPACDGVKD CPNGLDERNC
 48  VCRATFQCKE DSTCISLPKV CDGQPDCLNG SDEEQCQEGV PCGTFTFQCE DRSCVKKPNP
 54  QCDGRPDCRD GSDEEHCDCG LQGPSSRIVG GAVSSEGEWP WQASLQVRGR HICGGALIAD
 60  RWVITAAHCF QEDSMASTVL WTVFLGKVWQ NSRWPGEVSF KVSRLLLHPY HEEDSHDYDV
 66  ALLQLDHPVV RSAAVRPVCL PARSHFFEPG LHCWITGWGA LREGALRADA VALFYGWRNQ
 72  GSETCCCPIS NALQKVDVQL IPQDLCSEVY RYQVTPRMLC AGYRKGKKDA CQGDSGGPLV
 78  CKALSGRWFL AGLVSWGLGC GRPNYFGVYT RITGVISWIQ QVVT (SEQ ID NO:3)
```

「***TMPRSS6*核酸分子**」意謂編碼*TMPRSS6*多肽(間質蛋白酶-2；MT2)之聚核苷酸。例示性*TMPRSS6*核酸分子序列以NCBI寄存編號NM_001289000提供。下文提供在核苷酸位置2321處具有G（「G對偶基因」;「主要對偶基因」)之*TMPRSS6*核酸序列：

```
   1 GGACAAACAG AGGCTCCTGA GGCCTGTGTG CAGGCCCGGC ACCTATCTGC CGCTCCCAAA
  61 GGATGCCCGT GGCCGAGGCC CCCCAGGTGG CTGGCGGGCA GGGGGACGGA GGTGATGGCG
 121 AGGAAGCGGA GCCGGAGGGG ATGTTCAAGG CCTGTGAGGA CTCCAAGAGA AAAGCCCGGG
 181 GCTACCTCCG CCTGGTGCCC CTGTTTGTGC TGCTGGCCCT GCTCGTGCTG GCTTCGGCGG
 241 GGGTGCTACT CTGGTATTTC CTAGGGTACA AGGCGGAGGT GATGGTCAGC CAGGTGTACT
 301 CAGGCAGTCT GCGTGTACTC AATCGCCACT TCTCCCAGGA TCTTACCCGC CGGGAATCTA
 361 GTGCCTTCCG CAGTGAAACC GCCAAAGCCC AGAAGATGCT CAAGGAGCTC ATCACCAGCA
 421 CCCGCCTGGG AACTTACTAC AACTCCAGCT CCGTCTATTC CTTTGGGGAG GGACCCCTCA
 481 CCTGCTTCTT CTGGTTCATT CTCCAAATCC CCGAGCACCG CCGGCTGATG CTGAGCCCCG
 541 AGGTGGTGCA GGCACTGCTG GTGGAGGAGC TGCTGTCCAC AGTCAACAGC TCGGCTGCCG
 601 TCCCCTACAG GGCCGAGTAC GAAGTGGACC CCGAGGGCCT AGTGATCCTG GAAGCCAGTG
 661 TGAAAGACAT AGCTGCATTG AATTCCACGC TGGGTTGTTA CCGCTACAGC TACGTGGGCC
 721 AGGGCCAGGT CCTCCGGCTG AAGGGGCCTG ACCACCTGGC CTCCAGCTGC CTGTGGCACC
 781 TGCAGGGCCC CAAGGACCTC ATGCTCAAAC TCCGGCTGGA GTGGACGCTG GCAGAGTGCC
 841 GGGACCGACT GGCCATGTAT GACGTGGCCG GGCCCCTGGA GAAGAGGCTC ATCACCTCGG
 901 TGTACGGCTG CAGCCGCCAG GAGCCCGTGG TGGAGGTTCT GGCGTCGGGG GCCATCATGG
 961 CGGTCGTCTG GAAGAAGGGC CTGCACAGCT ACTACGACCC CTTCGTGCTC TCCGTGCAGC
1021 CGGTGGTCTT CCAGGCCTGT GAAGTGAACC TGACGCTGGA CAACAGGCTC GACTCCCAGG
1081 GCGTCCTCAG CACCCCGTAC TTCCCCAGCT ACTACTCGCC CCAAACCCAC TGCTCCTGGC
1141 ACCTCACGGT GCCCTCTCTG GACTACGGCT TGGCCCTCTG GTTTGATGCC TATGCACTGA
1201 GGAGGCAGAA GTATGATTTG CCGTGCACCC AGGGCCAGTG GACGATCCAG AACAGGAGGC
1261 TGTGTGGCTT GCGCATCCTG CAGCCCTACG CCGAGAGGAT CCCCGTGGTG GCCACGGCCG
```

```
1321 GGATCACCAT CAACTTCACC TCCCAGATCT CCCTCACCGG GCCCGGTGTG CGGGTGCACT
1381 ATGGCTTGTA CAACCAGTCG GACCCCTGCC CTGGAGAGTT CCTCTGTTCT GTGAATGGAC
1441 TCTGTGTCCC TGCCTGTGAT GGGGTCAAGG ACTGCCCCAA CGGCCTGGAT GAGAGAAACT
1501 GCGTTTGCAG AGCCACATTC CAGTGCAAAG AGGACAGCAC ATGCATCTCA CTGCCCAAGG
1561 TCTGTGATGG GCAGCCTGAT TGTCTCAACG GCAGCGACGA AGAGCAGTGC CAGGAAGGGG
1621 TGCCATGTGG GACATTCACC TTCCAGTGTG AGGACCGGAG CTGCGTGAAG AAGCCCAACC
1681 CGCAGTGTGA TGGGCGGCCC GACTGCAGGG ACGGCTCGGA TGAGGAGCAC TGTGACTGTG
1741 GCCTCCAGGG CCCCTCCAGC CGCATTGTTG GTGGAGCTGT GTCCTCCGAG GGTGAGTGGC
1801 CATGGCAGGC CAGCCTCCAG GTTCGGGGTC GACACATCTG TGGGGGGGCC CTCATCGCTG
1861 ACCGCTGGGT GATAACAGCT GCCCACTGCT TCCAGGAGGA CAGCATGGCC TCCACGGTGC
1921 TGTGGACCGT GTTCCTGGGC AAGGTGTGGC AGAACTCGCG CTGGCCTGGA GAGGTGTCCT
1981 TCAAGGTGAG CCGCCTGCTC CTGCACCCGT ACCACGAAGA GGACAGCCAT GACTACGACG
2041 TGGCGCTGCT GCAGCTCGAC CACCCGGTGG TGCGCTCGGC CGCCGTGCGC CCCGTCTGCC
2101 TGCCCGCGCG CTCCCACTTC TTCGAGCCCG GCCTGCACTG CTGGATTACG GGCTGGGGCG
2161 CCTTGCGCGA GGGCGCCCTA CGGGCGGATG CTGTGGCCCT ATTTTATGGA TGGAGAAACC
2221 AAGGCTCAGA GACATGTTGC TGCCCCATCA GCAACGCTCT GCAGAAAGTG GATGTGCAGT
2281 TGATCCCACA GGACCTGTGC AGCGAGGTCT ATCGCTACCA GGTGACGCCA CGCATGCTGT
2341 GTGCCGGCTA CCGCAAGGGC AAGAAGGATG CCTGTCAGGG TGACTCAGGT GGTCCGCTGG
2401 TGTGCAAGGC ACTCAGTGGC CGCTGGTTCC TGGCGGGGCT GGTCAGCTGG GGCCTGGGCT
2461 GTGGCCGGCC TAACTACTTC GGCGTCTACA CCCGCATCAC AGGTGTGATC AGCTGGATCC
2521 AGCAAGTGGT GACCTGAGGA ACTGCCCCCC TGCAAAGCAG GGCCCACCTC CTGGACTCAG
2581 AGAGCCCAGG GCAACTGCCA AGCAGGGGGA CAAGTATTCT GGCGGGGGGT GGGGGAGAGA
2641 GCAGGCCCTG TGGTGGCAGG AGGTGGCATC TTGTCTCGTC CCTGATGTCT GCTCCAGTGA
2701 TGGCAGGAGG ATGGAGAAGT GCCAGCAGCT GGGGGTCAAG ACGTCCCCTG AGGACCCAGG
2761 CCCACACCCA GCCCTTCTGC CTCCCAATTC TCTCTCCTCC GTCCCCTTCC TCCACTGCTG
2821 CCTAATGCAA GGCAGTGGCT CAGCAGCAAG AATGCTGGTT CTACATCCCG AGGAGTGTCT
2881 GAGGTGCGCC CCACTCTGTA CAGAGGCTGT TTGGGCAGCC TTGCCTCCAG AGAGCAGATT
2941 CCAGCTTCGG AAGCCCCTGG TCTAACTTGG GATCTGGGAA TGGAAGGTGC TCCCATCGGA
3001 GGGGACCCTC AGAGCCCTGG AGACTGCCAG GTGGGCCTGC TGCCACTGTA AGCCAAAAGG
3061 TGGGGAAGTC CTGACTCCAG GGTCCTTGCC CCACCCCTGC CTGCCACCTG GGCCCTCACA
3121 GCCCAGACCC TCACTGGGAG GTGAGCTCAG CTGCCCTTTG GAATAAAGCT GCCTGATCCA
3181 AAAAAAAAAA AAAAAA (SEQ ID NO:4)
```

下文提供在核苷酸位置2321處具有A之*TMPRSS6*核酸序列：

```
   1 GGACAAACAG AGGCTCCTGA GGCCTGTGTG CAGGCCCGGC ACCTATCTGC CGCTCCCAAA
  61 GGATGCCCGT GGCCGAGGCC CCCCAGGTGG CTGGCGGGCA GGGGGACGGA GGTGATGGCG
 121 AGGAAGCGGA GCCGGAGGGG ATGTTCAAGG CCTGTGAGGA CTCCAAGAGA AAAGCCCGGG
 181 GCTACCTCCG CCTGGTGCCC CTGTTTGTGC TGCTGGCCCT GCTCGTGCTG GCTTCGGCGG
 241 GGGTGCTACT CTGGTATTTC CTAGGGTACA AGGCGGAGGT GATGGTCAGC CAGGTGTACT
 301 CAGGCAGTCT GCGTGTACTC AATCGCCACT TCTCCCAGGA TCTTACCCGC CGGGAATCTA
 361 GTGCCTTCCG CAGTGAAACC GCCAAAGCCC AGAAGATGCT CAAGGAGCTC ATCACCAGCA
```

```
421 CCCGCCTGGG AACTTACTAC AACTCCAGCT CCGTCTATTC CTTTGGGGAG GGACCCCTCA
481 CCTGCTTCTT CTGGTTCATT CTCCAAATCC CCGAGCACCG CCGGCTGATG CTGAGCCCCG
541 AGGTGGTGCA GGCACTGCTG GTGGAGGAGC TGCTGTCCAC AGTCAACAGC TCGGCTGCCG
601 TCCCCTACAG GGCCGAGTAC GAAGTGGACC CCGAGGGCCT AGTGATCCTG GAAGCCAGTG
661 TGAAAGACAT AGCTGCATTG AATTCCACGC TGGGTTGTTA CCGCTACAGC TACGTGGGCC
721 AGGGCCAGGT CCTCCGGCTG AAGGGGCCTG ACCACCTGGC CTCCAGCTGC CTGTGGCACC
781 TGCAGGGCCC CAAGGACCTC ATGCTCAAAC TCCGGCTGGA GTGGACGCTG GCAGAGTGCC
841 GGGACCGACT GGCCATGTAT GACGTGGCCG GGCCCCTGGA GAAGAGGCTC ATCACCTCGG
901 TGTACGGCTG CAGCCGCCAG GAGCCCGTGG TGGAGGTTCT GGCGTCGGGG GCCATCATGG
961 CGGTCGTCTG GAAGAAGGGC CTGCACAGCT ACTACGACCC CTTCGTGCTC TCCGTGCAGC
1021 CGGTGGTCTT CCAGGCCTGT GAAGTGAACC TGACGCTGGA CAACAGGCTC GACTCCCAGG
1081 GCGTCCTCAG CACCCCGTAC TTCCCCAGCT ACTACTCGCC CCAAACCCAC TGCTCCTGGC
1141 ACCTCACGGT GCCCTCTCTG GACTACGGCT TGGCCCTCTG GTTTGATGCC TATGCACTGA
1201 GGAGGCAGAA GTATGATTTG CCGTGCACCC AGGGCCAGTG GACGATCCAG AACAGGAGGC
1261 TGTGTGGCTT GCGCATCCTG CAGCCCTACG CCGAGAGGAT CCCCGTGGTG GCCACGGCCG
1321 GGATCACCAT CAACTTCACC TCCCAGATCT CCCTCACCGG GCCCGGTGTG CGGGTGCACT
1381 ATGGCTTGTA CAACCAGTCG GACCCCTGCC CTGGAGAGTT CCTCTGTTCT GTGAATGGAC
1441 TCTGTGTCCC TGCCTGTGAT GGGGTCAAGG ACTGCCCCAA CGGCCTGGAT GAGAGAAACT
1501 GCGTTTGCAG AGCCACATTC CAGTGCAAAG AGGACAGCAC ATGCATCTCA CTGCCCAAGG
1561 TCTGTGATGG GCAGCCTGAT TGTCTCAACG GCAGCGACGA AGAGCAGTGC CAGGAAGGGG
1621 TGCCATGTGG GACATTCACC TTCCAGTGTG AGGACCGGAG CTGCGTGAAG AAGCCCAACC
1681 CGCAGTGTGA TGGGCGGCCC GACTGCAGGG ACGGCTCGGA TGAGGAGCAC TGTGACTGTG
1741 GCCTCCAGGG CCCCTCCAGC CGCATTGTTG GTGGAGCTGT GTCCTCCGAG GGTGAGTGGC
1801 CATGGCAGGC CAGCCTCCAG GTTCGGGGTC GACACATCTG TGGGGGGGCC CTCATCGCTG
1861 ACCGCTGGGT GATAACAGCT GCCCACTGCT TCCAGGAGGA CAGCATGGCC TCCACGGTGC
1921 TGTGGACCGT GTTCCTGGGC AAGGTGTGGC AGAACTCGCG CTGGCCTGGA GAGGTGTCCT
1981 TCAAGGTGAG CCGCCTGCTC CTGCACCCGT ACCACGAAGA GGACAGCCAT GACTACGACG
2041 TGGCGCTGCT GCAGCTCGAC CACCCGGTGG TGCGCTCGGC CGCCGTGCGC CCCGTCTGCC
2101 TGCCCGCGCG CTCCCACTTC TTCGAGCCCG GCCTGCACTG CTGGATTACG GGCTGGGGCG
2161 CCTTGCGCGA GGGCGCCCTA CGGGCGGATG CTGTGGCCCT ATTTTATGGA TGGAGAAACC
2221 AAGGCTCAGA GACATGTTGC TGCCCCATCA GCAACGCTCT GCAGAAAGTG GATGTGCAGT
2281 TGATCCCACA GGACCTGTGC AGCGAGGTCT ATCGCTACCA AGTGACGCCA CGCATGCTGT
2341 GTGCCGGCTA CCGCAAGGGC AAGAAGGATG CCTGTCAGGG TGACTCAGGT GGTCCGCTGG
2401 TGTGCAAGGC ACTCAGTGGC CGCTGGTTCC TGGCGGGGCT GGTCAGCTGG GGCCTGGGCT
2461 GTGGCCGGCC TAACTACTTC GGCGTCTACA CCCGCATCAC AGGTGTGATC AGCTGGATCC
2521 AGCAAGTGGT GACCTGAGGA ACTGCCCCCC TGCAAAGCAG GGCCCACCTC CTGGACTCAG
2581 AGAGCCCAGG GCAACTGCCA AGCAGGGGGA CAAGTATTCT GGCGGGGGGT GGGGGAGAGA
2641 GCAGGCCCTG TGGTGGCAGG AGGTGGCATC TTGTCTCGTC CCTGATGTCT GCTCCAGTGA
2701 TGGCAGGAGG ATGGAGAAGT GCCAGCAGCT GGGGGGTCAAG ACGTCCCCTG AGGACCCAGG
2761 CCCACACCCA GCCCTTCTGC CTCCCAATTC TCTCTCCTCC GTCCCCTTCC TCCACTGCTG
2821 CCTAATGCAA GGCAGTGGCT CAGCAGCAAG AATGCTGGTT CTACATCCCG AGGAGTGTCT
2881 GAGGTGCGCC CCACTCTGTA CAGAGGCTGT TTGGGCAGCC TTGCCTCCAG AGAGCAGATT
2941 CCAGCTTCGG AAGCCCCTGG TCTAACTTGG GATCTGGGAA TGGAAGGTGC TCCCATCGGA
```

```
3001 GGGGACCCTC AGAGCCCTGG AGACTGCCAG GTGGGCCTGC TGCCACTGTA AGCCAAAAGG
3061 TGGGGAAGTC CTGACTCCAG GGTCCTTGCC CCACCCCTGC CTGCCACCTG GGCCCTCACA
3121 GCCCAGACCC TCACTGGGAG GTGAGCTCAG CTGCCCTTTG GAATAAAGCT GCCTGATCCA
3181 AAAAAAAAAA AAAAAA (SEQ ID NO:5)
```

「**變異體**」意謂因一或多個核苷酸或一或多個胺基酸而不同於參考序列之聚核苷酸或多肽序列。例示性*TMPRSS6*變異體為*TMPRSS6* (A736V)，由SNP rs855791 (G→A)引起。

「**單核苷酸多形現象**」或「**SNP**」意謂天然存在之DNA序列變異體，其中基因組中之單核苷酸在生物物種之成員之間或在個體中之配對染色體之間不同。SNP可用作變異對偶基因之遺傳標記。在一個實施例中，*TMPRSS6* SNP為rs855791。

「**rs855791**」意謂人類*TMPRSS6*基因中之單核苷酸多形現象(SNP)，2321G→A，在由*TMPRSS6*基因編碼之間質蛋白酶-2 (MT2)之催化區中引起丙胺酸至纈胺酸之取代(A736V)。人類群體中具有最高頻率之對偶基因(主要對偶基因)為2321G，編碼736A。人類群體中具有最低頻率之對偶基因(次要對偶基因)為2321A，編碼736V。

「**異型接合**」意謂染色體基因座具有兩個不同的對偶基因。在本文中所描述之方法之一個實施例中，異型接合係指以下基因型：在其中一個對偶基因具有編碼在胺基酸位置736處具有丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之*TMPRSS6*核酸序列(例如在*TMPRSS6*核酸分子之核苷酸位置2321處具有G或C) (rs855791主要對偶基因)，且另一對偶基因具有編碼在胺基酸位置736處包含纈胺酸之*TMPRSS6*多肽之變異*TMPRSS6*核酸序列(例如在*TMPRSS6*核酸分子之核苷酸位置2321處具有A或T) (rs855791次要對偶基因)。

「**同型接合**」意謂染色體基因座具有兩個相同的對偶基因。在

本文中所描述之方法之某些實施例中，同型接合係指以下基因型：在其中兩個對偶基因具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之*TMPRSS6*核酸序列(例如在*TMPRSS6*核酸分子之核苷酸位置2321處具有G或C) (rs855791同型接合之主要對偶基因)。在一些實施例中，同型接合係指以下基因型：在其中兩個對偶基因具有編碼在胺基酸位置736處包含纈胺酸之*TMPRSS6*多肽之*TMPRSS6*核酸序列(例如在*TMPRSS6*核酸分子之核苷酸位置2321處具有A或T) (rs855791同型接合之次要對偶基因)。

「**確定患者具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本**」包括(但不限於)進行分析以確定患者具有TMPRSS6 rs855791主要對偶基因之至少一個複本；對分析排序以確定患者具有TMPRSS6 rs855791主要對偶基因之至少一個複本；規定分析以確定患者具有TMPRSS6 rs855791主要對偶基因之至少一個複本；以其他方式引導或控制分析經進行以確定患者具有TMPRSS6 rs855791主要對偶基因之至少一個複本；及查閱*TMRSS6*基因型分析資料或蛋白質或核酸序列資料以確定患者具有TMPRSS6 rs855791主要對偶基因之至少一個複本。

「**介白素6 (IL-6)**」或「**IL-6多肽**」意謂與以NCBI寄存編號NP_000591提供之胺基酸序列具有至少約85%或大於85%之胺基酸一致性且具有IL-6生物活性之多肽或其片段。IL-6為具有多種生物功能之多效性細胞激素。例示性IL-6生物活性包括免疫刺激及促炎性活性。下文提供例示性IL-6胺基酸序列：

```
  1 MCVGARRLGR GPCAALLLLG LGLSTVTGLH CVGDTYPSND RCCHECRPGN GMVSRCSRSQ
 61 NTVCRPCGPG FYNDVVSSKP CKPCTWCNLR SGSERKQLCT ATQDTVCRCR AGTQPLDSYK
121 PGVDCAPCPP GHFSPGDNQA CKPWTNCTLA GKHTLQPASN SSDAICEDRD PPATQPQETQ
181 GPPARPITVQ PTEAWPRTSQ GPSTRPVEVP GGRAVAAILG LGLVLGLLGP LAILLALYLL
241 RRDQRLPPDA HKPPGGGSFR TPIQEEQADA HSTLAKI (SEQ ID NO:6)
```

「**介白素6 (IL-6)核酸**」意謂編碼介白素6 (IL-6)多肽之聚核苷酸。例示性介白素6 (IL-6)核酸序列以NCBI寄存編號NM_000600提供。下文提供以NCBI寄存編號NM_000600之例示性序列。

```
   1 AATATTAGAG TCTCAACCCC CAATAAATAT AGGACTGGAG ATGTCTGAGG CTCATTCTGC
  61 CCTCGAGCCC ACCGGGAACG AAAGAGAAGC TCTATCTCCC CTCCAGGAGC CCAGCTATGA
 121 ACTCCTTCTC CACAAGCGCC TTCGGTCCAG TTGCCTTCTC CCTGGGGCTG CTCCTGGTGT
 181 TGCCTGCTGC CTTCCCTGCC CCAGTACCCC CAGGAGAAGA TTCCAAAGAT GTAGCCGCCC
 241 CACACAGACA GCCACTCACC TCTTCAGAAC GAATTGACAA ACAAATTCGG TACATCCTCG
 301 ACGGCATCTC AGCCCTGAGA AAGGAGACAT GTAACAAGAG TAACATGTGT GAAAGCAGCA
 361 AAGAGGCACT GGCAGAAAAC AACCTGAACC TTCCAAAGAT GGCTGAAAAA GATGGATGCT
 421 TCCAATCTGG ATTCAATGAG GAGACTTGCC TGGTGAAAAT CATCACTGGT CTTTTGGAGT
 481 TTGAGGTATA CCTAGAGTAC CTCCAGAACA GATTTGAGAG TAGTGAGGAA CAAGCCAGAG
 541 CTGTGCAGAT GAGTACAAAA GTCCTGATCC AGTTCCTGCA GAAAAAGGCA AAGAATCTAG
 601 ATGCAATAAC CACCCCTGAC CCAACCACAA ATGCCAGCCT GCTGACGAAG CTGCAGGCAC
 661 AGAACCAGTG GCTGCAGGAC ATGACAACTC ATCTCATTCT GCGCAGCTTT AAGGAGTTCC
 721 TGCAGTCCAG CCTGAGGGCT CTTCGGCAAA TGTAGCATGG GCACCTCAGA TTGTTGTTGT
 781 TAATGGGCAT TCCTTCTTCT GGTCAGAAAC CTGTCCACTG GGCACAGAAC TTATGTTGTT
 841 CTCTATGGAG AACTAAAAGT ATGAGCGTTA GGACACTATT TTAATTATTT TTAATTTATT
 901 AATATTTAAA TATGTGAAGC TGAGTTAATT TATGTAAGTC ATATTTATAT TTTTAAGAAG
 961 TACCACTTGA AACATTTTAT GTATTAGTTT TGAAATAATA ATGGAAAGTG GCTATGCAGT
1021 TTGAATATCC TTTGTTTCAG AGCCAGATCA TTTCTTGGAA AGTGTAGGCT TACCTCAAAT
1081 AAATGGCTAA CTTATACATA TTTTTAAAGA AATATTTATA TTGTATTTAT ATAATGTATA
1141 AATGGTTTTT ATACCAATAA ATGGCATTTT AAAAAATTCA GCAAAAAAAA AAAAAAAAAA
1201 A  (SEQ ID NO:7)
```

「**介白素6受體 (IL-6R)複合物**」意謂包含IL-6受體子單元α (IL-6Rα)及介白素6信號轉導子糖蛋白130-亦稱為介白素6 受體子單元β (IL-6Rβ)-之蛋白質複合物。

「**介白素6受體子單元α (IL-6Rα)多肽**」意謂與以NCBI寄存編號NP_000556或NP_852004提供之胺基酸序列具有至少約85%或大於85%之胺基酸一致性且具有IL-6受體生物活性之多肽或其片段。例示性IL-

6Rα生物活性包括結合至IL-6、結合至糖蛋白130 (gp130)及調節細胞生長及分化。下文提供例示性IL-6R序列：

```
  1 MLAVGCALLA ALLAAPGAAL APRRCPAQEV ARGVLTSLPG DSVTLTCPGV EPEDNATVHW
 61 VLRKPAAGSH PSRWAGMGRR LLLRSVQLHD SGNYSCYRAG RPAGTVHLLV DVPPEEPQLS
121 CFRKSPLSNV VCEWGPRSTP SLTTKAVLLV RKFQNSPAED FQEPCQYSQE SQKFSCQLAV
181 PEGDSSFYIV SMCVASSVGS KFSKTQTFQG CGILQPDPPA NITVTAVARN PRWLSVTWQD
241 PHSWNSSFYR LRFELRYRAE RSKTFTTWMV KDLQHHCVIH DAWSGLRHVV QLRAQEEFGQ
301 GEWSEWSPEA MGTPWTESRS PPAENEVSTP MQALTTNKDD DNILFRDSAN ATSLPVQDSS
361 SVPLPTFLVA GGSLAFGTLL CIAIVLRFKK TWKLRALKEG KTSMHPPYSL GQLVPERPRP
421 TPVLVPLISP PVSPSSLGSD NTSSHNRPDA RDPRSPYDIS NTDYFFPR (SEQ ID NO:8)
```

「**介白素6受體子單元β (IL-6Rβ)多肽**」意謂與以NCBI寄存編號NP_002175、NP_786943或NP_001177910提供之胺基酸序列具有至少約85%或大於85%之胺基酸一致性且具有IL-6受體生物活性之多肽或其片段。例示性IL-6Rβ生物活性包括結合至IL-6Rα、IL-6受體信號傳導活性，及調節細胞生長、分化、海帕西啶表現等。下文提供例示性IL-6Rβ序列：

```
  1 MLTLQTWLVQ ALFIFLTTES TGELLDPCGY ISPESPVVQL HSNFTAVCVL KEKCMDYFHV
 61 NANYIVWKTN HFTIPKEQYT IINRTASSVT FTDIASLNIQ LTCNILTFGQ LEQNVYGITI
121 ISGLPPEKPK NLSCIVNEGK KMRCEWDGGR ETHLETNFTL KSEWATHKFA DCKAKRDTPT
181 SCTVDYSTVY FVNIEVWVEA ENALGKVTSD HINFDPVYKV KPNPPHNLSV INSEELSSIL
241 KLTWTNPSIK SVIILKYNIQ YRTKDASTWS QIPPEDTAST RSSFTVQDLK PFTEYVFRIR
301 CMKEDGKGYW SDWSEEASGI TYEDRPSKAP SFWYKIDPSH TQGYRTVQLV WKTLPPFEAN
361 GKILDYEVTL TRWKSHLQNY TVNATKLTVN LTNDRYLATL TVRNLVGKSD AAVLTIPACD
421 FQATHPVMDL KAFPKDNMLW VEWTTPRESV KKYILEWCVL SDKAPCITDW QQEDGTVHRT
481 YLRGNLAESK CYLITVTPVY ADGPGSPESI KAYLKQAPPS KGPTVRTKKV GKNEAVLEWD
541 QLPVDVQNGF IRNYTIFYRT IIGNETAVNV DSSHTEYTLS SLTSDTLYMV RMAAYTDEGG
601 KDGPEFTFTT PKFAQGEIEA IVVPVCLAFL LTTLLGVLFC FNKRDLIKKH IWPNVPDPSK
661 SHIAQWSPHT PPRHNFNSKD QMYSDGNFTD VSVVEIEAND KKPFPEDLKS LDLFKKEKIN
721 TEGHSSGIGG SSCMSSSRPS ISSSDENESS QNTSSTVQYS TVVHSGYRHQ VPSVQVFSRS
781 ESTQPLLDSE ERPEDLQLVD HVDGGDGILP RQQYFKQNCS QHESSPDISH FERSKQVSSV
841 NEEDFVRLKQ QISDHISQSC GSGQMKMFQE VSAADAFGPG TEGQVERFET VGMEAATDEG
901 MPKSYLPQTV RQGGYMPQ (SEQ ID NO:9)
```

「**IL-6拮抗劑**」意謂能夠降低IL-6之生物活性之藥劑。IL-6拮抗

劑包括降低血清中IL-6多肽之含量之藥劑，包括降低IL-6多肽或核酸之表現之藥劑；降低IL-6結合至IL-6R之能力之藥劑；降低IL-6R之表現之藥劑；及當經IL-6結合時藉由IL-6R受體降低信號轉導之藥劑。在較佳實施例中，IL-6拮抗劑使IL-6生物活性降低至少約10%、20%、30%、50%、70%、80%、90%、95%或甚至100%。如下文部分5.9中進一步描述，IL-6拮抗劑包括IL-6結合多肽，諸如抗IL-6抗體及其抗原結合片段或衍生物；IL-6R結合多肽，諸如抗IL-6R抗體及其抗原結合片段或衍生物；及合成化學分子，諸如JAK1及JAK3抑制劑。

「**IL-6抗體**」或「**抗IL-6抗體**」意謂特異性結合IL-6之抗體。抗IL-6抗體包括對IL-6具有特異性之單株及多株抗體及其抗原結合片段或衍生物。IL-6抗體在下文部分5.9.1中更詳細地描述。

「**IL-6介導之發炎病症**」意謂已知或懷疑IL-6促成疾病或其症狀中之任一者之病因之任何病症。

「**紅血球生成素(EPO)**」意謂與以NCBI寄存編號NP_000790提供之胺基酸序列具有至少約85%或大於85%之胺基酸一致性且具有EPO生物活性之多肽或其片段。例示性EPO生物活性包括結合至紅血球生成素受體及所產生之紅血球系前驅體細胞之增殖及最終分化及/或增加紅血球生成(紅血球產生)。下文提供例示性EPO胺基酸序列：

```
  1 MGVHECPAWL WLLLSLLSLP LGLPVLGAPP RLICDSRVLE RYLLEAKEAE NITTGCAEHC
 61 SLNENITVPD TKVNFYAWKR MEVGQQAVEV WQGLALLSEA VLRGQALLVN SSQPWEPLQL
121 HVDKAVSGLR SLTTLLRALG AQKEAISPPD AASAAPLRTI TADTFRKLFR VYSNFLRGKL
181 KLYTGEACRT GDR (SEQ ID NO:10)
```

「**紅血球生成刺激劑(ESA)**」意謂刺激紅血球生成之藥劑。ESA包括(但不限於)EPO；達貝泊汀(darbepoetin) (安然愛思普(Aranesp))；倍他依泊汀(epoetin beta) (新萊考蒙(NeoRecormon))；德

耳塔依伯汀(epoetin delta)(對達因珀(Dynepo))；奧米伽依伯汀(epoetin omega)(Epomax)；澤塔依伯汀(epoetin zeta)。

「**促紅血球形成因子**」意謂增加紅血球或其祖細胞(例如造血幹細胞)之生長或增殖及/或降低紅血球或其祖細胞之細胞死亡的藥劑。在各種實施例中，促紅血球形成因子包括紅血球生成刺激劑、HIF安定劑及補充鐵。

「**C反應蛋白(CRP)多肽**」意謂與以NCBI寄存編號NP_000558提供之胺基酸序列具有至少約85%或大於85%之胺基酸一致性且具有補體活化活性之多肽或其片段。CRP含量回應於發炎而增加。下文提供例示性CRP序列：

```
  1 MEKLLCFLVL TSLSHAFGQT DMSRKAFVFP KESDTSYVSL KAPLTKPLKA FTVCLHFYTE
 61 LSSTRGYSIF SYATKRQDNE ILIFWSKDIG YSFTVGGSEI LFEVPEVTVA PVHICTSWES
121 ASGIVEFWVD GKPRVRKSLK KGYTVGAEAS IILGQEQDSF GGNFEGSQSL VGDIGNVNMW
181 DFVLSPDEIN TIYLGGPFSP NVLNWRALKY EVQGEVFTKP QLWP (SEQ ID NO:11)
```

「**藥劑**」意謂適合於以療法投與之任何化合物或組合物，且明確地包括化學化合物；蛋白質，包括抗體或其抗原結合片段；肽；及核酸分子。

「**個體**」意謂人類或非人類哺乳動物(包括(但不限於)牛、馬、犬、綿羊、貓及嚙齒動物，包括鼠類及家鼠屬)個體。「**患者**」為人類個體。

如本文中所使用，術語「**治療(treat/treating/treatment)**」及其類似者係指降低或改善病症及/或與其相關之跡象或症狀，或減慢或停止其進程。應瞭解，雖然不排除，但治療病症或病狀並不需要完全消除該病症、病狀或與其相關之症狀。

「**治療前**」意謂根據本文中所描述之方法在第一次投與IL-6拮抗

劑之前。治療前不排除且常常包括先前投與IL-6拮抗劑以外之治療。

在本發明中，「**包含(comprises, comprising)**」、「**含有(containing)**」、「**具有**」、「**包括(includes, including)**」及其語言變化形式具有美國專利法律中賦予其之含義，允許明確敍述者以外其他組分之存在。

「**生物樣本**」意謂來源於生物體(例如人類個體)之任何組織、細胞、體液或其他物質。在某些實施例中，生物樣本為血清或血液。

「**血管收縮素轉化酶(ACE)抑制劑**」意謂抑制血管收縮素轉化酶將血管收縮素I轉化至血管收縮素II之生物功能的藥劑。ACE抑制劑包括(但不限於)喹那普利(quinapril)、培哚普利、雷米普利(ramipril)、卡托普利(captopril)、貝那普利(benazepril)、群多普利(trandolapril)、福辛普利(fosinopril)、賴諾普利(lisinopril)、莫西普利(moexipril)及依那普利(enalapril)。在各種實施例中，ACE抑制劑為培哚普利。

5.3 其他說明性慣例

除非另外規定，否則抗體恆定區殘基編號係根據Kabat中之EU索引。

本文中所提供之範圍應理解為範圍內所有值之簡寫，包括所述端點。舉例而言，1至50之範圍應理解為包括由以下組成之群的任何數值、數值之組合或子範圍：1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49及50。

除非上下文有特別規定或顯而易見，否則本文中所使用之術語

「或」應理解為包括。除非上下文有特別規定或顯而易見，否則本文中所使用之術語「一」及「該」應理解為單數或複數。

除非上下文有特別規定或顯而易見，否則本文中所使用之術語「約」應理解為在此項技術中之正常容限範圍內，例如在平均值之2個標準偏差內。約可理解為在陳述值之10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.1%、0.05%或0.01%內。除非另外自上下文顯而易見，否則本文中所提供之所有數值均由術語約修飾。

5.4 治療海帕西啶介導之病症之方法

在第一態樣中，提供治療海帕西啶介導之病症之方法。

該等方法包含向具有海帕西啶介導之病症之個體(通常人類患者)投與治療有效量之IL-6拮抗劑，其中已確定該個體具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本。在第一系列之實施例中，先前已確定個體具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本。在另一系列實施例中，該方法進一步包含確定個體具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之早前步驟。通常，該等方法肯定地排除治療對於*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合之個體。通常，患者具有升高之治療前血清IL-6含量。

5.4.1 海帕西啶介導之病症

5.4.1.1 慢性疾病/慢性發炎貧血

在各種實施例中，藉由本文中所描述之方法治療的海帕西啶介導之病症為慢性疾病貧血，亦稱為慢性發炎貧血。

在各種實施例中，患者為男性且治療前血紅素(Hb)含量小於14 g/dl。在一些實施例中，男性患者之治療前Hb含量為13.0-13.9 g/dl、

12.0-12.9 g/dl、11.0-11.9 g/dl、10.0-10.9 g/dl或小於10 g/dl。在各種實施例中，患者為女性且治療前Hb含量小於12 g/dl。在一些實施例中，女性患者之治療前Hb含量為11.0-11.9 g/dl、10.0-10.9 g/dl、9.0-9.9 g/dl、8.0-8.9 g/dl或小於8 g/dl。在一些此等實施例中，之前患者已用ESA治療。在一些實施例中，患者已藉由補鐵治療。在一些實施例中，患者已用血液或紅血球濃厚液之輸注來治療。

在各種實施例中，患者為男性且治療前血容比小於40%。在一些實施例中，男性患者之治療前血容比小於39%、小於38%、小於37%、小於36%或小於35%。在某些實施例中，男性患者之治療前血容比為39%、38%、37%、36%、35%、34%、33%、32%、31%或30%。在各種實施例中，患者為女性，且治療前血容比小於36%。在一些實施例中，女性患者之治療前血容比小於35%、34%、33%、32%、31%、30%、29%、28%、27%或26%。在某些實施例中，女性患者之治療前血容比為35%、34%、33%、32%、31%、30%、29%、28%、27%或26%。在一些此等實施例中，患者已用ESA治療。在一些實施例中，患者已藉由補鐵治療。在一些實施例中，患者已用血液或紅血球濃厚液之輸注來治療。

在一些實施例中，患者已用ESA治療且具有正常之治療前Hb含量及/或正常之治療前血容比。在某些實施例中，患者為男性且治療前血紅素(Hb)含量為至少14 g/dl，及/或治療前血容比為至少40%。在某些實施例中，患者為女性，且治療前Hb含量為至少12 g/dl及/或血容比為至少36%。在具體實施例中，ESA為EPO。在具體實施例中，ESA為達貝泊汀α (darbepoetin alfa)。

在一些實施例中，患者已藉由補鐵治療，且具有正常之治療前Hb含量及/或正常之治療前血容比。在某些實施例中，患者為男性且治療前血紅素(Hb)含量為至少14 g/dl，及/或治療前血容比為至少40%。在某些實施例中，患者為女性，且治療前Hb含量為至少12 g/dl及/或血容比為至少36%。

在一些實施例中，患者已用全血或紅血球濃厚液之輸注來治療，且具有正常之治療前Hb含量及/或正常之治療前血容比。在某些實施例中，患者為男性且治療前血紅素(Hb)含量為至少14 g/dl，及/或治療前血容比為至少40%。在某些實施例中，患者為女性，且治療前Hb含量為至少12 g/dl及/或血容比為至少36%。

在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使患者之Hb含量增加而高於治療前含量之時間期。在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使患者之血容比增加而高於治療前含量之時間期。在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使Hb含量及血容比兩者增加而高於治療前含量之時間期。

在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以在不降低患者之Hb含量的情況下使得患者之ESA劑量減少而低於治療前含量之時間期。在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以在不降低患者之血容比的情況下使得患者之ESA劑量減少而低於治療前含量之時間期。在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以在不降低患者之Hb含量及血容比的情況下使得患者之ESA劑量減少之時間期。

在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使得患者之ESA劑量相較於治療前ESA劑量減少至少10%之時間期。在某些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使得患者之ESA劑量相較於治療前ESA劑量減少至少20%、30%、40%或50%之時間期。在特定實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使得患者之ESA劑量相較於治療前ESA劑量減少至少60%或甚至至少75%之時間期。

在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以逆轉功能性鐵缺乏之時間期。

5.4.1.1.1 慢性腎病

在各種實施例中，慢性疾病為慢性腎病(CKD)。

在一些實施例中，患者患有KDOQI 1期慢性腎病。在某些實施例中，患者患有KDOQI 2期慢性腎病、KDOQI 3期慢性腎病、KDOQI 4期慢性腎病或KDOQI 5期慢性腎病。

在一些實施例中，患者患有心腎症候群(CRS)。在某些實施例中，患者患有4型CRS。

在一些實施例中，患者已用透析治療。

在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續相較於年齡匹配且疾病匹配之歷史群組足以降低心血管(CV)死亡率之時間期。

5.4.1.1.2 慢性發炎疾病

在各種實施例中，慢性疾病為慢性發炎疾病。

在一些實施例中，慢性發炎疾病為類風濕性關節炎(RA)。

在具體實施例中，患者之治療前DAS28得分大於5.1。在一些實施例中，患者之治療前DAS28得分為3.2至5.1。在一些實施例中，患者之治療前DAS28得分小於2.6。在各種實施例中，患者之治療前RA為重度活動性的。在一些實施例中，患者之治療前RA為中度活動性的。

在某些實施例中，患者已用甲胺喋呤治療。在一些實施例中，當啟動用IL-6拮抗劑進行之治療時，中斷甲胺喋呤。在一些實施例中，當啟動用IL-6拮抗劑進行之治療時，繼續用甲胺喋呤進行之治療。

在某些實施例中，患者已用抗TNFα劑治療。在特定實施例中，抗TNFα劑選自依那西普、阿達木單抗、英利昔單抗、賽妥珠單抗及戈利木單抗。在特定實施例中，當啟動用IL-6拮抗劑進行之治療時，中斷抗TNFα劑。

在某些實施例中，患者已用IL-1受體拮抗劑治療。在具體實施例中，IL-1受體拮抗劑為阿那白滯素(anakinra)。在特定實施例中，當啟動用IL-6拮抗劑進行之治療時，中斷IL-1受體拮抗劑。

在某些實施例中，患者已用阿巴西普(abatacept)治療。在特定實施例中，當啟動用IL-6拮抗劑進行之治療時，中斷阿巴西普。

在某些實施例中，患者已用IL-6拮抗劑治療，且方法進一步包含繼續向經最新確定具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之彼等患者僅投與IL-6拮抗劑。在具體實施例中，IL-6拮抗劑為托珠單抗。在具體實施例中，IL-6拮抗劑為托法替尼。

在各種實施例中，慢性發炎疾病選自由以下組成之群：幼年期

特發性關節炎、僵直性脊椎炎、斑狀牛皮癬、牛皮癬性關節炎、發炎性腸病、克羅恩氏病及潰瘍性結腸炎。

5.4.1.1.3 癌症

在各種實施例中，慢性疾病為癌症。

在一些實施例中，癌症選自由以下組成之群：實體腫瘤、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、血液癌、多發性骨髓瘤、白血病、慢性淋巴細胞白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、淋巴瘤及霍奇金氏淋巴瘤。

5.4.1.1.4 慢性感染

在各種實施例中，慢性疾病為慢性感染。

5.4.1.1.5 充血性心臟衰竭

在各種實施例中，慢性疾病為充血性心臟衰竭(CHF)。

5.4.1.2 鐵難治性缺鐵性貧血(IRIDA)

在各種實施例中，海帕西啶介導之病症為鐵難治性缺鐵性貧血(IRIDA)。

5.4.1.3 與海帕西啶產生之肝腺瘤相關之貧血

在各種實施例中，海帕西啶介導之病症為與海帕西啶產生之肝腺瘤相關之貧血。

5.4.1.4 急性冠狀動脈症候群

呈現於下文實例2、3及5中之資料表明在急性心肌梗塞之後，IL-6拮抗劑在降低心臟衰竭及死亡之風險中有效，且在增加心臟功能及降低纖維化中有效。因此，在各種實施例中，海帕西啶介導之病症急性冠狀動脈症候群。

在某些實施例中，患者在第一次投與IL-6拮抗劑之前的60天內已罹患心肌梗塞。在特定實施例中，患者在第一次投與IL-6拮抗劑之前的30天、14天、7天、48小時或24小時內已罹患心肌梗塞。

在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續相較於治療前程度足以改良心肌收縮性之時間期。在某些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續相較於治療前程度足以提高心臟射血分數之時間期。在某些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續相較於治療前程度足以降低心臟纖維化之時間期。

5.4.1.5 卡斯爾曼氏病

在各種實施例中，海帕西啶介導之病症為卡斯爾曼氏病。

5.5 改良對海帕西啶介導之病症之治療的方法

在另一態樣中，提供藉由中斷為低效之療法而改良對海帕西啶介導之病症之治療的方法，從而在不喪失治療功效之情況下降低副作用且降低成本。該等方法包含向患有海帕西啶介導之病症之患者中斷IL-6拮抗劑之投與，其中已確定該患者針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合的。在一系列實施例中，先前已確定患者針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合的。在另一系列實施例中，方法進一步包含確定患者針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合之早前步驟。在典型實施例中，患者具有升高之治療前血清IL-6含量。在各種實施例中，患者具有升高之治療前血清CRP含量。

在各種實施例中，患者具有選自上文部分5.4.1中所描述之彼等病症之海帕西啶介導之病症。在某些實施例中，患者患有慢性疾病貧血。

5.6 治療IL-6介導之發炎病症之方法

實例2、3及5中所呈現之資料表明在具有升高之治療前IL-6含量且具有*TMPRSS6*主要對偶基因之至少一個複本、甚至不存在貧血之個體中，IL-6拮抗劑提供治療效益。因此，在另一態樣中，提供方法以治療無慢性發炎貧血之患者中的IL-6介導之發炎病症。

該等方法包含向患有IL-6介導之發炎病症之個體、通常人類患者投與治療有效量之IL-6拮抗劑，其中該患者不患有貧血，且其中已確定該個體具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本。在第一系列之實施例中，先前已確定個體具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本。在另一系列實施例中，方法進一步包含確定個體具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之早前步驟。通常，方法肯定地排除治療針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合之個體。通常，患者具有升高之治療前血清IL-6含量。

在一些實施例中，IL-6介導之病症為類風濕性關節炎(RA)。

在具體實施例中，患者之治療前DAS28得分大於5.1。在一些實施例中，患者之治療前DAS28得分為3.2至5.1。在一些實施例中，患者之治療前DAS28得分小於2.6。在各種實施例中，患者之治療前RA為重度活動性的。在一些實施例中，患者之治療前RA為中度活動性的。

在某些實施例中，患者已用甲胺喋呤治療。在一些實施例中，當啟動用IL-6拮抗劑進行之治療時，中斷甲胺喋呤。在一些實施例中，當啟動用IL-6拮抗劑進行之治療時，繼續甲胺喋呤。

在某些實施例中，患者已用抗TNFα劑治療。在特定實施例中，

抗TNFα劑選自依那西普、阿達木單抗、英利昔單抗、賽妥珠單抗及戈利木單抗。在特定實施例中，當啟動用IL-6拮抗劑進行之治療時，中斷抗TNFα劑。

在某些實施例中，患者已用IL-1受體拮抗劑治療。在具體實施例中，IL-1受體拮抗劑為阿那白滯素。在特定實施例中，當啟動用IL-6拮抗劑進行之治療時，中斷IL-1受體拮抗劑。

在某些實施例中，患者已用阿巴西普治療。在特定實施例中，當啟動用IL-6拮抗劑進行之治療時，中斷阿巴西普。

在各種實施例中，IL-6介導之病症選自由以下組成之群：幼年期特發性關節炎、僵直性脊椎炎、斑狀牛皮癬、牛皮癬性關節炎、發炎性腸病、克羅恩氏病及潰瘍性結腸炎。

5.7 治療前血清IL-6及CRP含量

在本文中所描述之方法之典型實施例中，患者具有升高之治療前血清IL-6含量。

在一些實施例中，患者之治療前血清IL-6含量大於2.5 pg/ml。在各種實施例中，患者之治療前血清IL-6含量大於5 pg/ml、大於7.5 pg/ml、大於10 pg/ml、大於12.5 pg/ml或大於15 pg/ml。

在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使患者之血清IL-6含量降低而低於治療前含量之時間期。在某些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使患者之血清IL-6含量相較於治療前含量降低至少10%、20%、30%、40%或50%之時間期。

在各種實施例中，患者具有升高之治療前C反應蛋白(CRP)含

量。在一些實施例中，患者之治療前CRP含量大於2 mg/ml、2.5 mg/ml、3 mg/ml、3.5 mg/ml、4 mg/ml、4.5 mg/ml或5 mg/ml。在一些實施例中，患者之治療前CRP含量大於7.5 mg/ml、10 mg/ml、12.5 mg/ml或15 mg/ml。

在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使患者之CRP含量降低而低於治療前含量之時間期。在某些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使患者之CRP含量相較於治療前含量降低至少10%、20%、30%、40%或50%之時間期。

5.8 *TMPRSS6* rs855791基因分型

本文中所描述之方法包含向已確定具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之個體投與治療有效量之IL-6拮抗劑。較佳地，鑑別對應於相關基因之兩個對偶基因，因此允許鑑別且區分以下患者：針對*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因為同型接合的，針對主要及次要*TMPRSS6* rs855791對偶基因為異型接合的，及針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合的。

使用標準技術確定SNP rs855791 (2321G→A)在*TMPRSS6*基因中之缺乏(主要對偶基因)或存在(次要對偶基因)。

通常，PCR用以擴增獲自患者之生物樣本。

在一些實施例中，同時使用即時PCR(RT-PCR)在擴增下偵測多形現象之缺乏或存在。在某些實施例中，RT-PCR分析採用5'核酸酶(TaqMan®探針)、分子信標及/或FRET雜交探針。*綜述於*Espy等人, *Clin. Microbiol. Rev.* 2006年1月; 19(1): 165-256中，其以全文引用之方式併入本文中。在典型實施例中，使用商業上可獲得之分析。在所

選實施例中，商業上可獲得之分析選自由以下組成之群：TaqMan™ SNP基因分型分析(ThermoFisher)；PCR SNP基因分型分析(Qiagen)；Novallele 基因分型分析(Canon)；及SNP Type™分析(以前SNPtype) (Fluidigm)。

在一些實施例中，在擴增後使用用對SNP rs855791具有特異性之探針之雜交、限制性核酸內切酶消化、核酸定序、引子延伸、微陣列或基因晶片分析、質譜分析及/或DNA酶保護分析，來偵測多形現象之缺乏或存在。在一些實施例中，對偶基因變異體藉由定序判讀。在某些實施例中，使用桑格定序(Sanger sequencing)。在某些實施例中，使用各種下一代定序技術中之一者，包括例如選自由以下組成之群的定序技術：微陣列定序、Solexa定序(Illumina)、離子急流(Life Technologies)、SOliD (Applied Biosystems)、焦磷酸定序、單分子即時定序(Pacific Bio)、奈米孔定序及隧道電流定序。

5.9 IL-6拮抗劑

用於本文中所描述之方法之IL-6拮抗劑能夠降低IL-6之生物活性。

5.9.1 抗IL-6抗體

在各種實施例中，IL-6拮抗劑為抗IL-6抗體或其抗原結合片段或衍生物。

在一些實施例中，IL-6拮抗劑為全長抗IL-6單株抗體。在特定實施例中，全長單株抗體為IgG抗體。在某些實施例中，全長單株抗體為IgG1、IgG2、IgG3或IgG4抗體。在一些實施例中，IL-6拮抗劑為多株組合物，其包含全長抗IL-6抗體之複數種物質，該複數種物中之每

一者具有獨特CDR。在一些實施例中，IL-6拮抗劑為選自Fab、Fab'及F(ab')2片段之抗體片段。在一些實施例中，IL-6拮抗劑為scFv、經二硫鍵連接之Fv (dsFv)或單域抗體，諸如源於駱駝之VHH單域奈米抗體。在一些實施例中，IL-6拮抗劑為包含IL-6抗原結合片段之免疫結合物或融合物。在一些實施例中，抗體為雙特異性或多特異性的，其中抗原結合部分中之至少一者具有針對IL-6之特異性。

在一些實施例中，抗體為完全人類的。在一些實施例中，抗體為人類化的。在一些實施例中，抗體為嵌合的且具有非人類V區及人類C區域。在一些實施例中，抗體為鼠的。

在典型實施例中，抗IL-6抗體對人類IL-6之結合性具有小於100 nM之K_D。在一些實施例中，抗IL-6抗體對人類IL-6之結合性具有小於75 nM、50 nM、25 nM、20 nM、15 nM或10 nM之K_D。在特定實施例中，抗IL-6抗體對人類IL-6之結合性具有小於5 nM、4 nM、3 nM或2 nM之K_D。在所選擇實施例中，抗IL-6抗體對人類IL-6之結合性具有小於1 nM、750 pM或500 pM之K_D。在具體實施例中，抗IL-6抗體對人類IL-6之結合性具有不大於500 pM、400 pM、300 pM、200 pM或100 pM之K_D。

在典型實施例中，抗IL-6抗體中和IL-6之生物活性。在一些實施例中，中和抗體阻止IL-6結合至IL-6受體。

在典型實施例中，抗IL-6抗體在靜脈內投與後具有至少7天之消除半衰期。在某些實施例中，抗IL-6抗體之消除半衰期為至少14天、至少21天或至少30天。

在一些實施例中，相較於未經取代之人類IgG恆定域，抗IL-6抗

體具有具至少一個胺基酸取代(延長血清半衰期)之人類IgG恆定區。

在某些實施例中，IgG恆定域包含在殘基252、254及256處之取代，其中胺基酸殘基252處之胺基酸取代為經酪胺酸取代，胺基酸殘基254處之胺基酸取代為經蘇胺酸取代，且胺基酸殘基256處之胺基酸取代為經麩胺酸取代(「YTE」)。參見美國專利第7,083,784號，其以全文引用之方式併入本文中。在某些延長半衰期實施例中，IgG恆定域包含選自以下的取代：T250Q/M428L (Hinton等人, *J. Immunology* 176:346-356 (2006))；N434A (Yeung等人, *J. Immunology* 182:7663-7671 (2009))；或T307A/E380A/N434A (Petkova等人, *International Immunology*, 18: 1759-1769 (2006))。

在一些實施例中，抗IL-6抗體之消除半衰期藉由利用人類血清白蛋白之FcRN結合特性來增加。在某些實施例中，抗體結合至白蛋白(Smith等人, *Bioconjug. Chem.*, 12: 750-756 (2001))。在一些實施例中，抗IL-6抗體融合至細菌白蛋白結合域(Stork等人, *Prot. Eng. Design Science* 20: 569-76 (2007))。在一些實施例中，抗IL-6抗體融合至白蛋白結合肽(Nguygen等人, *Prot Eng Design Sel* 19: 291-297 (2006))。在一些實施例中，抗IL抗體為雙特異性，其中一種特異性針對IL-6，且一種特異性針對人類血清白蛋白(Ablynx，WO 2006/122825(雙特異性奈米抗體))。

在一些實施例中，抗IL-6抗體之消除半衰期藉由以下增加：PEG化(Melmed等人, *Nature Reviews Drug Discovery* 7: 641-642 (2008))；HPMA共聚物結合(Lu等人, *Nature Biotechnology* 17: 1101-1104 (1999))；聚葡萄糖結合(*Nuclear Medicine Communications*, 16: 362-

369 (1995))；與高胺基酸聚合物(HAP；HAP化)之結合(Schlapschy等人，*Prot Eng Design Sel* 20: 273-284 (2007))；或聚唾液酸化(Constantinou等人, *Bioconjug. Chem*. 20: 924-931 (2009))。

5.9.1.1.1 MEDI5117及衍生物

在某些實施例中，抗IL-6抗體或其抗原結合部分包含MEDI5117之所有六個CDR。在特定實施例中，抗體或其抗原結合部分包含MEDI5117重鏈V區及輕鏈V區。在具體實施例中，抗體為全長MEDI5117抗體。MEDI5117抗體描述於揭示內容以全文引用之方式併入本文中之WO 2010/088444及US 2012/0034212中。MEDI5117抗體具有以下CDR及重鏈及輕鏈序列：

MEDI5117 VH CDR1

SNYMI (SEQ ID NO:12)

MEDI5117 VH CDR2

DLYYYAGDTYYADSVKG (SEQ ID NO:13)

MEDI5117 VH CDR3

WADDHPPWIDL (SEQ ID NO:14)

MEDI5117 VL CDR1

RASQGISSWLA (SEQ ID NO:15)

MEDI5117 VL CDR2

KASTLES (SEQ ID NO:16)

MEDI5117 VL CDR3

QQSWLGGS (SEQ ID NO:17)

MEDI5117重鏈

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISSNYMIWVRQAPGKGLEWVSDLYYYAGDTYY
ADSVKGRFTMSRDISKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARWADDHPPWIDLWGRGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:18)

MEDI5117輕鏈

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKVLIYKASTLESGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQSWLGGSFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL
SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:19)

在各種實施例中，抗IL-6抗體為MEDI5117之衍生物。

在一些實施例中，MEDI5117衍生物在MEDI5117重鏈及/或輕鏈V區中包括一或多個胺基酸取代。

在某些實施例中，相對於MEDI5117抗IL-6抗體之最初V_H及/或V_L，衍生物包含少於25個胺基酸取代、少於20個胺基酸取代、少於15個胺基酸取代、少於10個胺基酸取代、少於5個胺基酸取代、少於4個胺基酸取代、少於3個胺基酸取代、少於2個胺基酸取代或1個胺基酸取代，同時保留針對人類IL-6之特異性。

在某些實施例中，MEDI5117衍生物包含與MEDI5117之VH及VL域之胺基酸序列至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%一致之胺基酸序列。使用BLAST演算法使用預設參數確定序列一致性百分比。

在某些實施例中，MEDI5117衍生物包含以下胺基酸序列：其中CDR包含與MEDI5117之各別CDR之胺基酸序列至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%一致之胺基酸序列。使用

BLAST演算法使用預設參數確定序列一致性百分比。

在某些實施例中，V_H及/或V_L CDR衍生物在一或多個經預測非必需胺基酸殘基(亦即，對抗體特異性結合至人類IL-6不至關重要之胺基酸殘基)處包含保守胺基酸取代。

5.9.1.1.2　其他抗IL-6抗體

在各種實施例中，抗IL-6抗體包含來自選自由以下組成之群的抗體之六個CDR：司妥昔單抗、格里林祖單抗、思魯庫單抗、克拉雜奇單抗、奧諾奇單抗、艾思莫單抗、VX30 (VOP-R003；Vaccinex)、EB-007 (EBI-029；Eleven Bio)、ARGX-109 (ArGEN-X)、FM101 (Femta Pharmaceuticals，Lonza)及ALD518/BMS-945429 (Alder Biopharmaceuticals，Bristol-Myers Squibb)。在某些實施例中，抗IL-6抗體包含來自選自由以下組成之群的抗體之重鏈V區及輕鏈V區：司妥昔單抗、格里林祖單抗、思魯庫單抗、克拉雜奇單抗、奧諾奇單抗、VX30 (VOP-R003；Vaccinex)、EB-007 (EBI-029；Eleven Bio)、ARGX-109 (ArGEN-X)、FM101 (Femta Pharmaceuticals，Lonza)及ALD518/BMS-945429 (Alder Biopharmaceuticals，Bristol-Myers Squibb)。在特定實施例中，抗IL-6抗體為選自由以下組成之群的抗體：司妥昔單抗、格里林祖單抗、思魯庫單抗、克拉雜奇單抗、奧諾奇單抗、VX30 (VOP-R003；Vaccinex)、EB-007 (EBI-029；Eleven Bio)、ARGX-109 (ArGEN-X)、FM101 (Femta Pharmaceuticals，Lonza)及ALD518/BMS-945429 (Alder Biopharmaceuticals，Bristol-Myers Squibb)。

在一些實施例中，抗IL-6抗體包含來自選自以下各者中所描述之

彼等抗體之抗體的六個CDR：US 2016/0168243、US 2016/0130340、US 2015/0337036、US 2015/0203574、US 2015/0140011、US 2015/0125468、US 2014/0302058、US 2014/0141013、US 2013/0280266、US 2013/0017575、US 2010/0215654、US 2008/0075726、美國專利第5,856,135號、US 2006/0240012、US 2006/0257407或美國專利第7291721號，其揭示內容以全文引用之方式併入本文中。

5.9.2 抗IL-6受體抗體

在各種實施例中，IL-6拮抗劑為抗IL-6受體抗體或其抗原結合片段或衍生物。

在一些實施例中，IL-6拮抗劑為全長抗IL-6受體單株抗體。在特定實施例中，全長單株抗體為IgG抗體。在某些實施例中，全長單株抗體為IgG1、IgG2、IgG3或IgG4抗體。在一些實施例中，IL-6拮抗劑為多株組合物，其包含全長抗IL-6受體抗體之複數種物質，該複數種物中之每一者具有獨特CDR。在一些實施例中，IL-6拮抗劑為選自Fab及Fab'片段之抗體片段。在一些實施例中，IL-6拮抗劑為scFv、單域抗體，包括源於駱駝之VHH單域奈米抗體。在一些實施例中，抗體為雙特異性或多特異性的，其中抗原結合部分中之至少一者具有針對IL-6R之特異性。

在一些實施例中，抗體為完全人類的。在一些實施例中，抗體為人類化的。在一些實施例中，抗體為嵌合的且具有非人類V區及人類C區域。在一些實施例中，抗體為鼠的。

在典型實施例中，抗IL-6受體抗體對人類IL-6R之結合性具有小

於100 nM之K_D。在一些實施例中，抗IL-6R抗體對人類IL-6R之結合性具有小於75 nM、50 nM、25 nM、20 nM、15 nM或10 nM之K_D。在特定實施例中，抗IL-6受體抗體對人類IL-6R之結合性具有小於5 nM、4 nM、3 nM或2 nM之K_D。在所選擇實施例中，抗IL-6受體抗體對人類IL-6R之結合性具有小於1 nM、750 pM或500 pM之K_D。在具體實施例中，抗IL-6受體抗體對人類IL-6R之結合性具有不大於500 pM、400 pM、300 pM、200 pM或100 pM之K_D。

在典型實施例中，抗IL-6R降低IL-6之生物活性。

在典型實施例中，抗IL-6R抗體在靜脈內投與後具有至少7天之消除半衰期。在某些實施例中，抗IL-6R抗體之消除半衰期為至少14天、至少21天或至少30天。

在一些實施例中，相較於未經取代之人類IgG恆定域，抗IL-6R抗體具有具至少一個胺基酸取代(延長血清半衰期)之人類IgG恆定區。

在某些實施例中，IgG恆定域包含在殘基252、254及256處之取代，其中胺基酸殘基252處之胺基酸取代為經酪胺酸取代，胺基酸殘基254處之胺基酸取代為經蘇胺酸取代，且胺基酸殘基256處之胺基酸取代為經麩胺酸取代(「YTE」)。參見美國專利第7,083,784號，其以全文引用之方式併入本文中。在某些延長半衰期實施例中，IgG恆定域包含選自以下的取代：T250Q/M428L (Hinton等人, J. Immunology 176:346-356 (2006))；N434A (Yeung等人, J. Immunology 182:7663-7671 (2009))；或T307A/E380A/N434A (Petkova等人, International Immunology, 18: 1759-1769 (2006))。

在一些實施例中，抗IL-6R抗體之消除半衰期藉由利用人類血清白蛋白之FcRN結合特性來增加。在某些實施例中，抗體結合至白蛋白(Smith等人, Bioconjug. Chem., 12: 750-756 (2001))。在一些實施例中，抗IL-6R抗體融合至細菌白蛋白結合域(Stork等人, Prot. Eng. Design Science 20: 569-76 (2007))。在一些實施例中，抗IL-6抗體融合至白蛋白結合肽(Nguygen等人, Prot Eng Design Sel 19: 291-297 (2006))。在一些實施例中，抗IL抗體為雙特異性的，其中一種特異性針對IL-6R，且一種特異性針對人類血清白蛋白(Ablynx，WO 2006/122825(雙特異性奈米抗體))。

在一些實施例中，抗IL-6R抗體之消除半衰期藉由以下增加：PEG化(Melmed等人, Nature Reviews Drug Discovery 7: 641-642 (2008))；HPMA共聚物結合(Lu等人, Nature Biotechnology 17: 1101-1104 (1999))；聚葡萄糖結合(Nuclear Medicine Communications, 16: 362-369 (1995))；與高胺基酸聚合物(HAP；HAP化)之結合(Schlapschy等人, Prot Eng Design Sel 20: 273-284 (2007))；或聚唾液酸化(Constantinou等人, Bioconjug. Chem. 20: 924-931 (2009))。

在某些實施例中，抗IL-6R抗體或其抗原結合部分包含托珠單抗之所有六個CDR。在特定實施例中，抗體或其抗原結合部分包含托珠單抗重鏈V區及輕鏈V區。在具體實施例中，抗體為全長托珠單抗抗體。

在某些實施例中，抗IL-6R抗體或其抗原結合部分包含莎麗路單抗(sarilumab)之所有六個CDR。在特定實施例中，抗體或其抗原結合部分包含莎麗路單抗重鏈V區及輕鏈V區。在具體實施例中，抗體為

全長莎麗路單抗抗體。

在某些實施例中，抗IL-6R抗體或其抗原結合部分包含以下之所有六個CDR：VX30 (Vaccinex)、ARGX-109 (arGEN-X)、FM101 (Formatech)、SA237 (Roche)、NI-1201 (NovImmune)或US 2012/0225060中所描述之抗體。

在某些實施例中，抗IL-6R抗體或其抗原結合部分為單域抗體。在特定實施例中，單域抗體為駱駝VHH單域抗體。在具體實施例中，抗體為夫巴利珠單抗(ALX-0061) (Ablynx NV)。

5.9.3 抗IL-6:IL-6R複合物抗體

在各種實施例中，IL-6拮抗劑為對IL-6與IL-6R之複合物具有特異性之抗體。在某些實施例中，抗體具有選自US 2011/0002936中所描述之彼等抗體之抗體的六個CDR，該US 2011/0002936以全文引用之方式併入本文中。

5.9.4 JAK及STAT抑制劑

已知IL-6經由JAK-STAT路徑傳信。

在各種實施例中，IL-6拮抗劑為JAK信號傳導路徑之抑制劑。在一些實施例中，JAK抑制劑為JAK1特異性抑制劑。在一些實施例中，JAK抑制劑為JAK3特異性抑制劑。在一些實施例中，JAK抑制劑為泛JAK抑制劑。

在某些實施例中，JAK抑制劑選自由以下組成之群：托法替尼(Xeljanz)、得森替尼、盧佐替尼、尤帕達替尼、巴瑞替尼、斐哥替尼、來妥替尼、帕瑞替尼、皮非替尼、INCB-039110、ABT-494、INCB-047986及AC-410。

在各種實施例中，IL-6拮抗劑為STAT3抑制劑。在一具體實施例中，抑制劑為AZD9150 (AstraZeneca，Isis Pharmaceuticals)、STAT3反義分子。

5.9.5 額外IL-6拮抗劑

在各種實施例中，IL-6拮抗劑為拮抗劑肽。

在某些實施例中，IL-6拮抗劑為C326 (Avidia之IL-6抑制劑，亦稱為AMG220)或FE301，一種IL-6之重組蛋白抑制劑(Ferring International Center S.A.，Conaris Research Institute AG)。在一些實施例中，抗IL-6拮抗劑包含可溶性gp130、FE301 (Conaris/Ferring)。

5.10 給藥方案

5.10.1 抗體、抗原結合片段、肽

在典型實施例中，抗體、抗原結合片段及肽IL-6拮抗劑非經腸投與。

在一些非經腸實施例中，IL-6拮抗劑經靜脈內投與。在某些靜脈內實施例中，IL-6拮抗劑以藥團形式投與。在某些靜脈內實施例中，IL-6拮抗劑以輸液形式投與。在某些靜脈內實施例中，IL-6拮抗劑以藥團形式、隨後以輸液形式投與。在一些非經腸實施例中，IL-6拮抗劑經皮下投與。

在各種實施例中，抗體、抗原結合片段或肽IL-6拮抗劑以不依賴患者體重或表面積之劑量(均一劑量)投與。

在一些實施例中，靜脈內均一劑量為1 mg、2 mg、3 mg、4 mg、5 mg、6 mg、7 mg、8 mg、9 mg或10 mg。在一些實施例中，靜脈內均一劑量為11 mg、12 mg、13 mg、14 mg、15 mg、16 mg、17

mg、18 mg、19 mg或20 mg。在一些實施例中，靜脈內均一劑量為25 mg、30 mg、40 mg或50 mg。在一些實施例中，靜脈內均一劑量為60 mg、70 mg、80 mg、90 mg或100 mg。在一些實施例中，靜脈內均一劑量為1 - 10mg、10 - 15 mg、15 - 20 mg、20 - 30 mg、30 - 40 mg或40 - 50 mg。在一些實施例中，靜脈內均一劑量為1 - 40 mg或50 - 100 mg。

在一些實施例中，皮下均一劑量為10 mg、20 mg、30 mg、40 mg、50 mg、60 mg、70 mg、80 mg、90 mg或100 mg。在一些實施例中，皮下均一劑量為110 mg、120 mg、130 mg、140 mg、150 mg、160 mg、170 mg、180 mg、190 mg或200 mg。在一些實施例中，皮下均一劑量為210 mg、220 mg、230 mg、240 mg或250 mg。在一些實施例中，皮下均一劑量為10 - 100 mg、100 - 200 mg或200 - 250 mg。在一些實施例中，皮下均一劑量為10 - 20 mg、20 - 30 mg、30 - 40 mg、40 - 50 mg、50 - 60 mg、60 - 70 mg、70 - 80 mg、80 - 90 mg或90 - 100 mg。在一些實施例中，皮下均一劑量為100 - 125 mg、125 - 150 mg、150 -175 mg、175 - 200 mg或200 - 250 mg。

在各種實施例中，抗體、抗原結合片段或肽IL-6拮抗劑以基於患者體重之劑量投與。

在一些實施例中，拮抗劑以0.1 mg/kg、0.2 mg/kg、0.3 mg/kg、0.4 mg/kg、0.5 mg/kg、0.6 mg/kg、0.7 mg/kg、0.8 mg/kg、0.9 mg/kg或1.0 mg/kg之靜脈內劑量投與。在一些實施例中，拮抗劑以1.5 mg/kg、2 mg/kg、2.5 mg/kg、3 mg/kg、3.5 mg/kg、4 mg/kg、4.5 mg/kg或5 mg/kg之劑量投與。

在一些實施例中，皮下之基於體重之劑量為0.1 mg/kg、0.2 mg/kg、0.3 mg/kg、0.4 mg/kg、0.5 mg/kg、0.6 mg/kg、0.7 mg/kg、0.8 mg/kg、0.9 mg/kg或1.0 mg/kg。在一些實施例中，拮抗劑以1.5 mg/kg、2 mg/kg、2.5 mg/kg、3 mg/kg、3.5 mg/kg、4 mg/kg、4.5 mg/kg或5 mg/kg之劑量投與。

在各種靜脈內實施例中，IL-6拮抗劑每7天投與一次、每14天投與一次、每21天投與一次、每28天投與一次或一月投與一次。在各種皮下實施例中，IL-6拮抗劑每14天投與一次、每28天投與一次、一月投與一次、每兩個月(每隔一個月)投與一次或每三個月投與一次。

在某些較佳實施例中，IL-6拮抗劑為MEDI5117抗體。在各種實施例中，MEDI5117以1 -30 mg之均一劑量每週一次IV投與。在某些實施例中，MEDI5117抗體以1、2、3、4、5、7.5、10、15、20、25或30 mg之均一劑量每週一次IV投與。在一些實施例中，MEDI5117抗體以25 - 250 mg之均一劑量每月一次至每三個月一次s.c.投與。在特定實施例中，MEDI5117以30 mg、45 mg、60 mg、75 mg、100 mg、120 mg、125 mg、150 mg、175 mg、200 mg、225 mg、240 mg或250 mg之劑量每月一次、每兩個月一次或每3個月一次s.c.投與。

在一些實施例中，IL-6拮抗劑為托珠單抗。在各種實施例中，針對≥100 kg之患者，托珠單抗以162 mg之起始劑量每週一次s.c.投與。在一些實施例中，基於臨床反應，托珠單抗以4 mg/kg劑量每4週一次、隨後升高至8 mg/kg每4週一次靜脈內投與。

5.10.2 JAK及STAT抑制劑

在典型實施例中，小分子JAK抑制劑及STAT抑制劑經口投與。

在各種實施例中，抑制劑以1 - 10 mg、10 - 20 mg、20 - 30 mg、30 - 40 mg或40 - 50 mg之口服劑量一天一次或兩次投與。在一些實施例中，抑制劑以50 - 60 mg、60 - 70 mg、70 - 80 mg、80 - 90 mg或90 - 100 mg之劑量一天一次或兩次投與。在一些實施例中，抑制劑以5、10、15、20、25、30、35、40、45或50 mg之劑量一天一次或兩次PO投與。在一些實施例中，抑制劑以75 mg劑量PO QD或BID投與，以100 mg劑量PO QD或BID投與。

在某些實施例中，JAK抑制劑為托法替尼，且以5 mg劑量PO BID投與，或以11 mg劑量PO QD投與。

在某些實施例中，JAK抑制劑為得森替尼，且以25 mg、50 mg、100 mg或150 mg之劑量PO BID投與。

在某些實施例中，抑制劑為盧佐替尼，且以25 mg劑量PO BID投與，以20 mg劑量PO BID投與，以15 mg劑量PO BID投與，以10 mg劑量PO BID投與或以5 mg劑量PO BID投與。

5.11 其他治療劑

在本文中所描述之方法之各種實施例中，方法進一步包含投與除IL-6拮抗劑之外之治療劑，其中第二治療劑亦能夠降低海帕西啶表現。

在一些實施例中，第二治療劑為BMP拮抗劑。在某些實施例中，BMP拮抗劑為抗BMP6抗體。在特定實施例中，抗BMP6抗體具有US 2016/0176956或US 2016/0159896中所描述之抗體之六個CDR，該等案之揭示內容以全文引用之方式併入本文中。

在某些實施例中，第二治療劑為鐵調素調節蛋白拮抗劑。在特

定實施例中，鐵調素調節蛋白拮抗劑為抗鐵調素調節蛋白抗體。在具體實施例中，抗鐵調素調節蛋白抗體具有Kovac等人，*Haematologica* (2016) doi:10.3324/ haematol.2015.140772[印刷之前的電子版]中所揭示之抗體的六個CDR。

在某些實施例中，第二治療劑為海帕西啶拮抗劑。在特定實施例中，海帕西啶拮抗劑為抗海帕西啶抗體。在具體實施例中，抗體具有US 2016/0017032中所描述之抗體之六個CDR，該案之揭示內容以全文引用之方式併入本文中。

5.12 套組

在另一態樣中，提供套組。

在典型實施例中，套組提供試劑以自獲自患者之生物樣本確定患者之*TMPRSS6* SNP rs855791位置處之基因型。

5.13 其他態樣及實施例

5.13.1 治療慢性腎病或心血管疾病中之發炎之方法

在其他態樣及實施例中，提供用於用IL-6拮抗劑表徵且治療慢性腎病或心血管疾病中之發炎之組合物及方法，以及用於表徵患者對治療之反應之方法。

此等態樣及實施例至少部分基於以下發現：具有在核苷酸位置2321處包含G或C之*TMPRSS6*的一或多個對偶基因(編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽)的慢性腎病患者及心血管疾病患者之發炎使得此等患者具有較高死亡風險，且此類個體可用IL-6拮抗劑治療以降低此風險。如下文更詳細報導，將慢性腎病患者基因分型，分析IL-6及CRP之血清含量，且將此等診斷資料與所投與之EPO給藥

及死亡風險相比。具有在核苷酸位置2321處包含G或C之*TMPRSS6*之一或多個對偶基因(編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽)，及升高之IL-6及/或CRP含量的患者需要更高之EPO劑量來治療，且具有較高死亡率。已顯示在鑑別患有缺鐵性貧血之患者中，此位置處之核苷酸很重要(參見Finberg等人，*Nat. Genet.* 2008; 40(5): 569-571，將其教示且關於序列、變異體、命名法等之全部內容特此以全文引用之方式併入)。此等資料強烈地支持基於*TMPRSS6*基因型鑑別患者子集，其需要較高的EPO劑量及/或具有較高死亡風險，且在存在或不存在用於治療貧血(例如與慢性腎病相關)之標準療法下將可能對IL-6抑制起反應。藉由抑制發炎，可減少EPO給藥，從而避免EPO之不利副作用(例如心血管風險)。

此等態樣及實施例進一步基於以下發現：具有在核苷酸位置2321處包含G或C之*TMPRSS6*之一或多個對偶基因(編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽)的患者處於與心肌梗塞或心血管疾病相關之更高的死亡風險下。此等患者將亦可能受益於IL-6抑制，其將降低發炎及增加之風險。

因此，提供以下治療方法：藉由抑制例如在藉由SNP rs855791處之*TMPRSS6*基因分型而選擇之患者中之IL-6生物活性，藉由阻斷IL-6或其受體(gp80)彼此結合，或阻斷其信號傳導或表現(例如藉由抗IL-6抗體或藉由抗IL-6R抗體或JAK1/STAT3抑制)，來治療與心血管疾病或慢性腎病(包括慢性腎病貧血)相關之發炎，及/或降低與此類病狀相關之死亡風險。在一個實施例中，慢性腎病之治療在存在或不存在用於貧血之標準治療以及以下方法下進行：例如藉由對SNP rs855791處

之*TMPRSS6*基因分型且偵測發炎標記物之含量(例如增加之IL-6及/或CRP血清含量)，來表徵罹患慢性腎病之患者對用於貧血之治療的反應。

提供藉由投與抑制IL-6生物活性或表現之藥劑來治療心血管疾病或慢性腎病貧血及/或降低與此類患者之慢性發炎相關之死亡的方法。

在一些態樣及實施例中，提供用於治療促進患有慢性腎病或心血管疾病之個體之死亡的慢性發炎，且用於表徵患者對此類療法之反應之組合物及方法。在特定實施例中，提供用於表徵且治療慢性發炎貧血及死亡(例如在慢性腎病中)以及用於表徵患者對用於貧血之治療(例如投與紅血球生成素或紅血球生成刺激劑)之反應的方法。在一個態樣中，提供治療經選擇個體之慢性發炎之方法，方法包含向個體投與IL-6拮抗劑，其中針對治療，個體藉由具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因經選擇。

在另一態樣中，提供用於治療患有心血管疾病或慢性腎病之經選擇個體之發炎或慢性發炎的方法，方法涉及向個體投與IL-6拮抗劑(例如抗IL-6抗體)，其中針對治療，個體藉由具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因經選擇。在一個實施例中，方法降低個體之死亡風險。在一個實施例中，個體具有心肌梗塞或心臟衰竭之病史。

在另一態樣中，提供降低患有心血管疾病或腎病之經選擇個體之發炎及死亡風險的方法，方法包含向個體投與IL-6拮抗劑(例如抗IL-6抗體)，其中個體經選擇為具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺

酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因，且相對於參照患有增加之發炎。在一個實施例中，個體具有心肌梗塞或心臟衰竭之病史。

在另一態樣中，提供用於降低患有慢性腎病或心臟衰竭之個體之死亡風險的方法，方法包含向個體投與IL-6拮抗劑，其中個體經鑑別為具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因，且相對於參照患有增加之發炎。

在另一態樣中，提供治療個體之貧血之方法，方法涉及向個體投與單獨或與用於貧血之療法組合之IL-6拮抗劑，其中個體經鑑別為具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽(亦稱為間質蛋白酶-2；MT2)之一或多個對偶基因(例如在*TMPRSS6*核酸分子之核苷酸位置2321處具有G或C)，且相對於參照患有增加之發炎。

在另一態樣中，提供治療患有增加之發炎的個體之貧血之方法，方法涉及以有效地中和個體之發炎之量投與單獨或與促紅血球形成因子組合之IL-6拮抗劑(例如IL-6抗體),該個體具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因(例如在*TMPRSS6*核酸分子之核苷酸位置2321處具有G或C)。

在再一態樣中，提供在鑑別為有需要之個體中增強對EPO之反應的方法，方法包含以有效地中和個體之發炎之量投與IL-6拮抗劑(例如IL-6抗體)，從而減少EPO劑量，該個體具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因(例如在*TMPRSS6*核酸分子之核苷酸位置2321處具有G或C)。

在另一態樣中，提供降低患有增加之發炎的個體之死亡之方法，方法涉及以有效地中和個體之發炎之量投與IL-6拮抗劑，該個體

具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因(例如在*TMPRSS6*核酸分子之核苷酸位置2321處具有G或C)。

在又一態樣中，提供為鑑別為有需要之個體選擇療法之方法，方法涉及：表徵以下個體：具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因(例如在*TMPRSS6*核酸分子之核苷酸位置2321處具有G或C)；及偵測一或多種發炎標記物IL-6或CRP之含量，其中表徵指示IL-6拮抗劑應單獨或與用於貧血之療法組合投與。

在又一態樣中，提供用於增加鑑別為有需要之個體中之紅血球或其祖細胞(例如造血幹細胞、前紅血球母細胞、紅血球母細胞或網狀紅血球)的增殖或存活之方法，方法包含向個體投與IL-6拮抗劑及促紅血球形成因子，其中個體經鑑別為具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因(例如在*TMPRSS6*核酸分子之核苷酸位置2321處具有G或C)，且相對於參照患有增加之發炎。

在本文中所敘述態樣中之任一者之各種實施例中，個體患有或經鑑別為患有貧血，包括癌症貧血、慢性自體免疫疾病中之貧血、慢性發炎疾病中之貧血、心血管疾病中之貧血、代謝症候群中之貧血及其類似貧血。在本文中所敘述態樣中之任一者之各種實施例中，個體患有或經鑑別為患有慢性腎病。在本文中所敘述態樣中之任一者之各種實施例中，個體患有或經鑑別為患有發炎。在本文中所敘述態樣中之任一者之各種實施例中，個體具有或經鑑別為具有增加之與慢性發炎、慢性腎病或心血管疾病相關之死亡風險。在本文中所敘述態樣中

之任一者之各種實施例中，個體經鑑別為需要治療。在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，個體患有或經鑑別為患有增加之發炎。在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，個體具有或經鑑別為具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因(例如在*TMPRSS6*核酸分子之核苷酸位置2321處具有G或C)，且相對於參照患有增加之發炎。在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，方法包含向個體投與IL-6拮抗劑。在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，方法包含向個體投與IL-6拮抗劑及用於貧血之療法。在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，個體為人類。

在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，用於貧血之療法包含投與促紅血球形成因子。在各種實施例中，促紅血球形成因子為紅血球生成素、紅血球生成刺激劑、HIF安定劑及補充鐵中之一或多者。

在各種實施例中，增加之發炎之特徵在於相對於參照組，增加之IL-6及/或CRP含量(例如如藉由習知CRP分析或高敏感性分析(hsCRP)所量測，以上兩者偵測CRP，但在分析效能方面不同)。在各種實施例中，增加之發炎表徵為IL-6大於約5 pg/ml。在各種實施例中，增加之發炎表徵為CRP大於約2 mg/L。

在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，IL-6拮抗劑以有效地中和發炎之量投與。在各種實施例中，有效地中和發炎之量使IL-6降低至小於約15 pg/ml、小於約10 pg/ml或小於約5 pg/ml。在各種實施例中，有效地中和發炎之量使CRP降低至小於約2 mg/L或小於

約0.2 mg/L。

在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，投與IL-6拮抗劑或抗IL-6抗體減少EPO之劑量。在某些實施例中，EPO之劑量減少約40 IU/kg/週、約50 IU/kg/週、約80 IU/kg/週、約100 IU/kg/週或大於100 IU/kg/週。在各種實施例中，投與IL-6拮抗劑或抗IL-6抗體降低經增加EPO劑量之副作用。

在一個實施例中，在存在或不存在用於貧血之標準治療下治療患有慢性腎病之患者。詳言之，在存在或不存在用於貧血之治療(例如投與EPO、ESA、HIF安定劑、補充鐵或紅細胞輸注)下，向患有與慢性腎病相關之貧血之個體提供抑制IL-6生物活性或表現之藥劑。用於貧血之治療藉由刺激紅血球生成或紅血球產生起作用。因此，亦可投與增加紅血球或其祖細胞之生長或增殖及/或降低紅血球或其祖細胞之細胞死亡的藥劑。紅血球祖細胞包括例如造血幹細胞、常見骨髓祖細胞、前紅血球母細胞、紅血球母細胞、網狀紅血球或能夠分化或成熟化成紅血球之任何細胞。

藉由阻斷IL-6或其受體(gp80)彼此結合或阻斷其信號傳導或表現來抑制IL-6生物活性之藥劑可以醫藥組合物形式提供至患有與慢性腎病相關之貧血之個體，其中醫藥組合物包含有效量之藥劑、用於治療貧血之藥劑(例如EPO、ESA、HIF脯胺醯基-羥化酶抑制劑、補充鐵)及適合之賦形劑。在一個實施例中，藥劑為降低個體中之IL-6多肽或核酸分子之含量或活性、或抑制藉由IL-6受體活化觸發之胞內信號傳導的IL-6拮抗劑或抗IL-6抗體。抗IL-6抗體(例如MEDI5117)可與用於貧血之治療(例如投與EPO、ESA、HIF安定劑、補充鐵)組合而投與。

用於貧血之治療之方法視患者之*TMPRSS6*基因型及患者之發炎狀態而變化。在用於貧血之治療(例如投與EPO、ESA、HIF安定劑、補充鐵)之情況下，針對在核苷酸位置2321處包含G或C之*TMPRSS6*之主要對偶基因(編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽)為同型接合或異型接合的且具有升高之發炎標記物(例如IL-6及/或CRP)含量之患者經投與IL-6拮抗劑或抗IL-6抗體，其降低IL-6多肽之含量或活性。針對在核苷酸位置2321處包含A或T之*TMPRSS6*之次要對偶基因(編碼在胺基酸位置736處包含纈胺酸之*TMPRSS6*多肽)為同型接合之患者不需要抗IL-6療法來補充用於貧血之治療。用於貧血之治療之方法可視慢性腎病之階段、患者年齡、健康狀況及物理條件而變化。

在另一態樣中，提供適用於表徵患有與慢性發炎相關之貧血(例如在慢性腎病中)之個體的分析。發炎標記物IL-6及CRP可藉由任何適合之方法偵測。本文中所描述之方法可個別地或以組合形式使用以用於偵測IL-6或CRP生物標記物及/或發炎病狀。在一個實施例中，相對於參照(例如來自健康對照個體之血清)之表現，發炎藉由偵測個體之生物樣本(例如血清)中之IL-6及/或CRP多肽之含量來表徵，其中IL-6及/或CRP表現之增加指示發炎。在另一實施例中，IL-6及/或CRP表現之增加指示患有與慢性腎病相關之貧血之個體將不對用於貧血之治療起反應，及/或當與IL-6拮抗劑(例如抗IL-6抗體)組合投與時，將對用於貧血之治療起反應。

在一個實施例中，IL-6及/或CRP多肽含量藉由免疫分析來量測。免疫分析通常使用抗體(或特異性結合標記物之其他藥劑)以偵測生物標記物在樣本中之存在或含量。抗體可藉由此項技術中熟知之方法

(例如藉由使具有生物標記物或其片段之動物免疫)來製備。生物標記物可基於其結合特徵自樣本分離。或者，若多肽生物標記物之胺基酸序列為已知的，則多肽可經合成且用以藉由此項技術中熟知之方法產生抗體。

在各種實施例中，使用傳統的免疫分析，包括例如西方墨點；夾心免疫分析，包括ELISA及其他酶免疫分析；基於螢光之免疫分析及化學發光。濁度測定法為在液相中進行之分析，其中抗體在溶液中。抗原與抗體之結合導致吸光度變化，測量該吸光度。其他形式之免疫分析包括磁性免疫分析、放射免疫分析及即時免疫定量PCR (iqPCR)。其他偵測方法包括液相層析及質譜分析。

可在固體基板(例如晶片、珠粒、微流體平台、膜)上或在任何支持抗體與標記物結合及後續偵測之其他形式上進行免疫分析。可一次偵測單一標記物或可使用多重格式。多重免疫分析可能涉及平面微陣列(蛋白質晶片)及基於珠粒之微陣列(懸浮陣列)。

選擇患有鑑別為具有增加之IL-6及/或CRP多肽含量之貧血之慢性腎病患者用於使用降低IL-6表現或活性之藥劑(例如抗IL-6抗體)之治療與貧血之治療組合。用本發明方法治療之患者可藉由偵測治療後血紅素、血容比、紅血球生成素劑量、IL-6及/或CRP表現之變化來監測。顯示IL-6及/或CRP表現降低及/或發炎降低之患者經鑑別為對IL-6抑制起反應。

其他態樣及實施例提供於以下編號條項中。

1. 一種治療經選擇個體之慢性發炎之方法，該方法包含向個體投與IL-6拮抗劑，其中選擇治療之個體具有一或多個編碼包含丙胺

酸在胺基酸位置736之*TMPRSS6*多肽之對偶基因。

2. 一種治療患有心血管疾病、心臟衰竭及/或慢性腎病之經選擇個體之發炎的方法，該方法包含向個體投與IL-6拮抗劑，其中選擇治療之個體具有一或多個編碼包含丙胺酸在胺基酸位置736之*TMPRSS6*多肽之對偶基因。

3. 一種降低患有心血管疾病、心臟衰竭及/或慢性腎病之經選擇個體之發炎及死亡風險的方法，該方法包含向個體投與IL-6拮抗劑，其中個體經選擇為具有一或多個編碼包含丙胺酸在胺基酸位置736之*TMPRSS6*多肽之對偶基因，且相對於參照者患有增加之發炎。

4. 一種治療患有慢性腎病之個體之貧血的方法，該方法包含向個體投與IL-6拮抗劑，其中個體經鑑別為具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因，且相對於參照患有增加之發炎。

5. 如條項1至4中任一項之方法，其中IL-6拮抗劑以有效地中和發炎之量投與。

6. 如條項1至4中任一項之方法，其中IL-6拮抗劑為抗IL-6抗體。

7. 如條項5之方法，其中該方法進一步包含向個體投與促紅血球形成因子。

8. 如條項1至4中任一項之方法，其中該方法降低個體之死亡風險。

9. 一種降低患有慢性腎病或心臟衰竭之個體之死亡風險的方法，該方法包含向個體投與IL-6拮抗劑，其中個體經鑑別為具有編碼

在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因，且相對於參照患有增加之發炎。

10. 一種治療患有增加之發炎的個體之貧血之方法，該方法包含：

以有效地中和個體之發炎之量投與促紅血球形成因子及抗IL-6抗體,該個體具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因。

11. 如條項1至10中任一項之方法，其中增加之發炎之特徵在於相對於參照增加之IL-6及/或CRP含量。

12. 如條項11之方法，其中增加之發炎表徵為IL-6大於約5 pg/ml、約10 pg/ml或約15 pg/ml。

13. 如條項10之方法，其中增加之發炎表徵為CRP大於約2 mg/L。

14. 如條項10之方法，其中促紅血球形成因子為紅血球生成素、紅血球生成刺激劑、HIF安定劑及補充鐵中之一或多者。

15. 一種在鑑別為有需要之個體中增強對EPO之反應的方法，該方法包含以有效地中和個體之發炎之量投與IL-6拮抗劑或抗IL-6抗體，從而增強個體對EPO之反應，該個體具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因。

16. 如條項15之方法，其中有效地中和發炎之抗IL-6抗體的量使IL-6降低至小於約15 pg/ml、小於約10 pg/ml或小於約5 pg/ml。

17. 如條項16之方法，其中有效地中和發炎之IL-6拮抗劑或抗IL-6抗體的量使CRP降低至小於約2 mg/L。

18. 如條項15之方法，其中投與IL-6拮抗劑或抗IL-6抗體減少EPO之劑量。

19. 如條項17之方法，其中EPO之劑量減少約40 IU/kg/週、約50 IU/kg/週、約80 IU/kg/週、約100 IU/kg/週或大於100 IU/kg/週。

20. 如條項15之方法，其中投與IL-6拮抗劑或抗IL-6抗體降低經增加EPO之副作用。

21. 一種為鑑別為有需要之個體選擇療法之方法，該方法包含：

a)將個體表徵為具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因；及

b)偵測一或多種發炎標記物IL-6及CRP之含量，其中表徵指示IL-6拮抗劑應與用於貧血之療法組合投與。

22. 如條項21之方法，其中該方法進一步包含向個體投與IL-6拮抗劑及用於貧血之療法。

23. 如條項21之方法，其中用於貧血之療法包含投與促紅血球形成因子。

24. 一種用於增加鑑別為有需要之個體中之紅血球或其祖細胞的增殖或存活之方法，該方法包含向個體投與IL-6拮抗劑及促紅血球形成因子，其中個體經鑑別為具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因，且其中個體相對於參照患有增加之發炎。

25. 如條項24之方法，其中該方法降低紅血球或其祖細胞之細胞死亡。

26. 如條項24之方法，其中祖細胞為造血幹細胞、前紅血球母細胞、紅血球母細胞或網狀紅血球。

27. 如條項15至24中任一項之方法，其中個體患有慢性腎病。

28. 如條項15至24中任一項之方法，其中個體患有貧血。

29. 如條項28之方法，其中貧血為癌症貧血、慢性自體免疫疾病中之貧血、慢性發炎疾病中之貧血或代謝症候群中之貧血。

30. 如條項15至24中任一項之方法，其中IL-6拮抗劑以有效地中和發炎之量投與。

31. 如條項15至24中任一項之方法，其中IL-6拮抗劑為抗IL-6抗體。

32. 如條項15至24中任一項之方法，其中增加之發炎之特徵在於相對於參照增加之IL-6及/或CRP含量。

33. 如條項15至24中任一項之方法，其中增加之發炎表徵為IL-6大於約5 pg/ml、約10 pg/ml或約15 pg/ml。

34. 如條項15至24中任一項之方法，其中增加之發炎表徵為CRP大於約2 mg/L。

35. 如條項15至24中任一項之方法，其中有效地中和發炎之量使IL-6降低至小於約10 pg/ml或小於約5 pg/ml。

36. 如條項15至24中任一項之方法，其中有效地中和發炎之量使CRP降低至小於約2 mg/L。

37. 如條項15至24中任一項之方法，其中促紅血球形成因子為紅血球生成素、紅血球生成刺激劑、HIF安定劑及補充鐵中之一或多者。

38. 如條項24之方法，其中投與IL-6拮抗劑減少EPO之劑量。

39. 如條項38之方法，其中IL-6拮抗劑為抗IL-6抗體。

40. 如條項38之方法，其中EPO之劑量減少約40 IU/kg/週、約50 IU/kg/週、約80 IU/kg/週、約100 IU/kg/週或大於100 IU/kg/週。

41. 如條項23之方法，其中投與IL-6拮抗劑降低經增加EPO之副作用。

42. 如條項1至40中任一項之方法，其中對偶基因在*TMPRSS6*聚核苷酸之2321位置處包含G。

43. 如條項1至42中任一項之方法，其中IL-6拮抗劑為具有一或多個選自以下核酸序列之CDR之抗IL-6抗體：

SNYMI (SEQ ID NO: 12)；

DLYYYAGDTYYADSVKG (SEQ ID NO: 13)；

WADDHPPWIDL (SEQ ID NO:14)；

RASQGISSWLA (SEQ ID NO: 15)；

KASTLES (SEQ ID NO: 16)；及

QQSWLGGS (SEQ ID NO: 17)。

44. 如條項42之方法，其中抗IL-6抗體具有包含序列SNYMI (SEQ ID NO: 12)之重鏈CDR1；包含序列DLYYYAGDTYYADSVKG (SEQ ID NO: 13)之重鏈CDR2；包含序列WADDHPPWIDL (SEQ ID NO: 14)之重鏈CDR3；包含序列RASQGISSWLA (SEQ ID NO: 15)之輕鏈CDR1；包含序列(SEQ ID NO: 16)之輕鏈CDR2；及包含序列QQSWLGGS (SEQ ID NO 17)之輕鏈CDR3。

45. 如條項42之方法，其中抗IL-6抗體具有包含以下序列之重

鏈：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISSNYMIWVRQAPGKGLEWVSDLYYYAGDTYY
ADSVKGRFTMSRDISKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARWADDHPPWIDLWGRGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 18)。

46. 如條項42之方法，其中抗IL-6抗體具有包含以下序列之輕鏈：

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKVLIYKASTLESGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQSWLGGSFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS

DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL

SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 19)。

47. 如條項42之方法，其中抗IL-6抗體為MEDI5117。

48. 如條項1至47中任一項之方法，其中個體為人類。

5.13.2 用於治療心腎症候群之方法

在其他態樣及實施例中，提供用於治療心腎症候群之組合物及方法。

此等態樣及實施例至少部分地基於以下發現：心腎症候群之嚙齒動物模型中心臟損傷之抗IL-6治療具有與標準護理治療等效之作用。如下文更詳細報導，心肌梗塞後，心腎症候群之嚙齒動物模型用抗IL-6或標準護理療法(ACE抑制劑、培哚普利)治療。治療後，量測心臟組織中之射血分數、心肌收縮力及纖維化組織之百分比。與用對照治療劑治療之個體組中之含量相比，用抗IL-6治療之個體組及用標準護理療法治療之個體組中之射血分數之程度均增加。與用對照治療

劑治療之個體組中之含量相比，用抗IL-6治療之組及用標準護理療法治療之組中之心肌收縮性均增加。與用對照治療劑治療之個體組中之量相比，用抗IL-6治療之組及用標準護理療法治療之組中之纖維化組織的量均減少。此外，在用抗IL-6治療之個體組及用標準護理療法治療之個體組中，射血分數之程度及纖維化組織之量類似。結果表明在治療嚙齒動物模型中之心腎症候群中，抗IL-6療法具有與標準護理療法等效之功效。

此等態樣及實施例進一步至少部分地基於以下發現：鑑別為在心肌梗塞後患有心腎症候群且具有升高之IL-6含量的患者尤其具有增加之心血管死亡(包括心臟衰竭)風險。不受理論束縛，IL-6可在心腎症候群之發展及/或進程中起病因作用。因此心肌梗塞後具有升高之IL-6含量之患者或患有心腎症候群及升高之IL-6含量之患者將可能受益於IL-6抑制。

因此，提供用於治療患有心腎症候群之個體之心臟及/或腎損傷的治療方法，其涉及向個體投與IL-6拮抗劑。在一些實施例中，在存在或不存在用於心腎症候群之標準治療下，為患有心腎症候群之個體之心臟及/或腎損傷進行治療。亦提供用於表徵心肌梗塞後患者之心血管死亡風險之方法，該方法涉及在獲自該患者之生物樣本中偵測IL-6含量之增加。

在一個態樣中，提供治療患有心腎症候群之個體之心臟及/或腎損傷的方法，該方法涉及向個體投與IL-6拮抗劑。

在另一態樣中，提供增加患有心腎症候群之個體之心臟功能的方法，該方法涉及向個體投與IL-6拮抗劑。

在再一態樣中，提供降低患有心腎症候群之個體之纖維化的方法，該方法涉及向個體投與IL-6拮抗劑。

在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，該方法進一步涉及向個體投與標準護理療法。在各種實施例中，標準護理療法為血管收縮素轉化酶(ACE)抑制劑。

在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，心臟功能增加之特徵在於相對於參照組，個體之射血分數及/或心肌收縮力之增加。在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，纖維化降低之特徵在於相對於參照組，來自個體之組織樣本中纖維化組織之百分比之降低。在各種實施例中，纖維化係在心臟組織中。

在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，個體患有心臟及/或腎損傷。在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，個體患有心臟損傷，隨後患有腎損傷。

在另一態樣中，本發明提供一種在個體中鑑別心肌梗塞後個體之心血管死亡(例如心臟衰竭)風險增加的方法，該方法涉及相對於參照組，量測來自個體之樣本中IL-6聚核苷酸或多肽中之一或多者之含量，其中IL-6聚核苷酸或多肽中之一或多者的含量增加時，指示心血管死亡風險增加。

在再一態樣中，本發明提供一種在個體中表徵心肌梗塞後個體之心血管死亡(例如心臟衰竭)風險的方法，該方法涉及量測相對於參照來自個體之樣本中IL-6聚核苷酸或多肽中之一或多者之含量，其中增加之IL-6聚核苷酸或多肽中之一或多者的含量指示增加之心血管死亡風險。

在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，個體患有心腎症候群、心臟衰竭、慢性腎病或無心腎病變。在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，個體經鑑別為在心肌梗塞後約一個月患有心腎症候群、心臟衰竭、慢性腎病或無心腎病變。

在另一態樣中，本發明提供一種治療患有心腎症候群之經選擇個體之心臟及/或腎損傷的方法，該方法涉及向個體投與IL-6拮抗劑，其中針對治療，個體藉由偵測相對於參照來自個體之生物樣本中增加之IL-6聚核苷酸或多肽中之一或多者的含量經選擇。

在再一態樣中，本發明提供一種降低患有心腎症候群之經選擇個體之心血管死亡(例如心臟衰竭)風險的方法，該方法涉及向個體投與IL-6拮抗劑，其中個體藉由偵測相對於參照來自個體之生物樣本中增加之IL-6聚核苷酸或多肽中之一或多者的含量來選擇。在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，個體患有心肌梗塞。

在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，IL-6拮抗劑為抗IL-6抗體。在各種實施例中，抗IL-6抗體為MEDI5117。

在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，生物樣本為血漿樣本或血清樣本。在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，個體為人類。

在另一態樣中，提供用於藉由投與抑制IL-6生物活性或表現之藥劑，來治療患者之心腎症候群及/或降低此類患者之死亡或心臟衰竭風險的方法。在一個實施例中，在存在或不存在用於心腎症候群之標準治療(例如血管收縮素轉化酶(ACE)抑制劑)下治療患有心腎症候群之患者。詳言之，將抑制IL-6生物活性或表現之藥劑提供至患有心腎

症候群之個體(例如投與抗IL-6抗體)。

在另一態樣中，提供在患有心腎症候群之個體中增加心臟功能之方法及降低纖維化的方法。方法包含向個體投與抑制IL-6生物活性或表現之藥劑。在一些實施例中，心臟功能增加之特徵在於相對於參照(例如健康對照個體之射血分數)，個體射血分數之增加，或相對於參照(例如健康對照個體之心肌收縮性)，心肌收縮性(例如$dP/dt_{最大}$)之增加。在一些實施例中，纖維化降低之特徵在於相對於參照(例如獲自健康對照個體之組織樣本)，來自個體之組織樣本中纖維化組織之百分比的降低。在一個實施例中，纖維化係在心臟組織中。

藉由阻斷IL-6或其受體(gp80)彼此結合或阻斷其信號傳導或表現來抑制IL-6生物活性之藥劑可以醫藥組合物形式提供至患有心腎症候群之個體，其中醫藥組合物包含有效量之藥劑及適合之賦形劑。在一個實施例中，藥劑為降低個體中之IL-6多肽或聚核苷酸之含量或活性、或抑制藉由IL-6受體活化觸發之胞內信號傳導的IL-6拮抗劑或抗IL-6抗體。可投與抗IL-6抗體(例如MEDI5117)。用於心腎症候群之治療之方法可視心腎症候群之階段、患者年齡、健康狀況及物理條件而變化。

在各種實施例中，用IL-6拮抗劑治療患有心腎症候群之個體。此外，心肌梗塞後具有增加之心血管死亡及/或心臟衰竭之風險的個體可藉由表徵個體中之血漿IL-6含量來鑑別。具有升高之IL-6含量之個體具有增加之心血管死亡及/或心臟衰竭之風險。對於用IL-6拮抗劑進行之治療，可選擇此類個體。另外，可選擇患有心腎症候群且具有增加之IL-6含量之個體，包括已罹患心肌梗塞之此類個體，以用於治

療。為治療選擇後，此類個體可經投與此項技術中已知之幾乎任何的IL-6拮抗劑。適合之IL-6拮抗劑包括例如IL-6拮抗劑、商業上可獲得之IL-6拮抗劑、使用此項技術中熟知之方法開發之IL-6拮抗劑，及針對與IL-6R相關之胞內信號傳導系統之拮抗劑。

在另一態樣中，提供用於表徵心肌梗塞後個體之心血管死亡、心臟衰竭及/或死亡之風險的分析。分析提供對獲自個體之生物樣本中之IL-6的偵測。IL-6可藉由任何適合之方法偵測。在一個實施例中，心血管死亡或心臟衰竭之風險藉由偵測相對於參照(例如來自健康對照個體或來自不具有心-腎病變之對照個體之血清或血漿)中之表現，個體之生物樣本(例如血清或血漿)中之IL-6多肽含量來表徵，其中IL-6之增加指示增加之心血管死亡或心臟衰竭之風險。可選擇鑑別為具有增加之心血管死亡、心臟衰竭或死亡之風險的個體以用於治療。在另一實施例中，對於用IL-6拮抗劑(例如抗IL-6抗體)進行之治療，選擇患有心腎症候群且具有增加之IL-6含量之個體。

在一個實施例中，量測IL-6聚核苷酸含量。IL-6聚核苷酸之含量可藉由標準方法量測，該等標準方法諸如定量PCR、北方墨點、微陣列、質譜分析及原位雜交。

在一個實施例中，量測IL-6多肽含量。IL-6多肽之含量可藉由標準方法(諸如藉由免疫分析)量測。免疫分析通常使用抗體(或特異性結合標記物之其他藥劑)以偵測生物標記物在樣本中之存在或含量。抗體可藉由此項技術中熟知之方法(例如藉由使具有生物標記物或其片段之動物免疫)來製備。生物標記物可基於其結合特徵自樣本分離。或者，若多肽生物標記物之胺基酸序列為已知的，則多肽可經合成且

用以藉由此項技術中熟知之方法產生抗體。

在各種實施例中，分析採用傳統的免疫分析，包括(例如)西方墨點；夾心免疫分析，包括ELISA及其他酶免疫分析；基於螢光之免疫分析及化學發光。濁度測定法為在液相中完成之分析，其中抗體在溶液中。抗原與抗體之結合導致吸光度之變化，該吸光度經量測。其他形式之免疫分析包括磁性免疫分析、放射免疫分析及即時免疫定量PCR (iqPCR)。其他偵測方法包括液相層析及質譜分析。

可在固體基板(例如晶片、珠粒、微流體平台、膜)上或在支持抗體與標記物之結合及後續偵測之任何其他形式上進行免疫分析。可一次偵測單標記物或可使用多重格式。多重免疫分析可涉及平面微陣列(蛋白質晶片)及基於珠粒之微陣列(懸浮陣列)。

對於用降低IL-6表現或活性之藥劑(例如抗IL-6抗體)進行之治療，選擇經鑑別為具有增加之IL-6多肽含量之心腎症候群患者。治療劑可與用於心腎症候群之標準治療(例如ACE抑制劑)組合投與。用本發明方法治療之患者可藉由偵測治療後IL-6之變化來監測。

其他態樣及實施例提供於以下經編號條項中。

1. 一種治療患有心腎症候群之個體之心臟及/或腎損傷的方法，該方法包含向個體投與IL-6拮抗劑。

2. 一種增加患有心腎症候群之個體之心臟功能的方法，該方法包含向個體投與IL-6拮抗劑。

3. 一種降低患有心腎症候群之個體之纖維化的方法，該方法包含向個體投與IL-6拮抗劑。

4. 如條項2之方法，其中心臟功能增加之特徵在於相對於參照

組，個體射血分數之增加。

5. 如條項3之方法，其中纖維化係在心臟組織中。

6. 如條項3或5之方法，其中纖維化降低之特徵在於相對於參照組，來自個體之組織樣本中纖維化組織之百分比之降低。

7. 如條項1至6中任一項之方法，其中個體患有心臟及/或腎損傷。

8. 如條項1至7中任一項之方法，其中個體患有心臟損傷，隨後患有腎損傷。

9. 如條項1至8中任一項之方法，其進一步包含向個體投與標準護理療法。

10. 如條項1至9中任一項之方法，其中標準護理療法為血管收縮素轉化酶(ACE)抑制劑。

11. 一種在個體中鑑別心肌梗塞後個體之增加之心血管死亡風險的方法，該方法包含量測相對於參照來自個體之樣本中IL-6聚核苷酸或多肽中之一或多者之含量，其中增加之IL-6聚核苷酸或多肽中之一或多者的含量指示增加之心血管死亡風險。

12. 一種在個體中表徵心肌梗塞後個體之心血管死亡風險之方法，該方法包含量測相對於參照來自個體之樣本中IL-6聚核苷酸或多肽中之一或多者之含量，其中增加之IL-6聚核苷酸或多肽中之一或多者的含量指示增加之心血管死亡風險。

13. 如條項11或12之方法，其中個體患有心腎症候群、心臟衰竭、慢性腎病或無心腎病變。

14. 如條項11至13中任一項之方法，其中個體經鑑別為在心肌

梗塞後約一個月患有心腎症候群、心臟衰竭、慢性腎病或無心腎病變。

15. 一種治療患有心腎症候群之經選擇個體之心臟及/或腎損傷的方法，該方法包含向個體投與IL-6拮抗劑，其中針對治療，個體藉由偵測相對於參照來自個體之生物樣本中增加之IL-6聚核苷酸或多肽中之一或多者的含量經選擇。

16. 一種降低患有心腎症候群之經選擇個體之心血管死亡風險的方法，該方法包含向個體投與IL-6拮抗劑，其中個體藉由偵測相對於參照來自個體之生物樣本中增加之IL-6聚核苷酸或多肽中之一或多者的含量經選擇。

17. 如條項15或16之方法，其中個體已患有心肌梗塞。

18. 如條項1至10或15至17中任一項之方法，其中IL-6拮抗劑為抗IL-6抗體。

19. 如條項18之方法，其中抗IL-6抗體為MEDI5117。

20. 如條項11至19中任一項之方法，其中生物樣本為血漿樣本。

21. 如條項1至20中任一項之方法，其中個體為人類。

5.14 實例

以下實例以說明而非限制方式提供。

5.14.1 實例1： 慢性腎病患者中之EPO劑量及總存活率僅與具有 *TMPRSS6* SNP rs855791主要對偶基因之至少一個複本之患者中的血清IL-6及CRP含量相關

肽激素海帕西啶在全身鐵恆定中起主要作用。Hentze等人，*Cell*

142:24-38 (2010)。已知海帕西啶表現受*TMPRSS6*基因之產物間質蛋白酶-2影響，該間質蛋白酶-2為II型跨膜絲胺酸蛋白酶。已顯示*TMPRSS6*基因之常見變異體與鐵狀態相關，Benyamin等人, *Nature Genetics* 41(11):1173-1175 (2009)，且已顯示*TMPRSS6*基因之某些突變引起鐵難治性缺鐵性貧血IRIDA)，Finberg等人, *Nature Genetics* 40(5):569-571 (2008)。SNP rs855791 (2321G→A；A736V)為*TMPRSS6*基因之天然存在之變型，其在海帕西啶表現及血液血紅素含量方面與天然存在之變型相關。

為判定*TMPRSS6* rs855791 SNP處之基因型是否預測末期腎病中之貧血程度，結合新確定之SNP基因分型來分析先前在患有慢性腎病之患者之臨床研究中收集的資料。由於海帕西啶表現亦由IL-6調節，Casanovas等人, *PLOS Computational Biol.* 10(1):e1003421 (2014)，亦分析資料以判定血清IL-6含量是否可預測末期腎病中之貧血程度。

方法

基於普遍之透析準則、鐵蛋白>100 ng/mL及Hb >10 mg/dL，將來自入選於MIMICK1、MIMICK2 (發炎標記物在慢性腎病中之定位)及MIA (營養不良、發炎及動脈粥樣硬化)群組中之N=257患者之資料管理至N=208，以選擇在無缺鐵性貧血之情況下且在無經標記貧血之情況下血液透析穩定的患者，從而不包含具有可自血紅素含量分離鐵輸送之因子之患者，該等群組在2003年10月-2004年9月之時間期期間在Stockholm-Uppsala (Sweden)區在六個透析單元中招募。

將所有患者臨床資料，包括以IU/kg/週為單位之紅血球生成素(EPO)劑量、以pg/ml為單位之IL-6血清含量、以mg/L為單位之CRP血

清含量、以月為單位之存活及SNP rs855791處之*TMPRSS6*基因型校對且使用統計分析軟體(SPSS統計桌上型；IBM)分析。所研究之*TMPRSS6*對偶基因及其核苷酸及胺基酸指示在表1下。

表1
*TMPRSS6*對偶基因

*TMPRSS6*對偶基因	位置2321處之核苷酸	位置736處之胺基酸
主要	G或C	Ala
次要	A或T	Val

將群組分成rs855791子組(同型接合AA、異型接合AG及同型接合GG)，且將各基因型組分成血清IL-6含量(例如相較於> 10 pg/ml，IL-6 < 5pg/ml，且相較於> 15pg/ml，IL-6 < 5pg/ml)或血清CRP含量(相較於> 2 mg/L，CRP < 2 mg/L)之三分位或四分位。比較在頂部及底部三分位及四分位中之EPO劑量。進行在藉由斯氏T測試(Students T-Test)之基因型組內及在藉由ANOVA之組之間的統計學家分析。

結果

由於各患者之EPO劑量已由治療醫師滴定以獲得正常血紅素含量，因此EPO劑量可用作基礎貧血程度之代理。發現針對次要對偶基因為同型接合(A/A)之個體中之EPO劑量對IL-6之變型相對不敏感(圖1A；左圖)。然而，具有主要對偶基因之至少一個複本之個體-針對主要對偶基因(G)為異型接合(A/G)或同型接合(G/G)之患者-中之EPO劑量對個體IL-6含量敏感(圖1B；右圖)。在此等後面個體中，增加之血清IL-6含量(例如> 5 pg/ml)與增加之EPO劑量相關。

不受特定理論束縛，次要對偶基因下之純合性移除IL-6對鐵輸送之影響。因此，與IL-6含量無關，此等患者(A/A)中之EPO劑量大致相同。

與IL-6含量無關，針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因(A)為同

型接合之個體展示類似之死亡(圖2A)。然而，具有主要對偶基因之至少一個複本之個體-針對主要對偶基因(G)為異型接合或同型接合之患者-之存活率根據IL-6含量變化(圖2B)。實際上，回應於慢性腎病5期透析個體中之升高的IL-6含量，*TMPRSS6*之G對偶基因賦予更高之各種原因之死亡。在具有主要對偶基因(G)之至少一個複本之個體中，與< 5pg/ml之IL-6含量(亦即低位IL-6)相比，≥ 5pg/ml之IL-6含量 (亦即中位及最高位IL-6)與增加之死亡率相關(圖2B)。

在針對主要對偶基因(G)為異型接合或同型接合之個體中，急性期反應物CRP-發炎標記物-之含量亦與增加之EPO劑量相關，但在針對次要對偶基因為同型接合之患者中不如此(圖3)。

論述

如圖1中所展示，在具有*TMPRSS6* rs855791 SNP處之主要對偶基因之至少一個複本之患者中，基礎貧血程度-量測為臨床上滴定之EPO劑量-僅與IL-6含量相關。在此等患者中，血清IL-6含量愈高，所需EPO劑量愈高(圖1B)。相反，具有次要對偶基因之兩個複本之患者的貧血程度不與血清IL-6含量相關(圖1A)。

類似地，在具有*TMPRSS6* SNP rs855791處之主要對偶基因之至少一個複本的患者中，總存活率僅與IL-6含量相關。在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之個體中，存活率成反比地與血清IL-6含量相關，其中血清IL-6含量之最高位中之患者比IL-6含量之最低位中之彼等患者具有統計學上顯著更壞的存活率(圖2B)。相反，針對rs855791處之次要對偶基因為同型接合之患者之總存活率不受IL-6含量影響(圖2A)。

不意欲受理論束縛，在具有*TMPRSS6*主要對偶基因之至少一個複本之患者中，血清IL-6之增加可促進海帕西啶表現增加，從而增加貧血。增加之死亡風險為失調之鐵代謝、所得貧血及/或增加之紅血球生成刺激劑(諸如EPO)劑量之結果。若此等相關性反映因果關係，則其提昇了以下可能性：在患有慢性腎病之患者中，降低之IL-6含量或IL-6信號傳導可降低貧血，減少所需EPO劑量，且增加存活率，但僅在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之彼等患者中，且在具有升高之血清IL-6含量之彼等患者中具有最大作用。

5.14.2 實例2： 急性心肌梗塞後之死亡風險及心臟衰竭風險僅與具有*TMPRSS6* SNP rs855791主要對偶基因之至少一個複本之患者中的IL-6血清含量相關

為判定在患有急性疾病而非慢性疾病之患者中*TMPRSS6* rs855791基因型是否影響IL-6敏感性，結合新確定之SNP基因分型來分析先前在因急性冠狀動脈症候群住院之患者之臨床研究中收集的資料。

方法

自先前入選於血小板抑制及患者結果(PLATO)之多中心研究中之個體分析資料。若患者因急性冠狀動脈症候群(在先前24小時期間具有症狀發作)住院，則其有資格入選於PLATO中。在心肌梗塞後30天開始之此等個體中量測死亡率及心臟衰竭之存在。

結果

針對*TMPRSS6* rs855791 SNP次要對偶基因(A)為同型接合之個體之死亡不與IL-6之變型相關(圖4A)。然而，回應於心肌梗塞後個體中

之升高之IL-6含量，主要對偶基因(G)之一或兩個複本賦予更高之各種原因之死亡(圖4B)。因此，*TMPRSS6*調節心肌梗塞後之IL-6介導之死亡風險。

亦在心肌梗塞後30天開始之入選於PLATO中之個體中量測*TMPRSS6*基因型對IL-6介導之心臟衰竭風險的影響。在針對次要對偶基因(A)為同型接合之個體之心臟衰竭不與IL-6之變型相關(圖5A)。然而，回應於心肌梗塞後個體中之升高之IL-6含量，*TMPRSS6*之G對偶基因賦予更高之心臟衰竭速率(圖5B)。因此，*TMPRSS6*調節心肌梗塞後之IL-6介導之心臟衰竭風險。

論述

此等資料表明*TMPRSS6*基因型、IL-6含量及不利臨床結果之間的相關性不限於患有慢性腎病之患者。不意欲受理論束縛，在具有*TMPRSS6*主要對偶基因之至少一個複本之患者中，血清IL-6增加可驅使海帕西啶表現增加，隨後心肌細胞中鐵之螯合作用增加，繼之以鐵介導之細胞毒性。若此等相關性反映因果關係，則其提昇了以下可能性：降低之IL-6含量或IL-6信號傳導可降低患有急性冠狀動脈症候群之患者之心臟衰竭及死亡，但僅在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之彼等患者中，且在具有升高之血清IL-6含量之彼等患者中具有最大作用。

5.14.3　實例3：　關於源於iPS之人類心肌細胞之活體外研究確認*TMPRSS6*基因型與IL-6介導之細胞毒性之間的因果關係

雖然實例1及2中所觀測之相關性暗示在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本、升高之IL-6含量及貧血或海帕西啶介

導之細胞毒性之患者中，降低之IL-6介導之信號傳導應提供臨床效益，但所觀測相關性不能證明因果關係。因此，在源於人類誘導之多能性細胞之心肌細胞(iPS-CMs)中進行實驗以查詢BMP及BMP加IL-6對海帕西啶表現及細胞針對局部缺血損傷之易感性的作用，該等心肌細胞用*TMPRSS6*之變異體轉染。

5.14.3.1　方法

源於人類iPS之心肌細胞之培養-將iCell心肌細胞(Cellular Dynamics International，CDI Inc.)塗於具有iCell心肌細胞接種培養基(CDI Inc.)之0.1%明膠塗佈之6孔或96孔細胞培養盤上。接種後四十八小時，用維持培養基(CDI Inc.)替代接種培養基。每隔一天至進行實驗之天數更換維持培養基。

經模擬之局部缺血/再充氧方案-如先前所報導，藉由用「局部缺血緩衝液」替代細胞培養基，使iPS心肌細胞經歷經模擬之局部缺血(SI)90分鐘，該局部缺血緩衝液含有118 mm NaCl、24 mm $NaHCO_3$、1.0 mm NaH_2PO_4、2.5 mm $CaCl_2$-$2H_2O$、1.2 mm $MgCl_2$、20 mm乳酸鈉、16 mm KCl、10 mm 2-去氧葡萄糖(pH調節至6.2) (Das, A., Xi, L., 及Kukreja, K. C. (2005) *J. Biol. Chem.* 280: 12944-12955；Das A, Smolenski A, Lohmann SM, Kukreja RC. (2006) *J. Biol Chem.* 281(50):38644-52)。在整個SI時間期期間調節1-2% O_2及5% CO_2之三氣培育箱中在37℃下培育細胞。藉由在常氧條件下用正常細胞培養基替代局部缺血緩衝液來實現再充氧(RO)。細胞分別在再充氧2或18小時後壞死。如上，iCells經歷4小時SI及24小時RO。

細胞活力及細胞凋亡之評估- 進行錐蟲藍排除分析以分析如先前

所報導之細胞壞死(Das, A., Xi, L., 及Kukreja, K. C. (2005) *J. Biol. Chem*. 280, 12944-12955；Das A, Smolenski A, Lohmann SM, Kukreja RC. (2006) *J. Biol. Chem*. 281(50):38644-52)。

iCell心肌細胞之轉染-在接種後第8天，用新鮮之維持培養基替代培養基且將細胞培育4小時。根據製造商說明書(Promega Corp., Madison, WI)使用ViaFect™轉染試劑，用pCMV6-XL5 TMPRSS6 (K523)或pCMV6-XL5 TMPRSS6 (K523)V763A轉染細胞。轉染48小時後，使細胞經歷其他實驗。

西方墨點分析-如先前所描述進行西方墨點(Das, A., Xi, L., 及Kukreja, K. C. (2005) *J. Biol. Chem*. 280, 12944-12955；Das A, Smolenski A, Lohmann SM, Kukreja RC. (2006) *J. Biol. Chem*. 281(50):38644-52)。用裂解緩衝液(Cell Signaling, MA)自細胞提取總可溶性蛋白。在4℃下以10,000 × g離心勻漿5分鐘，且回收清液層。由12%丙烯醯胺凝膠分離蛋白質(來自各樣本之50 μg)且將其轉移至硝基纖維素膜，且接著在TBST (10 mm Tris-HCl、pH 7.4，100 mm NaCl及0.1% Tween 20)中用5%脫脂乳粉阻斷1小時。隨後對於各別蛋白質中之每一者，將家兔單株/多株或山羊多株初級抗體以1:1000之稀釋與膜一起培育過夜，該等各別蛋白質亦即磷酸-苄氯素(Beclin)-1 (Ser93) (D9A5G)家兔單抗、苄氯素-1、SQSTM1/p62、LC3A/B (D3U4C) XP®家兔單抗、磷酸-Akt (Ser473) (D9E) XP®家兔單抗、Akt (pan) (C67E7)家兔單抗、磷酸-S6核糖體蛋白(Ser240/244) (D68F8) XP®家兔單抗、S6核糖體蛋白(5G10)家兔單抗(來自Cell Signaling, MA)、抗間質蛋白酶2 (TMPRSS6)及抗SLC40A1（運鐵素）(來自Abcam

Company, MA)，及山羊多株肌動蛋白-HRP (Santa Cruz Biotechnology, TX)。隨後將膜與抗家兔辣根過氧化酶結合之二級抗體(1:2000稀釋；Amersham Biosciences)一起培育2小時。使用化學發光系統開發墨點，且掃描條帶且藉由密度測定分析來定量。

即時PCR-塔克曼分析(Taqman assay)-根據製造商之方案(QIAGEN Sciences, MD, USA)使用miRNeasy微套組來分離包括小RNA之總RNA。使用Nanodrop ND-1000分光光度計(Agilent technologies, CA, USA)量測經分離RNA之濃度及純度。簡言之，使用高容量cDNA合成套組(Applied生物系統，CA, USA)用隨機六聚體將1 μg總RNA轉化成cDNA。使用以下PCR條件進行反轉錄反應：25℃持續10分鐘；37℃持續120分鐘且85℃持續5分鐘。使用塔克曼擴增子特異性探針(Applied Biosystems, CA, USA) Hamp (CGGCTCTGCAGCCTTG) (SEQ ID NO:20)在以下PCR循環條件下進行即時PCR：95℃持續10分鐘；95℃持續15秒且60℃持續60秒。將Hamp之表現標準化成GAPDH (CTTCCAGGAGCGAGATCCCGCTAA) (SEQ ID NO:21)管家基因。使用2-ΔΔCt方法分析相對基因表現。

iPS細胞之TMPRSS6突變誘發及轉染- pCMV6-XL5 TMPRSS6購自Origene Technologies (Rockville, MD)，目錄號SC306623，對應於基因銀行(GenBank)寄存編號NM_153609。此純系含有引起胺基酸改變之突變，K253A。進行定點突變誘發以將位置253處之胺基酸回復成典型離胺酸(K)。確認回復後，進行定點突變誘發以引入V736A突變。使用Agilent Technologies QuikChange II XL定點突變誘發套組(Santa Clara, CA；目錄號200521)進行所有突變誘發反應。對所有載體定

序以確認。所使用之引子序列為：反義(as) TMPRSS6 E253K GCATGAGGTCCTTGGGGCCCTGCAG (SEQ ID NO:22)；正義(s) TMPRSS6 E253K CTGCAGGGCCCCAAGGACCTCATGC (SEQ ID NO:23)；反義(as) TMPRSS6 V736A CCTGGTAGCGATAGGCCTCGCTGCACAGG (SEQ ID NO:24)；正義(s) TMPRSS6 V736A CCTGTGCAGCGAGGCCTATCGCTACCAGG (SEQ ID NO:25)。

5.14.3.2 結果

在基線下人類iPS-CMs僅最低限度地表現間質蛋白酶-2。分別仿效同型接合主要對偶基因及同型接合次要對偶基因心肌細胞，將細胞用促進以下之組成性表現的構築體轉染：由*TMPRSS6* rs855791SNP主要對偶基因編碼之間質蛋白酶-2 736A或由次要對偶基因編碼之間質蛋白酶-2 736V。

海帕西啶表現藉由BMP6/SMAD及IL-6/STAT信號傳導路徑調節，其中BMP及IL-6兩者經由其各別受體起作用以促進海帕西啶表現增加。Casanovas等人, *PLOS Comp. Biol.* 10(1):e1003421 (2014)。活體外用信號傳導路徑-重組BMP2及IL-6-之促效劑或單獨用BMP2之促效劑處理主要對偶基因及次要對偶基因iPS心肌細胞，以模型化IL-6含量(或信號傳導)降低之臨床干預。不用促效劑處理對照iPS細胞。在正常氧張力(常氧)下且亦在模擬低氧隨後模擬再充氧(再灌注)之條件下量測細胞死亡率。

圖6A展示當細胞在正常氧含量下處理時之結果。僅表現*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因(「736V次要對偶基因」)之iPS心肌

細胞不顯著受IL-6信號傳導之消除影響(「n.s.」)：相較於用BMP2+IL-6進行之處理，當用BMP2處理細胞時，量測為錐蟲藍陽性細胞之百分比之細胞死亡率不顯著降低。相反，當消除IL-6信號傳導時，表現*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之iPS心肌細胞展示統計學上顯著更低之細胞死亡。

圖6B展示當細胞經歷低氧隨後經歷再充氧時之結果。相較於常氧條件，低氧/再充氧對iPS心肌細胞顯著有毒性，其中相較於在常氧條件下之約20%對照細胞，約40百分比之主要及次要對偶基因對照細胞經殺死(將圖6B與圖6A相比較)。相對於此增加之背景毒性，次要對偶基因iPS心肌細胞不顯著受IL-6信號傳導之消除影響：相較於用BMP2+IL-6進行之處理，當單獨用BMP2處理細胞時，細胞死亡率不顯著降低。相反，當消除IL-6信號傳導時，表現*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之iPS心肌細胞展示統計學上顯著更低之細胞死亡。

5.14.3.3 論述

此等資料增強了自實例1及實例2中之臨床試驗資料之後hoc分析所得出之推斷：IL-6信號傳導之降低可有效地降低表現*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之心肌細胞中之IL-6介導之毒性，但在僅表現次要對偶基因之心肌細胞中不如此。不意欲受理論束縛，促進主要對偶基因iPS心肌細胞中之毒性增加之IL-6可起因於海帕西啶表現之IL-6介導之增加，隨後細胞中增加之鐵螯合作用，繼之以鐵介導之細胞毒性。

5.14.4 實例4： 在基因型地類似於人類*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因同型接合子之大鼠之心腎症候群模型中，抗IL-6療法作為當

前標準護理而有效

患有慢性腎病之患者，諸如入選於在實例1中分析之MIMICK研究中之彼等患者，常常罹患減弱之心臟功能，其為死亡率之主要促成者。初次慢性腎病後之此二次心臟損傷稱為4型心腎症候群(4型CRS)。

為測試抗IL-6療法是否作為治療在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之CRS4患者中有效，如藉由實例1及3中之資料所表明，吾人使用基因型地類似於針對*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因為同型接合之人類之大鼠的CRS4模型。

圖7概述了研究設計。

第0週，在CRS動物中誘導心肌梗塞。在第2週進行腎切除。取而代之使對照組經歷假手術。腎切除之前，對個體進行各種評估。評估包括量測血清肌酐、腎小球濾過率、尿液中之24小時蛋白質含量、心臟超音波圖、尾套血壓，及血漿及尿液中之生物標記物。

腎切除後第1天開始治療。將動物分成三組：(i)對照治療劑，(ii)抗IL-6療法及且(iii)標準護理療法。抗IL-6療法為適用於嚙齒動物之抗IL-6抗體。標準護理療法為投與培哚普利、ACE (血管收縮素轉化酶)抑制劑。治療開始時，對所有組中之個體進行評估。評估包括量測血清肌酐、腎小球濾過率、24小時蛋白質含量及血漿中之生物標記物。

在腎切除後第3天及第7天對所有組中之個體進行評估。評估包括在第3天量測血清肌酐及血漿中之生物標記物，及在第7天量測血清肌酐、腎小球濾過率、24小時蛋白質含量、心臟超音波圖、血壓及血

漿中之生物標記物。

在第6週處死個體。處死之前，對所有組中之個體進行各種評估。評估包括量測血清肌酐、腎小球濾過率、24小時蛋白質含量、血壓、血漿中之生物標記物、心臟超音波圖及壓力-容積迴路分析。處死後，亦自所有組中之個體收集組織以用於組織學評估(亦即，心臟組織之天狼星紅染色)。

圖8A-8D展示在概述於圖7中之心腎症候群模型中，以下各者之心臟射血分數：無CRS (「假」)之大鼠、用藥理學上不相關之同型對照抗體(「同型」)治療之CRS動物、用抗IL-6抗體(「IL-6 ab」)治療之CRS動物及用標準護理ACE抑制劑(「Peri」)治療之CRS動物。

圖8A展示心肌梗塞後兩週但腎切除之前且治療之前，所有組之基線射血分數程度，表明以實驗方式誘導之心肌梗塞使得心臟射血分數顯著降低。圖8B為展示腎切除後一週、治療1週後，所有組之射血分數程度的繪圖。圖8C為展示腎切除後兩週、治療2週後，所有組之射血分數程度的繪圖。圖8D為展示腎切除後四週、治療4週後，所有組之射血分數程度的繪圖。結果表述為平均+/-SEM。

治療4週後，與同型對照組相比，處理組-用抗IL-6治療之組及用標準護理ACE抑制劑療法治療之組-均展示統計學上顯著增加之射血分數程度(圖8D) ($p<0.001$)。治療4週後量測之抗IL-6及標準護理組中之類似射血分數程度展示抗IL-6療法具有與ACE抑制劑培哚普利(標準護理療法)等效之功效，表明如藉由心臟射血分數之變化所量測，在保持心腎症候群模型之心臟功能方面，抗IL-6療法具有等效於標準護理療法之治療功效。

心肌收縮性之量測結果(圖9)展示抗IL-6療法亦具有等效於使用ACE抑制劑之標準護理療法之作用。治療4週後，用抗IL-6及標準護理療法治療之組之心肌收縮性顯著增加，高於對照、同型組之心肌收縮性。抗IL-6及標準護理組中之類似心肌收縮性表明如藉由收縮性所量測，在保持心腎症候群模型之心臟功能方面，抗IL-6療法具有等效於ACE抑制劑培哚普利(標準護理療法)的功效。

自所有組中之動物收集之心臟組織的纖維化量測結果亦證實抗IL-6療法具有與標準護理療法等效之作用(圖10A-10C)。心臟組織中之纖維化藉由量測以下兩個區域中之纖維化組織面積百分比來定量：「正常」區及「纖維化界限」區。實例「正常」區藉由展示於圖10A中之顯微圖中之組織切片的劃定部分所指示。顯微圖中之插圖展示「正常」區之放大視圖，展示「正常」區之小部分具有纖維化組織。「纖維化界限」區為在纖維化組織周圍之「正常」區中之組織區。

圖10B及10C中之繪圖展示當在「正常」區(圖10B)或在「纖維化界限」區(圖10C)中量測時，與同型對照組相比，來自用抗IL-6或標準護理療法治療之組中之個體的心臟組織具有顯著減少之纖維化組織面積百分比。另外，在抗IL-6及標準護理療法組中量測之纖維化組織面積百分比為類似的(均在「正常」區及「纖維化界限」區中)，指示抗IL-6具有與ACE抑制劑培哚普利(標準護理療法)等效之抗纖維化作用。

此等資料表明在基因型地類似於針對*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因為同型接合之人類之動物的心腎症候群活體內模型中，用抗IL-6劑進行之治療有效地降低心臟損傷且恢復功能。

5.14.5實例5： 在基因型地類似於人類*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因同型接合子之小鼠之急性心肌梗塞模型中，抗IL-6療法在保持心臟功能方面有效

實例2及3中之資料表明降低之IL-6含量或IL-6信號傳導可降低患有急性冠狀動脈症候群之患者之心臟衰竭及死亡，但僅在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之彼等患者中，且在具有升高之血清IL-6含量之彼等患者中具有最大作用。

進行嚙齒動物研究以確定在基因型地類似於針對*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因為同型接合之人類之小鼠中，急性心肌梗塞後抗IL-6療法之作用。

圖11A及11B展示來自活體內模型之資料，在該模型中，在基因型地類似於針對*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因為同型接合之人類之小鼠中誘導心肌梗塞。對照組不接受療法。實驗組用抗鼠類IL-6抗體治療。圖11A展示用抗IL-6進行之治療在射血分數方面提供統計學上顯著之提高。圖11B展示用抗IL-6進行之治療在量測為心臟縮短分數之收縮性方面提供統計學上顯著之提高。資料資料表明在心肌梗塞後立即給出之抗IL-6療法提高了基因型地類似於具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之人類患者之嚙齒動物中左心室的功能恢復。

6. 以引用之方式併入

本申請案中所引用之所有公開案、專利、專利申請案及其他文獻均出於所有目的特此以全文引用之方式併入，引用的程度就如同個別地指示將各個別公開案、專利、專利申請案及其他文獻以引用之方式併入以用於所有目的一樣。

7. 等效物

雖然已說明且描述各種具體實施例，但上文說明書不為限制性的。應瞭解，各種變化可在不偏離本發明之精神及範疇之情況下進行。在審閱本說明書時許多變型將對熟習此項技術者而言變得顯而易見。

【補充序列表】

<110> 英商梅迪繆思有限公司
美商阿斯特捷利康有限責任公司

<120> 用於治療海帕西啶(HEPCIDIN)介導之病症之方法(METHODS FOR TREATING HEPCIDIN-MEDIATED DISORDERS)

<130> 105124201;107134726

<150> 62/268,788
<151> 2015-12-17

<150> 62/199,434
<151> 2015-07-31

<160> 25

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 84
<212> PRT
<213> 智人

<400> 1

Met Ala Leu Ser Ser Gln Ile Trp Ala Ala Cys Leu Leu Leu Leu Leu
1 5 10 15

Leu Leu Ala Ser Leu Thr Ser Gly Ser Val Phe Pro Gln Gln Thr Gly
20 25 30

Gln Leu Ala Glu Leu Gln Pro Gln Asp Arg Ala Gly Ala Arg Ala Ser
35 40 45

Trp Met Pro Met Phe Gln Arg Arg Arg Arg Arg Asp Thr His Phe Pro
50 55 60

Ile Cys Ile Phe Cys Cys Gly Cys Cys His Arg Ser Lys Cys Gly Met
65 70 75 80

Cys Cys Lys Thr

<210> 2
<211> 824
<212> PRT
<213> 智人

<400> 2

Met Pro Val Ala Glu Ala Pro Gln Val Ala Gly Gly Gln Gly Asp Gly
1 5 10 15

Gly Asp Gly Glu Glu Ala Glu Pro Glu Gly Met Phe Lys Ala Cys Glu
20 25 30

Asp Ser Lys Arg Lys Ala Arg Gly Tyr Leu Arg Leu Val Pro Leu Phe
35 40 45

Val Leu Leu Ala Leu Leu Val Leu Ala Ser Ala Gly Val Leu Leu Trp
50 55 60

Tyr Phe Leu Gly Tyr Lys Ala Glu Val Met Val Ser Gln Val Tyr Ser
65 70 75 80

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

Arg Glu Ser Ser Ala Phe Arg Ser Glu Thr Ala Lys Ala Gln Lys Met
100 105 110

Leu Lys Glu Leu Ile Thr Ser Thr Arg Leu Gly Thr Tyr Tyr Asn Ser
115 120 125

Ser Ser Val Tyr Ser Phe Gly Glu Gly Pro Leu Thr Cys Phe Phe Trp
130 135 140

Phe Ile Leu Gln Ile Pro Glu His Arg Arg Leu Met Leu Ser Pro Glu
145 150 155 160

Val Val Gln Ala Leu Leu Val Glu Glu Leu Leu Ser Thr Val Asn Ser
165 170 175

Ser Ala Ala Val Pro Tyr Arg Ala Glu Tyr Glu Val Asp Pro Glu Gly
180 185 190

Leu Val Ile Leu Glu Ala Ser Val Lys Asp Ile Ala Ala Leu Asn Ser
195 200 205

Thr Leu Gly Cys Tyr Arg Tyr Ser Tyr Val Gly Gln Gly Gln Val Leu
210 215 220

Arg Leu Lys Gly Pro Asp His Leu Ala Ser Ser Cys Leu Trp His Leu
225 230 235 240

Gln Gly Pro Lys Asp Leu Met Leu Lys Leu Arg Leu Glu Trp Thr Leu
245 250 255

Ala Glu Cys Arg Asp Arg Leu Ala Met Tyr Asp Val Ala Gly Pro Leu
260 265 270

Glu Lys Arg Leu Ile Thr Ser Val Tyr Gly Cys Ser Arg Gln Glu Pro
275 280 285

Val Val Glu Val Leu Ala Ser Gly Ala Ile Met Ala Val Val Trp Lys
290 295 300

Lys Gly Leu His Ser Tyr Tyr Asp Pro Phe Val Leu Ser Val Gln Pro
305 310 315 320

Val Val Phe Gln Ala Cys Glu Val Asn Leu Thr Leu Asp Asn Arg Leu
325 330 335

Asp Ser Gln Gly Val Leu Ser Thr Pro Tyr Phe Pro Ser Tyr Tyr Ser
340 345 350

Pro Gln Thr His Cys Ser Trp His Leu Thr Val Pro Ser Leu Asp Tyr
355 360 365

Gly Leu Ala Leu Trp Phe Asp Ala Tyr Ala Leu Arg Arg Gln Lys Tyr
370 375 380

Asp Leu Pro Cys Thr Gln Gly Gln Trp Thr Ile Gln Asn Arg Arg Leu
385 390 395 400

Cys Gly Leu Arg Ile Leu Gln Pro Tyr Ala Glu Arg Ile Pro Val Val
405 410 415

Ala Thr Ala Gly Ile Thr Ile Asn Phe Thr Ser Gln Ile Ser Leu Thr
420 425 430

Gly Pro Gly Val Arg Val His Tyr Gly Leu Tyr Asn Gln Ser Asp Pro
435 440 445

Cys Pro Gly Glu Phe Leu Cys Ser Val Asn Gly Leu Cys Val Pro Ala
450 455 460

Cys Asp Gly Val Lys Asp Cys Pro Asn Gly Leu Asp Glu Arg Asn Cys
465 470 475 480

Val Cys Arg Ala Thr Phe Gln Cys Lys Glu Asp Ser Thr Cys Ile Ser
485 490 495

Leu Pro Lys Val Cys Asp Gly Gln Pro Asp Cys Leu Asn Gly Ser Asp
500 505 510

Glu Glu Gln Cys Gln Glu Gly Val Pro Cys Gly Thr Phe Thr Phe Gln
515 520 525

Cys Glu Asp Arg Ser Cys Val Lys Lys Pro Asn Pro Gln Cys Asp Gly
530 535 540

Arg Pro Asp Cys Arg Asp Gly Ser Asp Glu Glu His Cys Asp Cys Gly
545 550 555 560

Leu Gln Gly Pro Ser Ser Arg Ile Val Gly Gly Ala Val Ser Ser Glu
565 570 575

Gly Glu Trp Pro Trp Gln Ala Ser Leu Gln Val Arg Gly Arg His Ile
580 585 590

Cys Gly Gly Ala Leu Ile Ala Asp Arg Trp Val Ile Thr Ala Ala His
595 600 605

Cys Phe Gln Glu Asp Ser Met Ala Ser Thr Val Leu Trp Thr Val Phe
610 615 620

Leu Gly Lys Val Trp Gln Asn Ser Arg Trp Pro Gly Glu Val Ser Phe
625 630 635 640

Lys Val Ser Arg Leu Leu Leu His Pro Tyr His Glu Glu Asp Ser His
645 650 655

Asp Tyr Asp Val Ala Leu Leu Gln Leu Asp His Pro Val Val Arg Ser
660 665 670

Ala Ala Val Arg Pro Val Cys Leu Pro Ala Arg Ser His Phe Phe Glu
675 680 685

Pro Gly Leu His Cys Trp Ile Thr Gly Trp Gly Ala Leu Arg Glu Gly
690 695 700

Ala Leu Arg Ala Asp Ala Val Ala Leu Phe Tyr Gly Trp Arg Asn Gln
705 710 715 720

Gly Ser Glu Thr Cys Cys Cys Pro Ile Ser Asn Ala Leu Gln Lys Ala
725 730 735

Asp Val Gln Leu Ile Pro Gln Asp Leu Cys Ser Glu Val Tyr Arg Tyr
740 745 750

Gln Val Thr Pro Arg Met Leu Cys Ala Gly Tyr Arg Lys Gly Lys Lys
755 760 765

Asp Ala Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Lys Ala Leu
770 775 780

Ser Gly Arg Trp Phe Leu Ala Gly Leu Val Ser Trp Gly Leu Gly Cys
785 790 795 800

Gly Arg Pro Asn Tyr Phe Gly Val Tyr Thr Arg Ile Thr Gly Val Ile
805 810 815

Ser Trp Ile Gln Gln Val Val Thr
820

<210> 3
<211> 824
<212> PRT
<213> 智人

<400> 3
Met Pro Val Ala Glu Ala Pro Gln Val Ala Gly Gly Gln Gly Asp Gly
1 5 10 15

Gly Asp Gly Glu Glu Ala Glu Pro Glu Gly Met Phe Lys Ala Cys Glu
20 25 30

Asp Ser Lys Arg Lys Ala Arg Gly Tyr Leu Arg Leu Val Pro Leu Phe
35 40 45

Val Leu Leu Ala Leu Leu Val Leu Ala Ser Ala Gly Val Leu Leu Trp
50 55 60

Tyr Phe Leu Gly Tyr Lys Ala Glu Val Met Val Ser Gln Val Tyr Ser
65 70 75 80

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

Arg Glu Ser Ser Ala Phe Arg Ser Glu Thr Ala Lys Ala Gln Lys Met
100 105 110

Leu Lys Glu Leu Ile Thr Ser Thr Arg Leu Gly Thr Tyr Tyr Asn Ser
115 120 125

Ser Ser Val Tyr Ser Phe Gly Glu Gly Pro Leu Thr Cys Phe Phe Trp
130 135 140

Phe Ile Leu Gln Ile Pro Glu His Arg Arg Leu Met Leu Ser Pro Glu
145 150 155 160

Val Val Gln Ala Leu Leu Val Glu Glu Leu Leu Ser Thr Val Asn Ser
165 170 175

Ser Ala Ala Val Pro Tyr Arg Ala Glu Tyr Glu Val Asp Pro Glu Gly
180 185 190

Leu Val Ile Leu Glu Ala Ser Val Lys Asp Ile Ala Ala Leu Asn Ser
195 200 205

Thr Leu Gly Cys Tyr Arg Tyr Ser Tyr Val Gly Gln Gly Gln Val Leu
210 215 220

Arg Leu Lys Gly Pro Asp His Leu Ala Ser Ser Cys Leu Trp His Leu
225 230 235 240

Gln Gly Pro Lys Asp Leu Met Leu Lys Leu Arg Leu Glu Trp Thr Leu
245 250 255

Ala Glu Cys Arg Asp Arg Leu Ala Met Tyr Asp Val Ala Gly Pro Leu
260 265 270

Glu Lys Arg Leu Ile Thr Ser Val Tyr Gly Cys Ser Arg Gln Glu Pro
275 280 285

Val Val Glu Val Leu Ala Ser Gly Ala Ile Met Ala Val Val Trp Lys
290 295 300

Lys Gly Leu His Ser Tyr Tyr Asp Pro Phe Val Leu Ser Val Gln Pro
305 310 315 320

Val Val Phe Gln Ala Cys Glu Val Asn Leu Thr Leu Asp Asn Arg Leu
325 330 335

Asp Ser Gln Gly Val Leu Ser Thr Pro Tyr Phe Pro Ser Tyr Tyr Ser
340 345 350

Pro Gln Thr His Cys Ser Trp His Leu Thr Val Pro Ser Leu Asp Tyr
355 360 365

Gly Leu Ala Leu Trp Phe Asp Ala Tyr Ala Leu Arg Arg Gln Lys Tyr
370 375 380

Asp Leu Pro Cys Thr Gln Gly Gln Trp Thr Ile Gln Asn Arg Arg Leu
385 390 395 400

Cys Gly Leu Arg Ile Leu Gln Pro Tyr Ala Glu Arg Ile Pro Val Val
405 410 415

Ala Thr Ala Gly Ile Thr Ile Asn Phe Thr Ser Gln Ile Ser Leu Thr
420 425 430

Gly Pro Gly Val Arg Val His Tyr Gly Leu Tyr Asn Gln Ser Asp Pro
435 440 445

Cys Pro Gly Glu Phe Leu Cys Ser Val Asn Gly Leu Cys Val Pro Ala
450 455 460

Cys Asp Gly Val Lys Asp Cys Pro Asn Gly Leu Asp Glu Arg Asn Cys
465 470 475 480

Val Cys Arg Ala Thr Phe Gln Cys Lys Glu Asp Ser Thr Cys Ile Ser
485 490 495

Leu Pro Lys Val Cys Asp Gly Gln Pro Asp Cys Leu Asn Gly Ser Asp
500 505 510

Glu Glu Gln Cys Gln Glu Gly Val Pro Cys Gly Thr Phe Thr Phe Gln
515 520 525

Cys Glu Asp Arg Ser Cys Val Lys Lys Pro Asn Pro Gln Cys Asp Gly
530 535 540

Arg Pro Asp Cys Arg Asp Gly Ser Asp Glu Glu His Cys Asp Cys Gly
545 550 555 560

Leu Gln Gly Pro Ser Ser Arg Ile Val Gly Gly Ala Val Ser Ser Glu
565 570 575

Gly Glu Trp Pro Trp Gln Ala Ser Leu Gln Val Arg Gly Arg His Ile
580 585 590

Cys Gly Gly Ala Leu Ile Ala Asp Arg Trp Val Ile Thr Ala Ala His
595 600 605

Cys Phe Gln Glu Asp Ser Met Ala Ser Thr Val Leu Trp Thr Val Phe
610 615 620

Leu Gly Lys Val Trp Gln Asn Ser Arg Trp Pro Gly Glu Val Ser Phe
625 630 635 640

Lys Val Ser Arg Leu Leu Leu His Pro Tyr His Glu Glu Asp Ser His
645 650 655

Asp Tyr Asp Val Ala Leu Leu Gln Leu Asp His Pro Val Val Arg Ser
660 665 670

Ala Ala Val Arg Pro Val Cys Leu Pro Ala Arg Ser His Phe Phe Glu
675 680 685

Pro Gly Leu His Cys Trp Ile Thr Gly Trp Gly Ala Leu Arg Glu Gly
690 695 700

Ala Leu Arg Ala Asp Ala Val Ala Leu Phe Tyr Gly Trp Arg Asn Gln
705 710 715 720

Gly Ser Glu Thr Cys Cys Cys Pro Ile Ser Asn Ala Leu Gln Lys Val
725 730 735

Asp Val Gln Leu Ile Pro Gln Asp Leu Cys Ser Glu Val Tyr Arg Tyr
740 745 750

Gln Val Thr Pro Arg Met Leu Cys Ala Gly Tyr Arg Lys Gly Lys Lys
755 760 765

Asp Ala Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Lys Ala Leu
770 775 780

Ser Gly Arg Trp Phe Leu Ala Gly Leu Val Ser Trp Gly Leu Gly Cys
785 790 795 800

Gly Arg Pro Asn Tyr Phe Gly Val Tyr Thr Arg Ile Thr Gly Val Ile
805 810 815

Ser Trp Ile Gln Gln Val Val Thr
820

<210> 4
<211> 3196
<212> DNA
<213> 智人

<400> 4
ggacaaacag aggctcctga ggcctgtgtg caggcccggc acctatctgc cgctcccaaa 60

ggatgcccgt ggccgaggcc ccccaggtgg ctggcgggca gggggacgga ggtgatggcg 120

aggaagcgga gccggagggg atgttcaagg cctgtgagga ctccaagaga aaagcccggg 180

gctacctccg cctggtgccc ctgtttgtgc tgctggccct gctcgtgctg gcttcggcgg 240

gggtgctact ctggtatttc ctagggtaca aggcggaggt gatggtcagc caggtgtact 300

caggcagtct gcgtgtactc aatcgccact tctcccagga tcttacccgc cgggaatcta 360

gtgccttccg cagtgaaacc gccaaagccc agaagatgct caaggagctc atcaccagca 420

cccgcctggg aacttactac aactccagct ccgtctattc ctttggggag ggacccctca 480

cctgcttctt ctggttcatt ctccaaatcc ccgagcaccg ccggctgatg ctgagccccg 540

aggtggtgca ggcactgctg gtggaggagc tgctgtccac agtcaacagc tcggctgccg 600

tcccctacag ggccgagtac gaagtggacc ccgagggcct agtgatcctg gaagccagtg 660

tgaaagacat agctgcattg aattccacgc tgggttgtta ccgctacagc tacgtgggcc 720

agggccaggt cctccggctg aaggggcctg accacctggc ctccagctgc ctgtggcacc 780

tgcagggccc caaggacctc atgctcaaac tccggctgga gtggacgctg gcagagtgcc 840

gggaccgact ggccatgtat gacgtggccg ggcccctgga gaagaggctc atcacctcgg 900

tgtacggctg cagccgccag gagcccgtgg tggaggttct ggcgtcgggg gccatcatgg 960

cggtcgtctg gaagaagggc ctgcacagct actacgaccc cttcgtgctc tccgtgcagc 1020

cggtggtctt ccaggcctgt gaagtgaacc tgacgctgga caacaggctc gactcccagg 1080

gcgtcctcag caccccgtac ttccccagct actactcgcc ccaaacccac tgctcctggc 1140

acctcacggt gccctctctg gactacggct tggccctctg gtttgatgcc tatgcactga 1200

ggaggcagaa gtatgatttg ccgtgcaccc agggccagtg gacgatccag aacaggaggc 1260

tgtgtggctt gcgcatcctg cagccctacg ccgagaggat ccccgtggtg gccacggccg 1320

ggatcaccat caacttcacc tcccagatct ccctcaccgg gcccggtgtg cgggtgcact 1380

atggcttgta caaccagtcg gacccctgcc ctggagagtt cctctgttct gtgaatggac 1440

tctgtgtccc tgcctgtgat ggggtcaagg actgccccaa cggcctggat gagagaaact 1500

gcgtttgcag agccacattc cagtgcaaag aggacagcac atgcatctca ctgcccaagg 1560

tctgtgatgg gcagcctgat tgtctcaacg gcagcgacga agagcagtgc caggaagggg 1620

tgccatgtgg gacattcacc ttccagtgtg aggaccggag ctgcgtgaag aagcccaacc 1680

cgcagtgtga tgggcggccc gactgcaggg acggctcgga tgaggagcac tgtgactgtg 1740

gcctccaggg cccctccagc cgcattgttg gtggagctgt gtcctccgag ggtgagtggc 1800

catggcaggc cagcctccag gttcggggtc gacacatctg tgggggggcc ctcatcgctg 1860

accgctgggt gataacagct gcccactgct tccaggagga cagcatggcc tccacggtgc 1920

tgtggaccgt gttcctgggc aaggtgtggc agaactcgcg ctggcctgga gaggtgtcct 1980

tcaaggtgag ccgcctgctc ctgcacccgt accacgaaga ggacagccat gactacgacg 2040

tggcgctgct gcagctcgac cacccggtgg tgcgctcggc cgccgtgcgc cccgtctgcc 2100

tgcccgcgcg ctcccacttc ttcgagcccg gcctgcactg ctggattacg ggctggggcg 2160

ccttgcgcga gggcgcccta cgggcggatg ctgtggccct attttatgga tggagaaacc 2220

aaggctcaga gacatgttgc tgccccatca gcaacgctct gcagaaagtg gatgtgcagt 2280

tgatcccaca ggacctgtgc agcgaggtct atcgctacca ggtgacgcca cgcatgctgt 2340

gtgccggcta ccgcaagggc aagaaggatg cctgtcaggg tgactcaggt ggtccgctgg 2400

tgtgcaaggc actcagtggc cgctggttcc tggcgggggct ggtcagctgg ggcctgggct 2460

gtggccggcc taactacttc ggcgtctaca cccgcatcac aggtgtgatc agctggatcc 2520

agcaagtggt gacctgagga actgcccccc tgcaaagcag ggcccacctc ctggactcag 2580

agagcccagg gcaactgcca agcaggggga caagtattct ggcgggggggt gggggagaga 2640

gcaggccctg tggtggcagg aggtggcatc ttgtctcgtc cctgatgtct gctccagtga 2700

tggcaggagg atggagaagt gccagcagct gggggtcaag acgtcccctg aggacccagg 2760

cccacaccca gcccttctgc ctcccaattc tctctcctcc gtccccttcc tccactgctg 2820

cctaatgcaa ggcagtggct cagcagcaag aatgctggtt ctacatcccg aggagtgtct 2880

gaggtgcgcc ccactctgta cagaggctgt ttgggcagcc ttgcctccag agagcagatt 2940

ccagcttcgg aagcccctgg tctaacttgg gatctgggaa tggaaggtgc tcccatcgga 3000

ggggaccctc agagccctgg agactgccag gtgggcctgc tgccactgta agccaaaagg 3060

tggggaagtc ctgactccag ggtccttgcc ccacccctgc ctgccacctg ggccctcaca 3120

gcccagaccc tcactgggag gtgagctcag ctgcccttg gaataaagct gcctgatcca 3180

aaaaaaaaaa aaaaaa 3196

<210> 5
<211> 3196
<212> DNA
<213> 智人

<400> 5
ggacaaacag aggctcctga ggcctgtgtg caggcccggc acctatctgc cgctcccaaa 60

ggatgcccgt ggccgaggcc ccccaggtgg ctggcgggca gggggacgga ggtgatggcg 120

aggaagcgga gccggagggg atgttcaagg cctgtgagga ctccaagaga aaagcccggg 180

gctacctccg cctggtgccc ctgtttgtgc tgctggccct gctcgtgctg gcttcggcgg 240

gggtgctact ctggtatttc ctagggtaca aggcggaggt gatggtcagc caggtgtact 300

caggcagtct gcgtgtactc aatcgccact tctcccagga tcttacccgc cgggaatcta 360

gtgccttccg cagtgaaacc gccaaagccc agaagatgct caaggagctc atcaccagca 420

cccgcctggg aacttactac aactccagct ccgtctattc ctttggggag ggacccctca 480

cctgcttctt ctggttcatt ctccaaatcc ccgagcaccg ccggctgatg ctgagccccg 540

aggtggtgca ggcactgctg gtggaggagc tgctgtccac agtcaacagc tcggctgccg 600

tcccctacag ggccgagtac gaagtggacc ccgagggcct agtgatcctg gaagccagtg 660

tgaaagacat agctgcattg aattccacgc tgggttgtta ccgctacagc tacgtgggcc 720

agggccaggt cctccggctg aaggggcctg accacctggc ctccagctgc ctgtggcacc 780

tgcagggccc caaggacctc atgctcaaac tccggctgga gtggacgctg gcagagtgcc 840

gggaccgact ggccatgtat gacgtggccg ggcccctgga gaagaggctc atcacctcgg 900

tgtacggctg cagccgccag gagcccgtgg tggaggttct ggcgtcgggg gccatcatgg 960

cggtcgtctg gaagaagggc ctgcacagct actacgaccc cttcgtgctc tccgtgcagc 1020

cggtggtctt ccaggcctgt gaagtgaacc tgacgctgga caacaggctc gactcccagg 1080

gcgtcctcag caccccgtac ttccccagct actactcgcc ccaaacccac tgctcctggc 1140

acctcacggt gccctctctg gactacggct tggccctctg gtttgatgcc tatgcactga 1200

ggaggcagaa gtatgatttg ccgtgcaccc agggccagtg gacgatccag aacaggaggc 1260

tgtgtggctt gcgcatcctg cagccctacg ccgagaggat ccccgtggtg gccacggccg 1320

ggatcaccat caacttcacc tcccagatct ccctcaccgg gcccggtgtg cgggtgcact 1380

atggcttgta caaccagtcg gacccctgcc ctggagagtt cctctgttct gtgaatggac 1440

tctgtgtccc tgcctgtgat ggggtcaagg actgccccaa cggcctggat gagagaaact 1500

gcgtttgcag agccacattc cagtgcaaag aggacagcac atgcatctca ctgcccaagg 1560

tctgtgatgg gcagcctgat tgtctcaacg gcagcgacga agagcagtgc caggaagggg 1620

tgccatgtgg gacattcacc ttccagtgtg aggaccggag ctgcgtgaag aagcccaacc 1680

cgcagtgtga tgggcggccc gactgcaggg acggctcgga tgaggagcac tgtgactgtg 1740

gcctccaggg cccctccagc cgcattgttg gtggagctgt gtcctccgag ggtgagtggc 1800

catggcaggc cagcctccag gttcggggtc gacacatctg tgggggggcc ctcatcgctg 1860

accgctgggt gataacagct gcccactgct tccaggagga cagcatggcc tccacggtgc 1920

tgtggaccgt gttcctgggc aaggtgtggc agaactcgcg ctggcctgga gaggtgtcct 1980

tcaaggtgag ccgcctgctc ctgcacccgt accacgaaga ggacagccat gactacgacg 2040

tggcgctgct gcagctcgac cacccggtgg tgcgctcggc cgccgtgcgc cccgtctgcc 2100

tgcccgcgcg ctcccacttc ttcgagcccg gcctgcactg ctggattacg ggctggggcg 2160

ccttgcgcga gggcgcccta cgggcggatg ctgtggccct attttatgga tggagaaacc 2220

aaggctcaga gacatgttgc tgccccatca gcaacgctct gcagaaagtg gatgtgcagt 2280

tgatcccaca ggacctgtgc agcgaggtct atcgctacca agtgacgcca cgcatgctgt 2340

gtgccggcta ccgcaagggc aagaaggatg cctgtcaggg tgactcaggt ggtccgctgg 2400

tgtgcaaggc actcagtggc cgctggttcc tggcgggggct ggtcagctgg ggcctgggct 2460

gtggccggcc taactacttc ggcgtctaca cccgcatcac aggtgtgatc agctggatcc 2520

agcaagtggt gacctgagga actgcccccc tgcaaagcag ggcccacctc ctggactcag 2580

agagcccagg gcaactgcca agcaggggga caagtattct ggcgggggggt gggggagaga 2640

gcaggccctg tggtggcagg aggtggcatc ttgtctcgtc cctgatgtct gctccagtga 2700

tggcaggagg atggagaagt gccagcagct gggggtcaag acgtcccctg aggacccagg 2760

cccacaccca gcccttctgc ctcccaattc tctctcctcc gtcccccttcc tccactgctg 2820

cctaatgcaa ggcagtggct cagcagcaag aatgctggtt ctacatcccg aggagtgtct 2880

gaggtgcgcc ccactctgta cagaggctgt ttgggcagcc ttgcctccag agagcagatt 2940

ccagcttcgg aagcccctgg tctaacttgg gatctgggaa tggaaggtgc tcccatcgga 3000

ggggaccctc agagccctgg agactgccag gtgggcctgc tgccactgta agccaaaagg 3060

tggggaagtc ctgactccag ggtccttgcc ccacccctgc ctgccacctg ggccctcaca 3120

gcccagaccc tcactgggag gtgagctcag ctgcccttg gaataaagct gcctgatcca 3180

aaaaaaaaaa aaaaaa 3196

<210> 6
<211> 277
<212> PRT
<213> 智人

<400> 6
Met Cys Val Gly Ala Arg Arg Leu Gly Arg Gly Pro Cys Ala Ala Leu
1 5 10 15

Leu Leu Leu Gly Leu Gly Leu Ser Thr Val Thr Gly Leu His Cys Val
20 25 30

Gly Asp Thr Tyr Pro Ser Asn Asp Arg Cys Cys His Glu Cys Arg Pro
35 40 45

Gly Asn Gly Met Val Ser Arg Cys Ser Arg Ser Gln Asn Thr Val Cys
50 55 60

Arg Pro Cys Gly Pro Gly Phe Tyr Asn Asp Val Val Ser Ser Lys Pro
65 70 75 80

Cys Lys Pro Cys Thr Trp Cys Asn Leu Arg Ser Gly Ser Glu Arg Lys
85 90 95

Gln Leu Cys Thr Ala Thr Gln Asp Thr Val Cys Arg Cys Arg Ala Gly
100 105 110

Thr Gln Pro Leu Asp Ser Tyr Lys Pro Gly Val Asp Cys Ala Pro Cys
115 120 125

Pro Pro Gly His Phe Ser Pro Gly Asp Asn Gln Ala Cys Lys Pro Trp
130 135 140

Thr Asn Cys Thr Leu Ala Gly Lys His Thr Leu Gln Pro Ala Ser Asn
145 150 155 160

Ser Ser Asp Ala Ile Cys Glu Asp Arg Asp Pro Pro Ala Thr Gln Pro
165 170 175

Gln Glu Thr Gln Gly Pro Pro Ala Arg Pro Ile Thr Val Gln Pro Thr
180 185 190

Glu Ala Trp Pro Arg Thr Ser Gln Gly Pro Ser Thr Arg Pro Val Glu
195 200 205

Val Pro Gly Gly Arg Ala Val Ala Ala Ile Leu Gly Leu Gly Leu Val
210 215 220

Leu Gly Leu Leu Gly Pro Leu Ala Ile Leu Leu Ala Leu Tyr Leu Leu
225 230 235 240

Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly Gly
245 250 255

Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser
260 265 270

Thr Leu Ala Lys Ile
275

<210> 7
<211> 1201
<212> DNA
<213> 智人

<400> 7
aatattagag tctcaacccc caataaatat aggactggag atgtctgagg ctcattctgc 60

cctcgagccc accgggaacg aaagagaagc tctatctccc ctccaggagc ccagctatga 120

actccttctc cacaagcgcc ttcggtccag ttgccttctc cctggggctg ctcctggtgt 180

tgcctgctgc cttccctgcc ccagtacccc caggagaaga ttccaaagat gtagccgccc 240

cacacagaca gccactcacc tcttcagaac gaattgacaa acaaattcgg tacatcctcg 300

acggcatctc agccctgaga aaggagacat gtaacaagag taacatgtgt gaaagcagca 360

aagaggcact ggcagaaaac aacctgaacc ttccaaagat ggctgaaaaa gatggatgct 420

tccaatctgg attcaatgag gagacttgcc tggtgaaaat catcactggt cttttggagt 480

ttgaggtata cctagagtac ctccagaaca gatttgagag tagtgaggaa caagccagag 540

ctgtgcagat gagtacaaaa gtcctgatcc agttcctgca gaaaaaggca aagaatctag 600

atgcaataac cacccctgac ccaaccacaa atgccagcct gctgacgaag ctgcaggcac 660

agaaccagtg gctgcaggac atgacaactc atctcattct gcgcagcttt aaggagttcc 720

tgcagtccag cctgagggct cttcggcaaa tgtagcatgg gcacctcaga ttgttgttgt 780

taatgggcat tccttcttct ggtcagaaac ctgtccactg ggcacagaac ttatgttgtt 840

ctctatggag aactaaaagt atgagcgtta ggacactatt ttaattattt ttaatttatt 900

aatatttaaa tatgtgaagc tgagttaatt tatgtaagtc atatttatat ttttaagaag 960

taccacttga aacattttat gtattagttt tgaaataata atggaaagtg gctatgcagt 1020

ttgaatatcc tttgtttcag agccagatca tttcttggaa agtgtaggct tacctcaaat 1080

aaatggctaa cttatacata tttttaaaga aatatttata ttgtatttat ataatgtata 1140

aatggttttt ataccaataa atggcatttt aaaaaattca gcaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1200

a 1201

<210> 8
<211> 468
<212> PRT
<213> 智人

<400> 8

Met Leu Ala Val Gly Cys Ala Leu Leu Ala Ala Leu Leu Ala Ala Pro
1 5 10 15

Gly Ala Ala Leu Ala Pro Arg Arg Cys Pro Ala Gln Glu Val Ala Arg
20 25 30

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

35 40 45

Gly Val Glu Pro Glu Asp Asn Ala Thr Val His Trp Val Leu Arg Lys
50 55 60

Pro Ala Ala Gly Ser His Pro Ser Arg Trp Ala Gly Met Gly Arg Arg
65 70 75 80

Leu Leu Leu Arg Ser Val Gln Leu His Asp Ser Gly Asn Tyr Ser Cys
85 90 95

Tyr Arg Ala Gly Arg Pro Ala Gly Thr Val His Leu Leu Val Asp Val
100 105 110

Pro Pro Glu Glu Pro Gln Leu Ser Cys Phe Arg Lys Ser Pro Leu Ser
115 120 125

Asn Val Val Cys Glu Trp Gly Pro Arg Ser Thr Pro Ser Leu Thr Thr
130 135 140

Lys Ala Val Leu Leu Val Arg Lys Phe Gln Asn Ser Pro Ala Glu Asp
145 150 155 160

Phe Gln Glu Pro Cys Gln Tyr Ser Gln Glu Ser Gln Lys Phe Ser Cys
165 170 175

Gln Leu Ala Val Pro Glu Gly Asp Ser Ser Phe Tyr Ile Val Ser Met
180 185 190

Cys Val Ala Ser Ser Val Gly Ser Lys Phe Ser Lys Thr Gln Thr Phe
195 200 205

Gln Gly Cys Gly Ile Leu Gln Pro Asp Pro Pro Ala Asn Ile Thr Val
210 215 220

Thr Ala Val Ala Arg Asn Pro Arg Trp Leu Ser Val Thr Trp Gln Asp
225 230 235 240

Pro His Ser Trp Asn Ser Ser Phe Tyr Arg Leu Arg Phe Glu Leu Arg
245 250 255

Tyr Arg Ala Glu Arg Ser Lys Thr Phe Thr Thr Trp Met Val Lys Asp
260 265 270

Leu Gln His His Cys Val Ile His Asp Ala Trp Ser Gly Leu Arg His
275 280 285

Val Val Gln Leu Arg Ala Gln Glu Glu Phe Gly Gln Gly Glu Trp Ser
290 295 300

Glu Trp Ser Pro Glu Ala Met Gly Thr Pro Trp Thr Glu Ser Arg Ser
305 310 315 320

Pro Pro Ala Glu Asn Glu Val Ser Thr Pro Met Gln Ala Leu Thr Thr
325 330 335

Asn Lys Asp Asp Asp Asn Ile Leu Phe Arg Asp Ser Ala Asn Ala Thr
340 345 350

Ser Leu Pro Val Gln Asp Ser Ser Ser Val Pro Leu Pro Thr Phe Leu
355 360 365

Val Ala Gly Gly Ser Leu Ala Phe Gly Thr Leu Leu Cys Ile Ala Ile
370 375 380

Val Leu Arg Phe Lys Lys Thr Trp Lys Leu Arg Ala Leu Lys Glu Gly
385 390 395 400

Lys Thr Ser Met His Pro Pro Tyr Ser Leu Gly Gln Leu Val Pro Glu
405 410 415

Arg Pro Arg Pro Thr Pro Val Leu Val Pro Leu Ile Ser Pro Pro Val
420 425 430

Ser Pro Ser Ser Leu Gly Ser Asp Asn Thr Ser Ser His Asn Arg Pro

435 440 445

Asp Ala Arg Asp Pro Arg Ser Pro Tyr Asp Ile Ser Asn Thr Asp Tyr
450 455 460

Phe Phe Pro Arg
465

<210> 9
<211> 918
<212> PRT
<213> 智人

<400> 9
Met Leu Thr Leu Gln Thr Trp Leu Val Gln Ala Leu Phe Ile Phe Leu
1 5 10 15

Thr Thr Glu Ser Thr Gly Glu Leu Leu Asp Pro Cys Gly Tyr Ile Ser
20 25 30

Pro Glu Ser Pro Val Val Gln Leu His Ser Asn Phe Thr Ala Val Cys
35 40 45

Val Leu Lys Glu Lys Cys Met Asp Tyr Phe His Val Asn Ala Asn Tyr
50 55 60

Ile Val Trp Lys Thr Asn His Phe Thr Ile Pro Lys Glu Gln Tyr Thr
65 70 75 80

Ile Ile Asn Arg Thr Ala Ser Ser Val Thr Phe Thr Asp Ile Ala Ser
85 90 95

Leu Asn Ile Gln Leu Thr Cys Asn Ile Leu Thr Phe Gly Gln Leu Glu
100 105 110

Gln Asn Val Tyr Gly Ile Thr Ile Ile Ser Gly Leu Pro Pro Glu Lys
115 120 125

Pro Lys Asn Leu Ser Cys Ile Val Asn Glu Gly Lys Lys Met Arg Cys

130 135 140

Glu Trp Asp Gly Gly Arg Glu Thr His Leu Glu Thr Asn Phe Thr Leu
145 150 155 160

Lys Ser Glu Trp Ala Thr His Lys Phe Ala Asp Cys Lys Ala Lys Arg
165 170 175

Asp Thr Pro Thr Ser Cys Thr Val Asp Tyr Ser Thr Val Tyr Phe Val
180 185 190

Asn Ile Glu Val Trp Val Glu Ala Glu Asn Ala Leu Gly Lys Val Thr
195 200 205

Ser Asp His Ile Asn Phe Asp Pro Val Tyr Lys Val Lys Pro Asn Pro
210 215 220

Pro His Asn Leu Ser Val Ile Asn Ser Glu Glu Leu Ser Ser Ile Leu
225 230 235 240

Lys Leu Thr Trp Thr Asn Pro Ser Ile Lys Ser Val Ile Ile Leu Lys
245 250 255

Tyr Asn Ile Gln Tyr Arg Thr Lys Asp Ala Ser Thr Trp Ser Gln Ile
260 265 270

Pro Pro Glu Asp Thr Ala Ser Thr Arg Ser Ser Phe Thr Val Gln Asp
275 280 285

Leu Lys Pro Phe Thr Glu Tyr Val Phe Arg Ile Arg Cys Met Lys Glu
290 295 300

Asp Gly Lys Gly Tyr Trp Ser Asp Trp Ser Glu Glu Ala Ser Gly Ile
305 310 315 320

Thr Tyr Glu Asp Arg Pro Ser Lys Ala Pro Ser Phe Trp Tyr Lys Ile

Asp Pro Ser His Thr Gln Gly Tyr Arg Thr Val Gln Leu Val Trp Lys
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Phe Glu Ala Asn Gly Lys Ile Leu Asp Tyr Glu Val
355 360 365

Thr Leu Thr Arg Trp Lys Ser His Leu Gln Asn Tyr Thr Val Asn Ala
370 375 380

Thr Lys Leu Thr Val Asn Leu Thr Asn Asp Arg Tyr Leu Ala Thr Leu
385 390 395 400

Thr Val Arg Asn Leu Val Gly Lys Ser Asp Ala Ala Val Leu Thr Ile
405 410 415

Pro Ala Cys Asp Phe Gln Ala Thr His Pro Val Met Asp Leu Lys Ala
420 425 430

Phe Pro Lys Asp Asn Met Leu Trp Val Glu Trp Thr Thr Pro Arg Glu
435 440 445

Ser Val Lys Lys Tyr Ile Leu Glu Trp Cys Val Leu Ser Asp Lys Ala
450 455 460

Pro Cys Ile Thr Asp Trp Gln Gln Glu Asp Gly Thr Val His Arg Thr
465 470 475 480

Tyr Leu Arg Gly Asn Leu Ala Glu Ser Lys Cys Tyr Leu Ile Thr Val
485 490 495

Thr Pro Val Tyr Ala Asp Gly Pro Gly Ser Pro Glu Ser Ile Lys Ala
500 505 510

Tyr Leu Lys Gln Ala Pro Pro Ser Lys Gly Pro Thr Val Arg Thr Lys
515 520 525

Lys Val Gly Lys Asn Glu Ala Val Leu Glu Trp Asp Gln Leu Pro Val

530 535 540

Asp Val Gln Asn Gly Phe Ile Arg Asn Tyr Thr Ile Phe Tyr Arg Thr
545 550 555 560

Ile Ile Gly Asn Glu Thr Ala Val Asn Val Asp Ser Ser His Thr Glu
565 570 575

Tyr Thr Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Thr Leu Tyr Met Val Arg Met
580 585 590

Ala Ala Tyr Thr Asp Glu Gly Gly Lys Asp Gly Pro Glu Phe Thr Phe
595 600 605

Thr Thr Pro Lys Phe Ala Gln Gly Glu Ile Glu Ala Ile Val Val Pro
610 615 620

Val Cys Leu Ala Phe Leu Leu Thr Thr Leu Leu Gly Val Leu Phe Cys
625 630 635 640

Phe Asn Lys Arg Asp Leu Ile Lys Lys His Ile Trp Pro Asn Val Pro
645 650 655

Asp Pro Ser Lys Ser His Ile Ala Gln Trp Ser Pro His Thr Pro Pro
660 665 670

Arg His Asn Phe Asn Ser Lys Asp Gln Met Tyr Ser Asp Gly Asn Phe
675 680 685

Thr Asp Val Ser Val Val Glu Ile Glu Ala Asn Asp Lys Lys Pro Phe
690 695 700

Pro Glu Asp Leu Lys Ser Leu Asp Leu Phe Lys Lys Glu Lys Ile Asn
705 710 715 720

Thr Glu Gly His Ser Ser Gly Ile Gly Gly Ser Ser Cys Met Ser Ser
725 730 735

Ser Arg Pro Ser Ile Ser Ser Ser Asp Glu Asn Glu Ser Ser Gln Asn
740 745 750

Thr Ser Ser Thr Val Gln Tyr Ser Thr Val Val His Ser Gly Tyr Arg
755 760 765

His Gln Val Pro Ser Val Gln Val Phe Ser Arg Ser Glu Ser Thr Gln
770 775 780

Pro Leu Leu Asp Ser Glu Glu Arg Pro Glu Asp Leu Gln Leu Val Asp
785 790 795 800

His Val Asp Gly Gly Asp Gly Ile Leu Pro Arg Gln Gln Tyr Phe Lys
805 810 815

Gln Asn Cys Ser Gln His Glu Ser Ser Pro Asp Ile Ser His Phe Glu
820 825 830

Arg Ser Lys Gln Val Ser Ser Val Asn Glu Glu Asp Phe Val Arg Leu
835 840 845

Lys Gln Gln Ile Ser Asp His Ile Ser Gln Ser Cys Gly Ser Gly Gln
850 855 860

Met Lys Met Phe Gln Glu Val Ser Ala Ala Asp Ala Phe Gly Pro Gly
865 870 875 880

Thr Glu Gly Gln Val Glu Arg Phe Glu Thr Val Gly Met Glu Ala Ala
885 890 895

Thr Asp Glu Gly Met Pro Lys Ser Tyr Leu Pro Gln Thr Val Arg Gln
900 905 910

Gly Gly Tyr Met Pro Gln
915

<210> 10

<211> 193
<212> PRT
<213> 智人

<400> 10

Met Gly Val His Glu Cys Pro Ala Trp Leu Trp Leu Leu Leu Ser Leu
1 5 10 15

Leu Ser Leu Pro Leu Gly Leu Pro Val Leu Gly Ala Pro Pro Arg Leu
20 25 30

Ile Cys Asp Ser Arg Val Leu Glu Arg Tyr Leu Leu Glu Ala Lys Glu
35 40 45

Ala Glu Asn Ile Thr Thr Gly Cys Ala Glu His Cys Ser Leu Asn Glu
50 55 60

Asn Ile Thr Val Pro Asp Thr Lys Val Asn Phe Tyr Ala Trp Lys Arg
65 70 75 80

Met Glu Val Gly Gln Gln Ala Val Glu Val Trp Gln Gly Leu Ala Leu
85 90 95

Leu Ser Glu Ala Val Leu Arg Gly Gln Ala Leu Leu Val Asn Ser Ser
100 105 110

Gln Pro Trp Glu Pro Leu Gln Leu His Val Asp Lys Ala Val Ser Gly
115 120 125

Leu Arg Ser Leu Thr Thr Leu Leu Arg Ala Leu Gly Ala Gln Lys Glu
130 135 140

Ala Ile Ser Pro Pro Asp Ala Ala Ser Ala Ala Pro Leu Arg Thr Ile
145 150 155 160

Thr Ala Asp Thr Phe Arg Lys Leu Phe Arg Val Tyr Ser Asn Phe Leu
165 170 175

Arg Gly Lys Leu Lys Leu Tyr Thr Gly Glu Ala Cys Arg Thr Gly Asp

180 185 190

Arg

<210> 11
<211> 224
<212> PRT
<213> 智人

<400> 11

Met Glu Lys Leu Leu Cys Phe Leu Val Leu Thr Ser Leu Ser His Ala
1 5 10 15

Phe Gly Gln Thr Asp Met Ser Arg Lys Ala Phe Val Phe Pro Lys Glu
20 25 30

Ser Asp Thr Ser Tyr Val Ser Leu Lys Ala Pro Leu Thr Lys Pro Leu
35 40 45

Lys Ala Phe Thr Val Cys Leu His Phe Tyr Thr Glu Leu Ser Ser Thr
50 55 60

Arg Gly Tyr Ser Ile Phe Ser Tyr Ala Thr Lys Arg Gln Asp Asn Glu
65 70 75 80

Ile Leu Ile Phe Trp Ser Lys Asp Ile Gly Tyr Ser Phe Thr Val Gly
85 90 95

Gly Ser Glu Ile Leu Phe Glu Val Pro Glu Val Thr Val Ala Pro Val
100 105 110

His Ile Cys Thr Ser Trp Glu Ser Ala Ser Gly Ile Val Glu Phe Trp
115 120 125

Val Asp Gly Lys Pro Arg Val Arg Lys Ser Leu Lys Lys Gly Tyr Thr
130 135 140

Val Gly Ala Glu Ala Ser Ile Ile Leu Gly Gln Glu Gln Asp Ser Phe

145 150 155 160

Gly Gly Asn Phe Glu Gly Ser Gln Ser Leu Val Gly Asp Ile Gly Asn
165 170 175

Val Asn Met Trp Asp Phe Val Leu Ser Pro Asp Glu Ile Asn Thr Ile
180 185 190

Tyr Leu Gly Gly Pro Phe Ser Pro Asn Val Leu Asn Trp Arg Ala Leu
195 200 205

Lys Tyr Glu Val Gln Gly Glu Val Phe Thr Lys Pro Gln Leu Trp Pro
210 215 220

<210> 12
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述:合成肽

<400> 12
Ser Asn Tyr Met Ile
1 5

<210> 13
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述: 合成肽

<400> 13
Asp Leu Tyr Tyr Tyr Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 14

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述:合成肽

<400> 14
Trp Ala Asp Asp His Pro Pro Trp Ile Asp Leu
1 5 10

<210> 15
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述:合成肽

<400> 15
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 16
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述:合成肽

<400> 16
Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser
1 5

<210> 17
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述:合成肽

<400> 17
Gln Gln Ser Trp Leu Gly Gly Ser
1 5

<210> 18
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述:合成多肽

<400> 18

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ile Ser Ser Asn
20 25 30

Tyr Met Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Asp Leu Tyr Tyr Tyr Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Met Ser Arg Asp Ile Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Ala Asp Asp His Pro Pro Trp Ile Asp Leu Trp Gly Arg
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

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

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile
245 250 255

Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 19
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述:合成多肽

<400> 19
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Trp Leu Gly Gly Ser
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

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

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 20
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述:合成探針

<400> 20

cggctctgca gccttg 16

<210> 21
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述:合成寡核苷酸

<400> 21
cttccaggag cgagatcccg ctaa 24

<210> 22
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述:合成引子

<400> 22
gcatgaggtc cttggggccc tgcag 25

<210> 23
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述:合成引子

<400> 23
ctgcagggcc ccaaggacct catgc 25

<210> 24
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述:合成引子

<400> 24
cctggtagcg ataggcctcg ctgcacagg 29

<210> 25
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述:合成引子

<400> 25
cctgtgcagc gaggcctatc gctaccagg 29

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種治療海帕西啶(hepcidin)介導之病症之方法，其包含：

向患有海帕西啶介導之病症之患者投與治療有效量之IL-6拮抗劑，

其中已確定該患者具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因(major allele)之至少一個複本。

【請求項2】

如請求項1之方法，其中先前已確定該患者具有該*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本。

【請求項3】

如請求項1之方法，其進一步包含以下之早前步驟：

確定該患者具有該*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本。

【請求項4】

如請求項1至3中任一項之方法，其中該患者具有升高之治療前血清IL-6含量。

【請求項5】

如請求項1至4中任一項之方法，其中該患者具有升高之治療前血清CRP含量。

【請求項6】

如請求項1至5中任一項之方法，其中該海帕西啶介導之病症為慢性疾病貧血。

【請求項7】

如請求項6之方法，其中該患者為男性且治療前血紅素(Hb)含量小於14 g/dl。

【請求項8】

如請求項7之方法，其中該患者之治療前Hb含量小於13 g/dl。

【請求項9】

如請求項8之方法，其中該患者之治療前Hb含量小於12 g/dl。

【請求項10】

如請求項9之方法，其中該患者之治療前Hb含量小於11 g/dl。

【請求項11】

如請求項6之方法，其中該患者為女性且治療前Hb含量小於12 g/dl。

【請求項12】

如請求項11之方法，其中該患者之治療前Hb含量小於11 g/dl。

【請求項13】

如請求項12之方法，其中該患者之治療前Hb含量小於10 g/dl。

【請求項14】

如請求項13之方法，其中該患者之治療前Hb含量小於9 g/dl。

【請求項15】

如請求項6至10中任一項之方法，其中該患者為男性且治療前血容比小於40%。

【請求項16】

如請求項15之方法，其中該患者之治療前血容比小於35%。

【請求項17】

如請求項16之方法，其中該患者之治療前血容比為30-34%。

【請求項18】

如請求項6、11至14中任一項之方法，其中該患者之治療前血容比小於36%。

【請求項19】

如請求項18之方法，其中該患者之治療前血容比小於30%。

【請求項20】

如請求項19之方法，其中該患者之治療前血容比為26-29%。

【請求項21】

如請求項6至20中任一項之方法，其中該患者已接受至少一次ESA之治療前投與。

【請求項22】

如請求項6之方法，其中該患者已接受至少一次ESA之治療前投與且具有正常Hb含量或正常血容比。

【請求項23】

如請求項6至20中任一項之方法，其中該患者已接受至少一次鐵補充劑之治療前投與。

【請求項24】

如請求項6之方法，其中該患者已接受至少一次鐵補充劑之治療前投與且具有正常Hb含量或正常血容比。

【請求項25】

如請求項6至20中任一項之方法，其中該患者已接受至少一次血

液或紅血球濃厚液(packed red blood cells)之治療前輸注。

【請求項26】

如請求項6之方法，其中該患者已接受至少一次血液或紅血球濃厚液之治療前輸注且具有正常Hb含量或正常血容比。

【請求項27】

如請求項6至26中任一項之方法，其中按時程投與一劑該IL-6拮抗劑劑量，且持續一段足以使該患者之Hb含量增加而高於治療前含量之時間期。

【請求項28】

如請求項6至27中任一項之方法，其中按時程投與一劑該IL-6拮抗劑劑量，且持續一段足以使該患者之血容比增加而高於治療前含量之時間期。

【請求項29】

如請求項21或22之方法，其中按時程投與一劑該IL-6拮抗劑劑量，且持續一段足以使該患者之ESA劑量減少而不使該患者之Hb含量降低至低於接近治療前存在之含量的時間期。

【請求項30】

如請求項21或22之方法，其中按時程投與一劑該IL-6拮抗劑劑量，且持續一段足以使該患者之ESA劑量減少而不使該患者之血容比降低至低於接近治療前存在之含量的時間期。

【請求項31】

如請求項21、22、29或30中任一項之方法，其中按時程投與一劑該IL-6拮抗劑劑量，且持續一段足以使得該患者之ESA劑量相較於

治療前ESA劑量減少至少10%之時間期。

【請求項32】

如請求項31之方法，其中按時程投與一劑該IL-6拮抗劑劑量，且持續一段足以使得該患者之ESA劑量相較於治療前ESA劑量減少至少20%之時間期。

【請求項33】

如請求項32之方法，其中按時程投與一劑該IL-6拮抗劑劑量，且持續一段足以使得該患者之ESA劑量相較於治療前ESA劑量減少至少50%之時間期。

【請求項34】

如請求項6至33中任一項之方法，其中按時程投與一劑該IL-6拮抗劑劑量，且持續一段足以逆轉功能性鐵缺乏之時間期。

【請求項35】

如請求項6至34中任一項之方法，其中該慢性疾病為慢性腎病(CKD)。

【請求項36】

如請求項35之方法，其中該患者具有KDOQI 1期慢性腎病、KDOQI 2期慢性腎病、KDOQI 3期慢性腎病、KDOQI 4期慢性腎病或KDOQI 5期慢性腎病。

【請求項37】

如請求項36之方法，其中該患者具有KDOQI 5期慢性腎病。

【請求項38】

如請求項35之方法，其中該患者具有心腎症候群(CRS)。

【請求項39】

如請求項38之方法，其中該患者具有第4型CRS。

【請求項40】

如請求項35至39中任一項之方法，其中該患者已接受至少一次治療前透析治療。

【請求項41】

如請求項35至40中任一項之方法，其中按時程投與一劑該IL-6拮抗劑劑量，且持續一段足以使心血管(CV)死亡率相較於年齡匹配且疾病匹配之歷史對照組降低之時間期。

【請求項42】

如請求項6至34中任一項之方法，其中該慢性疾病為慢性發炎疾病。

【請求項43】

如請求項42之方法，其中該慢性發炎疾病為類風濕性關節炎(RA)。

【請求項44】

如請求項43之方法，其中該患者之治療前DAS28得分大於5.1。

【請求項45】

如請求項43之方法，其中該患者之治療前DAS28得分為3.2至5.1。

【請求項46】

如請求項43之方法，其中該患者之治療前DAS28得分小於2.6。

【請求項47】

如請求項43之方法，其中該患者之治療前RA為中度活動性至重度活動性。

【請求項48】

如請求項43至47中任一項之方法，其中該患者已接受至少一次甲胺喋呤(methotrexate)之治療前投與。

【請求項49】

如請求項43至48中任一項之方法，其中該患者已接受至少一次TNFα拮抗劑之治療前投與。

【請求項50】

如請求項49之方法，其中該TNFα拮抗劑選自由以下組成之群：依那西普(etanercept)、阿達木單抗(adalimumab)、英利昔單抗(infliximab)、賽妥珠單抗(certolizumab)及戈利木單抗(golimu-mab)。

【請求項51】

如請求項43至47中任一項之方法，其中該患者已接受至少一次IL-6拮抗劑之治療前投與。

【請求項52】

如請求項51之方法，其中該治療前IL-6拮抗劑為托珠單抗(tocilizumab)。

【請求項53】

如請求項51之方法，其中該治療前IL-6拮抗劑為托法替尼(tofacitinib)。

【請求項54】

如請求項51至53中任一項之方法，其中該治療IL-6拮抗劑為

MEDI5117。

【請求項55】

如請求項42之方法，其中該慢性發炎疾病選自由以下組成之群：幼年期特發性關節炎、僵直性脊椎炎、斑狀牛皮癬、牛皮癬性關節炎、發炎性腸病、克羅恩氏病(Crohn's disease)及潰瘍性結腸炎。

【請求項56】

如請求項6至34中任一項之方法，其中該慢性疾病為癌症。

【請求項57】

如請求項56之方法，其中該癌症選自由以下組成之群：實體腫瘤、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、血液癌、多發性骨髓瘤、白血病、慢性淋巴細胞白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、淋巴瘤、霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)及肝腺瘤。

【請求項58】

如請求項6至34中任一項之方法，其中該慢性疾病為慢性感染。

【請求項59】

如請求項6至34中任一項之方法，其中該慢性疾病為充血性心臟衰竭(CHF)。

【請求項60】

如請求項1至5中任一項之方法，其中該海帕西啶介導之病症為鐵難治性缺鐵性貧血(IRIDA)。

【請求項61】

如請求項1至5中任一項之方法，其中該海帕西啶介導之病症為急性冠狀動脈症候群。

【請求項62】

如請求項61之方法，其中該患者在第一次投與IL-6拮抗劑之前60天內已罹患心肌梗塞(MI)。

【請求項63】

如請求項62之方法，其中該患者在第一次投與IL-6拮抗劑之前30天內已罹患MI。

【請求項64】

如請求項63之方法，其中該患者在第一次投與IL-6拮抗劑之前48小時內已罹患MI。

【請求項65】

如請求項64之方法，其中該患者在第一次投與IL-6拮抗劑之前24小時內已罹患MI。

【請求項66】

如請求項61至65中任一項之方法，其中按時程投與一劑該IL-6拮抗劑劑量，且持續一段足以相較於治療前程度改良心肌收縮性之時間期。

【請求項67】

如請求項61至66中任一項之方法，其中按時程投與一劑該IL-6拮抗劑劑量，且持續一段足以相較於治療前程度改良心臟射血分數之時間期。

【請求項68】

如請求項66之方法，其進一步包含確定該患者對於該*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合之早前步驟。

【請求項69】

一種治療無慢性發炎貧血之患者的IL-6介導之發炎病症之方法，其包含：

向患有IL-6介導之發炎病症的無貧血患者投與治療有效量之IL-6拮抗劑，

其中已確定該患者具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本。

【請求項70】

如請求項69之方法，其中先前已確定該患者具有該*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本。

【請求項71】

如請求項69之方法，其進一步包含確定該患者具有該*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之早前步驟。

【請求項72】

如請求項1至71中任一項之方法，其中該患者具有升高之治療前血清IL-6含量。

【請求項73】

如請求項72之方法，其中該患者之治療前血清IL-6含量大於2.5 pg/ml。

【請求項74】

如請求項73之方法，其中該患者之治療前血清IL-6含量大於5 pg/ml。

【請求項75】

如請求項74之方法，其中該患者之治療前血清IL-6含量大於7.5 pg/ml。

【請求項76】

如請求項75之方法，其中該患者之治療前血清IL-6含量大於10 pg/ml。

【請求項77】

如請求項76之方法，其中該患者之治療前血清IL-6含量大於12.5 pg/ml。

【請求項78】

如請求項72至77中任一項之方法，其中按時程投與一劑該IL-6拮抗劑劑量，且持續一段足以使該患者之血清中之游離IL-6含量降低而低於治療前含量之時間期。

【請求項79】

如請求項78之方法，其中按時程投與一劑該IL-6拮抗劑劑量，且持續一段足以使游離IL-6含量相較於治療前含量降低至少10%之時間期。

【請求項80】

如請求項79之方法，其中按時程投與一劑該IL-6拮抗劑劑量，且持續一段足以使該患者之血清中之游離IL-6含量相較於治療前含量降低至少20%之時間期。

【請求項81】

如請求項80之方法，其中按時程投與一劑該IL-6拮抗劑劑量，且持續一段足以使該患者之血清中之游離IL-6含量相較於治療前含量降

低至少50%之時間期。

【請求項82】

如請求項1至81中任一項之方法，其中該患者具有升高之治療前C反應蛋白(CRP)含量。

【請求項83】

如請求項82之方法，其中該患者之治療前CRP含量大於2 mg/ml。

【請求項84】

如請求項83之方法，其中該患者之治療前CRP含量大於3 mg/ml。

【請求項85】

如請求項84之方法，其中該患者之治療前CRP含量大於5 mg/ml。

【請求項86】

如請求項85之方法，其中該患者之治療前CRP含量大於7.5 mg/ml。

【請求項87】

如請求項86之方法，其中該患者之治療前CRP含量大於10 mg/ml。

【請求項88】

如請求項82至87中任一項之方法，其中按時程投與一劑該IL-6拮抗劑劑量，且持續一段足以使該患者之CRP含量降低而低於治療前含量之時間期。

【請求項89】

如請求項88之方法，其中按時程投與一劑該IL-6拮抗劑劑量，且持續一段足以使該患者之CRP含量相較於治療前含量降低至少50%之時間期。

【請求項90】

如請求項1至89中任一項之方法，其中使用TaqMan®即時PCR分析，已確定該患者具有該*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本。

【請求項91】

如請求項1至90中任一項之方法，其中該IL-6拮抗劑為抗IL-6抗體或其抗原結合片段或衍生物。

【請求項92】

如請求項91之方法，其中該抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物對人類IL-6之結合性具有小於100 nM之K_D。

【請求項93】

如請求項92之方法，其中該抗體或抗原結合片段或衍生物對人類IL-6之結合性具有小於50 nM之K_D。

【請求項94】

如請求項93之方法，其中該抗體或抗原結合片段或衍生物對人類IL-6之結合性具有小於10 nM之K_D。

【請求項95】

如請求項94之方法，其中該抗體或抗原結合片段或衍生物對人類IL-6之結合性具有小於1 nM之K_D。

【請求項96】

如請求項91至95中任一項之方法，其中該抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物在靜脈內投與後具有至少7天之消除半衰期。

【請求項97】

如請求項96之方法，其中該抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物在靜脈內投與後具有至少14天之消除半衰期。

【請求項98】

如請求項97之方法，其中該抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物在靜脈內投與後具有至少21天之消除半衰期。

【請求項99】

如請求項98之方法，其中該抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物在靜脈內投與後具有至少30天之消除半衰期。

【請求項100】

如請求項91至99中任一項之方法，其中該IL-6拮抗劑為全長單株抗IL-6抗體。

【請求項101】

如請求項100之方法，其中該抗體為IgG1或IgG4抗體。

【請求項102】

如請求項101之方法，其中該抗體為IgG1抗體。

【請求項103】

如請求項91至102中任一項之方法，其中該抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物為完全人類的。

【請求項104】

如請求項91至102中任一項之方法，其中該抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物為人類化的。

【請求項105】

如請求項91至104中任一項之方法，其中該抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物包含MEDI5117之所有六個可變區CDR。

【請求項106】

如請求項105之方法，其中該抗體包含MEDI5117之VH及VL。

【請求項107】

如請求項106之方法，其中該抗體為MEDI5117。

【請求項108】

如請求項91至104中任一項之方法，其中該抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物包含選自由以下組成之群的抗體之所有六個可變區CDR：司妥昔單抗(siltuximab)、格里林祖單抗(gerilimzu-mab)、思魯庫單抗(sirukumab)、克拉雜奇單抗(clazakizumab)、奧諾奇單抗(olokizumab)、艾思莫單抗(elsilimomab)、VX30 (VOP-R003；Vaccinex)、EB-007 (EBI-029；Eleven Bio)、ARGX-109 (ArGEN-X)、FM101 (Femta Pharmaceuticals, Lonza)及ALD518/BMS-945429 (Alder Biopharmaceuticals, Bristol-Myers Squibb)。

【請求項109】

如請求項108之方法，其中該抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物包含選自由以下組成之群的抗體之重鏈V區及輕鏈V區：司妥昔單抗、格里林祖單抗、思魯庫單抗、克拉雜奇單抗、奧諾奇單抗、VX30 (VOP-R003；Vaccinex)、EB-007 (EBI-029；Eleven Bio)、

ARGX-109 (ArGEN-X)、FM101 (Femta Pharmaceuticals, Lonza)及ALD518/BMS-945429 (Alder Biopharmaceuticals, Bristol-Myers Squibb)。在特定實施例中，該抗IL-6抗體為選自由以下組成之群的抗體：司妥昔單抗、格里林祖單抗、思魯庫單抗、克拉雜奇單抗、奧諾奇單抗、VX30 (VOP-R003；Vaccinex)、EB-007 (EBI-029；Eleven Bio)、ARGX-109 (ArGEN-X)、FM101 (Femta Pharmaceuticals, Lonza)及ALD518/BMS-945429 (Alder Biopharmaceuticals, Bristol-Myers Squibb)。

【請求項110】

如請求項109之方法，其中該抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物為選自由以下組成之群的抗體：司妥昔單抗、格里林祖單抗、思魯庫單抗、克拉雜奇單抗、奧諾奇單抗、VX30 (VOP-R003；Vaccinex)、EB-007 (EBI-029；Eleven Bio)、ARGX-109 (ArGEN-X)、FM101 (Femta Pharmaceuticals, Lonza)及ALD518/ BMS-945429 (Alder Biopharmaceuticals, Bristol-Myers Squibb)。在特定實施例中，該抗IL-6抗體為選自由以下組成之群的抗體：司妥昔單抗、格里林祖單抗、思魯庫單抗、克拉雜奇單抗、奧諾奇單抗、VX30 (VOP-R003；Vaccinex)、EB-007 (EBI-029；Eleven Bio)、ARGX-109 (ArGEN-X)、FM101 (Femta Pharmaceu-ticals, Lonza)及ALD518/BMS-945429 (Alder Biopharmaceuticals, Bristol-Myers Squibb)。

【請求項111】

如請求項91至99中任一項之方法，其中該IL-6拮抗劑為單域抗體、VHH奈米抗體(Nanobody)、Fab或scFv。

【請求項112】

如請求項1至90中任一項之方法，其中該IL-6拮抗劑為抗IL-6R抗體或其抗原結合片段或衍生物。

【請求項113】

如請求項112之方法，其中該抗IL-6R抗體、抗原結合片段或衍生物為托珠單抗。

【請求項114】

如請求項112之方法，其中該抗IL-6R抗體、抗原結合片段或衍生物為夫巴利珠單抗(vobarilizumab)。

【請求項115】

如請求項1至90中任一項之方法，其中該IL-6拮抗劑為JAK抑制劑。

【請求項116】

如請求項115之方法，其中該JAK抑制劑選自由以下組成之群：托法替尼(tofacitinib)(Xeljanz)、得森替尼(decernotinib)、盧佐替尼(ruxolitinib)、尤帕達替尼(upadacitinib)、巴瑞替尼(barici-tinib)、斐哥替尼(filgotinib)、來妥替尼(lestaurtinib)、帕瑞替尼(pacritinib)、皮非替尼(peficitinib)、INCB-039110、ABT-494、INCB-047986及AC-410。

【請求項117】

如請求項1至90中任一項之方法，其中該IL-6拮抗劑為STAT3抑制劑。

【請求項118】

如請求項91至114中任一項之方法，其中該IL-6拮抗劑係非經腸投與。

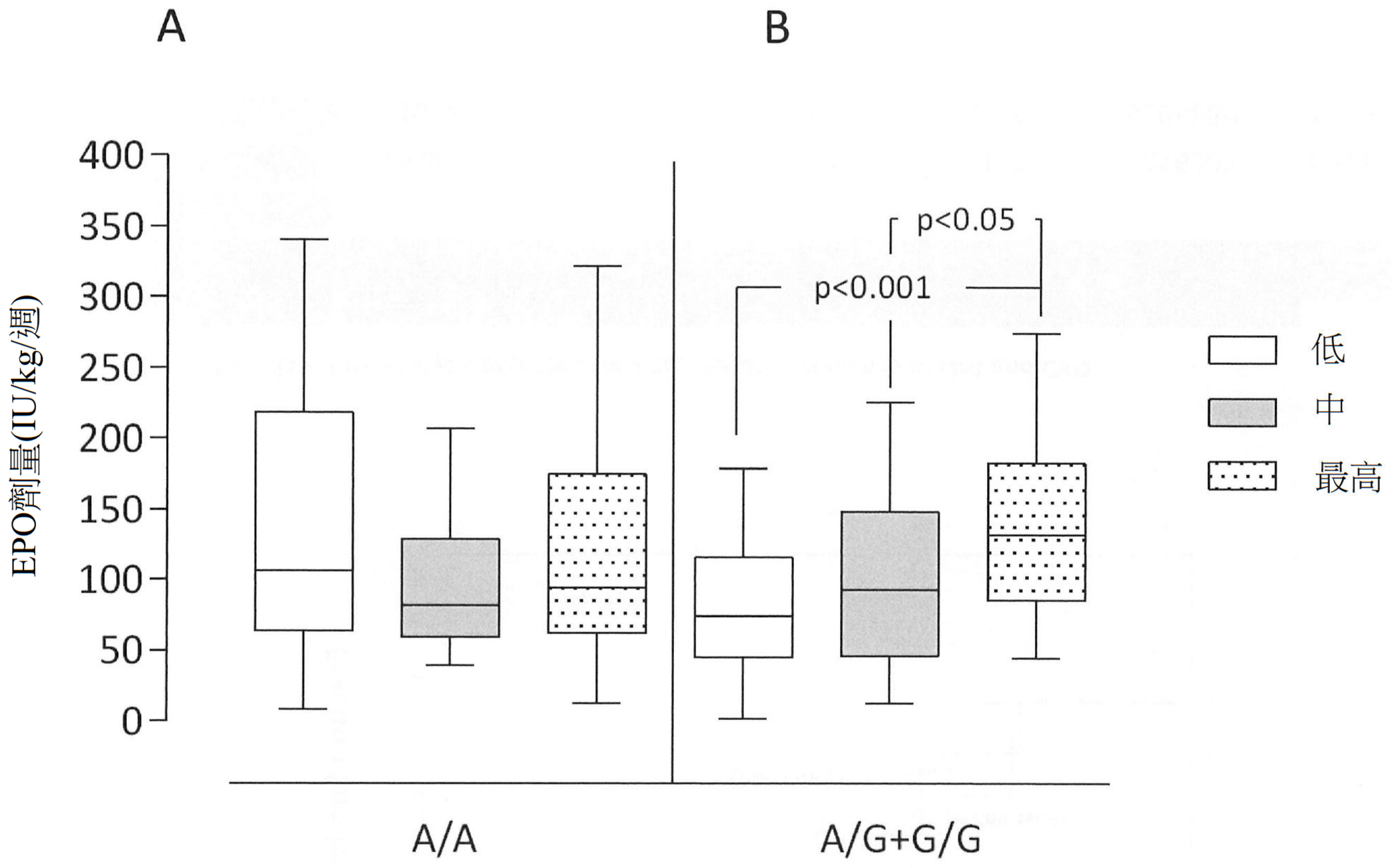
【請求項119】

如請求項118之方法，其中該IL-6拮抗劑係經皮下投與。

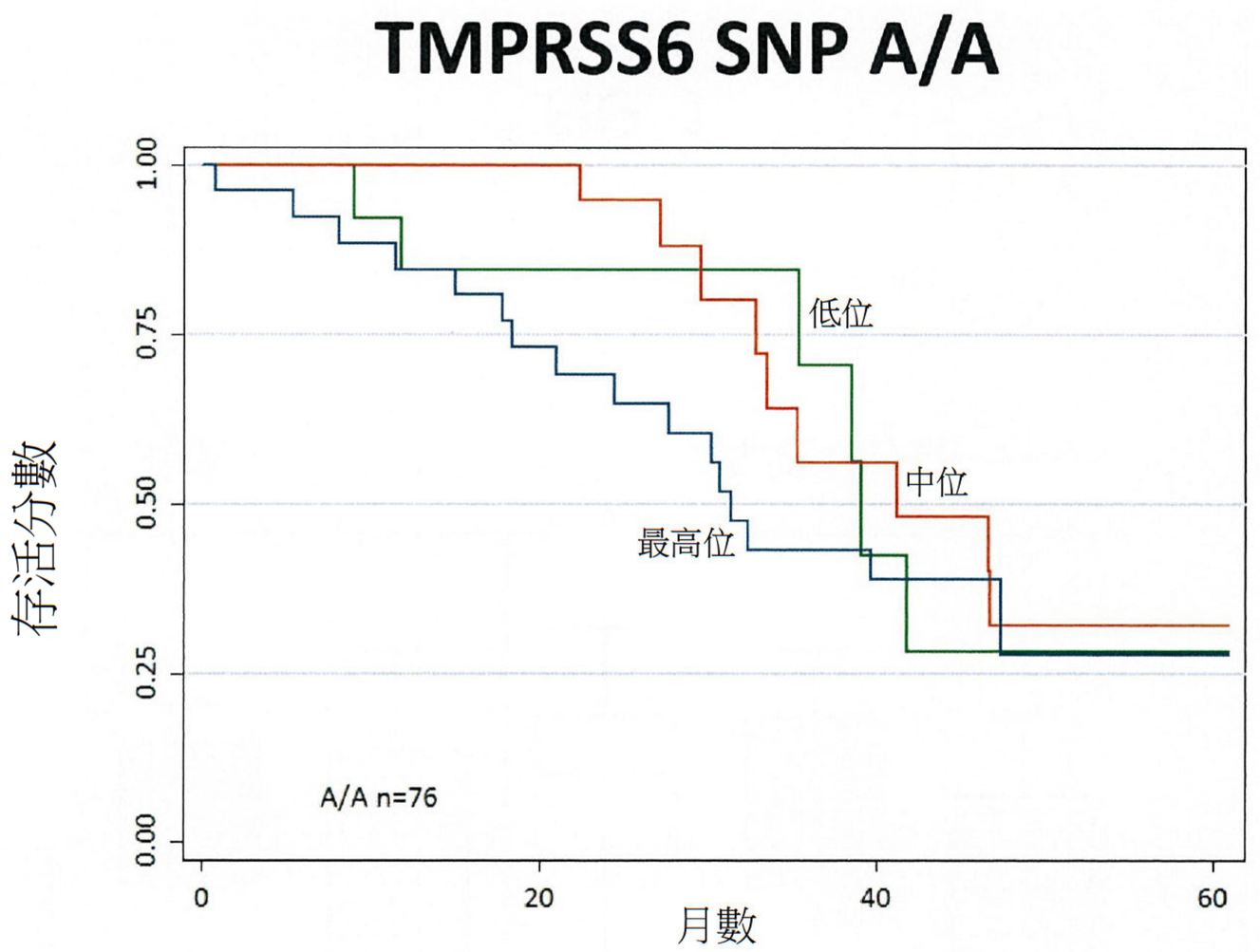
【請求項120】

如請求項115至116中任一項之方法，其中該IL-6拮抗劑係經口投與。

【發明圖式】


A
B
EPO劑量(IU/kg/週)
400
350
300
250
200
150
100
50
0
p<0.05
p<0.001
低
中
最高
A/A
A/G+G/G

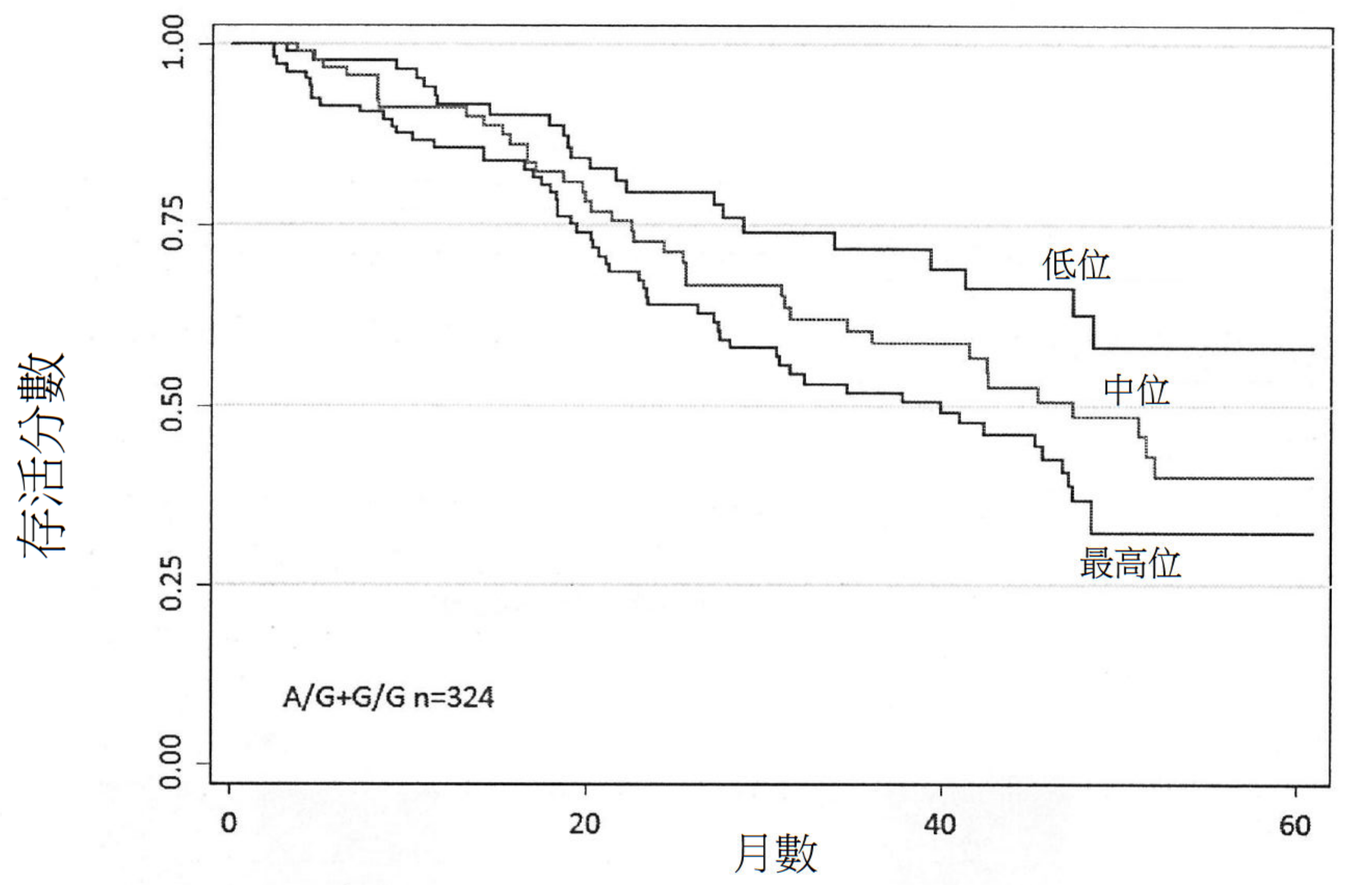
【圖1】



針對年齡、性別、DM及CVD之存在而調節之多變數Cox分析

il6三分位	Haz.比	標準誤差	z	P>z	[95%信賴區間]	
低						
中	.4000791	.2269197	-1.62	0.106	.1316302	1.216008
最高	1.466279	.7326393	0.77	0.444	.5506888	3.904155

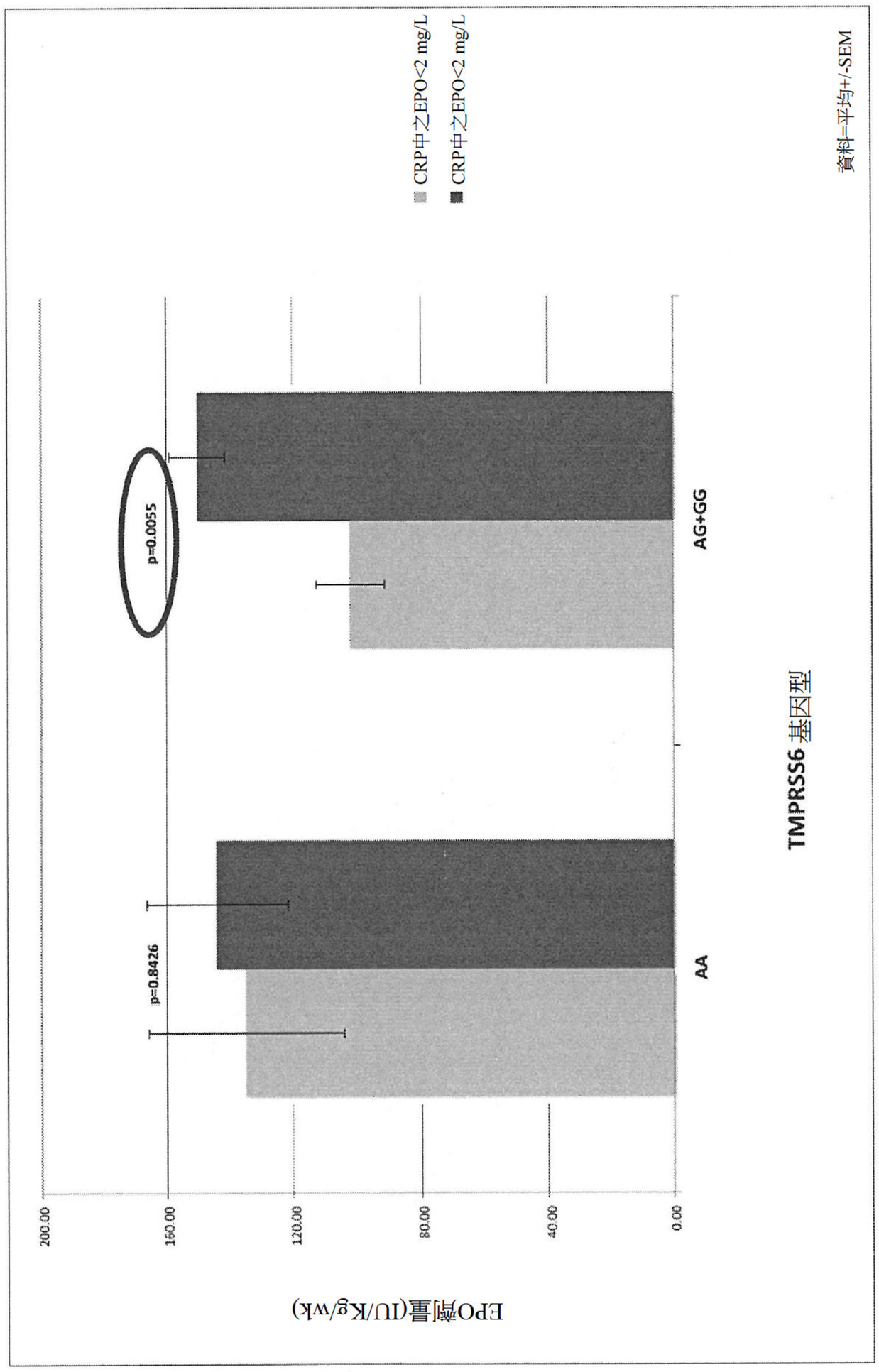
【圖2A】



針對年齡、性別、DM及CVD之存在而調節之多變數Cox分析

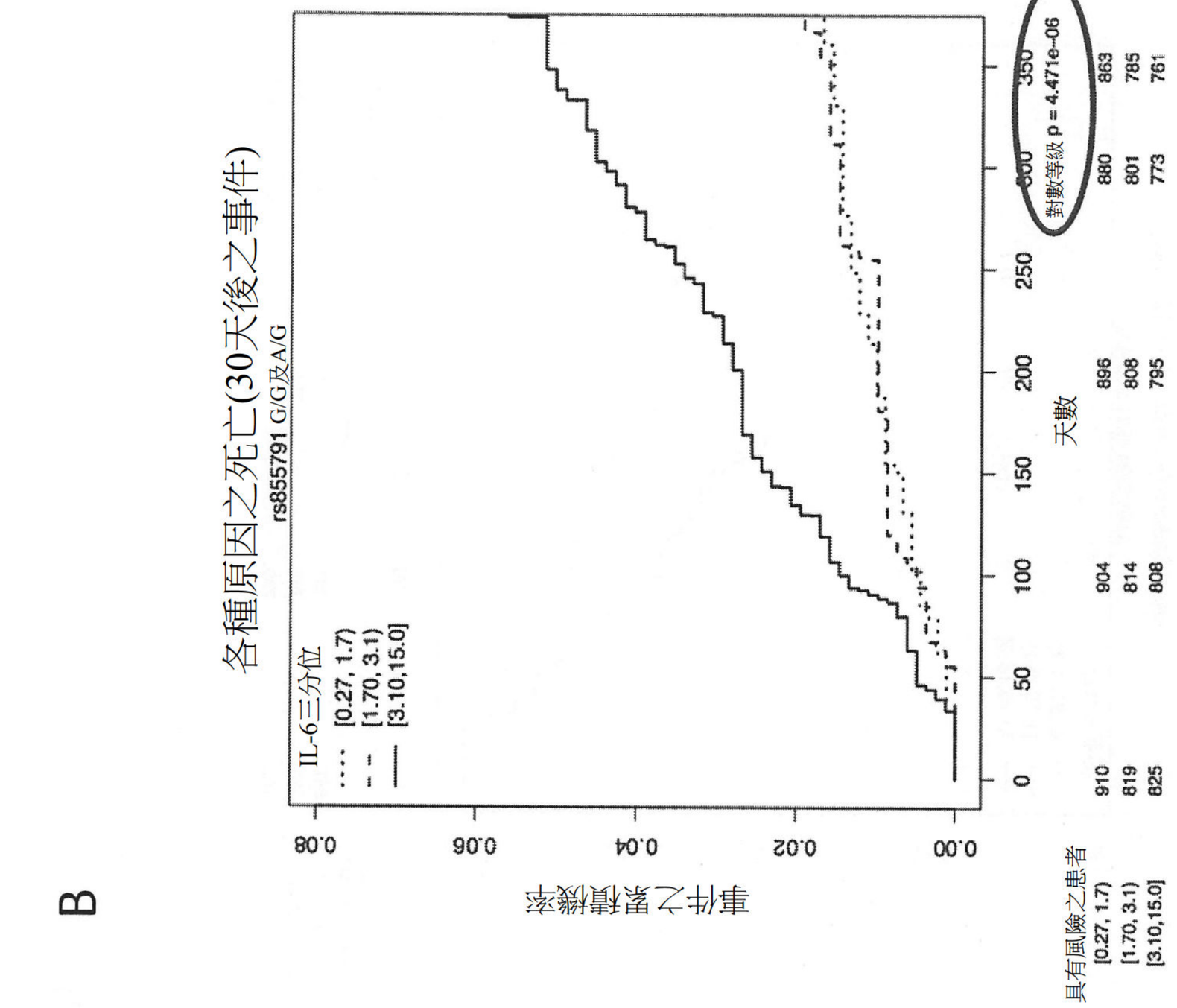
il6三分位	Haz.比	標準誤差	z	P>z	[95%信賴區間]	
低						
中	1.457313	.3989344	1.38	0.169	.8521957	2.492105
最高	1.817612	.4667099	2.33	**0.020**	1.098848	3.006526

【圖2B】

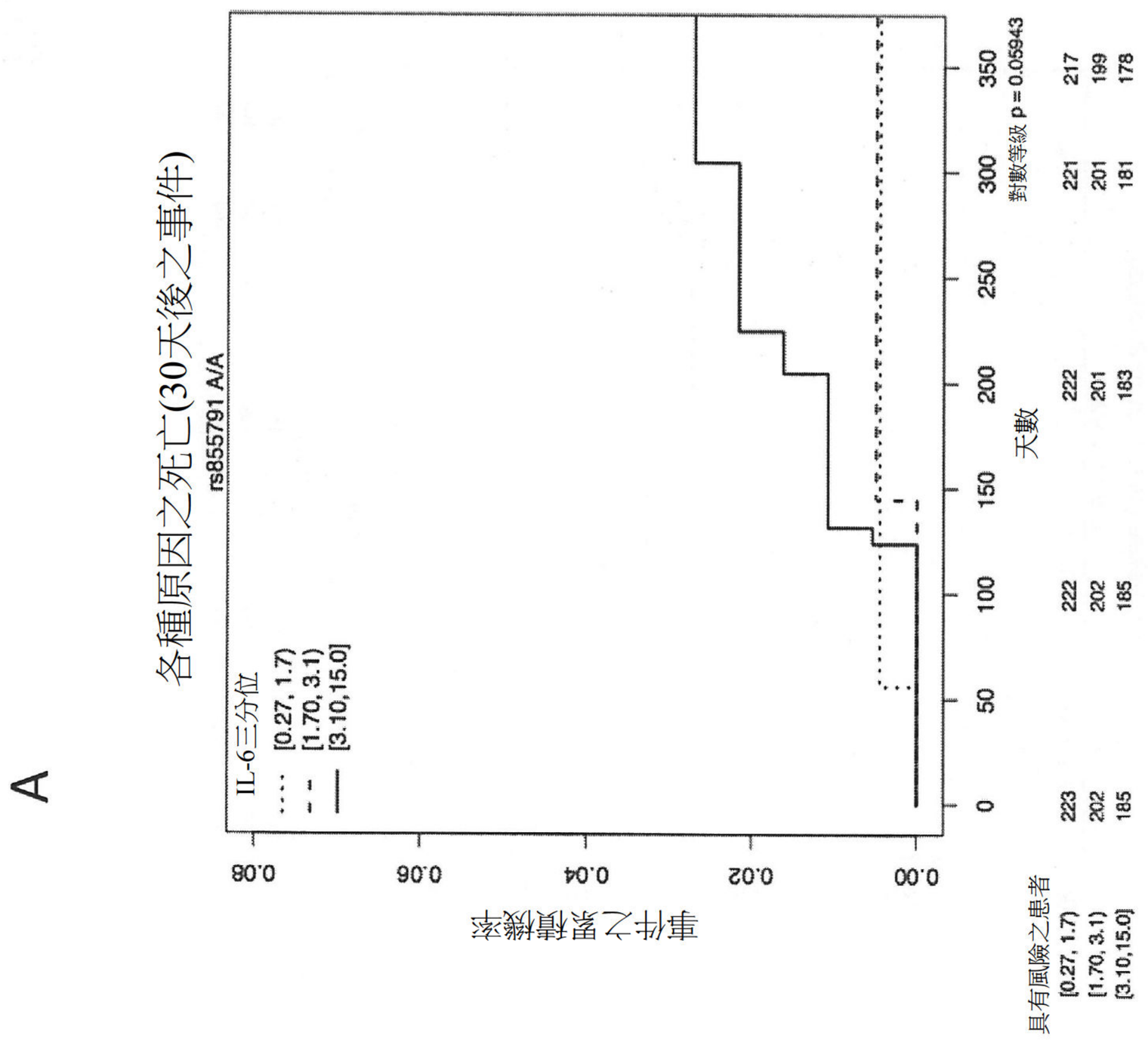

CRP中之EPO<2 mg/L
CRP中之EPO<2 mg/L
資料=平均+/-SEM
TMPRSS6 基因型
AA
AG+GG
p=0.8426
p=0.0055
EPO劑量(IU/Kg/wk)
200.00
150.00
120.00
80.00
40.00
0.00

【圖3】

B

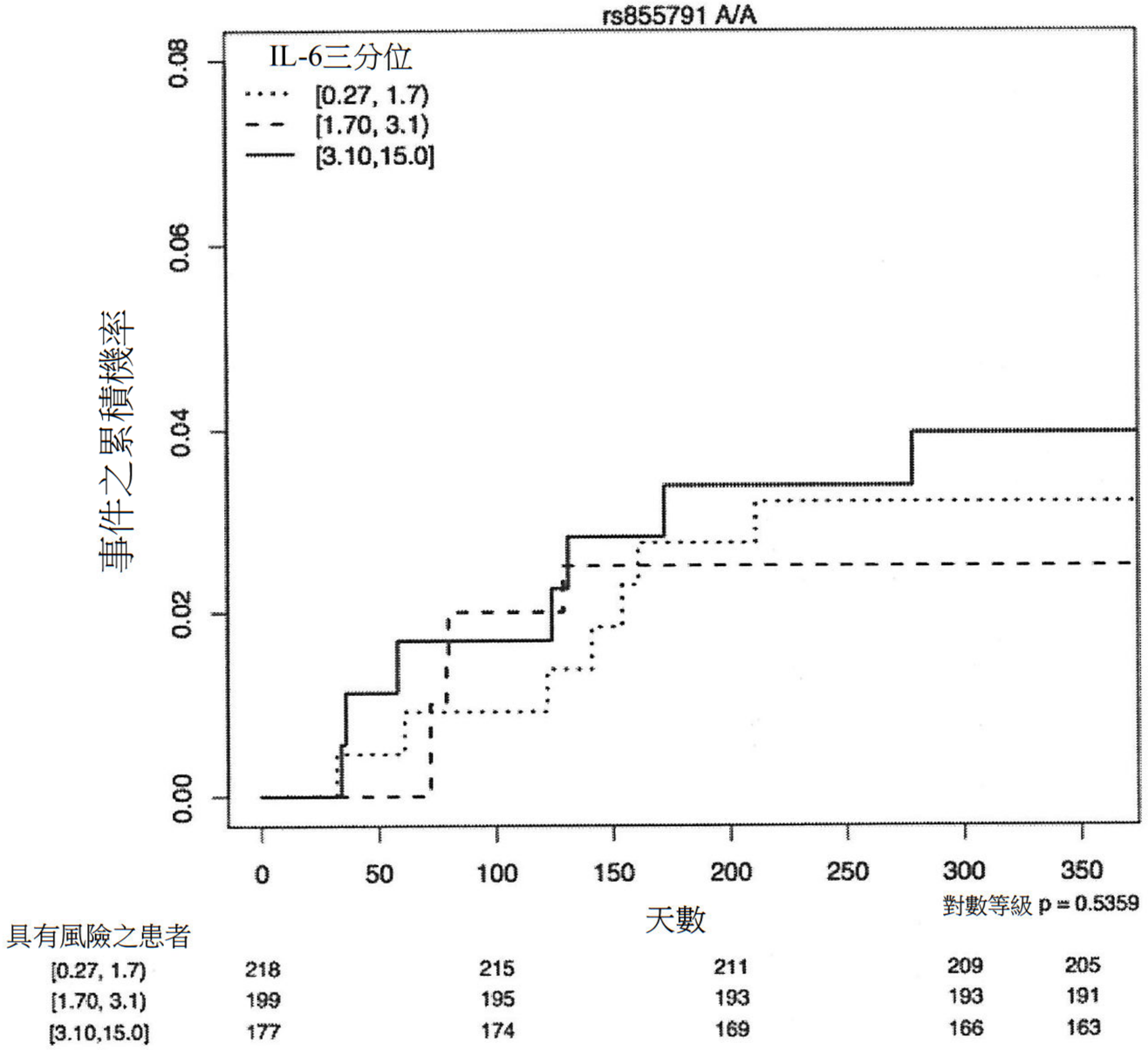

各種原因之死亡(30天後之事件)
rs855791 G/G及A/G
IL-6三分位
[0.27, 1.7)
[1.70, 3.1)
[3.10,15.0]
事件之累積機率
0.00
0.02
0.04
0.06
0.08
0
50
100
150
200
250
300
350
天數
對數等級 p = 4.471e−06
具有風險之患者
910 904 896 880 863
819 814 808 801 785
825 808 795 773 761

A

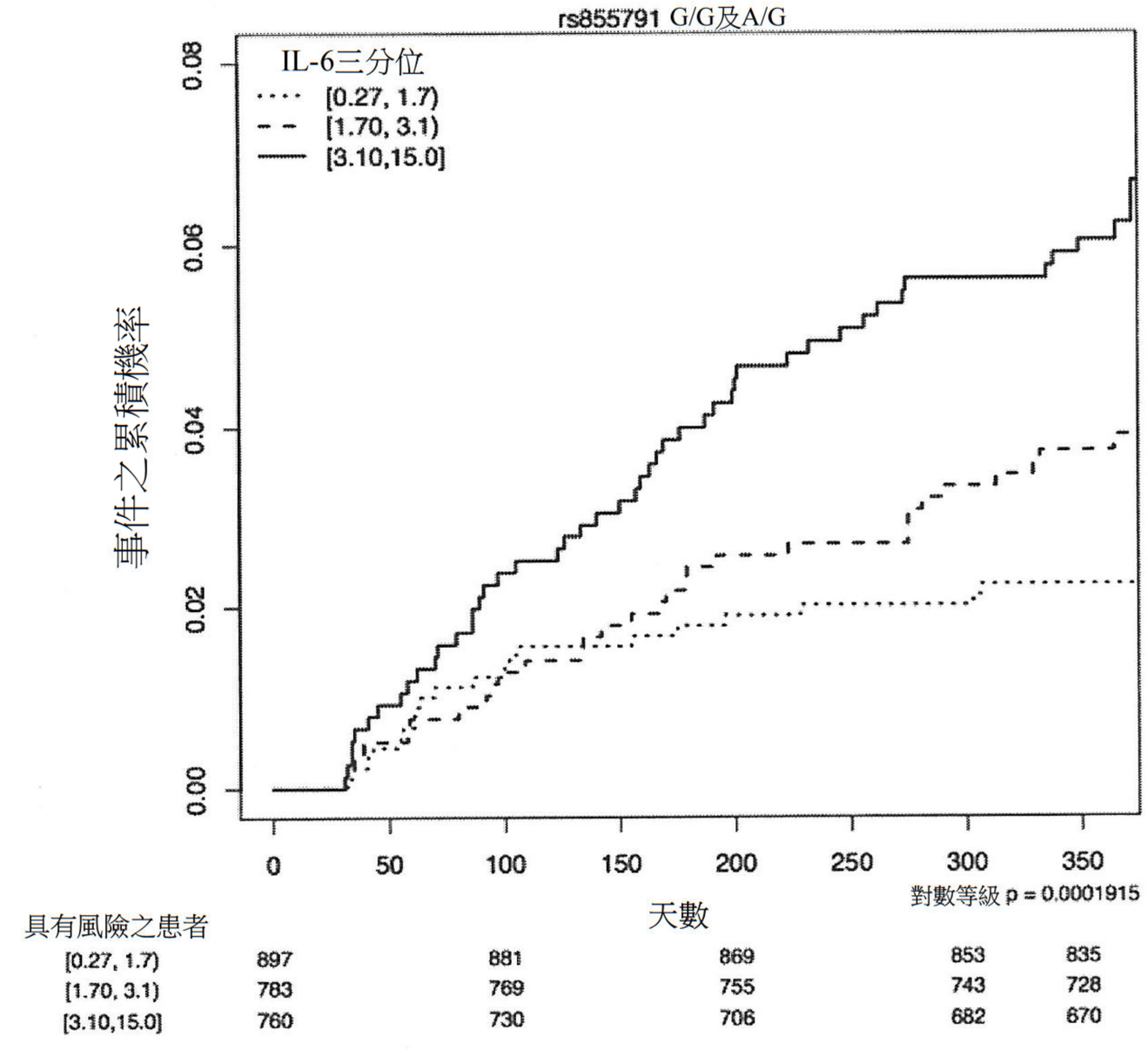

各種原因之死亡(30天後之事件)
rs855791 A/A
IL-6三分位
[0.27, 1.7)
[1.70, 3.1)
[3.10,15.0]
事件之累積機率
0.00
0.02
0.04
0.06
0.08
0
50
100
150
200
250
300
350
天數
對數等級 p = 0.05943
具有風險之患者
223 222 222 221 217
202 202 201 201 199
185 185 183 181 178

【圖4】

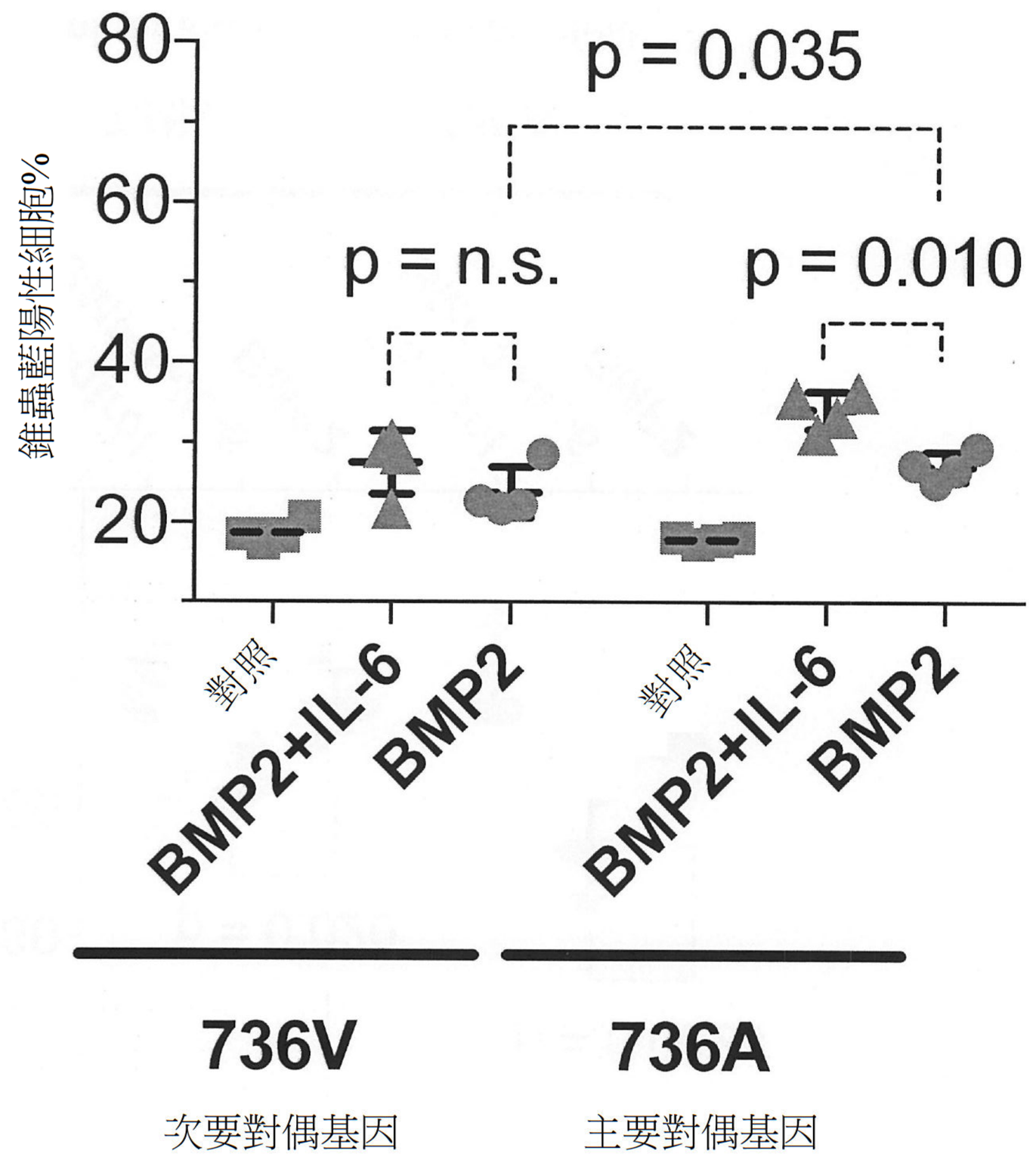
A


心臟衰竭(30天後之事件)
rs855791 A/A
IL-6三分位
[0.27, 1.7)
[1.70, 3.1)
[3.10,15.0]
事件之累積機率
0.00
0.02
0.04
0.06
0.08
0
50
100
150
200
250
300
350
天數
對數等級 p = 0.5359
具有風險之患者
[0.27, 1.7) 218 215 211 209 205
[1.70, 3.1) 199 195 193 193 191
[3.10,15.0] 177 174 169 166 163

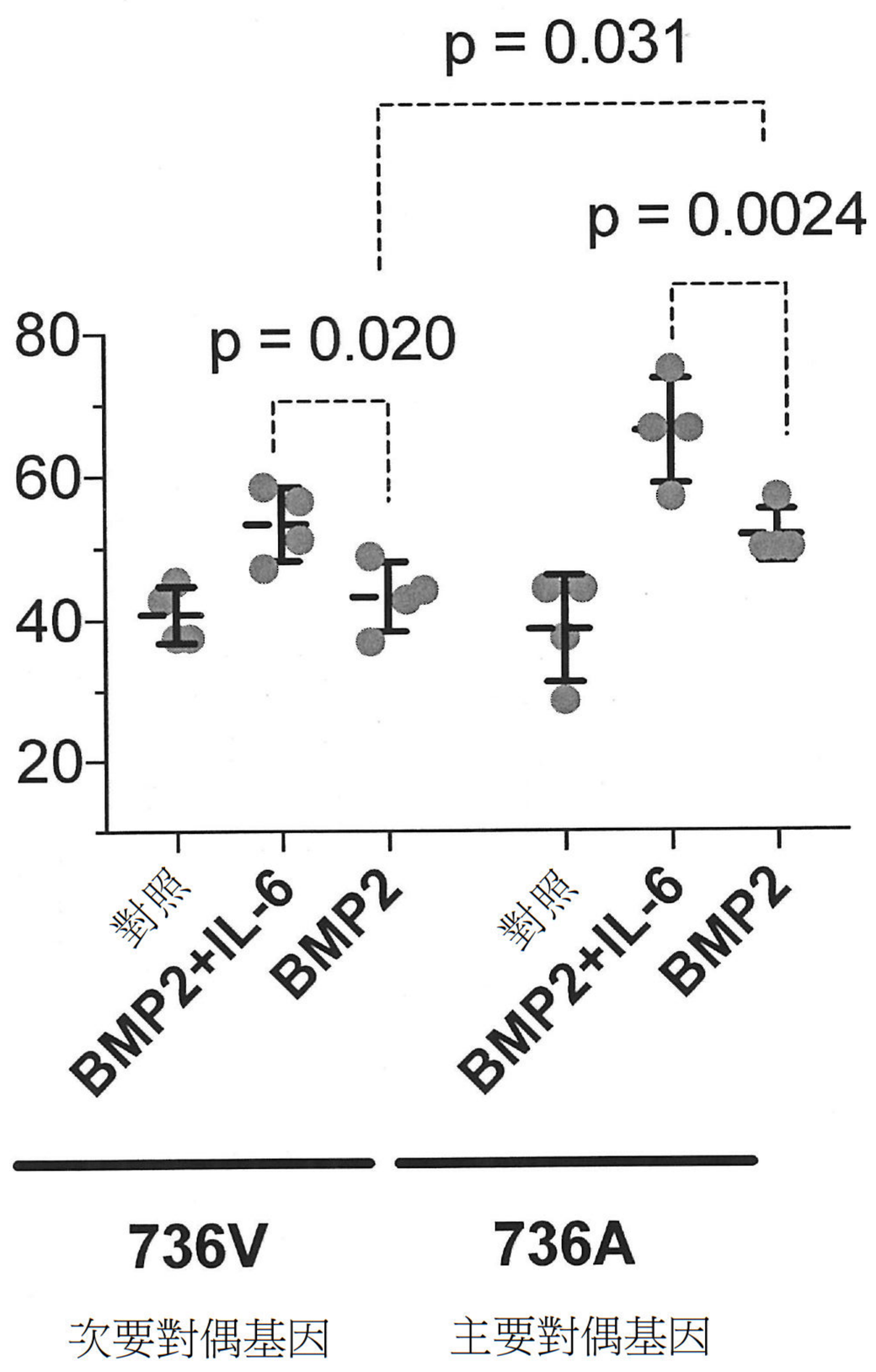
B


心臟衰竭(30天後之事件)
rs855791 G/G及A/G
IL-6三分位
[0.27, 1.7)
[1.70, 3.1)
[3.10,15.0]
事件之累積機率
0.00
0.02
0.04
0.06
0.08
0
50
100
150
200
250
300
350
天數
對數等級 p = 0.0001915
具有風險之患者
[0.27, 1.7) 897 881 869 853 835
[1.70, 3.1) 783 769 755 743 728
[3.10,15.0] 760 730 706 682 670

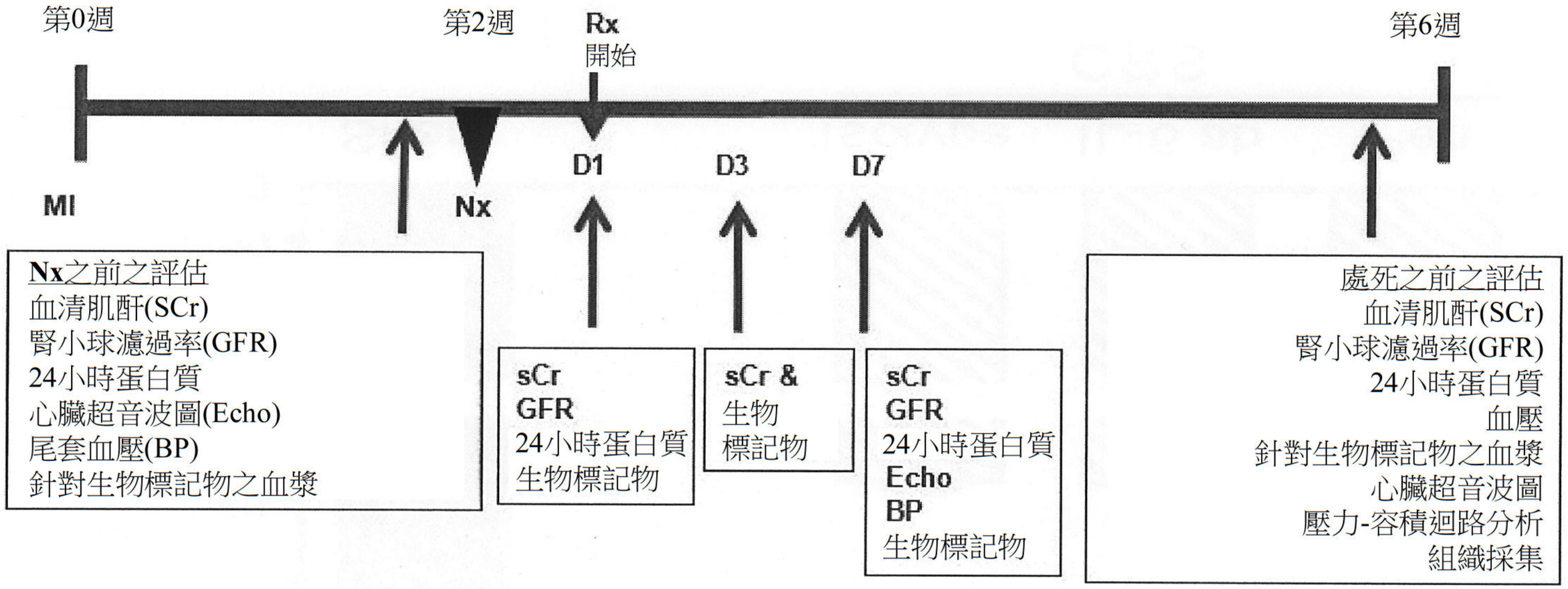
【圖5】


80
60
40
20
錐蟲藍陽性細胞%
p = 0.035
p = n.s.
p = 0.010
對照
BMP2+IL-6
BMP2
對照
BMP2+IL-6
BMP2
736V
次要對偶基因
736A
主要對偶基因

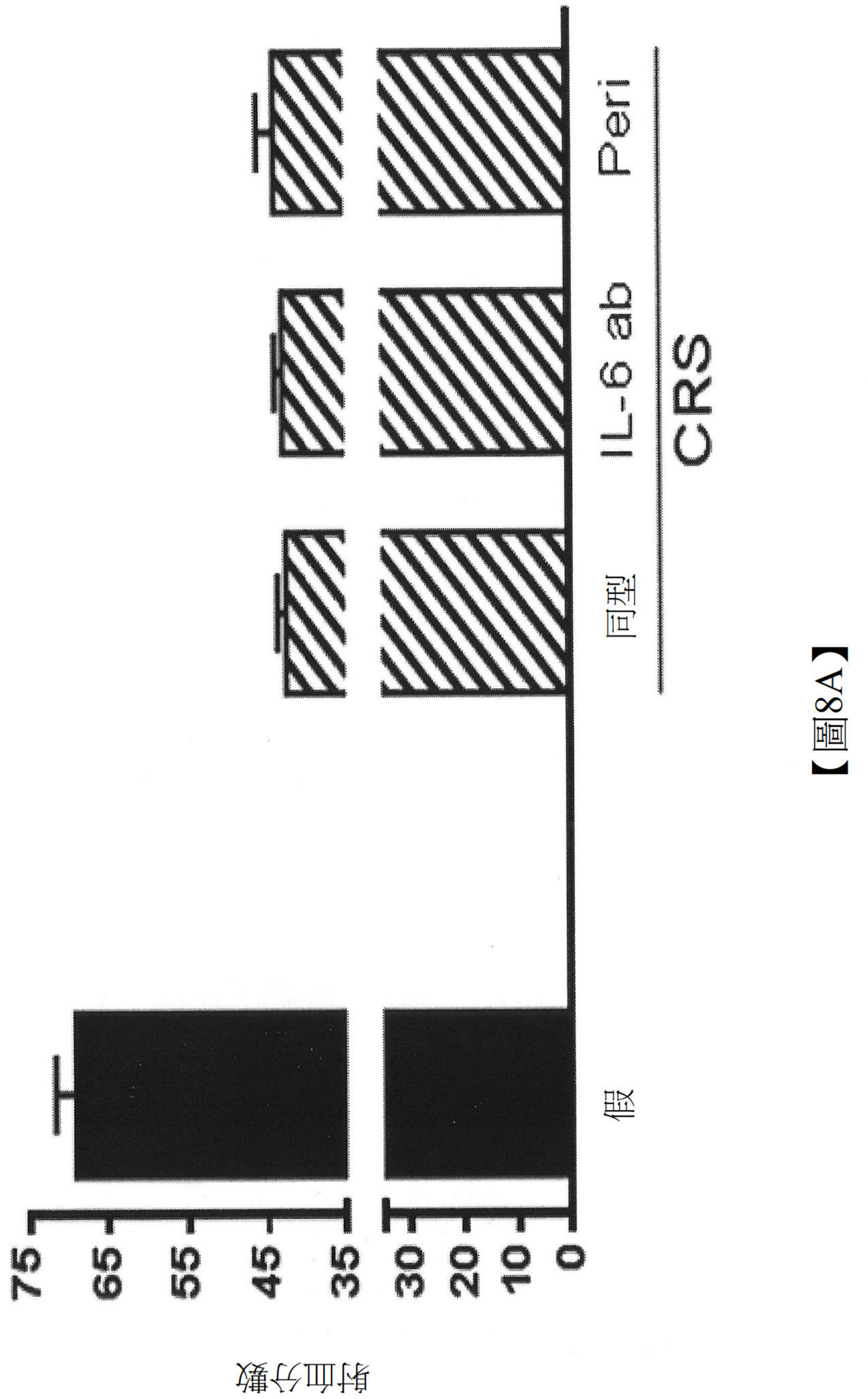
【圖6A】


經模擬之低氧-再充氧/再灌注
p = 0.031
p = 0.0024
p = 0.020
80
60
40
20
錐蟲藍陽性細胞%
對照
BMP2+IL-6
BMP2
對照
BMP2+IL-6
BMP2
736V
736A
次要對偶基因
主要對偶基因

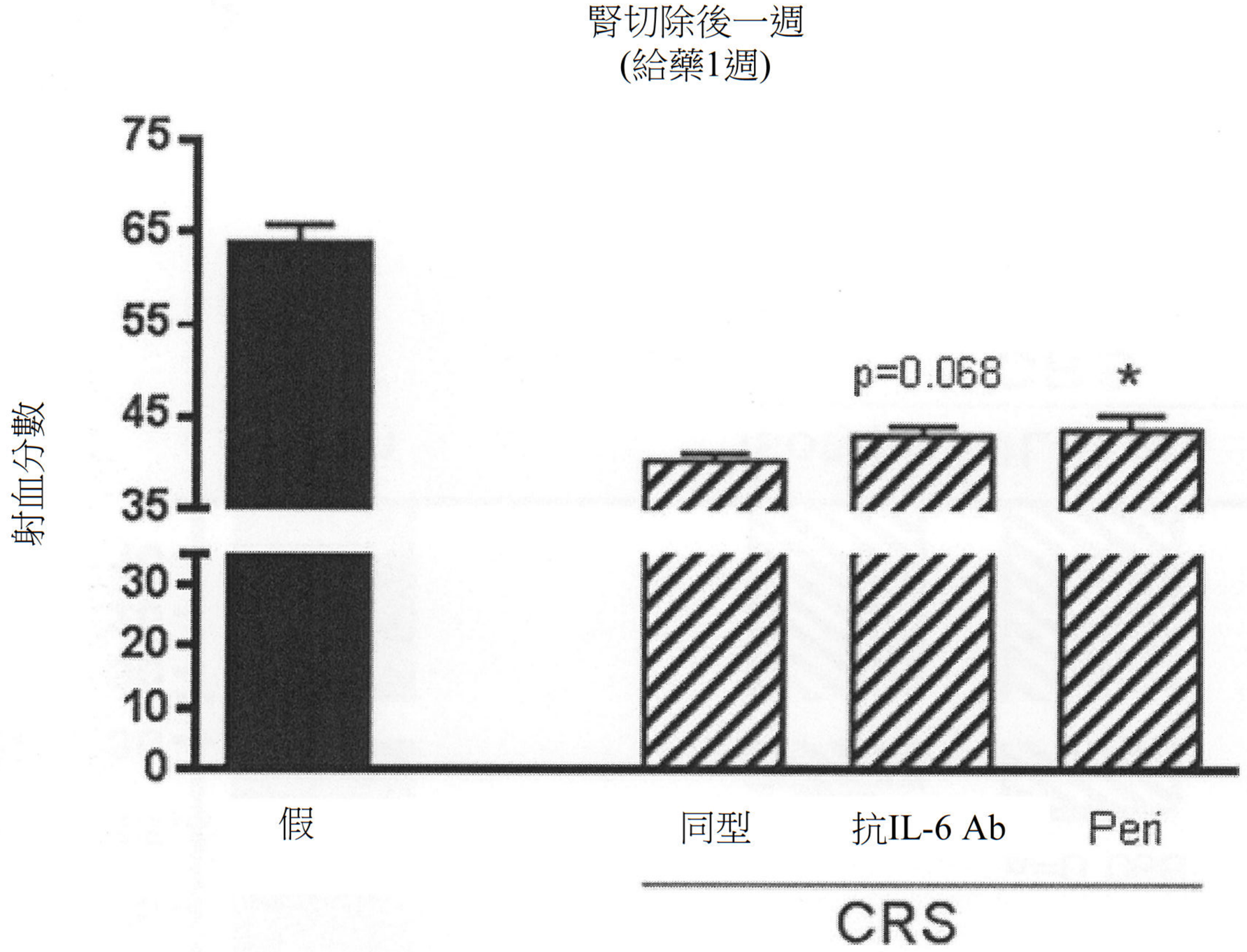
【圖6B】


第0週
第2週
Rx
開始
第6週
MI
Nx
D1
D3
D7
Nx之前之評估
血清肌酐(SCr)
腎小球濾過率(GFR)
24小時蛋白質
心臟超音波圖(Echo)
尾套血壓(BP)
針對生物標記物之血漿
sCr
GFR
24小時蛋白質
生物標記物
sCr &
生物
標記物
sCr
GFR
24小時蛋白質
Echo
BP
生物標記物
處死之前之評估
血清肌酐(SCr)
腎小球濾過率(GFR)
24小時蛋白質
血壓
針對生物標記物之血漿
心臟超音波圖
壓力-容積迴路分析
組織採集

【圖7】

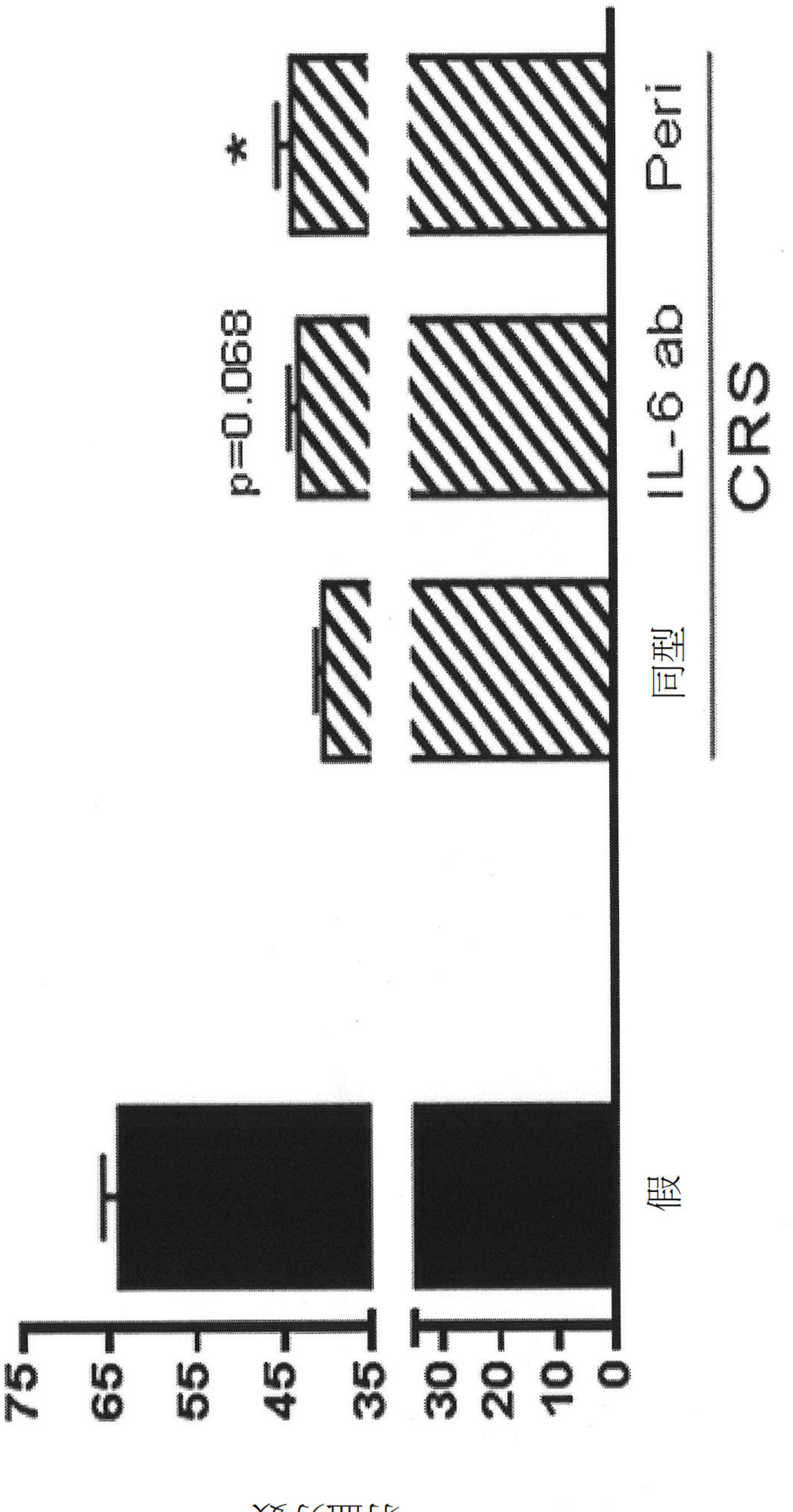

MI後、腎切除之前所有組的基線(無藥物)
射血分數
75
65
55
45
35
30
20
10
0
假
同型
IL-6 ab
Peri
CRS

【圖8A】



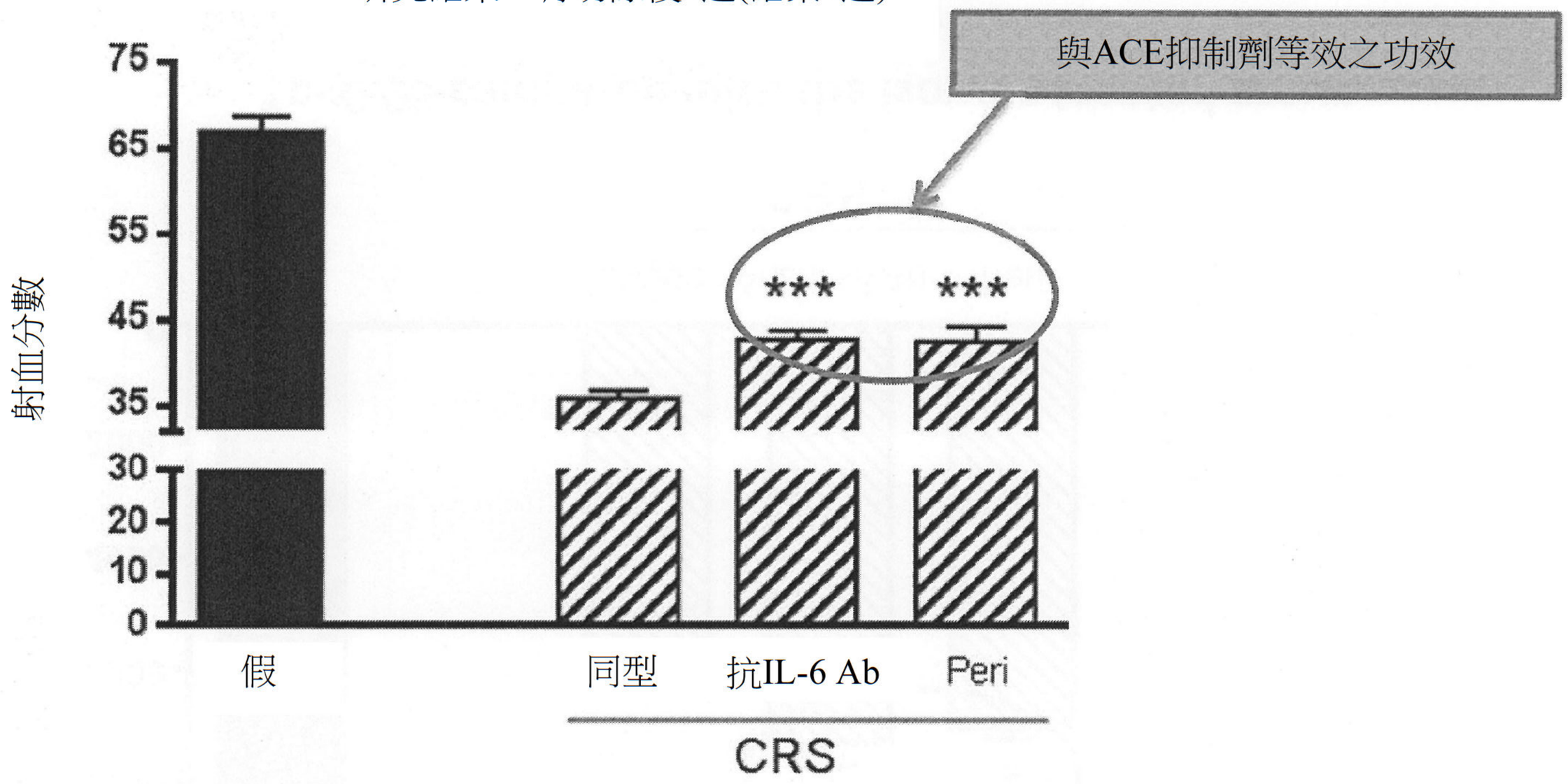
與同型處理組相比，*p<0.05

【圖8B】


腎切除後兩週
(2週藥物)
p=0.068
*
同型
IL-6 ab
Peri
CRS
75
65
55
45
35
30
20
10
0
假
射血分數

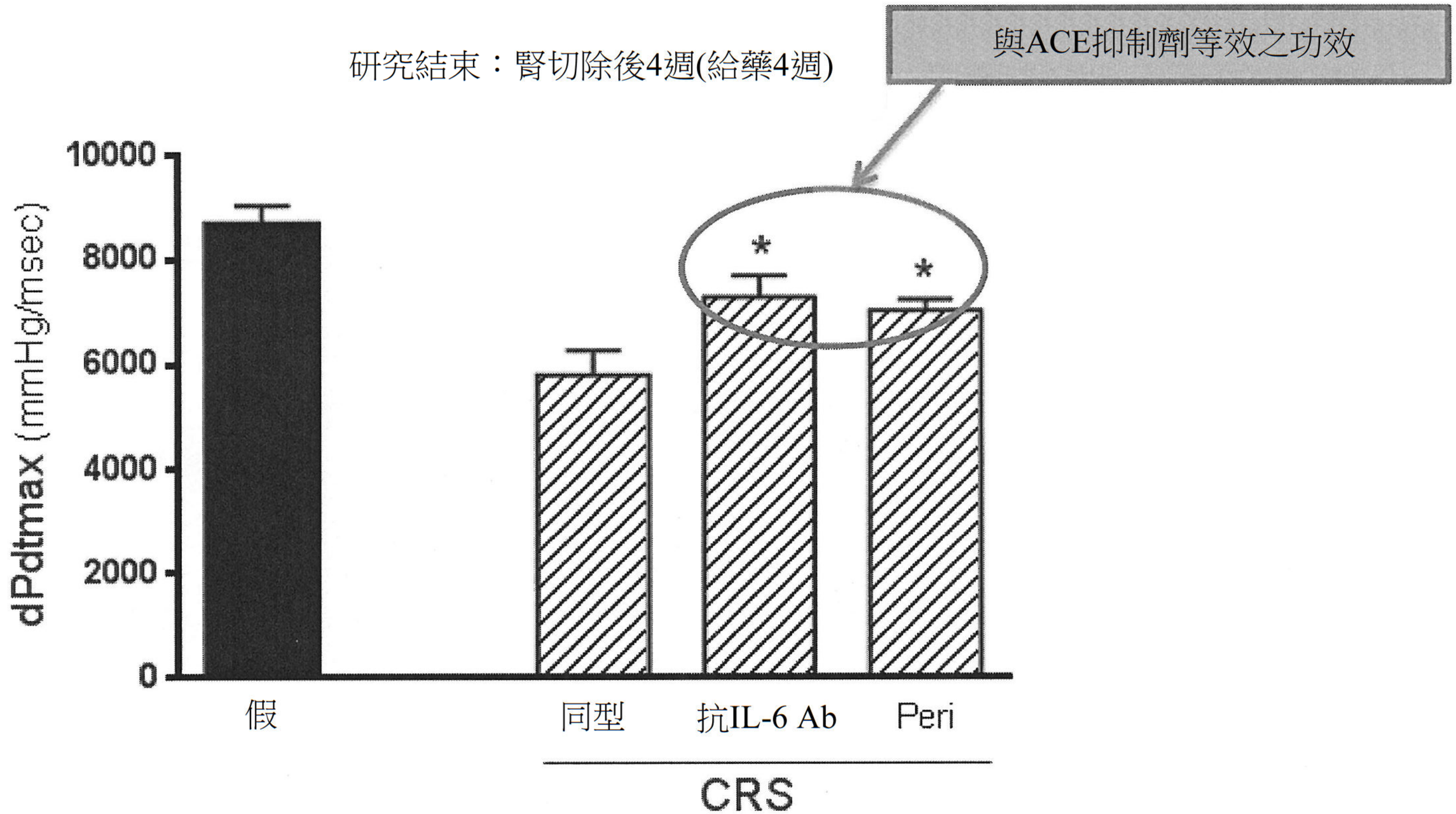
【圖8C】

研究結束：腎切除後4週(給藥4週)



與同型處理組相比，***p<0.001

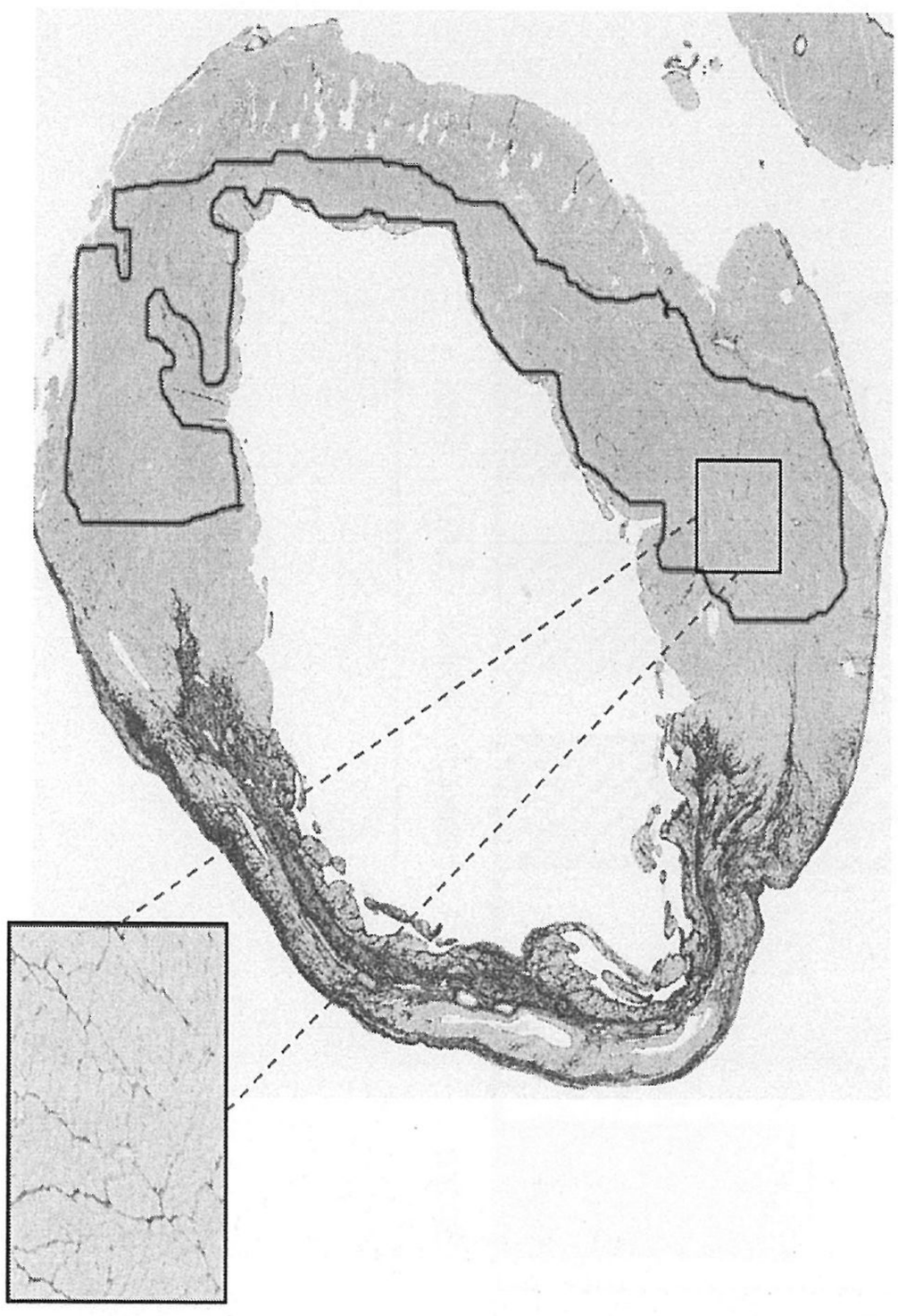
【圖8D】

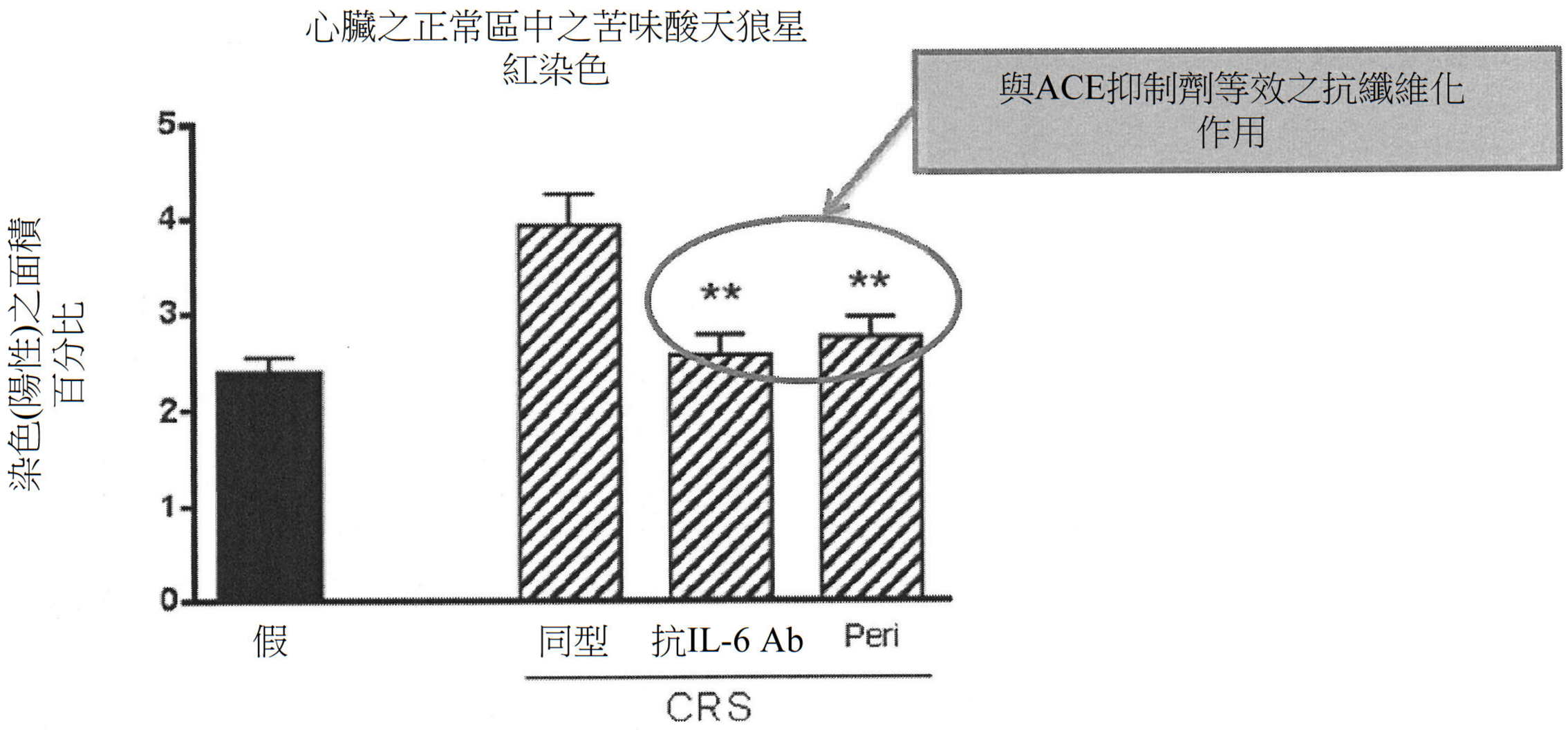


與同型處理組相比，*p<0.05

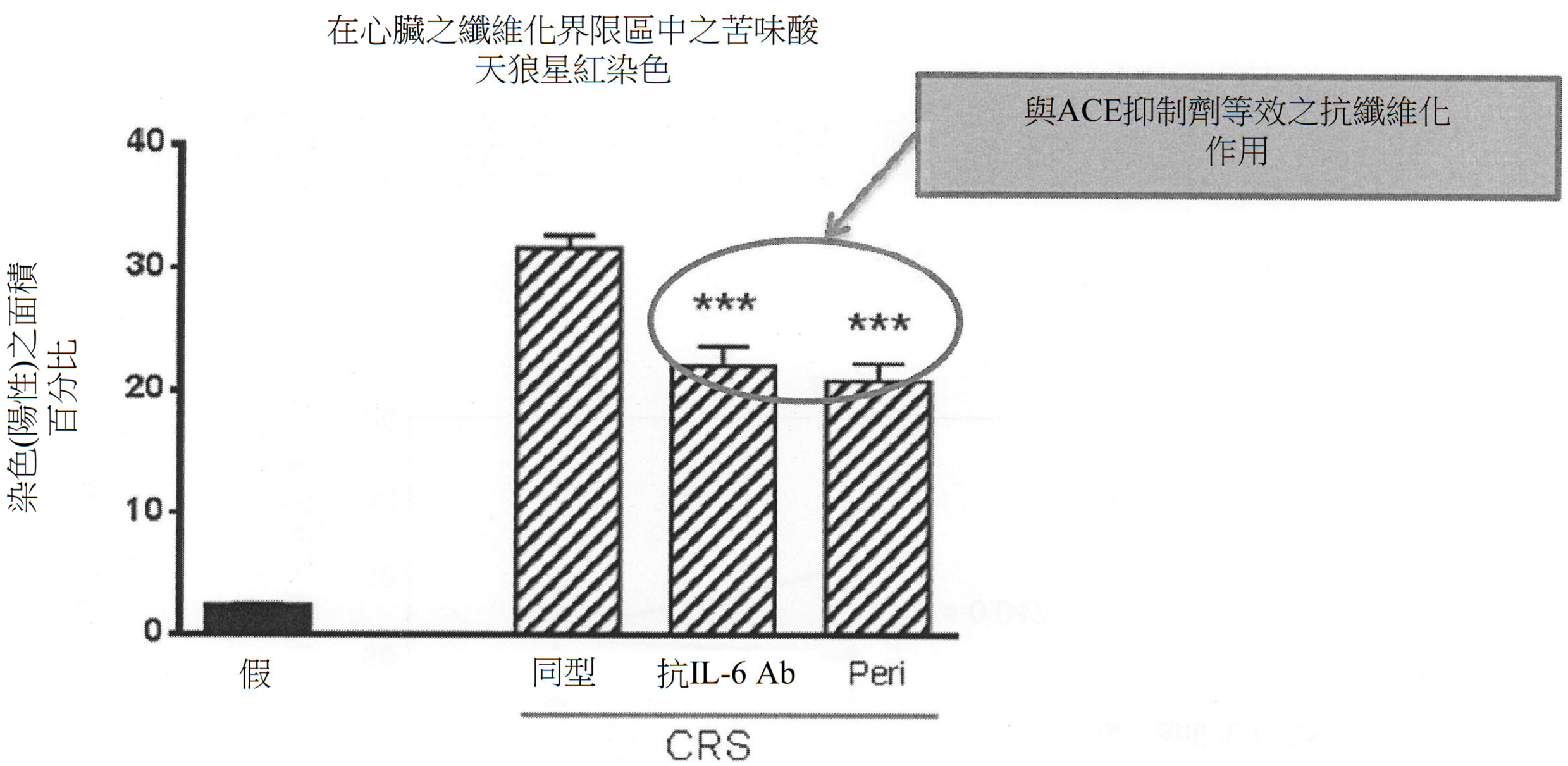
【圖9】

【圖10A】

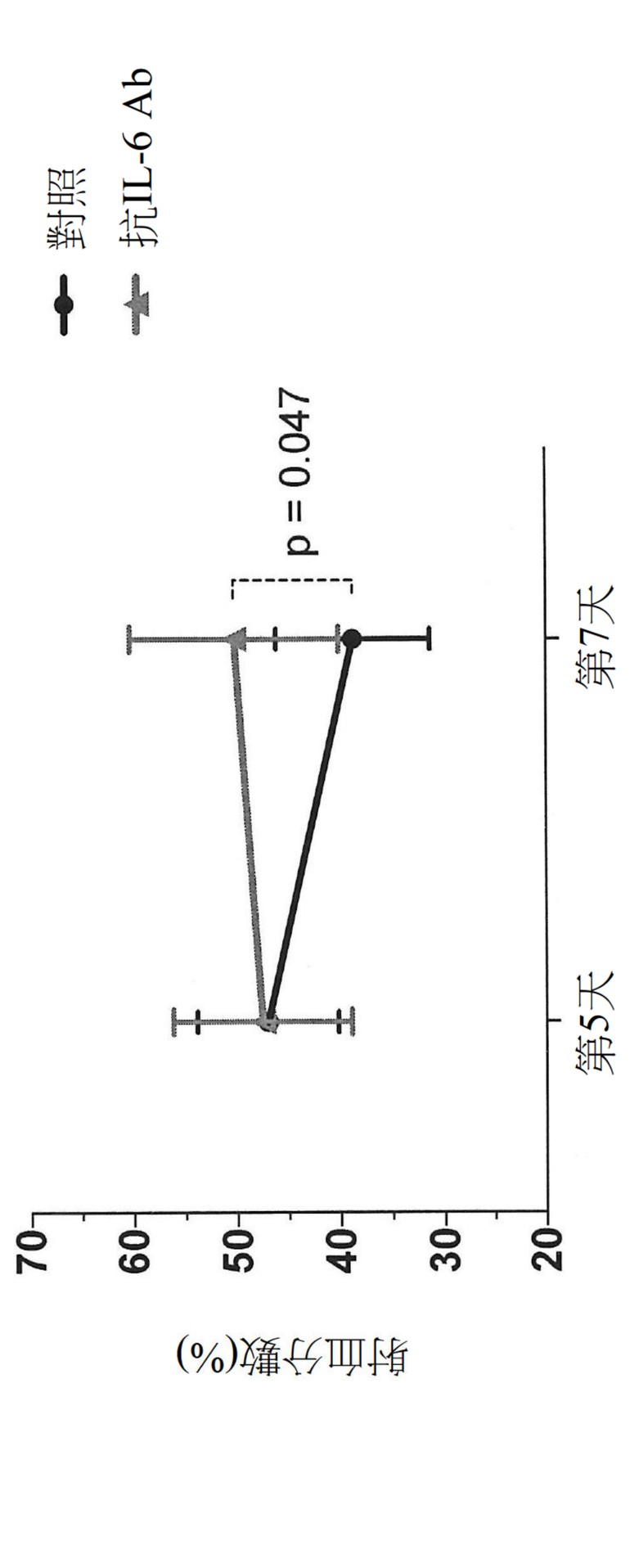



心臟之正常區中之苦味酸天狼星
紅染色
與ACE抑制劑等效之抗纖維化
作用
染色(陽性)之面積
百分比
5
4
3
2
1
0
**
**
假
同型
抗IL-6 Ab
Peri
CRS

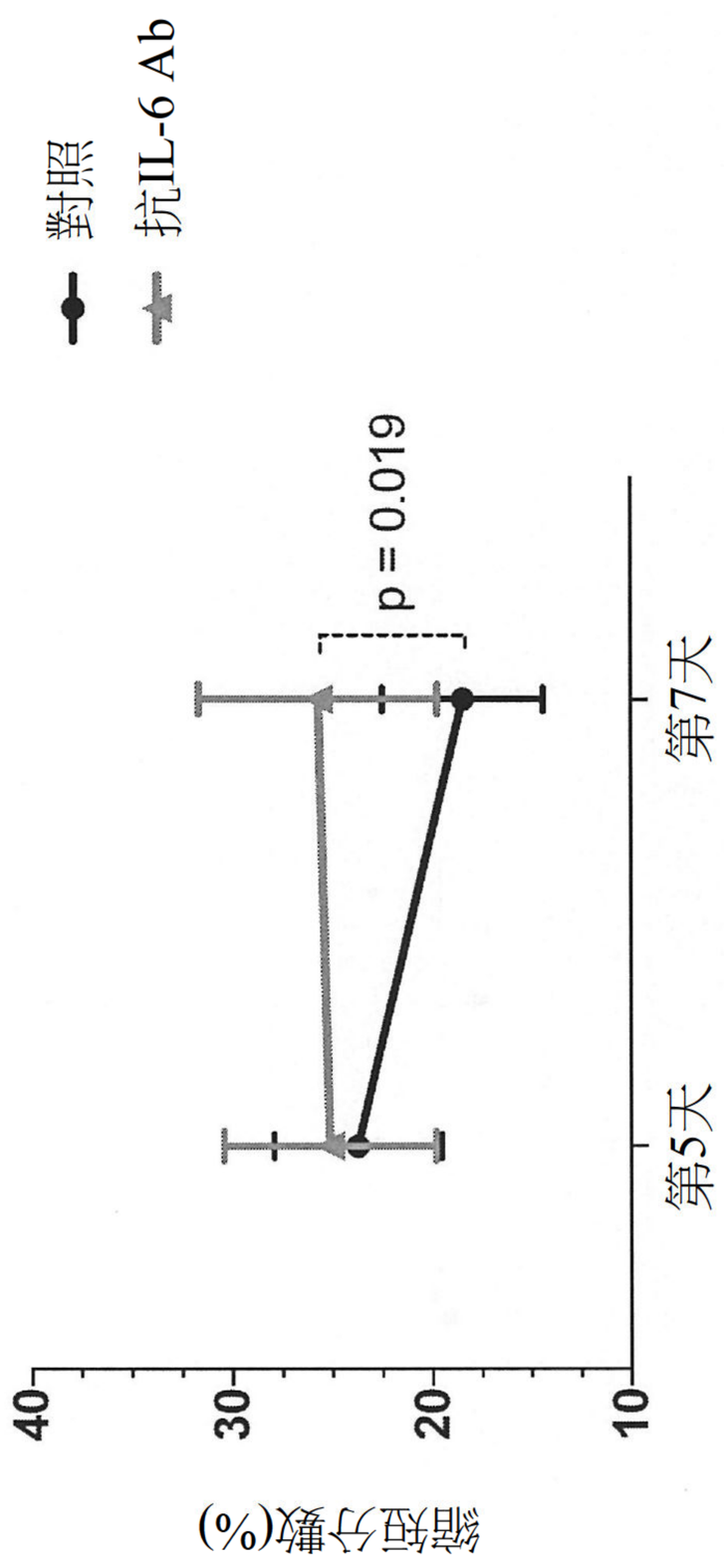
【圖10B】


在心臟之纖維化界限區中之苦味酸
天狼星紅染色
與ACE抑制劑等效之抗纖維化
作用
染色(陽性)之面積
百分比
40
30
20
10
0
***
***
假
同型
抗IL-6 Ab
Peri
CRS

【圖10C】



【圖11A】



【圖11B】

【發明說明書】

【中文發明名稱】

用於治療海帕西啶(HEPCIDIN)介導之病症之方法

【英文發明名稱】

METHODS FOR TREATING HEPCIDIN-MEDIATED DISORDERS

【技術領域】

本發明係關於治療海帕西啶(HEPCIDIN)介導之病症之方法，特定言之，本發明係關於改良對海帕西啶介導之病症之治療的方法，更特定言之，本發明係關於治療IL-6介導之發炎病症之方法。

【先前技術】

肽激素海帕西啶在全身鐵恆定中起主要作用。Hentze等人，*Cell* 142:24-38 (2010)。已知海帕西啶表現受*TMPRSS6*基因之產物間質蛋白酶-2影響，該間質蛋白酶-2為II型跨膜絲胺酸蛋白酶。已顯示*TMPRSS6*基因之常見變異體與鐵狀態相關，Benyamin等人，*Nature Genetics* 41(11):1173-1175 (2009)，其中已顯示在海帕西啶表現及血液血紅素含量方面，rs855791 SNP (2321G→A；A736V)與天然存在的變型相關。

海帕西啶表現亦涉及於人類鐵病症(Pietrangelo, *J. Hepatology* 54:173-181 (2011))及慢性疾病貧血(ACD)(亦稱為發炎貧血(AI))中。ACD流行於患有慢性感染、自體免疫疾病、癌症及慢性腎病(CKD)之患者中。Sun等人, *Am. J. Hematol.* 87(4):392-400 (2012)。

在此項技術中需要治療海帕西啶介導之病症之方法。

【發明內容】

已證實在患有海帕西啶介導之病症(包括慢性疾病貧血及海帕西啶介導之細胞毒性)之患者中，降低之IL-6信號傳導提供臨床效益，但僅在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本的彼等患

者中，其中在具有升高之IL-6含量之患者中具有最大作用。

因此，在第一態樣中，提供治療海帕西啶介導之病症之方法。該等方法包含向患有海帕西啶介導之病症之患者投與治療有效量之IL-6拮抗劑，該患者已經確定具有*TMPRSS6* rs855791 SNP處之主要對偶基因之至少一個複本。在第一系列之實施例中，先前已確定患者具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本。在另一系列實施例中，方法進一步包含確定患者具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之早前步驟。通常，患者具有升高之治療前血清IL-6含量。在一些實施例中，患者具有升高之治療前血清CRP含量。

在各種實施例中，海帕西啶介導之病症為慢性疾病貧血。

在一些貧血實施例中，患者為男性且治療前血紅素(Hb)含量小於14 g/dl；治療前Hb含量小於13 g/dl；治療前Hb含量小於12 g/dl；或治療前Hb含量小於11 g/dl。在一些貧血實施例中，患者為女性且治療前Hb含量小於12 g/dl；治療前Hb含量小於11 g/dl；治療前Hb含量小於10 g/dl；或治療前Hb含量小於9 g/dl。

在一些貧血實施例中，患者為男性且治療前血容比小於40%，小於35%或為30-34%。在一些實施例中，患者為女性且治療前血容比小於36%、小於35%、小於34%、小於33%、小於32%或小於31%。在一些實施例中，女性患者之治療前血容比為26-29%。

在各種貧血實施例中，患者已接受至少一次紅血球生成刺激劑(ESA)之治療前投與。在某些實施例中，患者已接受至少一次ESA之治療前投與且具有正常Hb含量或正常血容比。在各種實施例中，患者已接受至少一次鐵補充劑之治療前投與。在某些實施例中，患者已

接受至少一次鐵補充劑之治療前投與且具有正常Hb含量或正常血容比。在各種實施例中，患者已接受至少一次血液或紅血球濃厚液之治療前輸注。在某些實施例中，患者已接受至少一次血液或紅血球濃厚液之治療前輸注且具有正常Hb含量或正常血容比。

在各種貧血實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使患者之Hb含量增加而高於治療前含量之時間期。在各種實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使患者之血容比增加而高於治療前含量之時間期。在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以在不降低患者之Hb含量的情況下使患者之ESA劑量減少而低於治療前即刻存在之含量的時間期。在某些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以在不降低患者之血容比的情況下使患者之ESA劑量減少而低於治療前即刻存在之含量的時間期。

在各種實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續以下的時間期：足以使患者之ESA劑量相較於治療前ESA劑量減少至少10%、使患者之ESA劑量相較於治療前ESA劑量減少至少20%、使患者之ESA劑量相較於治療前ESA劑量減少至少30%、使患者之ESA劑量相較於治療前ESA劑量減少至少40%，或使患者之ESA劑量相較於治療前ESA劑量減少至少50%。

在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以逆轉功能性鐵缺乏之時間期。

在一系列實施例中，海帕西啶介導之病症為慢性疾病為慢性腎病(CKD)Z 慢性疾病貧血。

在一些CKD實施例中，患者具有KDOQI 1期慢性腎病、KDOQI 2期慢性腎病、KDOQI 3期慢性腎病、KDOQI 4期慢性腎病或KDOQI 5期慢性腎病。在特定實施例中，患者具有KDOQI 5期慢性腎病。

在一些CKD實施例中，患者患有心腎症候群(CRS)。在特定實施例中，患者患有4型CRS。在某些實施例中，患者已接受至少一次治療前透析治療。

在一些CKD實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續相較於年齡匹配且疾病匹配之歷史對照足以降低心血管(CV)死亡率之時間期。

在各種實施例中，海帕西啶介導之病症為慢性疾病為慢性發炎疾病之慢性疾病貧血。

在一些實施例中，慢性發炎疾病為類風濕性關節炎(RA)。在某些實施例中，患者之治療前DAS28得分大於5.1。在一些實施例中，患者之治療前DAS28得分為3.2至5.1。在特定實施例中，患者之治療前DAS28得分小於2.6。在所選擇實施例中，患者之治療前RA為中度活動性至重度活動性的。

在一些RA實施例中，患者已接受至少一次甲胺喋呤之治療前投與。在一些實施例中，患者已接受至少一次TNFα拮抗劑之治療前投與。在所選實施例中，TNFα拮抗劑選自由以下組成之群:依那西普(etanercept)、阿達木單抗(adalimumab)、英利昔單抗(infliximab)、賽妥珠單抗(certolizumab)及戈利木單抗(golimumab)。

在一些RA實施例中，患者已接受至少一次IL-6拮抗劑之治療前投與。在某些實施例中，治療前IL-6拮抗劑為托珠單抗(tocilizumab)

或托法替尼(tofacitinib)。

在一較佳系列之實施例中，治療IL-6拮抗劑為MEDI5117。

在各種實施例中，海帕西啶介導之病症慢性疾病選自由以下組成之群之慢性疾病貧血：幼年期特發性關節炎、僵直性脊椎炎、斑狀牛皮癬、牛皮癬性關節炎、發炎性腸病、克羅恩氏病(Crohn's disease)及潰瘍性結腸炎。

在一些實施例中，海帕西啶介導之病症為慢性疾病為癌症之慢性疾病貧血。在某些實施例中，癌症選自由以下組成之群：實體腫瘤、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、血液癌、多發性骨髓瘤、白血病、慢性淋巴細胞白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、淋巴瘤、霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)及肝腺瘤。

在一些實施例中，海帕西啶介導之病症為慢性疾病貧血，其中慢性疾病為慢性感染。

在一些實施例中，海帕西啶介導之病症為慢性疾病貧血，其中慢性疾病為充血性心臟衰竭(CHF)。

在一些實施例中，海帕西啶介導之病症為鐵難治性缺鐵性貧血(IRIDA)。

在一些實施例中，海帕西啶介導之病症為急性冠狀動脈症候群。在特定實施例中，患者在第一次投與IL-6拮抗劑之前之60天內、在第一次投與IL-6拮抗劑之前之30天內、在第一次投與IL-6拮抗劑之前之48小時內或在第一次投與IL-6拮抗劑之前之24小時內已罹患心肌梗塞(MI)。

在一些急性冠狀動脈症候群實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗

劑劑量，且持續相較於治療前程度足以改良心肌收縮性之時間期。在一些急性冠狀動脈症候群實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續相較於治療前程度足以提高心臟射血分數之時間期。在一些急性冠狀動脈症候群實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續相較於治療前程度足以降低心臟纖維化之時間期。

在一些實施例中，海帕西啶介導之病症為卡斯爾曼氏病(Castleman's Disease)。

在另一態樣中，提供用於改良對海帕西啶介導之病症之治療的方法。方法包含向患有海帕西啶介導之病症之患者中斷IL-6拮抗劑之投與，其中已確定該患者針對TMPRSS6 rs855791次要對偶基因為同型接合的。

在另一態樣中，提供藉由中斷為低效之療法而改良對海帕西啶介導之病症之治療的方法，從而在不喪失治療功效之情況下降低副作用且降低成本。該等方法包含向患有海帕西啶介導之病症之患者中斷IL-6拮抗劑之投與，其中已確定該患者針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合的。在一系列實施例中，先前已確定患者針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合的。在另一系列實施例中，方法進一步包含確定患者針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合之早前步驟。在典型實施例中，患者具有升高之治療前血清IL-6含量。在各種實施例中，患者具有升高之治療前血清CRP含量。在各種實施例中，患者患有選自本文中部分5.4.1中所描述之彼等病症之海帕西啶介導之病症。在某些實施例中，患者患有慢性疾病貧血。

實例2、3及5中所呈現之資料表明在具有升高之治療前IL-6含量

且具有*TMPRSS6*主要對偶基因之至少一個複本、甚至不存在貧血之個體中，IL-6拮抗劑提供治療效益。因此，在另一態樣中，提供用於治療無慢性發炎貧血之患者中的IL-6介導之發炎病症之方法。該等方法包含向患有IL-6介導之發炎病症之個體、通常人類患者投與治療有效量之IL-6拮抗劑，其中該患者不患有貧血，且其中已確定該個體具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本。在第一系列之實施例中，先前已確定個體具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本。在另一系列實施例中，方法進一步包含確定個體具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之早前步驟。通常，方法肯定地排除治療針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合之個體。通常，患者具有升高之治療前血清IL-6含量。

在治療方法中之任一者之特定實施例中，患者具有升高之治療前血清IL-6含量。在某些實施例中，患者之治療前血清IL-6含量大於2.5 pg/ml、大於5 pg/ml、大於7.5 pg/ml、大於10 pg/ml或大於12.5 pg/ml。

在各種實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使患者血清中之游離IL-6含量降低而低於治療前含量之時間期。在特定實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使游離IL-6含量相較於治療前含量降低至少10%、相較於治療前含量降低至少20%或相較於治療前含量降低至少50%之時間期。

在治療方法中之任一者之特定實施例中，患者具有升高之治療前C反應蛋白(CRP)含量。在某些實施例中，患者之治療前CRP含量大於2 mg/ml、大於3 mg/ml、大於5 mg/ml、大於7.5 mg/ml或甚至大於

10 mg/ml。

在各種實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使患者之CRP含量降低而低於治療前含量之時間期。在特定實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使患者之CRP含量相較於治療前含量降低至少50%之時間期。

在治療方法中之任一者之特定實施例中，使用TaqMan®即時PCR分析，已確定患者具有TMPRSS6 rs855791主要對偶基因之至少一個複本。

在治療方法中之任一者之實施例中，IL-6拮抗劑為抗IL-6抗體或其抗原結合片段或衍生物。

在某些實施例中，抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物對人類IL-6之結合性具有小於100 nM、小於50 nM、小於10 nM或小於1 nM之K_D。在某些實施例中，抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物在靜脈內投與之後具有至少7天、至少14天、至少21天或至少30天之消除半衰期。

在各種抗體實施例中，IL-6拮抗劑為全長單株抗IL-6抗體，諸如IgG1或IgG4抗體。

在所選實施例中，抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物為完全人類的。在一些實施例中，抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物為人類化的。

在目前較佳之實施例中，抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物包含MEDI5117之所有六個可變區CDR。在一些此等實施例中，抗體包含MEDI5117之VH及VL。且在特定實施例中，抗體為MEDI5117。

在各種實施例中，抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物包含選自由以下組成之群的抗體之所有六個可變區CDR：司妥昔單抗(siltuximab)、格里林祖單抗(gerilimzumab)、思魯庫單抗(sirukumab)、克拉雜奇單抗(clazakizumab)、奧諾奇單抗(olokizumab)、艾思莫單抗(elsilimomab)、VX30 (VOP-R003；Vaccinex)、EB-007 (EBI-029；Eleven Bio)、ARGX-109 (ArGEN-X)、FM101 (Femta Pharmaceuticals，Lonza)及ALD518/BMS-945429 (Alder Biopharmaceuticals，Bristol-Myers Squibb)。

在一些實施例中，抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物包含來自選自由以下組成之群的抗體之重鏈V區及輕鏈V區：司妥昔單抗、格里林祖單抗、思魯庫單抗、克拉雜奇單抗、奧諾奇單抗、VX30 (VOP-R003；Vaccinex)、EB-007 (EBI-029；Eleven Bio)、ARGX-109 (ArGEN-X)、FM101 (Femta Pharmaceuticals，Lonza)及ALD518/BMS-945429 (Alder Biopharmaceuticals，Bristol-Myers Squibb)。在特定實施例中，抗IL-6抗體為選自由以下組成之群的抗體：司妥昔單抗、格里林祖單抗、思魯庫單抗、克拉雜奇單抗、奧諾奇單抗、VX30 (VOP-R003；Vaccinex)、EB-007 (EBI-029；Eleven Bio)、ARGX-109 (ArGEN-X)、FM101 (Femta Pharmaceuticals，Lonza)及ALD518/BMS-945429 (Alder Biopharmaceuticals，Bristol-Myers Squibb)。

在一些實施例中，抗IL-6抗體或抗原結合片段或衍生物為選自由以下組成之群的抗體：司妥昔單抗、格里林祖單抗、思魯庫單抗、克拉雜奇單抗、奧諾奇單抗、VX30 (VOP-R003；Vaccinex)、EB-007 (EBI-029；Eleven Bio)、ARGX-109 (ArGEN-X)、FM101 (Femta

Pharmaceuticals ， Lonza) 及 ALD518/BMS-945429 (Alder Biopharmaceuticals，Bristol-Myers Squibb)。在特定實施例中，抗IL-6抗體為選自由以下組成之群的抗體：司妥昔單抗、格里林祖單抗、思魯庫單抗、克拉雜奇單抗、奧諾奇單抗、VX30 (VOP-R003；Vaccinex)、EB-007 (EBI-029；Eleven Bio)、ARGX-109 (ArGEN-X)、FM101 (Femta Pharmaceuticals，Lonza)及ALD518/BMS-945429 (Alder Biopharmaceuticals，Bristol-Myers Squibb)。

在各種實施例中，IL-6拮抗劑為單域抗體、VHH奈米抗體、Fab或scFv。

在各種實施例中，IL-6拮抗劑為抗IL-6R抗體或其抗原結合片段或衍生物。在某些實施例中，抗IL-6R抗體、抗原結合片段或衍生物為托珠單抗或夫巴利珠單抗(vobarilizumab)。

在各種實施例中，IL-6拮抗劑為JAK抑制劑。在特定實施例中，JAK抑制劑選自由以下組成之群：托法替尼(Xeljanz)、得森替尼(decernotinib)、盧佐替尼(ruxolitinib)、尤帕達替尼(upadacitinib)、巴瑞替尼(baricitinib)、斐哥替尼(filgotinib)、來妥替尼(lestaurtinib)、帕瑞替尼(pacritinib)、皮非替尼(peficitinib)、INCB-039110、ABT-494、INCB-047986及AC-410。

在各種實施例中，IL-6拮抗劑為STAT3抑制劑。

在IL-6拮抗劑為抗體或抗原結合片段或衍生物之一些實施例中，IL-6拮抗劑非經腸投與。在特定實施例中，IL-6拮抗劑經皮下投與。

在IL-6拮抗劑為JAK抑制劑或STAT3抑制劑之一些實施例中，其中經口投與IL-6拮抗劑。

【圖式簡單說明】

圖1A及**1B**提供盒狀圖，其展示紅血球生成素(「EPO」)之增加量對於慢性腎病患者(CKD 5期透析個體)中之治療為所需的，該等慢性腎病患者具有升高之血清IL-6含量，及在*TMPRSS6*基因中之已知SNP rs855791處的主要對偶基因(核苷酸位置2321處之G或C，編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽；736A)之至少一個複本；但對於具有升高之IL-6含量且針對rs855791 *TMPRSS6*次要對偶基因(核苷酸位置2321處之T或A，編碼在位置736處具有纈胺酸之*TMPRSS6*多肽；736V)為同型接合之慢性腎病患者中的治療不需要。來自針對次要對偶基因為同型接合(A/A)之患者之資料展示於圖1A中；來自具有主要對偶基因(同型接合G/G及異型接合G/A)之至少一個複本之患者之資料收集且展示於圖1B中。基於血清IL-6含量之三分位：「低」位(IL-6 < 5 pg/ml)；「中」位(IL-6 = 5-15 pg/ml)；「最高」位(IL-6 > 15pg/ml)，兩個患者群體中之每一者之進一步分成組。具有誤差棒之盒狀圖在原始資料上方覆疊。基於IL-6含量及基因型兩者，各盒狀圖表示患者組。詳情提供於實例1中。

圖2A及**2B**提供存活曲線，其表明回應於慢性腎病5期透析個體中之升高之IL-6含量，*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因賦予更高之各種原因之死亡。圖2A展示來自針對次要對偶基因為同型接合(A/A)之患者之資料。圖2B展示來自具有主要對偶基因(同型接合G/G及異型接合G/A)之至少一個複本之患者的資料。使用用於圖1之IL-6含量將各組分成血清IL-6含量之三分位。詳情提供於實例1中。

圖3為一圖，其展示EPO之增加量對於慢性腎病患者(CKD 5期透

析個體)中之療法為所需的，該等慢性腎病患者具有升高之急性期反應物CRP之血清含量且具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本；但對於具有升高之急性期反應物CRP之血清含量且針對rs855791次要對偶基因為同型接合之慢性腎病患者中的療法不需要。相較於> 2 mg/L，各基因型組分成血清CRP含量< 2 mg/L。詳情提供於實例1中。

圖4A及**4B**提供曲線圖，其表明在心肌梗塞(「MI」)後之患者中，回應於升高之IL-6含量，*TMPRSS6 rs855791*主要對偶基因賦予更高之各種原因之死亡。圖4A描繪對於針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合之群體，相較於MI後之天數(x軸)，死亡事件隨時間推移之累積機率(y軸)。圖4B描繪對於具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之群體，死亡事件隨時間推移之累積機率。如所指示，各組分成血清IL-6含量之三分位。在心肌梗塞後一個月量測IL-6含量。在心肌梗塞後一至12個月量測死亡率。詳情提供於實例2中。

圖5A及**5B**提供曲線圖，其表明回應於MI後患者中之升高之IL-6含量，*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因賦予更高之心臟衰竭(「HF」)風險。圖5A描繪對於針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合之群體，相較於MI後之天數(x軸)，HF隨時間推移之累積機率(y軸)。圖5B描繪對於具有TMPRSS6 rs855791主要對偶基因之至少一個複本之群體，HF事件隨時間推移之累積機率。如所指示，各組分成血清IL-6含量之三分位。在心肌梗塞後一個月量測IL-6含量。在心肌梗塞後一至12個月量測HF。詳情提供於實例2中。

圖6A及**6B**展示來自人類iPS細胞之分析的結果，該等細胞已經組成性表現*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因或主要對偶基因之構築體轉染，且活體外暴露至BMP2+IL-6或僅BMP2時分化成心肌細胞，表明回應於IL-6，*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因賦予更高之細胞死亡(錐蟲藍(Trypan Blue)陽性)風險。圖6A展示常氧環境中之結果。圖6B展示暴露於低氧條件及再充氧後之結果。資料暗示降低之IL-6暴露應提高具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之患者中心肌細胞之存活率，但不提高具有*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因之患者中心肌細胞之存活率。詳情提供於實例3中。

圖7為展示實例4中所描述之心腎症候群研究之實驗設計的圖式。在基因型地類似於針對*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因為同型接合之人類之大鼠中誘導CRS4。該圖式展示沿時間線之研究中之各種事件。在研究中，在第0週在大鼠中誘導心肌梗塞(「MI」)。在第2週，在各個體中進行單腎切除(「Nx」)。在腎切除後直至研究結束，在第1天(D1)開始，每3天一次地投與抗IL-6抗體(ab9770，Abcam Plc, UK) (Rx)或同型對照抗體(「IgG」；ab171516，Abcam Plc, UK)。在Nx後直至研究結束，自第1天每天投與標準護理療法(ACE抑制劑-培哚普利(perindopril))。在第6週，將嚙齒動物處死。在『假』對照個體組中不進行MI及Nx。在藉由箭頭指示之時間點下進行嚙齒動物之各種評估。

圖8A-8D展示在概述於7圖中且詳細地描述於實例4中之心腎症候群模型中,相較於對照(「同型」)處理組及假手術動物，用抗IL-6抗體(「IL-6 ab」)、標準護理ACE抑制劑(培哚普利或「Peri」)治療之大鼠

之心臟射血分數。圖8A為展示心肌梗塞後兩週但腎切除之前所有組之基線射血分數程度的繪圖。圖8B為展示腎切除後一週、治療1週後，所有組之射血分數程度的繪圖。圖8C為展示腎切除後兩週、治療2週後，所有組之射血分數程度的繪圖。圖8D為展示腎切除後四週、治療4週後，所有組之射血分數程度的繪圖。結果表述為平均+/-SEM，且表明如藉由心臟射血分數之變化所量測，抗IL-6療法在心腎症候群模型中具有治療功效，等效於標準護理療法。

圖9描繪一繪圖，其展示在概述於圖7中且詳細地描述於實例4中之心腎症候群模型中，相較於對照(「同型」)處理組，用抗IL-6抗體(「IL-6 ab」)、標準護理(培哚普利或「Peri」)治療之大鼠之心肌收縮性。藉由量測dP/dt最大 (mmHb/msec)，其為心臟內壓力之量度，在結束研究時評估心肌收縮性。展示腎切除後四週、治療4週後所有組之量測結果。結果表述為平均+/-SEM，且表明如藉由用抗IL-6治療之嚙齒動物組中之增加的心肌收縮性所展示，抗IL-6療法具有等效於標準護理療法之治療作用。

圖10A-10C展示如藉由來自用抗IL-6(「IL-6 Ab」)、標準護理(培哚普利或「Peri」)及對照(「IgG」)治療之嚙齒動物組的心臟組織中纖維化程度所量測，抗IL-6療法具有等效於標準護理療法之抗心腎症候群作用。圖10A為展示用苦味酸天狼星紅(picrosirius-red)染色之心臟組織之組織學部分的顯微圖。分析組織之兩個區：「正常」區及「纖維化界限」區。實例「正常」區藉由組織切片之劃定部分指示。顯微圖中之插圖展示「正常」區之放大視圖，展示「正常」區之小部分具有纖維化組織。「纖維化界限」區為在纖維化組織周圍之「正

常」區中之組織區。圖10B為展示來自所有組之組織樣本中，指示為纖維化組織(亦即染色/暗區)之「正常」區之面積百分比的繪圖。圖10C為展示來自所有組之組織樣本中，指示為纖維化組織之「纖維化界限」區之面積百分比的繪圖。結果表述為平均+/-SEM。詳情提供於實例4中。

圖11A及11B展示來自活體內模型之資料，在該模型中，在基因型地類似於針對*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因為同型接合之人類之小鼠中誘導心肌梗塞。對照組不接受療法。實驗組用抗鼠類IL-6抗體治療。圖11A展示用抗IL-6進行之治療在射血分數方面提供統計學上顯著之提高。圖11B展示用抗IL-6進行之治療在量測為心臟左心室縮短分數之收縮性方面提供統計學上顯著之提高。資料表明在心肌梗塞後立即給出之抗IL-6療法提高了模仿具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之人類患者之嚙齒動物中左心室的功能恢復。詳情提供於實例5中。

僅出於說明的目的，圖式描繪本發明之各種實施例。熟習此項技術者將自以下論述容易認識到可在不偏離本文中所描述之本發明原則的情況下採用本文中所說明之結構及方法之替代實施例。

【實施方式】

相關申請案之交叉參考

本申請案主張2015年7月31日申請之美國臨時申請案第62/199,434號及2015年12月17日申請之美國臨時申請案第62/268,788號之優先權，其中之每一者以全文引用之方式併入。

5.1 實驗結果之概述

肽激素海帕西啶在全身鐵恆定中起主要作用。Hentze等人，*Cell* 142:24-38 (2010)。已知海帕西啶表現受*TMPRSS6*基因之產物間質蛋白酶-2影響，該間質蛋白酶-2為II型跨膜絲胺酸蛋白酶。已顯示*TMPRSS6*基因之常見變異體與鐵狀態相關，Benyamin等人，*Nature Genetics* 41(11):1173-1175 (2009)，其中已顯示在海帕西啶表現及血液血紅素含量方面，rs855791 SNP (2321G→A；A736V)與天然存在的變型相關。海帕西啶表現亦涉及於人類鐵病症(Pietrangelo, *J. Hepatology* 54:173-181 (2011))及慢性疾病貧血(ACD)(亦稱為發炎貧血(AI))中。ACD流行於患有慢性感染、自體免疫疾病、癌症及慢性腎病(CKD)之患者中。Sun等人, *Am. J. Hematol.* 87(4):392-400 (2012)。

為判定*TMPRSS6* rs855791 SNP處之基因型是否預測末期腎病中之貧血程度，結合新確定之SNP基因分型來分析先前在患有慢性腎病之患者之臨床研究中收集的資料。由於海帕西啶表現亦由IL-6調節，Casanovas等人, *PLOS Computational Biol.* 10(1):e1003421 (2014)，進一步分析資料以判定血清IL-6含量是否可預測末期腎病中之貧血程度。

如實例1中所描述且如圖1中所展示，在具有*TMPRSS6* rs855791 SNP處之主要對偶基因之至少一個複本的患者中，基礎貧血程度-量測為臨床上滴定之EPO劑量-僅與IL-6含量相關。在此等患者中，更高之血清IL-6含量與更高之所需EPO劑量相關(圖1B)。相反，具有次要對偶基因之兩個複本之患者的貧血程度不與血清IL-6含量相關(圖1A)。

類似地，在具有*TMPRSS6* SNP rs855791處之主要對偶基因之至

少一個複本的患者中，總存活率僅與IL-6含量相關。在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之個體中，存活率成反比地與血清IL-6含量相關，其中血清IL-6含量之最高位中之患者比IL-6含量之最低位中之彼等患者具有統計學上顯著更壞的存活率(圖2B)。相反，針對rs855791處之次要對偶基因為同型接合之患者之總存活率不受IL-6含量影響(圖2A)。

不意欲受理論束縛，在具有*TMPRSS6*主要對偶基因之至少一個複本之患者中，血清IL-6之增加可促進海帕西啶表現增加，從而增加貧血。增加之死亡風險為失調之鐵代謝、所得貧血及/或增加之紅血球生成刺激劑(諸如EPO，經投與以用於治療)劑量之結果。此等相關性提昇了以下可能性：降低之IL-6含量或IL-6信號傳導可降低貧血，減少所需EPO劑量，且增加患有慢性腎病之患者之存活率，但僅在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之彼等患者中，且在具有升高之血清IL-6含量之彼等患者中具有最大作用。

為判定在患有急性而非慢性之疾病之患者中*TMPRSS6* rs855791基因型是否影響IL-6敏感性，實例2中吾人結合新確定之SNP基因分型來分析先前在因急性冠狀動脈症候群住院之患者之臨床研究中收集的資料。

針對*TMPRSS6* rs855791 SNP次要對偶基因(A)為同型接合之個體之死亡不與IL-6之變型相關(圖4A)。然而，回應於心肌梗塞後個體中之升高之IL-6含量，主要對偶基因(G)之一或兩個複本賦予更高之各種原因之死亡(圖4B)。因此，*TMPRSS6*調節心肌梗塞後之IL-6介導之死亡風險。

亦評估*TMPRSS6*基因型對IL-6介導之心臟衰竭風險之影響。在針對次要對偶基因(A)為同型接合之個體之心臟衰竭不與IL-6之變型相關(圖5A)。然而，回應於心肌梗塞後個體中之升高之IL-6含量，*TMPRSS6*之G對偶基因賦予更高之心臟衰竭速率(圖5B)。因此，*TMPRSS6*調節心肌梗塞後之IL-6介導之心臟衰竭風險。

來自實例2之資料表明*TMPRSS6*基因型、IL-6含量及不利臨床結果之間的相關性不限於患有慢性腎病之患者。不意欲受理論束縛，在具有*TMPRSS6*主要對偶基因之至少一個複本之患者中，血清IL-6之增加可促進海帕西啶表現增加，隨後心肌細胞中鐵之螯合作用增加，繼之以鐵介導之細胞毒性。此等相關性提昇了以下可能性：降低之IL-6含量或IL-6信號傳導可降低患有急性冠狀動脈症候群之患者之心臟衰竭及死亡，但僅在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之彼等患者中，且在具有升高之血清IL-6含量之彼等患者中具有最大作用。

雖然實例1及2中所觀測之相關性強烈表明在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本、升高之IL-6含量及貧血或海帕西啶介導之細胞毒性之患者中，降低之IL-6介導之信號傳導應提供臨床效益，但所觀測相關性不能證明因果關係。因此，在實例3中，人類誘導之多能性幹(iPS)細胞心肌細胞經工程化以僅表現*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因或次要對偶基因，且活體外經測試。

海帕西啶表現藉由BMP6/SMAD及IL-6/STAT信號傳導路徑調節，其中BMP及IL-6兩者經由其各別受體起作用以促進海帕西啶表現增加。Casanovas等人, *PLOS Comp. Biol.* 10(1):e1003421 (2014)。活體

外用信號傳導路徑-重組BMP2及IL-6-之促效劑或單獨用BMP2之促效劑處理主要對偶基因及次要對偶基因iPS心肌細胞，以模型化IL-6含量(或信號傳導)降低之臨床干預。不用促效劑處理對照iPS細胞。在正常氧張力(常氧)下且亦在模擬低氧隨後模擬再充氧(再灌注)之條件下量測細胞死亡率。

圖6A展示當細胞在正常氧含量下處理時之結果。僅表現*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因(「736V次要對偶基因」)之iPS心肌細胞不顯著受IL-6信號傳導之消除影響(「n.s.」)：相較於用BMP2+IL-6進行之處理，當用BMP2處理細胞時，量測為錐蟲藍陽性細胞之百分比之細胞死亡率不顯著降低。相反，當消除IL-6信號傳導時，表現*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之iPS心肌細胞展示統計學上顯著更低之細胞死亡。

圖6B展示當細胞經歷低氧隨後經歷再充氧時之結果。相較於常氧條件，低氧/再充氧對iPS心肌細胞有毒性，其中相較於在常氧條件下殺死之約20%對照細胞，約40百分比之主要及次要對偶基因對照細胞經殺死(與圖6A相比較)。相對於此增加之背景毒性，次要對偶基因iPS心肌細胞不顯著受IL-6信號傳導之消除影響：相較於用BMP2+IL-6進行之處理，當單獨用BMP2處理細胞時，細胞死亡率不顯著降低。相反，當消除IL-6信號傳導時，表現*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之iPS心肌細胞展示統計學上顯著更低之細胞死亡。

此等資料增強了自實例1及實例2中之臨床試驗資料之後hoc分析所得出之推斷：IL-6信號傳導之降低有效地降低表現*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之心肌細胞中之IL-6介導之毒性，但在僅表現

次要對偶基因之心肌細胞中不如此。不意欲受理論束縛，促進主要對偶基因iPS心肌細胞中之毒性增加之IL-6可起因於海帕西啶表現之IL-6介導之增加，隨後細胞中增加之鐵螯合作用，繼之以鐵介導之細胞毒性。

患有慢性腎病之患者，諸如入選於在實例1中分析之MIMICK研究中之彼等患者，常常罹患減弱之心臟功能，其為總死亡率之主要促成者。初次慢性腎病後之此二次心臟損傷稱為4型心腎症候群(4型CRS)。為直接測試抗IL-6療法是否作為治療在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之CRS4患者中有效，如藉由實例1及3中之資料所表明，吾人使用基因型地類似於針對*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因為同型接合之人類之大鼠的CRS4模型。

治療4週後，與同型對照組相比，處理組-用抗IL-6抗體治療之組及用標準護理ACE抑制劑療法培哚普利治療之組-展示統計學上顯著增加之射血分數程度(圖8D) ($p<0.001$)。在治療4週後量測之抗IL-6及標準護理組中之類似射血分數程度展示抗IL-6療法具有與ACE抑制劑等效之功效。圖9展示在保持心肌收縮性方面，抗IL-6療法亦具有與ACE抑制劑等效之有效性。圖10A-10C表明抗IL-6療法同樣在降低心臟纖維化方面有效。

此等資料表明在基因型地類似於針對*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因為同型接合之人類之動物的心腎症候群活體內模型中，用抗IL-6劑進行之治療有效地降低心臟損傷且恢復功能。

類似地，實例2及3中之資料表明降低之IL-6含量或IL-6信號傳導可降低患有急性冠狀動脈症候群之患者之心臟衰竭及死亡，但僅在具

有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之彼等患者中，且在具有升高之血清IL-6含量之彼等患者中具有最大作用。

進行研究以確定在基因型地類似於針對*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因為同型接合之人類之小鼠中，急性心肌梗塞後抗IL-6療法之作用。

圖11A及11B展示來自活體內模型之資料，在該模型中，在基因型地類似於針對*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因為同型接合之人類之小鼠中誘導心肌梗塞。對照組不接受療法。實驗組用抗鼠類IL-6抗體治療。圖11A展示相較於對照，用抗IL-6進行之治療在射血分數方面提供統計學上顯著之提高。圖11B展示相較於對照，用抗IL-6進行之治療在量測為心臟縮短分數之收縮性方面提供統計學上顯著之提高。此等資料表明在心肌梗塞後立即給出之抗IL-6療法提高了基因型地類似於具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之人類患者之嚙齒動物中左心室的功能恢復。

總之，實驗資料表明在患有海帕西啶介導之病症(諸如貧血或海帕西啶介導之細胞毒性)之患者中，降低IL-6信號傳導之治療干預將提供臨床效益，但僅在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之彼等患者中，其中在具有升高之IL-6含量之患者中具有最大作用。

因此，如下文進一步描述，在第一態樣中，提供治療海帕西啶介導之病症之方法。該等方法包含向患有海帕西啶介導之病症之患者投與治療有效量之IL-6拮抗劑，該患者已經確定具有*TMPRSS6* rs855791 SNP處之主要對偶基因之至少一個複本。在第二態樣中，提

供用於改良對海帕西啶介導之病症之治療的方法，該方法包含向患有海帕西啶介導之病症之患者中斷IL-6拮抗劑之投與，其中已確定該患者針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合的。治療藉由中斷為低效之療法而改良，從而在不喪失治療功效的情況下降低副作用且降低成本。在另一態樣中，提供用於治療無慢性發炎貧血之患者中的IL-6介導之發炎病症之方法，該等方法包含向患者投與治療有效量之IL-6拮抗劑，該患者患有IL-6介導之發炎病症，不患有貧血，且已確定個體具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本。

5.2 定義

除非另外定義，否則本文所使用之所有技術及科學術語具有熟習本發明所屬領域者通常理解的含義。如本文中所使用，以下術語具有下文中賦予其之含義。

「**海帕西啶**」意謂與以NCBI寄存編號NP_066998(「海帕西啶前蛋白」)或其生物活性片段提供之胺基酸序列具有至少約85%或大於85%之胺基酸一致性的多肽。例示性海帕西啶生物活性包括結合且降低鐵輸出通道運鐵素之含量、抑制鐵轉運、抑制腸道鐵吸收且抑制鐵自巨噬細胞及肝臟之釋放。下文提供例示性海帕西啶前蛋白胺基酸序列：

```
  1   MALSSQIWAA CLLLLLLLAS LTSGSVFPQQ TGQLAELQPQ DRAGARASWM PMFQRRRRRD
 61   THFPICIFCC GCCHRSKCGM CCKT (SEQ ID NO:1)
```

參考上文序列，海帕西啶以各種形式存在，包括呈前激素原(preprohormone) (胺基酸25-84)、前激素(胺基酸25-84)形式，及稱為海帕西啶-25 (胺基酸60-84)、海帕西啶-22 (胺基酸63-84)及海帕西啶-20 (胺基酸65-84)之成熟形式。

「**海帕西啶介導之病症**」為海帕西啶表現促成病症或其症狀中之任一者之病因之任何病症。自一觀測可已知、可懷疑或可推斷海帕西啶對病因之貢獻，該觀測為相較於針對*TMPRSS6* rs855791 SNP次要對偶基因為同型接合之患有病症之患者，IL-6拮抗劑之投與在具有*TMPRSS6* rs855791 SNP主要對偶基因之至少一個複本的患有病症之患者中提供更大的治療效益。海帕西啶介導之病症在下文進一步描述於部分5.4.1中。

「**跨膜蛋白酶絲胺酸6 (*TMPRSS6*)多肽**」意謂與以NCBI寄存編號NP_001275929提供之胺基酸序列具有至少約85%或大於85%之胺基酸一致性且具有絲胺酸蛋白酶活性的多肽或其片段。*TMPRSS6*多肽，亦稱為間質蛋白酶-2 (MT2)，分解鐵調素調節蛋白且抑制骨形態生成蛋白信號傳導。下文提供在位置736處具有丙胺酸(736A)之例示性*TMPRSS6*胺基酸序列：

```
  1  MPVAEAPQVA GGQGDGGDGE EAEPEGMFKA CEDSKRKARG YLRLVPLFVL LALLVLASAG
 61  VLLWYFLGYK AEVMVSQVYS GSLRVLNRHF SQDLTRRESS AFRSETAKAQ KMLKELITST
121  RLGTYYNSSS VYSFGEGPLT CFFWFILQIP EHRRLMLSPE VVQALLVEEL LSTVNSSAAV
181  PYRAEYEVDP EGLVILEASV KDIAALNSTL GCYRYSYVGQ GQVLRLKGPD HLASSCLWHL
241  QGPKDLMLKL RLEWTLAECR DRLAMYDVAG PLEKRLITSV YGCSRQEPVV EVLASGAIMA
301  VVWKKGLHSY YDPFVLSVQP VVFQACEVNL TLDNRLDSQG VLSTPYFPSY YSPQTHCSWH
361  LTVPSLDYGL ALWFDAYALR RQKYDLPCTQ GQWTIQNRRL CGLRILQPYA ERIPVVATAG
421  ITINFTSQIS LTGPGVRVHY GLYNQSDPCP GEFLCSVNGL CVPACDGVKD CPNGLDERNC
481  VCRATFQCKE DSTCISLPKV CDGQPDCLNG SDEEQCQEGV PCGTFTFQCE DRSCVKKPNP
541  QCDGRPDCRD GSDEEHCDCG LQGPSSRIVG GAVSSEGEWP WQASLQVRGR HICGGALIAD
601  RWVITAAHCF QEDSMASTVL WTVFLGKVWQ NSRWPGEVSF KVSRLLLHPY HEEDSHDYDV
661  ALLQLDHPVV RSAAVRPVCL PARSHFFEPG LHCWITGWGA LREGALRADA VALFYGWRNQ
721  GSETCCCPIS NALQKADVQL IPQDLCSEVY RYQVTPRMLC AGYRKGKKDA CQGDSGGPLV
781  CKALSGRWFL AGLVSWGLGC GRPNYFGVYT RITGVISWIQ QVVT (SEQ ID NO:2)
```

下文提供在位置736處具有纈胺酸(736V)之例示性*TMPRSS6*胺基酸序列：

```
 61  VLLWYFLGYK AEVMVSQVYS GSLRVLNRHF SQDLTRRESS AFRSETAKAQ KMLKELITST
121  RLGTYYNSSS VYSFGEGPLT CFFWFILQIP EHRRLMLSPE VVQALLVEEL LSTVNSSAAV
181  PYRAEYEVDP EGLVILEASV KDIAALNSTL GCYRYSYVGQ GQVLRLKGPD HLASSCLWHL
 24  QGPKDLMLKL RLEWTLAECR DRLAMYDVAG PLEKRLITSV YGCSRQEPVV EVLASGAIMA
 30  VVWKKGLHSY YDPFVLSVQP VVFQACEVNL TLDNRLDSQG VLSTPYFPSY YSPQTHCSWH
 36  LTVPSLDYGL ALWFDAYALR RQKYDLPCTQ GQWTIQNRRL CGLRILQPYA ERIPVVATAG
 42  ITINFTSQIS LTGPGVRVHY GLYNQSDPCP GEFLCSVNGL CVPACDGVKD CPNGLDERNC
 48  VCRATFQCKE DSTCISLPKV CDGQPDCLNG SDEEQCQEGV PCGTFTFQCE DRSCVKKPNP
 54  QCDGRPDCRD GSDEEHCDCG LQGPSSRIVG GAVSSEGEWP WQASLQVRGR HICGGALIAD
 60  RWVITAAHCF QEDSMASTVL WTVFLGKVWQ NSRWPGEVSF KVSRLLLHPY HEEDSHDYDV
 66  ALLQLDHPVV RSAAVRPVCL PARSHFFEPG LHCWITGWGA LREGALRADA VALFYGWRNQ
 72  GSETCCCPIS NALQKVDVQL IPQDLCSEVY RYQVTPRMLC AGYRKGKKDA CQGDSGGPLV
 78  CKALSGRWFL AGLVSWGLGC GRPNYFGVYT RITGVISWIQ QVVT (SEQ ID NO:3)
```

「***TMPRSS6*核酸分子**」意謂編碼*TMPRSS6*多肽(間質蛋白酶-2；MT2)之聚核苷酸。例示性*TMPRSS6*核酸分子序列以NCBI寄存編號NM_001289000提供。下文提供在核苷酸位置2321處具有G (「G對偶基因」;「主要對偶基因」)之*TMPRSS6*核酸序列：

```
   1 GGACAAACAG AGGCTCCTGA GGCCTGTGTG CAGGCCCGGC ACCTATCTGC CGCTCCCAAA
  61 GGATGCCCGT GGCCGAGGCC CCCCAGGTGG CTGGCGGGCA GGGGGACGGA GGTGATGGCG
 121 AGGAAGCGGA GCCGGAGGGG ATGTTCAAGG CCTGTGAGGA CTCCAAGAGA AAAGCCCGGG
 181 GCTACCTCCG CCTGGTGCCC CTGTTTGTGC TGCTGGCCCT GCTCGTGCTG GCTTCGGCGG
 241 GGGTGCTACT CTGGTATTTC CTAGGGTACA AGGCGGAGGT GATGGTCAGC CAGGTGTACT
 301 CAGGCAGTCT GCGTGTACTC AATCGCCACT TCTCCCAGGA TCTTACCCGC CGGGAATCTA
 361 GTGCCTTCCG CAGTGAAACC GCCAAAGCCC AGAAGATGCT CAAGGAGCTC ATCACCAGCA
 421 CCCGCCTGGG AACTTACTAC AACTCCAGCT CCGTCTATTC CTTTGGGGAG GGACCCCTCA
 481 CCTGCTTCTT CTGGTTCATT CTCCAAATCC CCGAGCACCG CCGGCTGATG CTGAGCCCCG
 541 AGGTGGTGCA GGCACTGCTG GTGGAGGAGC TGCTGTCCAC AGTCAACAGC TCGGCTGCCG
 601 TCCCCTACAG GGCCGAGTAC GAAGTGGACC CCGAGGGCCT AGTGATCCTG GAAGCCAGTG
 661 TGAAAGACAT AGCTGCATTG AATTCCACGC TGGGTTGTTA CCGCTACAGC TACGTGGGCC
 721 AGGGCCAGGT CCTCCGGCTG AAGGGGCCTG ACCACCTGGC CTCCAGCTGC CTGTGGCACC
 781 TGCAGGGCCC CAAGGACCTC ATGCTCAAAC TCCGGCTGGA GTGGACGCTG GCAGAGTGCC
 841 GGGACCGACT GGCCATGTAT GACGTGGCCG GGCCCCTGGA GAAGAGGCTC ATCACCTCGG
 901 TGTACGGCTG CAGCCGCCAG GAGCCCGTGG TGGAGGTTCT GGCGTCGGGG GCCATCATGG
 961 CGGTCGTCTG GAAGAAGGGC CTGCACAGCT ACTACGACCC CTTCGTGCTC TCCGTGCAGC
1021 CGGTGGTCTT CCAGGCCTGT GAAGTGAACC TGACGCTGGA CAACAGGCTC GACTCCCAGG
1081 GCGTCCTCAG CACCCCGTAC TTCCCCAGCT ACTACTCGCC CCAAACCCAC TGCTCCTGGC
1141 ACCTCACGGT GCCCTCTCTG GACTACGGCT TGGCCCTCTG GTTTGATGCC TATGCACTGA
1201 GGAGGCAGAA GTATGATTTG CCGTGCACCC AGGGCCAGTG GACGATCCAG AACAGGAGGC
1261 TGTGTGGCTT GCGCATCCTG CAGCCCTACG CCGAGAGGAT CCCCGTGGTG GCCACGGCCG
```

```
1321 GGATCACCAT CAACTTCACC TCCCAGATCT CCCTCACCGG GCCCGGTGTG CGGGTGCACT
1381 ATGGCTTGTA CAACCAGTCG GACCCCTGCC CTGGAGAGTT CCTCTGTTCT GTGAATGGAC
1441 TCTGTGTCCC TGCCTGTGAT GGGGTCAAGG ACTGCCCCAA CGGCCTGGAT GAGAGAAACT
1501 GCGTTTGCAG AGCCACATTC CAGTGCAAAG AGGACAGCAC ATGCATCTCA CTGCCCAAGG
1561 TCTGTGATGG GCAGCCTGAT TGTCTCAACG GCAGCGACGA AGAGCAGTGC CAGGAAGGGG
1621 TGCCATGTGG GACATTCACC TTCCAGTGTG AGGACCGGAG CTGCGTGAAG AAGCCCAACC
1681 CGCAGTGTGA TGGGCGGCCC GACTGCAGGG ACGGCTCGGA TGAGGAGCAC TGTGACTGTG
1741 GCCTCCAGGG CCCCTCCAGC CGCATTGTTG GTGGAGCTGT GTCCTCCGAG GGTGAGTGGC
1801 CATGGCAGGC CAGCCTCCAG GTTCGGGGTC GACACATCTG TGGGGGGGCC CTCATCGCTG
1861 ACCGCTGGGT GATAACAGCT GCCCACTGCT TCCAGGAGGA CAGCATGGCC TCCACGGTGC
1921 TGTGGACCGT GTTCCTGGGC AAGGTGTGGC AGAACTCGCG CTGGCCTGGA GAGGTGTCCT
1981 TCAAGGTGAG CCGCCTGCTC CTGCACCCGT ACCACGAAGA GGACAGCCAT GACTACGACG
2041 TGGCGCTGCT GCAGCTCGAC CACCCGGTGG TGCGCTCGGC CGCCGTGCGC CCCGTCTGCC
2101 TGCCCGCGCG CTCCCACTTC TTCGAGCCCG GCCTGCACTG CTGGATTACG GGCTGGGGCG
2161 CCTTGCGCGA GGGCGCCCTA CGGGCGGATG CTGTGGCCCT ATTTTATGGA TGGAGAAACC
2221 AAGGCTCAGA GACATGTTGC TGCCCCATCA GCAACGCTCT GCAGAAAGTG GATGTGCAGT
2281 TGATCCCACA GGACCTGTGC AGCGAGGTCT ATCGCTACCA GGTGACGCCA CGCATGCTGT
2341 GTGCCGGCTA CCGCAAGGGC AAGAAGGATG CCTGTCAGGG TGACTCAGGT GGTCCGCTGG
2401 TGTGCAAGGC ACTCAGTGGC CGCTGGTTCC TGGCGGGGCT GGTCAGCTGG GGCCTGGGCT
2461 GTGGCCGGCC TAACTACTTC GGCGTCTACA CCCGCATCAC AGGTGTGATC AGCTGGATCC
2521 AGCAAGTGGT GACCTGAGGA ACTGCCCCCC TGCAAAGCAG GGCCCACCTC CTGGACTCAG
2581 AGAGCCCAGG GCAACTGCCA AGCAGGGGGA CAAGTATTCT GGCGGGGGGT GGGGGAGAGA
2641 GCAGGCCCTG TGGTGGCAGG AGGTGGCATC TTGTCTCGTC CCTGATGTCT GCTCCAGTGA
2701 TGGCAGGAGG ATGGAGAAGT GCCAGCAGCT GGGGGTCAAG ACGTCCCCTG AGGACCCAGG
2761 CCCACACCCA GCCCTTCTGC CTCCCAATTC TCTCTCCTCC GTCCCCTTCC TCCACTGCTG
2821 CCTAATGCAA GGCAGTGGCT CAGCAGCAAG AATGCTGGTT CTACATCCCG AGGAGTGTCT
2881 GAGGTGCGCC CCACTCTGTA CAGAGGCTGT TTGGGCAGCC TTGCCTCCAG AGAGCAGATT
2941 CCAGCTTCGG AAGCCCCTGG TCTAACTTGG GATCTGGGAA TGGAAGGTGC TCCCATCGGA
3001 GGGGACCCTC AGAGCCCTGG AGACTGCCAG GTGGGCCTGC TGCCACTGTA AGCCAAAAGG
3061 TGGGGAAGTC CTGACTCCAG GGTCCTTGCC CCACCCCTGC CTGCCACCTG GGCCCTCACA
3121 GCCCAGACCC TCACTGGGAG GTGAGCTCAG CTGCCCTTTG GAATAAAGCT GCCTGATCCA
3181 AAAAAAAAAA AAAAAA (SEQ ID NO:4)
```

下文提供在核苷酸位置2321處具有A之*TMPRSS6*核酸序列：

```
   1 GGACAAACAG AGGCTCCTGA GGCCTGTGTG CAGGCCCGGC ACCTATCTGC CGCTCCCAAA
  61 GGATGCCCGT GGCCGAGGCC CCCCAGGTGG CTGGCGGGCA GGGGGACGGA GGTGATGGCG
 121 AGGAAGCGGA GCCGGAGGGG ATGTTCAAGG CCTGTGAGGA CTCCAAGAGA AAAGCCCGGG
 181 GCTACCTCCG CCTGGTGCCC CTGTTTGTGC TGCTGGCCCT GCTCGTGCTG GCTTCGGCGG
 241 GGGTGCTACT CTGGTATTTC CTAGGGTACA AGGCGGAGGT GATGGTCAGC CAGGTGTACT
 301 CAGGCAGTCT GCGTGTACTC AATCGCCACT TCTCCCAGGA TCTTACCCGC CGGGAATCTA
 361 GTGCCTTCCG CAGTGAAACC GCCAAAGCCC AGAAGATGCT CAAGGAGCTC ATCACCAGCA
```

421 CCCGCCTGGG AACTTACTAC AACTCCAGCT CCGTCTATTC CTTTGGGGAG GGACCCCTCA
481 CCTGCTTCTT CTGGTTCATT CTCCAAATCC CCGAGCACCG CCGGCTGATG CTGAGCCCCG
541 AGGTGGTGCA GGCACTGCTG GTGGAGGAGC TGCTGTCCAC AGTCAACAGC TCGGCTGCCG
601 TCCCCTACAG GGCCGAGTAC GAAGTGGACC CCGAGGGCCT AGTGATCCTG GAAGCCAGTG
661 TGAAAGACAT AGCTGCATTG AATTCCACGC TGGGTTGTTA CCGCTACAGC TACGTGGGCC
721 AGGGCCAGGT CCTCCGGCTG AAGGGGCCTG ACCACCTGGC CTCCAGCTGC CTGTGGCACC
781 TGCAGGGCCC CAAGGACCTC ATGCTCAAAC TCCGGCTGGA GTGGACGCTG GCAGAGTGCC
841 GGGACCGACT GGCCATGTAT GACGTGGCCG GGCCCCTGGA GAAGAGGCTC ATCACCTCGG
901 TGTACGGCTG CAGCCGCCAG GAGCCCGTGG TGGAGGTTCT GGCGTCGGGG GCCATCATGG
961 CGGTCGTCTG GAAGAAGGGC CTGCACAGCT ACTACGACCC CTTCGTGCTC TCCGTGCAGC
1021 CGGTGGTCTT CCAGGCCTGT GAAGTGAACC TGACGCTGGA CAACAGGCTC GACTCCCAGG
1081 GCGTCCTCAG CACCCCGTAC TTCCCCAGCT ACTACTCGCC CCAAACCCAC TGCTCCTGGC
1141 ACCTCACGGT GCCCTCTCTG GACTACGGCT TGGCCCTCTG GTTTGATGCC TATGCACTGA
1201 GGAGGCAGAA GTATGATTTG CCGTGCACCC AGGGCCAGTG GACGATCCAG AACAGGAGGC
1261 TGTGTGGCTT GCGCATCCTG CAGCCCTACG CCGAGAGGAT CCCCGTGGTG GCCACGGCCG
1321 GGATCACCAT CAACTTCACC TCCCAGATCT CCCTCACCGG GCCCGGTGTG CGGGTGCACT
1381 ATGGCTTGTA CAACCAGTCG GACCCCTGCC CTGGAGAGTT CCTCTGTTCT GTGAATGGAC
1441 TCTGTGTCCC TGCCTGTGAT GGGGTCAAGG ACTGCCCCAA CGGCCTGGAT GAGAGAAACT
1501 GCGTTTGCAG AGCCACATTC CAGTGCAAAG AGGACAGCAC ATGCATCTCA CTGCCCAAGG
1561 TCTGTGATGG GCAGCCTGAT TGTCTCAACG GCAGCGACGA AGAGCAGTGC CAGGAAGGGG
1621 TGCCATGTGG GACATTCACC TTCCAGTGTG AGGACCGGAG CTGCGTGAAG AAGCCCAACC
1681 CGCAGTGTGA TGGGCGGCCC GACTGCAGGG ACGGCTCGGA TGAGGAGCAC TGTGACTGTG
1741 GCCTCCAGGG CCCCTCCAGC CGCATTGTTG GTGGAGCTGT GTCCTCCGAG GGTGAGTGGC
1801 CATGGCAGGC CAGCCTCCAG GTTCGGGGTC GACACATCTG TGGGGGGGCC CTCATCGCTG
1861 ACCGCTGGGT GATAACAGCT GCCCACTGCT TCCAGGAGGA CAGCATGGCC TCCACGGTGC
1921 TGTGGACCGT GTTCCTGGGC AAGGTGTGGC AGAACTCGCG CTGGCCTGGA GAGGTGTCCT
1981 TCAAGGTGAG CCGCCTGCTC CTGCACCCGT ACCACGAAGA GGACAGCCAT GACTACGACG
2041 TGGCGCTGCT GCAGCTCGAC CACCCGGTGG TGCGCTCGGC CGCCGTGCGC CCCGTCTGCC
2101 TGCCCGCGCG CTCCCACTTC TTCGAGCCCG GCCTGCACTG CTGGATTACG GGCTGGGGCG
2161 CCTTGCGCGA GGGCGCCCTA CGGGCGGATG CTGTGGCCCT ATTTTATGGA TGGAGAAACC
2221 AAGGCTCAGA GACATGTTGC TGCCCCATCA GCAACGCTCT GCAGAAAGTG GATGTGCAGT
2281 TGATCCCACA GGACCTGTGC AGCGAGGTCT ATCGCTACCA AGTGACGCCA CGCATGCTGT
2341 GTGCCGGCTA CCGCAAGGGC AAGAAGGATG CCTGTCAGGG TGACTCAGGT GGTCCGCTGG
2401 TGTGCAAGGC ACTCAGTGGC CGCTGGTTCC TGGCGGGGCT GGTCAGCTGG GGCCTGGGCT
2461 GTGGCCGGCC TAACTACTTC GGCGTCTACA CCCGCATCAC AGGTGTGATC AGCTGGATCC
2521 AGCAAGTGGT GACCTGAGGA ACTGCCCCCC TGCAAAGCAG GGCCCACCTC CTGGACTCAG
2581 AGAGCCCAGG GCAACTGCCA AGCAGGGGGA CAAGTATTCT GGCGGGGGGT GGGGGAGAGA
2641 GCAGGCCCTG TGGTGGCAGG AGGTGGCATC TTGTCTCGTC CCTGATGTCT GCTCCAGTGA
2701 TGGCAGGAGG ATGGAGAAGT GCCAGCAGCT GGGGGTCAAG ACGTCCCCTG AGGACCCAGG
2761 CCCACACCCA GCCCTTCTGC CTCCCAATTC TCTCTCCTCC GTCCCCTTCC TCCACTGCTG
2821 CCTAATGCAA GGCAGTGGCT CAGCAGCAAG AATGCTGGTT CTACATCCCG AGGAGTGTCT
2881 GAGGTGCGCC CCACTCTGTA CAGAGGCTGT TTGGGCAGCC TTGCCTCCAG AGAGCAGATT
2941 CCAGCTTCGG AAGCCCCTGG TCTAACTTGG GATCTGGGAA TGGAAGGTGC TCCCATCGGA

```
3001 GGGGACCCTC AGAGCCCTGG AGACTGCCAG GTGGGCCTGC TGCCACTGTA AGCCAAAAGG
3061 TGGGGAAGTC CTGACTCCAG GGTCCTTGCC CCACCCCTGC CTGCCACCTG GGCCCTCACA
3121 GCCCAGACCC TCACTGGGAG GTGAGCTCAG CTGCCCTTTG GAATAAAGCT GCCTGATCCA
3181 AAAAAAAAAA AAAAAA (SEQ ID NO:5)
```

「**變異體**」意謂因一或多個核苷酸或一或多個胺基酸而不同於參考序列之聚核苷酸或多肽序列。例示性*TMPRSS6*變異體為*TMPRSS6* (A736V)，由SNP rs855791 (G→A)引起。

「**單核苷酸多形現象**」或「**SNP**」意謂天然存在之DNA序列變異體，其中基因組中之單核苷酸在生物物種之成員之間或在個體中之配對染色體之間不同。SNP可用作變異對偶基因之遺傳標記。在一個實施例中，*TMPRSS6* SNP為rs855791。

「**rs855791**」意謂人類*TMPRSS6*基因中之單核苷酸多形現象(SNP)，2321G→A，在由*TMPRSS6*基因編碼之間質蛋白酶-2 (MT2)之催化區中引起丙胺酸至纈胺酸之取代(A736V)。人類群體中具有最高頻率之對偶基因(主要對偶基因)為2321G，編碼736A。人類群體中具有最低頻率之對偶基因(次要對偶基因)為2321A，編碼736V。

「**異型接合**」意謂染色體基因座具有兩個不同的對偶基因。在本文中所描述之方法之一個實施例中，異型接合係指以下基因型：在其中一個對偶基因具有編碼在胺基酸位置736處具有丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之*TMPRSS6*核酸序列(例如在*TMPRSS6*核酸分子之核苷酸位置2321處具有G或C) (rs855791主要對偶基因)，且另一對偶基因具有編碼在胺基酸位置736處包含纈胺酸之*TMPRSS6*多肽之變異*TMPRSS6*核酸序列(例如在*TMPRSS6*核酸分子之核苷酸位置2321處具有A或T) (rs855791次要對偶基因)。

「**同型接合**」意謂染色體基因座具有兩個相同的對偶基因。在

本文中所描述之方法之某些實施例中，同型接合係指以下基因型：在其中兩個對偶基因具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之*TMPRSS6*核酸序列(例如在*TMPRSS6*核酸分子之核苷酸位置2321處具有G或C) (rs855791同型接合之主要對偶基因)。在一些實施例中，同型接合係指以下基因型：在其中兩個對偶基因具有編碼在胺基酸位置736處包含纈胺酸之*TMPRSS6*多肽之*TMPRSS6*核酸序列(例如在*TMPRSS6*核酸分子之核苷酸位置2321處具有A或T) (rs855791同型接合之次要對偶基因)。

「**確定患者具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本**」包括(但不限於)進行分析以確定患者具有TMPRSS6 rs855791主要對偶基因之至少一個複本；對分析排序以確定患者具有TMPRSS6 rs855791主要對偶基因之至少一個複本；規定分析以確定患者具有TMPRSS6 rs855791主要對偶基因之至少一個複本；以其他方式引導或控制分析經進行以確定患者具有TMPRSS6 rs855791主要對偶基因之至少一個複本；及查閱*TMRSS6*基因型分析資料或蛋白質或核酸序列資料以確定患者具有TMPRSS6 rs855791主要對偶基因之至少一個複本。

「**介白素6 (IL-6)**」或「**IL-6多肽**」意謂與以NCBI寄存編號NP_000591提供之胺基酸序列具有至少約85%或大於85%之胺基酸一致性且具有IL-6生物活性之多肽或其片段。IL-6為具有多種生物功能之多效性細胞激素。例示性IL-6生物活性包括免疫刺激及促炎性活性。下文提供例示性IL-6胺基酸序列：

```
  1 MCVGARRLGR GPCAALLLLG LGLSTVTGLH CVGDTYPSND RCCHECRPGN GMVSRCSRSQ
 61 NTVCRPCGPG FYNDVVSSKP CKPCTWCNLR SGSERKQLCT ATQDTVCRCR AGTQPLDSYK
121 PGVDCAPCPP GHFSPGDNQA CKPWTNCTLA GKHTLQPASN SSDAICEDRD PPATQPQETQ
181 GPPARPITVQ PTEAWPRTSQ GPSTRPVEVP GGRAVAAILG LGLVLGLLGP LAILLALYLL
241 RRDQRLPPDA HKPPGGGSFR TPIQEEQADA HSTLAKI (SEQ ID NO:6)
```

「**介白素6 (IL-6)核酸**」意謂編碼介白素6 (IL-6)多肽之聚核苷酸。例示性介白素6 (IL-6)核酸序列以NCBI寄存編號NM_000600提供。下文提供以NCBI寄存編號NM_000600之例示性序列。

```
   1 AATATTAGAG TCTCAACCCC CAATAAATAT AGGACTGGAG ATGTCTGAGG CTCATTCTGC
  61 CCTCGAGCCC ACCGGGAACG AAAGAGAAGC TCTATCTCCC CTCCAGGAGC CCAGCTATGA
 121 ACTCCTTCTC CACAAGCGCC TTCGGTCCAG TTGCCTTCTC CCTGGGGCTG CTCCTGGTGT
 181 TGCCTGCTGC CTTCCCTGCC CCAGTACCCC CAGGAGAAGA TTCCAAAGAT GTAGCCGCCC
 241 CACACAGACA GCCACTCACC TCTTCAGAAC GAATTGACAA ACAAATTCGG TACATCCTCG
 301 ACGGCATCTC AGCCCTGAGA AAGGAGACAT GTAACAAGAG TAACATGTGT GAAAGCAGCA
 361 AAGAGGCACT GGCAGAAAAC AACCTGAACC TTCCAAAGAT GGCTGAAAAA GATGGATGCT
 421 TCCAATCTGG ATTCAATGAG GAGACTTGCC TGGTGAAAAT CATCACTGGT CTTTTGGAGT
 481 TTGAGGTATA CCTAGAGTAC CTCCAGAACA GATTTGAGAG TAGTGAGGAA CAAGCCAGAG
 541 CTGTGCAGAT GAGTACAAAA GTCCTGATCC AGTTCCTGCA GAAAAAGGCA AAGAATCTAG
 601 ATGCAATAAC CACCCCTGAC CCAACCACAA ATGCCAGCCT GCTGACGAAG CTGCAGGCAC
 661 AGAACCAGTG GCTGCAGGAC ATGACAACTC ATCTCATTCT GCGCAGCTTT AAGGAGTTCC
 721 TGCAGTCCAG CCTGAGGGCT CTTCGGCAAA TGTAGCATGG GCACCTCAGA TTGTTGTTGT
 781 TAATGGGCAT TCCTTCTTCT GGTCAGAAAC CTGTCCACTG GGCACAGAAC TTATGTTGTT
 841 CTCTATGGAG AACTAAAAGT ATGAGCGTTA GGACACTATT TTAATTATTT TTAATTTATT
 901 AATATTTAAA TATGTGAAGC TGAGTTAATT TATGTAAGTC ATATTTATAT TTTTAAGAAG
 961 TACCACTTGA AACATTTTAT GTATTAGTTT TGAAATAATA ATGGAAAGTG GCTATGCAGT
1021 TTGAATATCC TTTGTTTCAG AGCCAGATCA TTTCTTGGAA AGTGTAGGCT TACCTCAAAT
1081 AAATGGCTAA CTTATACATA TTTTTAAAGA AATATTTATA TTGTATTTAT ATAATGTATA
1141 AATGGTTTTT ATACCAATAA ATGGCATTTT AAAAAATTCA GCAAAAAAAA AAAAAAAAAA
1201 A  (SEQ ID NO:7)
```

「**介白素6受體 (IL-6R)複合物**」意謂包含IL-6受體子單元α (IL-6Rα)及介白素6信號轉導子糖蛋白130-亦稱為介白素6 受體子單元β (IL-6Rβ)-之蛋白質複合物。

「**介白素6受體子單元α (IL-6Rα)多肽**」意謂與以NCBI寄存編號NP_000556或NP_852004提供之胺基酸序列具有至少約85%或大於85%之胺基酸一致性且具有IL-6受體生物活性之多肽或其片段。例示性IL-

6Rα生物活性包括結合至IL-6、結合至糖蛋白130 (gp130)及調節細胞生長及分化。下文提供例示性IL-6R序列：

```
  1 MLAVGCALLA ALLAAPGAAL APRRCPAQEV ARGVLTSLPG DSVTLTCPGV EPEDNATVHW
 61 VLRKPAAGSH PSRWAGMGRR LLLRSVQLHD SGNYSCYRAG RPAGTVHLLV DVPPEEPQLS
121 CFRKSPLSNV VCEWGPRSTP SLTTKAVLLV RKFQNSPAED FQEPCQYSQE SQKFSCQLAV
181 PEGDSSFYIV SMCVASSVGS KFSKTQTFQG CGILQPDPPA NITVTAVARN PRWLSVTWQD
241 PHSWNSSFYR LRFELRYRAE RSKTFTTWMV KDLQHHCVIH DAWSGLRHVV QLRAQEEFGQ
301 GEWSEWSPEA MGTPWTESRS PPAENEVSTP MQALTTNKDD DNILFRDSAN ATSLPVQDSS
361 SVPLPTFLVA GGSLAFGTLL CIAIVLRFKK TWKLRALKEG KTSMHPPYSL GQLVPERPRP
421 TPVLVPLISP PVSPSSLGSD NTSSHNRPDA RDPRSPYDIS NTDYFFPR (SEQ ID NO:8)
```

「**介白素6受體子單元β (IL-6Rβ)多肽**」意謂與以NCBI寄存編號NP_002175、NP_786943或NP_001177910提供之胺基酸序列具有至少約85%或大於85%之胺基酸一致性且具有IL-6受體生物活性之多肽或其片段。例示性IL-6Rβ生物活性包括結合至IL-6Rα、IL-6受體信號傳導活性，及調節細胞生長、分化、海帕西啶表現等。下文提供例示性IL-6Rβ序列：

```
  1 MLTLQTWLVQ ALFIFLTTES TGELLDPCGY ISPESPVVQL HSNFTAVCVL KEKCMDYFHV
 61 NANYIVWKTN HFTIPKEQYT IINRTASSVT FTDIASLNIQ LTCNILTFGQ LEQNVYGITI
121 ISGLPPEKPK NLSCIVNEGK KMRCEWDGGR ETHLETNFTL KSEWATHKFA DCKAKRDTPT
181 SCTVDYSTVY FVNIEVWVEA ENALGKVTSD HINFDPVYKV KPNPPHNLSV INSEELSSIL
241 KLTWTNPSIK SVIILKYNIQ YRTKDASTWS QIPPEDTAST RSSFTVQDLK PFTEYVFRIR
301 CMKEDGKGYW SDWSEEASGI TYEDRPSKAP SFWYKIDPSH TQGYRTVQLV WKTLPPFEAN
361 GKILDYEVTL TRWKSHLQNY TVNATKLTVN LTNDRYLATL TVRNLVGKSD AAVLTIPACD
421 FQATHPVMDL KAFPKDNMLW VEWTTPRESV KKYILEWCVL SDKAPCITDW QQEDGTVHRT
481 YLRGNLAESK CYLITVTPVY ADGPGSPESI KAYLKQAPPS KGPTVRTKKV GKNEAVLEWD
541 QLPVDVQNGF IRNYTIFYRT IIGNETAVNV DSSHTEYTLS SLTSDTLYMV RMAAYTDEGG
601 KDGPEFTFTT PKFAQGEIEA IVVPVCLAFL LTTLLGVLFC FNKRDLIKKH IWPNVPDPSK
661 SHIAQWSPHT PPRHNFNSKD QMYSDGNFTD VSVVEIEAND KKPFPEDLKS LDLFKKEKIN
721 TEGHSSGIGG SSCMSSSRPS ISSSDENESS QNTSSTVQYS TVVHSGYRHQ VPSVQVFSRS
781 ESTQPLLDSE ERPEDLQLVD HVDGGDGILP RQQYFKQNCS QHESSPDISH FERSKQVSSV
841 NEEDFVRLKQ QISDHISQSC GSGQMKMFQE VSAADAFGPG TEGQVERFET VGMEAATDEG
901 MPKSYLPQTV RQGGYMPQ (SEQ ID NO:9)
```

「**IL-6拮抗劑**」意謂能夠降低IL-6之生物活性之藥劑。IL-6拮抗

劑包括降低血清中IL-6多肽之含量之藥劑，包括降低IL-6多肽或核酸之表現之藥劑；降低IL-6結合至IL-6R之能力之藥劑；降低IL-6R之表現之藥劑；及當經IL-6結合時藉由IL-6R受體降低信號轉導之藥劑。在較佳實施例中，IL-6拮抗劑使IL-6生物活性降低至少約10%、20%、30%、50%、70%、80%、90%、95%或甚至100%。如下文部分5.9中進一步描述，IL-6拮抗劑包括IL-6結合多肽，諸如抗IL-6抗體及其抗原結合片段或衍生物；IL-6R結合多肽，諸如抗IL-6R抗體及其抗原結合片段或衍生物；及合成化學分子，諸如JAK1及JAK3抑制劑。

「**IL-6抗體**」或「**抗IL-6抗體**」意謂特異性結合IL-6之抗體。抗IL-6抗體包括對IL-6具有特異性之單株及多株抗體及其抗原結合片段或衍生物。IL-6抗體在下文部分5.9.1中更詳細地描述。

「**IL-6介導之發炎病症**」意謂已知或懷疑IL-6促成疾病或其症狀中之任一者之病因之任何病症。

「**紅血球生成素(EPO)**」意謂與以NCBI寄存編號NP_000790提供之胺基酸序列具有至少約85%或大於85%之胺基酸一致性且具有EPO生物活性之多肽或其片段。例示性EPO生物活性包括結合至紅血球生成素受體及所產生之紅血球系前驅體細胞之增殖及最終分化及/或增加紅血球生成(紅血球產生)。下文提供例示性EPO胺基酸序列：

```
  1 MGVHECPAWL WLLLSLLSLP LGLPVLGAPP RLICDSRVLE RYLLEAKEAE NITTGCAEHC
 61 SLNENITVPD TKVNFYAWKR MEVGQQAVEV WQGLALLSEA VLRGQALLVN SSQPWEPLQL
121 HVDKAVSGLR SLTTLLRALG AQKEAISPPD AASAAPLRTI TADTFRKLFR VYSNFLRGKL
181 KLYTGEACRT GDR (SEQ ID NO:10)
```

「**紅血球生成刺激劑(ESA)**」意謂刺激紅血球生成之藥劑。ESA包括(但不限於)EPO；達貝泊汀(darbepoetin) (安然愛思普(Aranesp))；倍他依泊汀(epoetin beta) (新萊考蒙(NeoRecormon))；德

耳塔依伯汀(epoetin delta)(對達因珀(Dynepo))；奧米伽依伯汀(epoetin omega)(Epomax)；澤塔依伯汀(epoetin zeta)。

「**促紅血球形成因子**」意謂增加紅血球或其祖細胞(例如造血幹細胞)之生長或增殖及/或降低紅血球或其祖細胞之細胞死亡的藥劑。在各種實施例中，促紅血球形成因子包括紅血球生成刺激劑、HIF安定劑及補充鐵。

「**C反應蛋白(CRP)多肽**」意謂與以NCBI寄存編號NP_000558提供之胺基酸序列具有至少約85%或大於85%之胺基酸一致性且具有補體活化活性之多肽或其片段。CRP含量回應於發炎而增加。下文提供例示性CRP序列：

```
  1 MEKLLCFLVL TSLSHAFGQT DMSRKAFVFP KESDTSYVSL KAPLTKPLKA FTVCLHFYTE
 61 LSSTRGYSIF SYATKRQDNE ILIFWSKDIG YSFTVGGSEI LFEVPEVTVA PVHICTSWES
121 ASGIVEFWVD GKPRVRKSLK KGYTVGAEAS IILGQEQDSF GGNFEGSQSL VGDIGNVNMW
181 DFVLSPDEIN TIYLGGPFSP NVLNWRALKY EVQGEVFTKP QLWP (SEQ ID NO:11)
```

「**藥劑**」意謂適合於以療法投與之任何化合物或組合物，且明確地包括化學化合物；蛋白質，包括抗體或其抗原結合片段；肽；及核酸分子。

「**個體**」意謂人類或非人類哺乳動物(包括(但不限於)牛、馬、犬、綿羊、貓及嚙齒動物，包括鼠類及家鼠屬)個體。「**患者**」為人類個體。

如本文中所使用，術語「**治療(treat/treating/treatment)**」及其類似者係指降低或改善病症及/或與其相關之跡象或症狀，或減慢或停止其進程。應瞭解，雖然不排除，但治療病症或病狀並不需要完全消除該病症、病狀或與其相關之症狀。

「**治療前**」意謂根據本文中所描述之方法在第一次投與IL-6拮抗

劑之前。治療前不排除且常常包括先前投與IL-6拮抗劑以外之治療。

在本發明中，「**包含(comprises, comprising)**」、「**含有(containing)**」、「**具有**」、「**包括(includes, including)**」及其語言變化形式具有美國專利法律中賦予其之含義，允許明確敍述者以外其他組分之存在。

「**生物樣本**」意謂來源於生物體(例如人類個體)之任何組織、細胞、體液或其他物質。在某些實施例中，生物樣本為血清或血液。

「**血管收縮素轉化酶(ACE)抑制劑**」意謂抑制血管收縮素轉化酶將血管收縮素I轉化至血管收縮素II之生物功能的藥劑。ACE抑制劑包括(但不限於)喹那普利(quinapril)、培哚普利、雷米普利(ramipril)、卡托普利(captopril)、貝那普利(benazepril)、群多普利(trandolapril)、福辛普利(fosinopril)、賴諾普利(lisinopril)、莫西普利(moexipril)及依那普利(enalapril)。在各種實施例中，ACE抑制劑為培哚普利。

5.3 其他說明性慣例

除非另外規定，否則抗體恆定區殘基編號係根據Kabat中之EU索引。

本文中所提供之範圍應理解為範圍內所有值之簡寫，包括所述端點。舉例而言，1至50之範圍應理解為包括由以下組成之群的任何數值、數值之組合或子範圍：1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49及50。

除非上下文有特別規定或顯而易見，否則本文中所使用之術語

「或」應理解為包括。除非上下文有特別規定或顯而易見，否則本文中所使用之術語「一」及「該」應理解為單數或複數。

除非上下文有特別規定或顯而易見，否則本文中所使用之術語「約」應理解為在此項技術中之正常容限範圍內，例如在平均值之2個標準偏差內。約可理解為在陳述值之10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.1%、0.05%或0.01%內。除非另外自上下文顯而易見，否則本文中所提供之所有數值均由術語約修飾。

5.4 治療海帕西啶介導之病症之方法

在第一態樣中，提供治療海帕西啶介導之病症之方法。

該等方法包含向具有海帕西啶介導之病症之個體(通常人類患者)投與治療有效量之IL-6拮抗劑，其中已確定該個體具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本。在第一系列之實施例中，先前已確定個體具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本。在另一系列實施例中，該方法進一步包含確定個體具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之早前步驟。通常，該等方法肯定地排除治療對於*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合之個體。通常，患者具有升高之治療前血清IL-6含量。

5.4.1 海帕西啶介導之病症

5.4.1.1 慢性疾病/慢性發炎貧血

在各種實施例中，藉由本文中所描述之方法治療的海帕西啶介導之病症為慢性疾病貧血，亦稱為慢性發炎貧血。

在各種實施例中，患者為男性且治療前血紅素(Hb)含量小於14 g/dl。在一些實施例中，男性患者之治療前Hb含量為13.0-13.9 g/dl、

12.0-12.9 g/dl、11.0-11.9 g/dl、10.0-10.9 g/dl或小於10 g/dl。在各種實施例中，患者為女性且治療前Hb含量小於12 g/dl。在一些實施例中，女性患者之治療前Hb含量為11.0-11.9 g/dl、10.0-10.9 g/dl、9.0-9.9 g/dl、8.0-8.9 g/dl或小於8 g/dl。在一些此等實施例中，之前患者已用ESA治療。在一些實施例中，患者已藉由補鐵治療。在一些實施例中，患者已用血液或紅血球濃厚液之輸注來治療。

在各種實施例中，患者為男性且治療前血容比小於40%。在一些實施例中，男性患者之治療前血容比小於39%、小於38%、小於37%、小於36%或小於35%。在某些實施例中，男性患者之治療前血容比為39%、38%、37%、36%、35%、34%、33%、32%、31%或30%。在各種實施例中，患者為女性，且治療前血容比小於36%。在一些實施例中，女性患者之治療前血容比小於35%、34%、33%、32%、31%、30%、29%、28%、27%或26%。在某些實施例中，女性患者之治療前血容比為35%、34%、33%、32%、31%、30%、29%、28%、27%或26%。在一些此等實施例中，患者已用ESA治療。在一些實施例中，患者已藉由補鐵治療。在一些實施例中，患者已用血液或紅血球濃厚液之輸注來治療。

在一些實施例中，患者已用ESA治療且具有正常之治療前Hb含量及/或正常之治療前血容比。在某些實施例中，患者為男性且治療前血紅素(Hb)含量為至少14 g/dl，及/或治療前血容比為至少40%。在某些實施例中，患者為女性，且治療前Hb含量為至少12 g/dl及/或血容比為至少36%。在具體實施例中，ESA為EPO。在具體實施例中，ESA為達貝泊汀α (darbepoetin alfa)。

在一些實施例中，患者已藉由補鐵治療，且具有正常之治療前Hb含量及/或正常之治療前血容比。在某些實施例中，患者為男性且治療前血紅素(Hb)含量為至少14 g/dl，及/或治療前血容比為至少40%。在某些實施例中，患者為女性，且治療前Hb含量為至少12 g/dl及/或血容比為至少36%。

在一些實施例中，患者已用全血或紅血球濃厚液之輸注來治療，且具有正常之治療前Hb含量及/或正常之治療前血容比。在某些實施例中，患者為男性且治療前血紅素(Hb)含量為至少14 g/dl，及/或治療前血容比為至少40%。在某些實施例中，患者為女性，且治療前Hb含量為至少12 g/dl及/或血容比為至少36%。

在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使患者之Hb含量增加而高於治療前含量之時間期。在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使患者之血容比增加而高於治療前含量之時間期。在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使Hb含量及血容比兩者增加而高於治療前含量之時間期。

在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以在不降低患者之Hb含量的情況下使得患者之ESA劑量減少而低於治療前含量之時間期。在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以在不降低患者之血容比的情況下使得患者之ESA劑量減少而低於治療前含量之時間期。在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以在不降低患者之Hb含量及血容比的情況下使得患者之ESA劑量減少之時間期。

在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使得患者之ESA劑量相較於治療前ESA劑量減少至少10%之時間期。在某些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使得患者之ESA劑量相較於治療前ESA劑量減少至少20%、30%、40%或50%之時間期。在特定實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使得患者之ESA劑量相較於治療前ESA劑量減少至少60%或甚至至少75%之時間期。

在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以逆轉功能性鐵缺乏之時間期。

5.4.1.1.1 慢性腎病

在各種實施例中，慢性疾病為慢性腎病(CKD)。

在一些實施例中，患者患有KDOQI 1期慢性腎病。在某些實施例中，患者患有KDOQI 2期慢性腎病、KDOQI 3期慢性腎病、KDOQI 4期慢性腎病或KDOQI 5期慢性腎病。

在一些實施例中，患者患有心腎症候群(CRS)。在某些實施例中，患者患有4型CRS。

在一些實施例中，患者已用透析治療。

在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續相較於年齡匹配且疾病匹配之歷史群組足以降低心血管(CV)死亡率之時間期。

5.4.1.1.2 慢性發炎疾病

在各種實施例中，慢性疾病為慢性發炎疾病。

在一些實施例中，慢性發炎疾病為類風濕性關節炎(RA)。

在具體實施例中，患者之治療前DAS28得分大於5.1。在一些實施例中，患者之治療前DAS28得分為3.2至5.1。在一些實施例中，患者之治療前DAS28得分小於2.6。在各種實施例中，患者之治療前RA為重度活動性的。在一些實施例中，患者之治療前RA為中度活動性的。

在某些實施例中，患者已用甲胺喋呤治療。在一些實施例中，當啟動用IL-6拮抗劑進行之治療時，中斷甲胺喋呤。在一些實施例中，當啟動用IL-6拮抗劑進行之治療時，繼續用甲胺喋呤進行之治療。

在某些實施例中，患者已用抗TNFα劑治療。在特定實施例中，抗TNFα劑選自依那西普、阿達木單抗、英利昔單抗、賽妥珠單抗及戈利木單抗。在特定實施例中，當啟動用IL-6拮抗劑進行之治療時，中斷抗TNFα劑。

在某些實施例中，患者已用IL-1受體拮抗劑治療。在具體實施例中，IL-1受體拮抗劑為阿那白滯素(anakinra)。在特定實施例中，當啟動用IL-6拮抗劑進行之治療時，中斷IL-1受體拮抗劑。

在某些實施例中，患者已用阿巴西普(abatacept)治療。在特定實施例中，當啟動用IL-6拮抗劑進行之治療時，中斷阿巴西普。

在某些實施例中，患者已用IL-6拮抗劑治療，且方法進一步包含繼續向經最新確定具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之彼等患者僅投與IL-6拮抗劑。在具體實施例中，IL-6拮抗劑為托珠單抗。在具體實施例中，IL-6拮抗劑為托法替尼。

在各種實施例中，慢性發炎疾病選自由以下組成之群：幼年期

特發性關節炎、僵直性脊椎炎、斑狀牛皮癬、牛皮癬性關節炎、發炎性腸病、克羅恩氏病及潰瘍性結腸炎。

5.4.1.1.3 癌症

在各種實施例中，慢性疾病為癌症。

在一些實施例中，癌症選自由以下組成之群：實體腫瘤、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、血液癌、多發性骨髓瘤、白血病、慢性淋巴細胞白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、淋巴瘤及霍奇金氏淋巴瘤。

5.4.1.1.4 慢性感染

在各種實施例中，慢性疾病為慢性感染。

5.4.1.1.5 充血性心臟衰竭

在各種實施例中，慢性疾病為充血性心臟衰竭(CHF)。

5.4.1.2 鐵難治性缺鐵性貧血(IRIDA)

在各種實施例中，海帕西啶介導之病症為鐵難治性缺鐵性貧血(IRIDA)。

5.4.1.3 與海帕西啶產生之肝腺瘤相關之貧血

在各種實施例中，海帕西啶介導之病症為與海帕西啶產生之肝腺瘤相關之貧血。

5.4.1.4 急性冠狀動脈症候群

呈現於下文實例2、3及5中之資料表明在急性心肌梗塞之後，IL-6拮抗劑在降低心臟衰竭及死亡之風險中有效，且在增加心臟功能及降低纖維化中有效。因此，在各種實施例中，海帕西啶介導之病症急性冠狀動脈症候群。

在某些實施例中，患者在第一次投與IL-6拮抗劑之前的60天內已罹患心肌梗塞。在特定實施例中，患者在第一次投與IL-6拮抗劑之前的30天、14天、7天、48小時或24小時內已罹患心肌梗塞。

在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續相較於治療前程度足以改良心肌收縮性之時間期。在某些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續相較於治療前程度足以提高心臟射血分數之時間期。在某些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續相較於治療前程度足以降低心臟纖維化之時間期。

5.4.1.5 卡斯爾曼氏病

在各種實施例中，海帕西啶介導之病症為卡斯爾曼氏病。

5.5 改良對海帕西啶介導之病症之治療的方法

在另一態樣中，提供藉由中斷為低效之療法而改良對海帕西啶介導之病症之治療的方法，從而在不喪失治療功效之情況下降低副作用且降低成本。該等方法包含向患有海帕西啶介導之病症之患者中斷IL-6拮抗劑之投與，其中已確定該患者針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合的。在一系列實施例中，先前已確定患者針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合的。在另一系列實施例中，方法進一步包含確定患者針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合之早前步驟。在典型實施例中，患者具有升高之治療前血清IL-6含量。在各種實施例中，患者具有升高之治療前血清CRP含量。

在各種實施例中，患者具有選自上文部分5.4.1中所描述之彼等病症之海帕西啶介導之病症。在某些實施例中，患者患有慢性疾病貧血。

5.6 治療IL-6介導之發炎病症之方法

實例2、3及5中所呈現之資料表明在具有升高之治療前IL-6含量且具有*TMPRSS6*主要對偶基因之至少一個複本、甚至不存在貧血之個體中，IL-6拮抗劑提供治療效益。因此，在另一態樣中，提供方法以治療無慢性發炎貧血之患者中的IL-6介導之發炎病症。

該等方法包含向患有IL-6介導之發炎病症之個體、通常人類患者投與治療有效量之IL-6拮抗劑，其中該患者不患有貧血，且其中已確定該個體具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本。在第一系列之實施例中，先前已確定個體具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本。在另一系列實施例中，方法進一步包含確定個體具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之早前步驟。通常，方法肯定地排除治療針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合之個體。通常，患者具有升高之治療前血清IL-6含量。

在一些實施例中，IL-6介導之病症為類風濕性關節炎(RA)。

在具體實施例中，患者之治療前DAS28得分大於5.1。在一些實施例中，患者之治療前DAS28得分為3.2至5.1。在一些實施例中，患者之治療前DAS28得分小於2.6。在各種實施例中，患者之治療前RA為重度活動性的。在一些實施例中，患者之治療前RA為中度活動性的。

在某些實施例中，患者已用甲胺喋呤治療。在一些實施例中，當啟動用IL-6拮抗劑進行之治療時，中斷甲胺喋呤。在一些實施例中，當啟動用IL-6拮抗劑進行之治療時，繼續甲胺喋呤。

在某些實施例中，患者已用抗TNFα劑治療。在特定實施例中，

抗TNFα劑選自依那西普、阿達木單抗、英利昔單抗、賽妥珠單抗及戈利木單抗。在特定實施例中，當啟動用IL-6拮抗劑進行之治療時，中斷抗TNFα劑。

在某些實施例中，患者已用IL-1受體拮抗劑治療。在具體實施例中，IL-1受體拮抗劑為阿那白滯素。在特定實施例中，當啟動用IL-6拮抗劑進行之治療時，中斷IL-1受體拮抗劑。

在某些實施例中，患者已用阿巴西普治療。在特定實施例中，當啟動用IL-6拮抗劑進行之治療時，中斷阿巴西普。

在各種實施例中，IL-6介導之病症選自由以下組成之群：幼年期特發性關節炎、僵直性脊椎炎、斑狀牛皮癬、牛皮癬性關節炎、發炎性腸病、克羅恩氏病及潰瘍性結腸炎。

5.7 治療前血清IL-6及CRP含量

在本文中所描述之方法之典型實施例中，患者具有升高之治療前血清IL-6含量。

在一些實施例中，患者之治療前血清IL-6含量大於2.5 pg/ml。在各種實施例中，患者之治療前血清IL-6含量大於5 pg/ml、大於7.5 pg/ml、大於10 pg/ml、大於12.5 pg/ml或大於15 pg/ml。

在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使患者之血清IL-6含量降低而低於治療前含量之時間期。在某些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使患者之血清IL-6含量相較於治療前含量降低至少10%、20%、30%、40%或50%之時間期。

在各種實施例中，患者具有升高之治療前C反應蛋白(CRP)含

量。在一些實施例中，患者之治療前CRP含量大於2 mg/ml、2.5 mg/ml、3 mg/ml、3.5 mg/ml、4 mg/ml、4.5 mg/ml或5 mg/ml。在一些實施例中，患者之治療前CRP含量大於7.5 mg/ml、10 mg/ml、12.5 mg/ml或15 mg/ml。

在一些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使患者之CRP含量降低而低於治療前含量之時間期。在某些實施例中，按時程投與一劑IL-6拮抗劑劑量，且持續足以使患者之CRP含量相較於治療前含量降低至少10%、20%、30%、40%或50%之時間期。

5.8 *TMPRSS6* rs855791基因分型

本文中所描述之方法包含向已確定具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之個體投與治療有效量之IL-6拮抗劑。較佳地，鑑別對應於相關基因之兩個對偶基因，因此允許鑑別且區分以下患者：針對*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因為同型接合的，針對主要及次要*TMPRSS6* rs855791對偶基因為異型接合的，及針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因為同型接合的。

使用標準技術確定SNP rs855791 (2321G→A)在*TMPRSS6*基因中之缺乏(主要對偶基因)或存在(次要對偶基因)。

通常，PCR用以擴增獲自患者之生物樣本。

在一些實施例中，同時使用即時PCR(RT-PCR)在擴增下偵測多形現象之缺乏或存在。在某些實施例中，RT-PCR分析採用5'核酸酶(TaqMan®探針)、分子信標及/或FRET雜交探針。*綜述於*Espy等人，*Clin. Microbiol. Rev.* 2006年1月; 19(1): 165-256中，其以全文引用之方式併入本文中。在典型實施例中，使用商業上可獲得之分析。在所

選實施例中，商業上可獲得之分析選自由以下組成之群：TaqMan™ SNP基因分型分析(ThermoFisher)；PCR SNP基因分型分析(Qiagen)；Novallele 基因分型分析(Canon)；及SNP Type™分析(以前SNPtype) (Fluidigm)。

在一些實施例中，在擴增後使用用對SNP rs855791具有特異性之探針之雜交、限制性核酸內切酶消化、核酸定序、引子延伸、微陣列或基因晶片分析、質譜分析及/或DNA酶保護分析，來偵測多形現象之缺乏或存在。在一些實施例中，對偶基因變異體藉由定序判讀。在某些實施例中，使用桑格定序(Sanger sequencing)。在某些實施例中，使用各種下一代定序技術中之一者，包括例如選自由以下組成之群的定序技術：微陣列定序、Solexa定序(Illumina)、離子急流(Life Technologies)、SOliD (Applied Biosystems)、焦磷酸定序、單分子即時定序(Pacific Bio)、奈米孔定序及隧道電流定序。

5.9 IL-6拮抗劑

用於本文中所描述之方法之IL-6拮抗劑能夠降低IL-6之生物活性。

5.9.1 抗IL-6抗體

在各種實施例中，IL-6拮抗劑為抗IL-6抗體或其抗原結合片段或衍生物。

在一些實施例中，IL-6拮抗劑為全長抗IL-6單株抗體。在特定實施例中，全長單株抗體為IgG抗體。在某些實施例中，全長單株抗體為IgG1、IgG2、IgG3或IgG4抗體。在一些實施例中，IL-6拮抗劑為多株組合物，其包含全長抗IL-6抗體之複數種物質，該複數種物中之每

一者具有獨特CDR。在一些實施例中，IL-6拮抗劑為選自Fab、Fab'及F(ab')2片段之抗體片段。在一些實施例中，IL-6拮抗劑為scFv、經二硫鍵連接之Fv (dsFv)或單域抗體，諸如源於駱駝之VHH單域奈米抗體。在一些實施例中，IL-6拮抗劑為包含IL-6抗原結合片段之免疫結合物或融合物。在一些實施例中，抗體為雙特異性或多特異性的，其中抗原結合部分中之至少一者具有針對IL-6之特異性。

在一些實施例中，抗體為完全人類的。在一些實施例中，抗體為人類化的。在一些實施例中，抗體為嵌合的且具有非人類V區及人類C區域。在一些實施例中，抗體為鼠的。

在典型實施例中，抗IL-6抗體對人類IL-6之結合性具有小於100 nM之K_D。在一些實施例中，抗IL-6抗體對人類IL-6之結合性具有小於75 nM、50 nM、25 nM、20 nM、15 nM或10 nM之K_D。在特定實施例中，抗IL-6抗體對人類IL-6之結合性具有小於5 nM、4 nM、3 nM或2 nM之K_D。在所選擇實施例中，抗IL-6抗體對人類IL-6之結合性具有小於1 nM、750 pM或500 pM之K_D。在具體實施例中，抗IL-6抗體對人類IL-6之結合性具有不大於500 pM、400 pM、300 pM、200 pM或100 pM之K_D。

在典型實施例中，抗IL-6抗體中和IL-6之生物活性。在一些實施例中，中和抗體阻止IL-6結合至IL-6受體。

在典型實施例中，抗IL-6抗體在靜脈內投與後具有至少7天之消除半衰期。在某些實施例中，抗IL-6抗體之消除半衰期為至少14天、至少21天或至少30天。

在一些實施例中，相較於未經取代之人類IgG恆定域，抗IL-6抗

體具有具至少一個胺基酸取代(延長血清半衰期)之人類IgG恆定區。

在某些實施例中，IgG恆定域包含在殘基252、254及256處之取代，其中胺基酸殘基252處之胺基酸取代為經酪胺酸取代，胺基酸殘基254處之胺基酸取代為經蘇胺酸取代，且胺基酸殘基256處之胺基酸取代為經麩胺酸取代(「YTE」)。參見美國專利第7,083,784號，其以全文引用之方式併入本文中。在某些延長半衰期實施例中，IgG恆定域包含選自以下的取代：T250Q/M428L (Hinton等人, *J. Immunology* 176:346-356 (2006))；N434A (Yeung等人, *J. Immunology* 182:7663-7671 (2009))；或T307A/E380A/N434A (Petkova等人, *International Immunology*, 18: 1759-1769 (2006))。

在一些實施例中，抗IL-6抗體之消除半衰期藉由利用人類血清白蛋白之FcRN結合特性來增加。在某些實施例中，抗體結合至白蛋白(Smith等人, *Bioconjug. Chem.*, 12: 750-756 (2001))。在一些實施例中，抗IL-6抗體融合至細菌白蛋白結合域(Stork等人, *Prot. Eng. Design Science* 20: 569-76 (2007))。在一些實施例中，抗IL-6抗體融合至白蛋白結合肽(Nguygen等人, *Prot Eng Design Sel* 19: 291-297 (2006))。在一些實施例中，抗IL抗體為雙特異性，其中一種特異性針對IL-6，且一種特異性針對人類血清白蛋白(Ablynx，WO 2006/122825(雙特異性奈米抗體))。

在一些實施例中，抗IL-6抗體之消除半衰期藉由以下增加：PEG化(Melmed等人, *Nature Reviews Drug Discovery* 7: 641-642 (2008))；HPMA共聚物結合(Lu等人, *Nature Biotechnology* 17: 1101-1104 (1999))；聚葡萄糖結合(*Nuclear Medicine Communications*, 16: 362-

369 (1995))；與高胺基酸聚合物(HAP；HAP化)之結合(Schlapschy等人，*Prot Eng Design Sel* 20: 273-284 (2007))；或聚唾液酸化(Constantinou等人, *Bioconjug. Chem*. 20: 924-931 (2009))。

5.9.1.1.1 MEDI5117**及衍生物**

在某些實施例中，抗IL-6抗體或其抗原結合部分包含MEDI5117之所有六個CDR。在特定實施例中，抗體或其抗原結合部分包含MEDI5117重鏈V區及輕鏈V區。在具體實施例中，抗體為全長MEDI5117抗體。MEDI5117抗體描述於揭示內容以全文引用之方式併入本文中之WO 2010/088444及US 2012/0034212中。MEDI5117抗體具有以下CDR及重鏈及輕鏈序列：

MEDI5117 VH CDR1

SNYMI (SEQ ID NO:12)

MEDI5117 VH CDR2

DLYYYAGDTYYADSVKG (SEQ ID NO:13)

MEDI5117 VH CDR3

WADDHPPWIDL (SEQ ID NO:14)

MEDI5117 VL CDR1

RASQGISSWLA (SEQ ID NO:15)

MEDI5117 VL CDR2

KASTLES (SEQ ID NO:16)

MEDI5117 VL CDR3

QQSWLGGS (SEQ ID NO:17)

MEDI5117重鏈

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISSNYMIWVRQAPGKGLEWVSDLYYYAGDTYY
ADSVKGRFTMSRDISKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARWADDHPPWIDLWGRGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:18)

MEDI5117輕鏈

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKVLIYKASTLESGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQSWLGGSFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL
SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:19)

在各種實施例中，抗IL-6抗體為MEDI5117之衍生物。

在一些實施例中，MEDI5117衍生物在MEDI5117重鏈及/或輕鏈V區中包括一或多個胺基酸取代。

在某些實施例中，相對於MEDI5117抗IL-6抗體之最初V_H及/或V_L，衍生物包含少於25個胺基酸取代、少於20個胺基酸取代、少於15個胺基酸取代、少於10個胺基酸取代、少於5個胺基酸取代、少於4個胺基酸取代、少於3個胺基酸取代、少於2個胺基酸取代或1個胺基酸取代，同時保留針對人類IL-6之特異性。

在某些實施例中，MEDI5117衍生物包含與MEDI5117之VH及VL域之胺基酸序列至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%一致之胺基酸序列。使用BLAST演算法使用預設參數確定序列一致性百分比。

在某些實施例中，MEDI5117衍生物包含以下胺基酸序列：其中CDR包含與MEDI5117之各別CDR之胺基酸序列至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%一致之胺基酸序列。使用

BLAST演算法使用預設參數確定序列一致性百分比。

在某些實施例中，V_H及/或V_L CDR衍生物在一或多個經預測非必需胺基酸殘基(亦即，對抗體特異性結合至人類IL-6不至關重要之胺基酸殘基)處包含保守胺基酸取代。

5.9.1.1.2　其他抗IL-6抗體

在各種實施例中，抗IL-6抗體包含來自選自由以下組成之群的抗體之六個CDR：司妥昔單抗、格里林祖單抗、思魯庫單抗、克拉雜奇單抗、奧諾奇單抗、艾思莫單抗、VX30 (VOP-R003；Vaccinex)、EB-007 (EBI-029；Eleven Bio)、ARGX-109 (ArGEN-X)、FM101 (Femta Pharmaceuticals，Lonza)及ALD518/BMS-945429 (Alder Biopharmaceuticals，Bristol-Myers Squibb)。在某些實施例中，抗IL-6抗體包含來自選自由以下組成之群的抗體之重鏈V區及輕鏈V區：司妥昔單抗、格里林祖單抗、思魯庫單抗、克拉雜奇單抗、奧諾奇單抗、VX30 (VOP-R003；Vaccinex)、EB-007 (EBI-029；Eleven Bio)、ARGX-109 (ArGEN-X)、FM101 (Femta Pharmaceuticals，Lonza)及ALD518/BMS-945429 (Alder Biopharmaceuticals，Bristol-Myers Squibb)。在特定實施例中，抗IL-6抗體為選自由以下組成之群的抗體：司妥昔單抗、格里林祖單抗、思魯庫單抗、克拉雜奇單抗、奧諾奇單抗、VX30 (VOP-R003；Vaccinex)、EB-007 (EBI-029；Eleven Bio)、ARGX-109 (ArGEN-X)、FM101 (Femta Pharmaceuticals，Lonza)及ALD518/BMS-945429 (Alder Biopharmaceuticals，Bristol-Myers Squibb)。

在一些實施例中，抗IL-6抗體包含來自選自以下各者中所描述之

彼等抗體之抗體的六個CDR：US 2016/0168243、US 2016/0130340、US 2015/0337036、US 2015/0203574、US 2015/0140011、US 2015/0125468、US 2014/0302058、US 2014/0141013、US 2013/0280266、US 2013/0017575、US 2010/0215654、US 2008/0075726、美國專利第5,856,135號、US 2006/0240012、US 2006/0257407或美國專利第7291721號，其揭示內容以全文引用之方式併入本文中。

5.9.2 抗IL-6受體抗體

在各種實施例中，IL-6拮抗劑為抗IL-6受體抗體或其抗原結合片段或衍生物。

在一些實施例中，IL-6拮抗劑為全長抗IL-6受體單株抗體。在特定實施例中，全長單株抗體為IgG抗體。在某些實施例中，全長單株抗體為IgG1、IgG2、IgG3或IgG4抗體。在一些實施例中，IL-6拮抗劑為多株組合物，其包含全長抗IL-6受體抗體之複數種物質，該複數種物中之每一者具有獨特CDR。在一些實施例中，IL-6拮抗劑為選自Fab及Fab'片段之抗體片段。在一些實施例中，IL-6拮抗劑為scFv、單域抗體，包括源於駱駝之VHH單域奈米抗體。在一些實施例中，抗體為雙特異性或多特異性的，其中抗原結合部分中之至少一者具有針對IL-6R之特異性。

在一些實施例中，抗體為完全人類的。在一些實施例中，抗體為人類化的。在一些實施例中，抗體為嵌合的且具有非人類V區及人類C區域。在一些實施例中，抗體為鼠的。

在典型實施例中，抗IL-6受體抗體對人類IL-6R之結合性具有小

於100 nM之K_D。在一些實施例中，抗IL-6R抗體對人類IL-6R之結合性具有小於75 nM、50 nM、25 nM、20 nM、15 nM或10 nM之K_D。在特定實施例中，抗IL-6受體抗體對人類IL-6R之結合性具有小於5 nM、4 nM、3 nM或2 nM之K_D。在所選擇實施例中，抗IL-6受體抗體對人類IL-6R之結合性具有小於1 nM、750 pM或500 pM之K_D。在具體實施例中，抗IL-6受體抗體對人類IL-6R之結合性具有不大於500 pM、400 pM、300 pM、200 pM或100 pM之K_D。

在典型實施例中，抗IL-6R降低IL-6之生物活性。

在典型實施例中，抗IL-6R抗體在靜脈內投與後具有至少7天之消除半衰期。在某些實施例中，抗IL-6R抗體之消除半衰期為至少14天、至少21天或至少30天。

在一些實施例中，相較於未經取代之人類IgG恆定域，抗IL-6R抗體具有具至少一個胺基酸取代(延長血清半衰期)之人類IgG恆定區。

在某些實施例中，IgG恆定域包含在殘基252、254及256處之取代，其中胺基酸殘基252處之胺基酸取代為經酪胺酸取代，胺基酸殘基254處之胺基酸取代為經蘇胺酸取代，且胺基酸殘基256處之胺基酸取代為經麩胺酸取代(「YTE」)。參見美國專利第7,083,784號，其以全文引用之方式併入本文中。在某些延長半衰期實施例中，IgG恆定域包含選自以下的取代：T250Q/M428L (Hinton等人, J. Immunology 176:346-356 (2006))；N434A (Yeung等人, J. Immunology 182:7663-7671 (2009))；或T307A/E380A/N434A (Petkova等人, International Immunology, 18: 1759-1769 (2006))。

在一些實施例中，抗IL-6R抗體之消除半衰期藉由利用人類血清白蛋白之FcRN結合特性來增加。在某些實施例中，抗體結合至白蛋白(Smith等人, Bioconjug. Chem., 12: 750-756 (2001))。在一些實施例中，抗IL-6R抗體融合至細菌白蛋白結合域(Stork等人, Prot. Eng. Design Science 20: 569-76 (2007))。在一些實施例中，抗IL-6抗體融合至白蛋白結合肽(Nguygen等人, Prot Eng Design Sel 19: 291-297 (2006))。在一些實施例中，抗IL抗體為雙特異性的，其中一種特異性針對IL-6R，且一種特異性針對人類血清白蛋白(Ablynx，WO 2006/122825(雙特異性奈米抗體))。

在一些實施例中，抗IL-6R抗體之消除半衰期藉由以下增加：PEG化(Melmed等人, Nature Reviews Drug Discovery 7: 641-642 (2008))；HPMA共聚物結合(Lu等人, Nature Biotechnology 17: 1101-1104 (1999))；聚葡萄糖結合(Nuclear Medicine Communications, 16: 362-369 (1995))；與高胺基酸聚合物(HAP；HAP化)之結合(Schlapschy等人, Prot Eng Design Sel 20: 273-284 (2007))；或聚唾液酸化(Constantinou等人, Bioconjug. Chem. 20: 924-931 (2009))。

在某些實施例中，抗IL-6R抗體或其抗原結合部分包含托珠單抗之所有六個CDR。在特定實施例中，抗體或其抗原結合部分包含托珠單抗重鏈V區及輕鏈V區。在具體實施例中，抗體為全長托珠單抗抗體。

在某些實施例中，抗IL-6R抗體或其抗原結合部分包含莎麗路單抗(sarilumab)之所有六個CDR。在特定實施例中，抗體或其抗原結合部分包含莎麗路單抗重鏈V區及輕鏈V區。在具體實施例中，抗體為

全長莎麗路單抗抗體。

在某些實施例中，抗IL-6R抗體或其抗原結合部分包含以下之所有六個CDR：VX30 (Vaccinex)、ARGX-109 (arGEN-X)、FM101 (Formatech)、SA237 (Roche)、NI-1201 (NovImmune)或US 2012/0225060中所描述之抗體。

在某些實施例中，抗IL-6R抗體或其抗原結合部分為單域抗體。在特定實施例中，單域抗體為駱駝VHH單域抗體。在具體實施例中，抗體為夫巴利珠單抗(ALX-0061) (Ablynx NV)。

5.9.3 抗IL-6:IL-6R複合物抗體

在各種實施例中，IL-6拮抗劑為對IL-6與IL-6R之複合物具有特異性之抗體。在某些實施例中，抗體具有選自US 2011/0002936中所描述之彼等抗體之抗體的六個CDR，該US 2011/0002936以全文引用之方式併入本文中。

5.9.4 JAK及STAT抑制劑

已知IL-6經由JAK-STAT路徑傳信。

在各種實施例中，IL-6拮抗劑為JAK信號傳導路徑之抑制劑。在一些實施例中，JAK抑制劑為JAK1特異性抑制劑。在一些實施例中，JAK抑制劑為JAK3特異性抑制劑。在一些實施例中，JAK抑制劑為泛JAK抑制劑。

在某些實施例中，JAK抑制劑選自由以下組成之群：托法替尼(Xeljanz)、得森替尼、盧佐替尼、尤帕達替尼、巴瑞替尼、斐哥替尼、來妥替尼、帕瑞替尼、皮非替尼、INCB-039110、ABT-494、INCB-047986及AC-410。

在各種實施例中，IL-6拮抗劑為STAT3抑制劑。在一具體實施例中，抑制劑為AZD9150 (AstraZeneca，Isis Pharmaceuticals)、STAT3反義分子。

5.9.5 額外IL-6拮抗劑

在各種實施例中，IL-6拮抗劑為拮抗劑肽。

在某些實施例中，IL-6拮抗劑為C326 (Avidia之IL-6抑制劑，亦稱為AMG220)或FE301，一種IL-6之重組蛋白抑制劑(Ferring International Center S.A.，Conaris Research Institute AG)。在一些實施例中，抗IL-6拮抗劑包含可溶性gp130、FE301 (Conaris/Ferring)。

5.10 給藥方案

5.10.1 抗體、抗原結合片段、肽

在典型實施例中，抗體、抗原結合片段及肽IL-6拮抗劑非經腸投與。

在一些非經腸實施例中，IL-6拮抗劑經靜脈內投與。在某些靜脈內實施例中，IL-6拮抗劑以藥團形式投與。在某些靜脈內實施例中，IL-6拮抗劑以輸液形式投與。在某些靜脈內實施例中，IL-6拮抗劑以藥團形式、隨後以輸液形式投與。在一些非經腸實施例中，IL-6拮抗劑經皮下投與。

在各種實施例中，抗體、抗原結合片段或肽IL-6拮抗劑以不依賴患者體重或表面積之劑量(均一劑量)投與。

在一些實施例中，靜脈內均一劑量為1 mg、2 mg、3 mg、4 mg、5 mg、6 mg、7 mg、8 mg、9 mg或10 mg。在一些實施例中，靜脈內均一劑量為11 mg、12 mg、13 mg、14 mg、15 mg、16 mg、17

mg、18 mg、19 mg或20 mg。在一些實施例中，靜脈內均一劑量為25 mg、30 mg、40 mg或50 mg。在一些實施例中，靜脈內均一劑量為60 mg、70 mg、80 mg、90 mg或100 mg。在一些實施例中，靜脈內均一劑量為1 - 10mg、10 - 15 mg、15 - 20 mg、20 - 30 mg、30 - 40 mg或40 - 50 mg。在一些實施例中，靜脈內均一劑量為1 - 40 mg或50 - 100 mg。

在一些實施例中，皮下均一劑量為10 mg、20 mg、30 mg、40 mg、50 mg、60 mg、70 mg、80 mg、90 mg或100 mg。在一些實施例中，皮下均一劑量為110 mg、120 mg、130 mg、140 mg、150 mg、160 mg、170 mg、180 mg、190 mg或200 mg。在一些實施例中，皮下均一劑量為210 mg、220 mg、230 mg、240 mg或250 mg。在一些實施例中，皮下均一劑量為10 - 100 mg、100 - 200 mg或200 - 250 mg。在一些實施例中，皮下均一劑量為10 - 20 mg、20 - 30 mg、30 - 40 mg、40 - 50 mg、50 - 60 mg、60 - 70 mg、70 - 80 mg、80 - 90 mg或90 - 100 mg。在一些實施例中，皮下均一劑量為100 - 125 mg、125 - 150 mg、150 -175 mg、175 - 200 mg或200 - 250 mg。

在各種實施例中，抗體、抗原結合片段或肽IL-6拮抗劑以基於患者體重之劑量投與。

在一些實施例中，拮抗劑以0.1 mg/kg、0.2 mg/kg、0.3 mg/kg、0.4 mg/kg、0.5 mg/kg、0.6 mg/kg、0.7 mg/kg、0.8 mg/kg、0.9 mg/kg或1.0 mg/kg之靜脈內劑量投與。在一些實施例中，拮抗劑以1.5 mg/kg、2 mg/kg、2.5 mg/kg、3 mg/kg、3.5 mg/kg、4 mg/kg、4.5 mg/kg或5 mg/kg之劑量投與。

在一些實施例中，皮下之基於體重之劑量為0.1 mg/kg、0.2 mg/kg、0.3 mg/kg、0.4 mg/kg、0.5 mg/kg、0.6 mg/kg、0.7 mg/kg、0.8 mg/kg、0.9 mg/kg或1.0 mg/kg。在一些實施例中，拮抗劑以1.5 mg/kg、2 mg/kg、2.5 mg/kg、3 mg/kg、3.5 mg/kg、4 mg/kg、4.5 mg/kg或5 mg/kg之劑量投與。

在各種靜脈內實施例中，IL-6拮抗劑每7天投與一次、每14天投與一次、每21天投與一次、每28天投與一次或一月投與一次。在各種皮下實施例中，IL-6拮抗劑每14天投與一次、每28天投與一次、一月投與一次、每兩個月(每隔一個月)投與一次或每三個月投與一次。

在某些較佳實施例中，IL-6拮抗劑為MEDI5117抗體。在各種實施例中，MEDI5117以1 -30 mg之均一劑量每週一次IV投與。在某些實施例中，MEDI5117抗體以1、2、3、4、5、7.5、10、15、20、25或30 mg之均一劑量每週一次IV投與。在一些實施例中，MEDI5117抗體以25 - 250 mg之均一劑量每月一次至每三個月一次s.c.投與。在特定實施例中，MEDI5117以30 mg、45 mg、60 mg、75 mg、100 mg、120 mg、125 mg、150 mg、175 mg、200 mg、225 mg、240 mg或250 mg之劑量每月一次、每兩個月一次或每3個月一次s.c.投與。

在一些實施例中，IL-6拮抗劑為托珠單抗。在各種實施例中，針對≥100 kg之患者，托珠單抗以162 mg之起始劑量每週一次s.c.投與。在一些實施例中，基於臨床反應，托珠單抗以4 mg/kg劑量每4週一次、隨後升高至8 mg/kg每4週一次靜脈內投與。

5.10.2 JAK及STAT抑制劑

在典型實施例中，小分子JAK抑制劑及STAT抑制劑經口投與。

在各種實施例中，抑制劑以1 - 10 mg、10 - 20 mg、20 - 30 mg、30 - 40 mg或40 - 50 mg之口服劑量一天一次或兩次投與。在一些實施例中，抑制劑以50 - 60 mg、60 - 70 mg、70 - 80 mg、80 - 90 mg或90 - 100 mg之劑量一天一次或兩次投與。在一些實施例中，抑制劑以5、10、15、20、25、30、35、40、45或50 mg之劑量一天一次或兩次PO投與。在一些實施例中，抑制劑以75 mg劑量PO QD或BID投與，以100 mg劑量PO QD或BID投與。

在某些實施例中，JAK抑制劑為托法替尼，且以5 mg劑量PO BID投與，或以11 mg劑量PO QD投與。

在某些實施例中，JAK抑制劑為得森替尼，且以25 mg、50 mg、100 mg或150 mg之劑量PO BID投與。

在某些實施例中，抑制劑為盧佐替尼，且以25 mg劑量PO BID投與，以20 mg劑量PO BID投與，以15 mg劑量PO BID投與，以10 mg劑量PO BID投與或以5 mg劑量PO BID投與。

5.11 其他治療劑

在本文中所描述之方法之各種實施例中，方法進一步包含投與除IL-6拮抗劑之外之治療劑，其中第二治療劑亦能夠降低海帕西啶表現。

在一些實施例中，第二治療劑為BMP拮抗劑。在某些實施例中，BMP拮抗劑為抗BMP6抗體。在特定實施例中，抗BMP6抗體具有US 2016/0176956或US 2016/0159896中所描述之抗體之六個CDR，該等案之揭示內容以全文引用之方式併入本文中。

在某些實施例中，第二治療劑為鐵調素調節蛋白拮抗劑。在特

定實施例中，鐵調素調節蛋白拮抗劑為抗鐵調素調節蛋白抗體。在具體實施例中，抗鐵調素調節蛋白抗體具有Kovac等人，*Haematologica* (2016) doi:10.3324/ haematol.2015.140772[印刷之前的電子版]中所揭示之抗體的六個CDR。

在某些實施例中，第二治療劑為海帕西啶拮抗劑。在特定實施例中，海帕西啶拮抗劑為抗海帕西啶抗體。在具體實施例中，抗體具有US 2016/0017032中所描述之抗體之六個CDR，該案之揭示內容以全文引用之方式併入本文中。

5.12 套組

在另一態樣中，提供套組。

在典型實施例中，套組提供試劑以自獲自患者之生物樣本確定患者之*TMPRSS6* SNP rs855791位置處之基因型。

5.13 其他態樣及實施例

5.13.1 治療慢性腎病或心血管疾病中之發炎之方法

在其他態樣及實施例中，提供用於用IL-6拮抗劑表徵且治療慢性腎病或心血管疾病中之發炎之組合物及方法，以及用於表徵患者對治療之反應之方法。

此等態樣及實施例至少部分基於以下發現：具有在核苷酸位置2321處包含G或C之*TMPRSS6*的一或多個對偶基因(編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽)的慢性腎病患者及心血管疾病患者之發炎使得此等患者具有較高死亡風險，且此類個體可用IL-6拮抗劑治療以降低此風險。如下文更詳細報導，將慢性腎病患者基因分型，分析IL-6及CRP之血清含量，且將此等診斷資料與所投與之EPO給藥

及死亡風險相比。具有在核苷酸位置2321處包含G或C之*TMPRSS6*之一或多個對偶基因(編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽)，及升高之IL-6及/或CRP含量的患者需要更高之EPO劑量來治療，且具有較高死亡率。已顯示在鑑別患有缺鐵性貧血之患者中，此位置處之核苷酸很重要(參見Finberg等人，*Nat. Genet.* 2008; 40(5): 569-571，將其教示且關於序列、變異體、命名法等之全部內容特此以全文引用之方式併入)。此等資料強烈地支持基於*TMPRSS6*基因型鑑別患者子集，其需要較高的EPO劑量及/或具有較高死亡風險，且在存在或不存在用於治療貧血(例如與慢性腎病相關)之標準療法下將可能對IL-6抑制起反應。藉由抑制發炎，可減少EPO給藥，從而避免EPO之不利副作用(例如心血管風險)。

此等態樣及實施例進一步基於以下發現：具有在核苷酸位置2321處包含G或C之*TMPRSS6*之一或多個對偶基因(編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽)的患者處於與心肌梗塞或心血管疾病相關之更高的死亡風險下。此等患者將亦可能受益於IL-6抑制，其將降低發炎及增加之風險。

因此，提供以下治療方法：藉由抑制例如在藉由SNP rs855791處之*TMPRSS6*基因分型而選擇之患者中之IL-6生物活性，藉由阻斷IL-6或其受體(gp80)彼此結合，或阻斷其信號傳導或表現(例如藉由抗IL-6抗體或藉由抗IL-6R抗體或JAK1/STAT3抑制)，來治療與心血管疾病或慢性腎病(包括慢性腎病貧血)相關之發炎，及/或降低與此類病狀相關之死亡風險。在一個實施例中，慢性腎病之治療在存在或不存在用於貧血之標準治療以及以下方法下進行：例如藉由對SNP rs855791處

之*TMPRSS6*基因分型且偵測發炎標記物之含量(例如增加之IL-6及/或CRP血清含量)，來表徵罹患慢性腎病之患者對用於貧血之治療的反應。

提供藉由投與抑制IL-6生物活性或表現之藥劑來治療心血管疾病或慢性腎病貧血及/或降低與此類患者之慢性發炎相關之死亡的方法。

在一些態樣及實施例中，提供用於治療促進患有慢性腎病或心血管疾病之個體之死亡的慢性發炎，且用於表徵患者對此類療法之反應之組合物及方法。在特定實施例中，提供用於表徵且治療慢性發炎貧血及死亡(例如在慢性腎病中)以及用於表徵患者對用於貧血之治療(例如投與紅血球生成素或紅血球生成刺激劑)之反應的方法。在一個態樣中，提供治療經選擇個體之慢性發炎之方法，方法包含向個體投與IL-6拮抗劑，其中針對治療，個體藉由具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因經選擇。

在另一態樣中，提供用於治療患有心血管疾病或慢性腎病之經選擇個體之發炎或慢性發炎的方法，方法涉及向個體投與IL-6拮抗劑(例如抗IL-6抗體)，其中針對治療，個體藉由具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因經選擇。在一個實施例中，方法降低個體之死亡風險。在一個實施例中，個體具有心肌梗塞或心臟衰竭之病史。

在另一態樣中，提供降低患有心血管疾病或腎病之經選擇個體之發炎及死亡風險的方法，方法包含向個體投與IL-6拮抗劑(例如抗IL-6抗體)，其中個體經選擇為具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺

酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因，且相對於參照患有增加之發炎。在一個實施例中，個體具有心肌梗塞或心臟衰竭之病史。

在另一態樣中，提供用於降低患有慢性腎病或心臟衰竭之個體之死亡風險的方法，方法包含向個體投與IL-6拮抗劑，其中個體經鑑別為具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因，且相對於參照患有增加之發炎。

在另一態樣中，提供治療個體之貧血之方法，方法涉及向個體投與單獨或與用於貧血之療法組合之IL-6拮抗劑，其中個體經鑑別為具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽(亦稱為間質蛋白酶-2；MT2)之一或多個對偶基因(例如在*TMPRSS6*核酸分子之核苷酸位置2321處具有G或C)，且相對於參照患有增加之發炎。

在另一態樣中，提供治療患有增加之發炎的個體之貧血之方法，方法涉及以有效地中和個體之發炎之量投與單獨或與促紅血球形成因子組合之IL-6拮抗劑(例如IL-6抗體),該個體具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因(例如在*TMPRSS6*核酸分子之核苷酸位置2321處具有G或C)。

在再一態樣中，提供在鑑別為有需要之個體中增強對EPO之反應的方法，方法包含以有效地中和個體之發炎之量投與IL-6拮抗劑(例如IL-6抗體)，從而減少EPO劑量，該個體具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因(例如在*TMPRSS6*核酸分子之核苷酸位置2321處具有G或C)。

在另一態樣中，提供降低患有增加之發炎的個體之死亡之方法，方法涉及以有效地中和個體之發炎之量投與IL-6拮抗劑，該個體

具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因(例如在*TMPRSS6*核酸分子之核苷酸位置2321處具有G或C)。

在又一態樣中，提供為鑑別為有需要之個體選擇療法之方法，方法涉及：表徵以下個體：具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因(例如在*TMPRSS6*核酸分子之核苷酸位置2321處具有G或C)；及偵測一或多種發炎標記物IL-6或CRP之含量，其中表徵指示IL-6拮抗劑應單獨或與用於貧血之療法組合投與。

在又一態樣中，提供用於增加鑑別為有需要之個體中之紅血球或其祖細胞(例如造血幹細胞、前紅血球母細胞、紅血球母細胞或網狀紅血球)的增殖或存活之方法，方法包含向個體投與IL-6拮抗劑及促紅血球形成因子，其中個體經鑑別為具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因(例如在*TMPRSS6*核酸分子之核苷酸位置2321處具有G或C)，且相對於參照患有增加之發炎。

在本文中所敘述態樣中之任一者之各種實施例中，個體患有或經鑑別為患有貧血，包括癌症貧血、慢性自體免疫疾病中之貧血、慢性發炎疾病中之貧血、心血管疾病中之貧血、代謝症候群中之貧血及其類似貧血。在本文中所敘述態樣中之任一者之各種實施例中，個體患有或經鑑別為患有慢性腎病。在本文中所敘述態樣中之任一者之各種實施例中，個體患有或經鑑別為患有發炎。在本文中所敘述態樣中之任一者之各種實施例中，個體具有或經鑑別為具有增加之與慢性發炎、慢性腎病或心血管疾病相關之死亡風險。在本文中所敘述態樣中

之任一者之各種實施例中，個體經鑑別為需要治療。在本文中所敘述態樣中之任一者之各種實施例中，個體患有或經鑑別為患有增加之發炎。在本文中所敘述態樣中之任一者之各種實施例中，個體具有或經鑑別為具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因(例如在*TMPRSS6*核酸分子之核苷酸位置2321處具有G或C)，且相對於參照患有增加之發炎。在本文中所敘述態樣中之任一者之各種實施例中，方法包含向個體投與IL-6拮抗劑。在本文中所敘述態樣中之任一者之各種實施例中，方法包含向個體投與IL-6拮抗劑及用於貧血之療法。在本文中所敘述態樣中之任一者之各種實施例中，個體為人類。

在本文中所敘述態樣中之任一者之各種實施例中，用於貧血之療法包含投與促紅血球形成因子。在各種實施例中，促紅血球形成因子為紅血球生成素、紅血球生成刺激劑、HIF安定劑及補充鐵中之一或多者。

在各種實施例中，增加之發炎之特徵在於相對於參照組，增加之IL-6及/或CRP含量(例如如藉由習知CRP分析或高敏感性分析(hsCRP)所量測，以上兩者偵測CRP，但在分析效能方面不同)。在各種實施例中，增加之發炎表徵為IL-6大於約5 pg/ml。在各種實施例中，增加之發炎表徵為CRP大於約2 mg/L。

在本文中所敘述態樣中之任一者之各種實施例中，IL-6拮抗劑以有效地中和發炎之量投與。在各種實施例中，有效地中和發炎之量使IL-6降低至小於約15 pg/ml、小於約10 pg/ml或小於約5 pg/ml。在各種實施例中，有效地中和發炎之量使CRP降低至小於約2 mg/L或小於

約0.2 mg/L。

在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，投與IL-6拮抗劑或抗IL-6抗體減少EPO之劑量。在某些實施例中，EPO之劑量減少約40 IU/kg/週、約50 IU/kg/週、約80 IU/kg/週、約100 IU/kg/週或大於100 IU/kg/週。在各種實施例中，投與IL-6拮抗劑或抗IL-6抗體降低經增加EPO劑量之副作用。

在一個實施例中，在存在或不存在用於貧血之標準治療下治療患有慢性腎病之患者。詳言之，在存在或不存在用於貧血之治療(例如投與EPO、ESA、HIF安定劑、補充鐵或紅細胞輸注)下，向患有與慢性腎病相關之貧血之個體提供抑制IL-6生物活性或表現之藥劑。用於貧血之治療藉由刺激紅血球生成或紅血球產生起作用。因此，亦可投與增加紅血球或其祖細胞之生長或增殖及/或降低紅血球或其祖細胞之細胞死亡的藥劑。紅血球祖細胞包括例如造血幹細胞、常見骨髓祖細胞、前紅血球母細胞、紅血球母細胞、網狀紅血球或能夠分化或成熟化成紅血球之任何細胞。

藉由阻斷IL-6或其受體(gp80)彼此結合或阻斷其信號傳導或表現來抑制IL-6生物活性之藥劑可以醫藥組合物形式提供至患有與慢性腎病相關之貧血之個體，其中醫藥組合物包含有效量之藥劑、用於治療貧血之藥劑(例如EPO、ESA、HIF脯胺醯基-羥化酶抑制劑、補充鐵)及適合之賦形劑。在一個實施例中，藥劑為降低個體中之IL-6多肽或核酸分子之含量或活性、或抑制藉由IL-6受體活化觸發之胞內信號傳導的IL-6拮抗劑或抗IL-6抗體。抗IL-6抗體(例如MEDI5117)可與用於貧血之治療(例如投與EPO、ESA、HIF安定劑、補充鐵)組合而投與。

用於貧血之治療之方法視患者之*TMPRSS6*基因型及患者之發炎狀態而變化。在用於貧血之治療(例如投與EPO、ESA、HIF安定劑、補充鐵)之情況下，針對在核苷酸位置2321處包含G或C之*TMPRSS6*之主要對偶基因(編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽)為同型接合或異型接合的且具有升高之發炎標記物(例如IL-6及/或CRP)含量之患者經投與IL-6拮抗劑或抗IL-6抗體，其降低IL-6多肽之含量或活性。針對在核苷酸位置2321處包含A或T之*TMPRSS6*之次要對偶基因(編碼在胺基酸位置736處包含纈胺酸之*TMPRSS6*多肽)為同型接合之患者不需要抗IL-6療法來補充用於貧血之治療。用於貧血之治療之方法可視慢性腎病之階段、患者年齡、健康狀況及物理條件而變化。

在另一態樣中，提供適用於表徵患有與慢性發炎相關之貧血(例如在慢性腎病中)之個體的分析。發炎標記物IL-6及CRP可藉由任何適合之方法偵測。本文中所描述之方法可個別地或以組合形式使用以用於偵測IL-6或CRP生物標記物及/或發炎病狀。在一個實施例中，相對於參照(例如來自健康對照個體之血清)之表現，發炎藉由偵測個體之生物樣本(例如血清)中之IL-6及/或CRP多肽之含量來表徵，其中IL-6及/或CRP表現之增加指示發炎。在另一實施例中，IL-6及/或CRP表現之增加指示患有與慢性腎病相關之貧血之個體將不對用於貧血之治療起反應，及/或當與IL-6拮抗劑(例如抗IL-6抗體)組合投與時，將對用於貧血之治療起反應。

在一個實施例中，IL-6及/或CRP多肽含量藉由免疫分析來量測。免疫分析通常使用抗體(或特異性結合標記物之其他藥劑)以偵測生物標記物在樣本中之存在或含量。抗體可藉由此項技術中熟知之方法

(例如藉由使具有生物標記物或其片段之動物免疫)來製備。生物標記物可基於其結合特徵自樣本分離。或者，若多肽生物標記物之胺基酸序列為已知的，則多肽可經合成且用以藉由此項技術中熟知之方法產生抗體。

在各種實施例中，使用傳統的免疫分析，包括例如西方墨點；夾心免疫分析，包括ELISA及其他酶免疫分析；基於螢光之免疫分析及化學發光。濁度測定法為在液相中進行之分析，其中抗體在溶液中。抗原與抗體之結合導致吸光度變化，測量該吸光度。其他形式之免疫分析包括磁性免疫分析、放射免疫分析及即時免疫定量PCR (iqPCR)。其他偵測方法包括液相層析及質譜分析。

可在固體基板(例如晶片、珠粒、微流體平台、膜)上或在任何支持抗體與標記物結合及後續偵測之其他形式上進行免疫分析。可一次偵測單一標記物或可使用多重格式。多重免疫分析可能涉及平面微陣列(蛋白質晶片)及基於珠粒之微陣列(懸浮陣列)。

選擇患有鑑別為具有增加之IL-6及/或CRP多肽含量之貧血之慢性腎病患者用於使用降低IL-6表現或活性之藥劑(例如抗IL-6抗體)之治療與貧血之治療組合。用本發明方法治療之患者可藉由偵測治療後血紅素、血容比、紅血球生成素劑量、IL-6及/或CRP表現之變化來監測。顯示IL-6及/或CRP表現降低及/或發炎降低之患者經鑑別為對IL-6抑制起反應。

其他態樣及實施例提供於以下編號條項中。

1. 一種治療經選擇個體之慢性發炎之方法，該方法包含向個體投與IL-6拮抗劑，其中選擇治療之個體具有一或多個編碼包含丙胺

酸在胺基酸位置736之*TMPRSS6*多肽之對偶基因。

2. 一種治療患有心血管疾病、心臟衰竭及/或慢性腎病之經選擇個體之發炎的方法，該方法包含向個體投與IL-6拮抗劑，其中選擇治療之個體具有一或多個編碼包含丙胺酸在胺基酸位置736之*TMPRSS6*多肽之對偶基因。

3. 一種降低患有心血管疾病、心臟衰竭及/或慢性腎病之經選擇個體之發炎及死亡風險的方法，該方法包含向個體投與IL-6拮抗劑，其中個體經選擇為具有一或多個編碼包含丙胺酸在胺基酸位置736之*TMPRSS6*多肽之對偶基因，且相對於參照者患有增加之發炎。

4. 一種治療患有慢性腎病之個體之貧血的方法，該方法包含向個體投與IL-6拮抗劑，其中個體經鑑別為具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因，且相對於參照患有增加之發炎。

5. 如條項1至4中任一項之方法，其中IL-6拮抗劑以有效地中和發炎之量投與。

6. 如條項1至4中任一項之方法，其中IL-6拮抗劑為抗IL-6抗體。

7. 如條項5之方法，其中該方法進一步包含向個體投與促紅血球形成因子。

8. 如條項1至4中任一項之方法，其中該方法降低個體之死亡風險。

9. 一種降低患有慢性腎病或心臟衰竭之個體之死亡風險的方法，該方法包含向個體投與IL-6拮抗劑，其中個體經鑑別為具有編碼

在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因，且相對於參照患有增加之發炎。

10. 一種治療患有增加之發炎的個體之貧血之方法，該方法包含：

以有效地中和個體之發炎之量投與促紅血球形成因子及抗IL-6抗體,該個體具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因。

11. 如條項1至10中任一項之方法，其中增加之發炎之特徵在於相對於參照增加之IL-6及/或CRP含量。

12. 如條項11之方法，其中增加之發炎表徵為IL-6大於約5 pg/ml、約10 pg/ml或約15 pg/ml。

13. 如條項10之方法，其中增加之發炎表徵為CRP大於約2 mg/L。

14. 如條項10之方法，其中促紅血球形成因子為紅血球生成素、紅血球生成刺激劑、HIF安定劑及補充鐵中之一或多者。

15. 一種在鑑別為有需要之個體中增強對EPO之反應的方法，該方法包含以有效地中和個體之發炎之量投與IL-6拮抗劑或抗IL-6抗體，從而增強個體對EPO之反應，該個體具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因。

16. 如條項15之方法，其中有效地中和發炎之抗IL-6抗體的量使IL-6降低至小於約15 pg/ml、小於約10 pg/ml或小於約5 pg/ml。

17. 如條項16之方法，其中有效地中和發炎之IL-6拮抗劑或抗IL-6抗體的量使CRP降低至小於約2 mg/L。

18. 如條項15之方法，其中投與IL-6拮抗劑或抗IL-6抗體減少EPO之劑量。

19. 如條項17之方法，其中EPO之劑量減少約40 IU/kg/週、約50 IU/kg/週、約80 IU/kg/週、約100 IU/kg/週或大於100 IU/kg/週。

20. 如條項15之方法，其中投與IL-6拮抗劑或抗IL-6抗體降低經增加EPO之副作用。

21. 一種為鑑別為有需要之個體選擇療法之方法，該方法包含：

a)將個體表徵為具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因；及

b)偵測一或多種發炎標記物IL-6及CRP之含量，其中表徵指示IL-6拮抗劑應與用於貧血之療法組合投與。

22. 如條項21之方法，其中該方法進一步包含向個體投與IL-6拮抗劑及用於貧血之療法。

23. 如條項21之方法，其中用於貧血之療法包含投與促紅血球形成因子。

24. 一種用於增加鑑別為有需要之個體中之紅血球或其祖細胞的增殖或存活之方法，該方法包含向個體投與IL-6拮抗劑及促紅血球形成因子，其中個體經鑑別為具有編碼在胺基酸位置736處包含丙胺酸之*TMPRSS6*多肽之一或多個對偶基因，且其中個體相對於參照患有增加之發炎。

25. 如條項24之方法，其中該方法降低紅血球或其祖細胞之細胞死亡。

26. 如條項24之方法，其中祖細胞為造血幹細胞、前紅血球母細胞、紅血球母細胞或網狀紅血球。

27. 如條項15至24中任一項之方法，其中個體患有慢性腎病。

28. 如條項15至24中任一項之方法，其中個體患有貧血。

29. 如條項28之方法，其中貧血為癌症貧血、慢性自體免疫疾病中之貧血、慢性發炎疾病中之貧血或代謝症候群中之貧血。

30. 如條項15至24中任一項之方法，其中IL-6拮抗劑以有效地中和發炎之量投與。

31. 如條項15至24中任一項之方法，其中IL-6拮抗劑為抗IL-6抗體。

32. 如條項15至24中任一項之方法，其中增加之發炎之特徵在於相對於參照增加之IL-6及/或CRP含量。

33. 如條項15至24中任一項之方法，其中增加之發炎表徵為IL-6大於約5 pg/ml、約10 pg/ml或約15 pg/ml。

34. 如條項15至24中任一項之方法，其中增加之發炎表徵為CRP大於約2 mg/L。

35. 如條項15至24中任一項之方法，其中有效地中和發炎之量使IL-6降低至小於約10 pg/ml或小於約5 pg/ml。

36. 如條項15至24中任一項之方法，其中有效地中和發炎之量使CRP降低至小於約2 mg/L。

37. 如條項15至24中任一項之方法，其中促紅血球形成因子為紅血球生成素、紅血球生成刺激劑、HIF安定劑及補充鐵中之一或多者。

38. 如條項24之方法，其中投與IL-6拮抗劑減少EPO之劑量。

39. 如條項38之方法，其中IL-6拮抗劑為抗IL-6抗體。

40. 如條項38之方法，其中EPO之劑量減少約40 IU/kg/週、約50 IU/kg/週、約80 IU/kg/週、約100 IU/kg/週或大於100 IU/kg/週。

41. 如條項23之方法，其中投與IL-6拮抗劑降低經增加EPO之副作用。

42. 如條項1至40中任一項之方法，其中對偶基因在*TMPRSS6*聚核苷酸之2321位置處包含G。

43. 如條項1至42中任一項之方法，其中IL-6拮抗劑為具有一或多個選自以下核酸序列之CDR之抗IL-6抗體：

SNYMI (SEQ ID NO: 12)；

DLYYYAGDTYYADSVKG (SEQ ID NO: 13)；

WADDHPPWIDL (SEQ ID NO:14)；

RASQGISSWLA (SEQ ID NO: 15)；

KASTLES (SEQ ID NO: 16)；及

QQSWLGGS (SEQ ID NO: 17)。

44. 如條項42之方法，其中抗IL-6抗體具有包含序列SNYMI (SEQ ID NO: 12)之重鏈CDR1；包含序列DLYYYAGDTYYADSVKG (SEQ ID NO: 13)之重鏈CDR2；包含序列WADDHPPWIDL (SEQ ID NO: 14)之重鏈CDR3；包含序列RASQGISSWLA (SEQ ID NO: 15)之輕鏈CDR1；包含序列(SEQ ID NO: 16)之輕鏈CDR2；及包含序列QQSWLGGS (SEQ ID NO 17)之輕鏈CDR3。

45. 如條項42之方法，其中抗IL-6抗體具有包含以下序列之重

鏈：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTISSNYMIWVRQAPGKGLEWVSDLYYYAGDTYY
ADSVKGRFTMSRDISKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCARWADDHPPWIDLWGRGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 18)。

46. 如條項42之方法，其中抗IL-6抗體具有包含以下序列之輕鏈：

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKVLIYKASTLESGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQSWLGGSFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS

DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL

SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 19)。

47. 如條項42之方法，其中抗IL-6抗體為MEDI5117。

48. 如條項1至47中任一項之方法，其中個體為人類。

5.13.2 用於治療心腎症候群之方法

在其他態樣及實施例中，提供用於治療心腎症候群之組合物及方法。

此等態樣及實施例至少部分地基於以下發現：心腎症候群之嚙齒動物模型中心臟損傷之抗IL-6治療具有與標準護理治療等效之作用。如下文更詳細報導，心肌梗塞後，心腎症候群之嚙齒動物模型用抗IL-6或標準護理療法(ACE抑制劑、培哚普利)治療。治療後，量測心臟組織中之射血分數、心肌收縮力及纖維化組織之百分比。與用對照治療劑治療之個體組中之含量相比，用抗IL-6治療之個體組及用標準護理療法治療之個體組中之射血分數之程度均增加。與用對照治療

劑治療之個體組中之含量相比，用抗IL-6治療之組及用標準護理療法治療之組中之心肌收縮性均增加。與用對照治療劑治療之個體組中之量相比，用抗IL-6治療之組及用標準護理療法治療之組中之纖維化組織的量均減少。此外，在用抗IL-6治療之個體組及用標準護理療法治療之個體組中，射血分數之程度及纖維化組織之量類似。結果表明在治療嚙齒動物模型中之心腎症候群中，抗IL-6療法具有與標準護理療法等效之功效。

此等態樣及實施例進一步至少部分地基於以下發現：鑑別為在心肌梗塞後患有心腎症候群且具有升高之IL-6含量的患者尤其具有增加之心血管死亡(包括心臟衰竭)風險。不受理論束縛，IL-6可在心腎症候群之發展及/或進程中起病因作用。因此心肌梗塞後具有升高之IL-6含量之患者或患有心腎症候群及升高之IL-6含量之患者將可能受益於IL-6抑制。

因此，提供用於治療患有心腎症候群之個體之心臟及/或腎損傷的治療方法，其涉及向個體投與IL-6拮抗劑。在一些實施例中，在存在或不存在用於心腎症候群之標準治療下，為患有心腎症候群之個體之心臟及/或腎損傷進行治療。亦提供用於表徵心肌梗塞後患者之心血管死亡風險之方法，該方法涉及在獲自該患者之生物樣本中偵測IL-6含量之增加。

在一個態樣中，提供治療患有心腎症候群之個體之心臟及/或腎損傷的方法，該方法涉及向個體投與IL-6拮抗劑。

在另一態樣中，提供增加患有心腎症候群之個體之心臟功能的方法，該方法涉及向個體投與IL-6拮抗劑。

在再一態樣中，提供降低患有心腎症候群之個體之纖維化的方法，該方法涉及向個體投與IL-6拮抗劑。

在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，該方法進一步涉及向個體投與標準護理療法。在各種實施例中，標準護理療法為血管收縮素轉化酶(ACE)抑制劑。

在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，心臟功能增加之特徵在於相對於參照組，個體之射血分數及/或心肌收縮力之增加。在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，纖維化降低之特徵在於相對於參照組，來自個體之組織樣本中纖維化組織之百分比之降低。在各種實施例中，纖維化係在心臟組織中。

在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，個體患有心臟及/或腎損傷。在本文中所敍述態樣中之任一者之各種實施例中，個體患有心臟損傷，隨後患有腎損傷。

在另一態樣中，本發明提供一種在個體中鑑別心肌梗塞後個體之心血管死亡(例如心臟衰竭)風險增加的方法，該方法涉及相對於參照組，量測來自個體之樣本中IL-6聚核苷酸或多肽中之一或多者之含量，其中IL-6聚核苷酸或多肽中之一或多者的含量增加時，指示心血管死亡風險增加。

在再一態樣中，本發明提供一種在個體中表徵心肌梗塞後個體之心血管死亡(例如心臟衰竭)風險的方法，該方法涉及量測相對於參照來自個體之樣本中IL-6聚核苷酸或多肽中之一或多者之含量，其中增加之IL-6聚核苷酸或多肽中之一或多者的含量指示增加之心血管死亡風險。

在本文中所敘述態樣中之任一者之各種實施例中，個體患有心腎症候群、心臟衰竭、慢性腎病或無心腎病變。在本文中所敘述態樣中之任一者之各種實施例中，個體經鑑別為在心肌梗塞後約一個月患有心腎症候群、心臟衰竭、慢性腎病或無心腎病變。

在另一態樣中，本發明提供一種治療患有心腎症候群之經選擇個體之心臟及/或腎損傷的方法，該方法涉及向個體投與IL-6拮抗劑，其中針對治療，個體藉由偵測相對於參照來自個體之生物樣本中增加之IL-6聚核苷酸或多肽中之一或多者的含量經選擇。

在再一態樣中，本發明提供一種降低患有心腎症候群之經選擇個體之心血管死亡(例如心臟衰竭)風險的方法，該方法涉及向個體投與IL-6拮抗劑，其中個體藉由偵測相對於參照來自個體之生物樣本中增加之IL-6聚核苷酸或多肽中之一或多者的含量來選擇。在本文中所敘述態樣中之任一者之各種實施例中，個體患有心肌梗塞。

在本文中所敘述態樣中之任一者之各種實施例中，IL-6拮抗劑為抗IL-6抗體。在各種實施例中，抗IL-6抗體為MEDI5117。

在本文中所敘述態樣中之任一者之各種實施例中，生物樣本為血漿樣本或血清樣本。在本文中所敘述態樣中之任一者之各種實施例中，個體為人類。

在另一態樣中，提供用於藉由投與抑制IL-6生物活性或表現之藥劑，來治療患者之心腎症候群及/或降低此類患者之死亡或心臟衰竭風險的方法。在一個實施例中，在存在或不存在用於心腎症候群之標準治療(例如血管收縮素轉化酶(ACE)抑制劑)下治療患有心腎症候群之患者。詳言之，將抑制IL-6生物活性或表現之藥劑提供至患有心腎

症候群之個體(例如投與抗IL-6抗體)。

在另一態樣中，提供在患有心腎症候群之個體中增加心臟功能之方法及降低纖維化的方法。方法包含向個體投與抑制IL-6生物活性或表現之藥劑。在一些實施例中，心臟功能增加之特徵在於相對於參照(例如健康對照個體之射血分數)，個體射血分數之增加，或相對於參照(例如健康對照個體之心肌收縮性)，心肌收縮性(例如$dP/dt_{最大}$)之增加。在一些實施例中，纖維化降低之特徵在於相對於參照(例如獲自健康對照個體之組織樣本)，來自個體之組織樣本中纖維化組織之百分比的降低。在一個實施例中，纖維化係在心臟組織中。

藉由阻斷IL-6或其受體(gp80)彼此結合或阻斷其信號傳導或表現來抑制IL-6生物活性之藥劑可以醫藥組合物形式提供至患有心腎症候群之個體，其中醫藥組合物包含有效量之藥劑及適合之賦形劑。在一個實施例中，藥劑為降低個體中之IL-6多肽或聚核苷酸之含量或活性、或抑制藉由IL-6受體活化觸發之胞內信號傳導的IL-6拮抗劑或抗IL-6抗體。可投與抗IL-6抗體(例如MEDI5117)。用於心腎症候群之治療之方法可視心腎症候群之階段、患者年齡、健康狀況及物理條件而變化。

在各種實施例中，用IL-6拮抗劑治療患有心腎症候群之個體。此外，心肌梗塞後具有增加之心血管死亡及/或心臟衰竭之風險的個體可藉由表徵個體中之血漿IL-6含量來鑑別。具有升高之IL-6含量之個體具有增加之心血管死亡及/或心臟衰竭之風險。對於用IL-6拮抗劑進行之治療，可選擇此類個體。另外，可選擇患有心腎症候群且具有增加之IL-6含量之個體，包括已罹患心肌梗塞之此類個體，以用於治

療。為治療選擇後，此類個體可經投與此項技術中已知之幾乎任何的IL-6拮抗劑。適合之IL-6拮抗劑包括例如IL-6拮抗劑、商業上可獲得之IL-6拮抗劑、使用此項技術中熟知之方法開發之IL-6拮抗劑，及針對與IL-6R相關之胞內信號傳導系統之拮抗劑。

在另一態樣中，提供用於表徵心肌梗塞後個體之心血管死亡、心臟衰竭及/或死亡之風險的分析。分析提供對獲自個體之生物樣本中之IL-6的偵測。IL-6可藉由任何適合之方法偵測。在一個實施例中，心血管死亡或心臟衰竭之風險藉由偵測相對於參照(例如來自健康對照個體或來自不具有心-腎病變之對照個體之血清或血漿)中之表現，個體之生物樣本(例如血清或血漿)中之IL-6多肽含量來表徵，其中IL-6之增加指示增加之心血管死亡或心臟衰竭之風險。可選擇鑑別為具有增加之心血管死亡、心臟衰竭或死亡之風險的個體以用於治療。在另一實施例中，對於用IL-6拮抗劑(例如抗IL-6抗體)進行之治療，選擇患有心腎症候群且具有增加之IL-6含量之個體。

在一個實施例中，量測IL-6聚核苷酸含量。IL-6聚核苷酸之含量可藉由標準方法量測，該等標準方法諸如定量PCR、北方墨點、微陣列、質譜分析及原位雜交。

在一個實施例中，量測IL-6多肽含量。IL-6多肽之含量可藉由標準方法(諸如藉由免疫分析)量測。免疫分析通常使用抗體(或特異性結合標記物之其他藥劑)以偵測生物標記物在樣本中之存在或含量。抗體可藉由此項技術中熟知之方法(例如藉由使具有生物標記物或其片段之動物免疫)來製備。生物標記物可基於其結合特徵自樣本分離。或者，若多肽生物標記物之胺基酸序列為已知的，則多肽可經合成且

用以藉由此項技術中熟知之方法產生抗體。

在各種實施例中，分析採用傳統的免疫分析，包括(例如)西方墨點；夾心免疫分析，包括ELISA及其他酶免疫分析；基於螢光之免疫分析及化學發光。濁度測定法為在液相中完成之分析，其中抗體在溶液中。抗原與抗體之結合導致吸光度之變化，該吸光度經量測。其他形式之免疫分析包括磁性免疫分析、放射免疫分析及即時免疫定量PCR (iqPCR)。其他偵測方法包括液相層析及質譜分析。

可在固體基板(例如晶片、珠粒、微流體平台、膜)上或在支持抗體與標記物之結合及後續偵測之任何其他形式上進行免疫分析。可一次偵測單標記物或可使用多重格式。多重免疫分析可涉及平面微陣列(蛋白質晶片)及基於珠粒之微陣列(懸浮陣列)。

對於用降低IL-6表現或活性之藥劑(例如抗IL-6抗體)進行之治療，選擇經鑑別為具有增加之IL-6多肽含量之心腎症候群患者。治療劑可與用於心腎症候群之標準治療(例如ACE抑制劑)組合投與。用本發明方法治療之患者可藉由偵測治療後IL-6之變化來監測。

其他態樣及實施例提供於以下經編號條項中。

1. 一種治療患有心腎症候群之個體之心臟及/或腎損傷的方法，該方法包含向個體投與IL-6拮抗劑。

2. 一種增加患有心腎症候群之個體之心臟功能的方法，該方法包含向個體投與IL-6拮抗劑。

3. 一種降低患有心腎症候群之個體之纖維化的方法，該方法包含向個體投與IL-6拮抗劑。

4. 如條項2之方法，其中心臟功能增加之特徵在於相對於參照

組，個體射血分數之增加。

5. 如條項3之方法，其中纖維化係在心臟組織中。

6. 如條項3或5之方法，其中纖維化降低之特徵在於相對於參照組，來自個體之組織樣本中纖維化組織之百分比之降低。

7. 如條項1至6中任一項之方法，其中個體患有心臟及/或腎損傷。

8. 如條項1至7中任一項之方法，其中個體患有心臟損傷，隨後患有腎損傷。

9. 如條項1至8中任一項之方法，其進一步包含向個體投與標準護理療法。

10. 如條項1至9中任一項之方法，其中標準護理療法為血管收縮素轉化酶(ACE)抑制劑。

11. 一種在個體中鑑別心肌梗塞後個體之增加之心血管死亡風險的方法，該方法包含量測相對於參照來自個體之樣本中IL-6聚核苷酸或多肽中之一或多者之含量，其中增加之IL-6聚核苷酸或多肽中之一或多者的含量指示增加之心血管死亡風險。

12. 一種在個體中表徵心肌梗塞後個體之心血管死亡風險之方法，該方法包含量測相對於參照來自個體之樣本中IL-6聚核苷酸或多肽中之一或多者之含量，其中增加之IL-6聚核苷酸或多肽中之一或多者的含量指示增加之心血管死亡風險。

13. 如條項11或12之方法，其中個體患有心腎症候群、心臟衰竭、慢性腎病或無心腎病變。

14. 如條項11至13中任一項之方法，其中個體經鑑別為在心肌

梗塞後約一個月患有心腎症候群、心臟衰竭、慢性腎病或無心腎病變。

15. 一種治療患有心腎症候群之經選擇個體之心臟及/或腎損傷的方法，該方法包含向個體投與IL-6拮抗劑，其中針對治療，個體藉由偵測相對於參照來自個體之生物樣本中增加之IL-6聚核苷酸或多肽中之一或多者的含量經選擇。

16. 一種降低患有心腎症候群之經選擇個體之心血管死亡風險的方法，該方法包含向個體投與IL-6拮抗劑，其中個體藉由偵測相對於參照來自個體之生物樣本中增加之IL-6聚核苷酸或多肽中之一或多者的含量經選擇。

17. 如條項15或16之方法，其中個體已患有心肌梗塞。

18. 如條項1至10或15至17中任一項之方法，其中IL-6拮抗劑為抗IL-6抗體。

19. 如條項18之方法，其中抗IL-6抗體為MEDI5117。

20. 如條項11至19中任一項之方法，其中生物樣本為血漿樣本。

21. 如條項1至20中任一項之方法，其中個體為人類。

5.14 實例

以下實例以說明而非限制方式提供。

5.14.1 實例1： 慢性腎病患者中之EPO劑量及總存活率僅與具有 *TMPRSS6* SNP rs855791主要對偶基因之至少一個複本之患者中的血清IL-6及CRP含量相關

肽激素海帕西啶在全身鐵恆定中起主要作用。Hentze等人，*Cell*

142:24-38 (2010)。已知海帕西啶表現受*TMPRSS6*基因之產物間質蛋白酶-2影響，該間質蛋白酶-2為II型跨膜絲胺酸蛋白酶。已顯示*TMPRSS6*基因之常見變異體與鐵狀態相關，Benyamin等人, *Nature Genetics* 41(11):1173-1175 (2009)，且已顯示*TMPRSS6*基因之某些突變引起鐵難治性缺鐵性貧血IRIDA)，Finberg等人, *Nature Genetics* 40(5):569-571 (2008)。SNP rs855791 (2321G→A；A736V)為*TMPRSS6*基因之天然存在之變型，其在海帕西啶表現及血液血紅素含量方面與天然存在之變型相關。

為判定*TMPRSS6* rs855791 SNP處之基因型是否預測末期腎病中之貧血程度，結合新確定之SNP基因分型來分析先前在患有慢性腎病之患者之臨床研究中收集的資料。由於海帕西啶表現亦由IL-6調節，Casanovas等人, *PLOS Computational Biol.* 10(1):e1003421 (2014)，亦分析資料以判定血清IL-6含量是否可預測末期腎病中之貧血程度。

方法

基於普遍之透析準則、鐵蛋白>100 ng/mL及Hb >10 mg/dL，將來自入選於MIMICK1、MIMICK2 (發炎標記物在慢性腎病中之定位)及MIA (營養不良、發炎及動脈粥樣硬化)群組中之N=257患者之資料管理至N=208，以選擇在無缺鐵性貧血之情況下且在無經標記貧血之情況下血液透析穩定的患者，從而不包含具有可自血紅素含量分離鐵輸送之因子之患者，該等群組在2003年10月-2004年9月之時間期期間在Stockholm-Uppsala (Sweden)區在六個透析單元中招募。

將所有患者臨床資料，包括以IU/kg/週為單位之紅血球生成素(EPO)劑量、以pg/ml為單位之IL-6血清含量、以mg/L為單位之CRP血

清含量、以月為單位之存活及SNP rs855791處之*TMPRSS6*基因型校對且使用統計分析軟體(SPSS統計桌上型；IBM)分析。所研究之*TMPRSS6*對偶基因及其核苷酸及胺基酸指示在表1下。

表1
*TMPRSS6*對偶基因

*TMPRSS6*對偶基因	位置2321處之核苷酸	位置736處之胺基酸
主要	G或C	Ala
次要	A或T	Val

將群組分成rs855791子組(同型接合AA、異型接合AG及同型接合GG)，且將各基因型組分成血清IL-6含量(例如相較於> 10 pg/ml，IL-6 < 5pg/ml，且相較於> 15pg/ml，IL-6 < 5pg/ml)或血清CRP含量(相較於> 2 mg/L，CRP < 2 mg/L)之三分位或四分位。比較在頂部及底部三分位及四分位中之EPO劑量。進行在藉由斯氏T測試(Students T-Test)之基因型組內及在藉由ANOVA之組之間的統計學家分析。

結果

由於各患者之EPO劑量已由治療醫師滴定以獲得正常血紅素含量，因此EPO劑量可用作基礎貧血程度之代理。發現針對次要對偶基因為同型接合(A/A)之個體中之EPO劑量對IL-6之變型相對不敏感(圖1A；左圖)。然而，具有主要對偶基因之至少一個複本之個體-針對主要對偶基因(G)為異型接合(A/G)或同型接合(G/G)之患者-中之EPO劑量對個體IL-6含量敏感(圖1B；右圖)。在此等後面個體中，增加之血清IL-6含量(例如> 5 pg/ml)與增加之EPO劑量相關。

不受特定理論束縛，次要對偶基因下之純合性移除IL-6對鐵輸送之影響。因此，與IL-6含量無關，此等患者(A/A)中之EPO劑量大致相同。

與IL-6含量無關，針對*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因(A)為同

型接合之個體展示類似之死亡(圖2A)。然而，具有主要對偶基因之至少一個複本之個體-針對主要對偶基因(G)為異型接合或同型接合之患者-之存活率根據IL-6含量變化(圖2B)。實際上，回應於慢性腎病5期透析個體中之升高的IL-6含量，*TMPRSS6*之G對偶基因賦予更高之各種原因之死亡。在具有主要對偶基因(G)之至少一個複本之個體中，與< 5pg/ml之IL-6含量(亦即低位IL-6)相比，≥ 5pg/ml之IL-6含量 (亦即中位及最高位IL-6)與增加之死亡率相關(圖2B)。

在針對主要對偶基因(G)為異型接合或同型接合之個體中，急性期反應物CRP-發炎標記物-之含量亦與增加之EPO劑量相關，但在針對次要對偶基因為同型接合之患者中不如此(圖3)。

論述

如圖1中所展示，在具有*TMPRSS6* rs855791 SNP處之主要對偶基因之至少一個複本之患者中，基礎貧血程度-量測為臨床上滴定之EPO劑量-僅與IL-6含量相關。在此等患者中，血清IL-6含量愈高，所需EPO劑量愈高(圖1B)。相反，具有次要對偶基因之兩個複本之患者的貧血程度不與血清IL-6含量相關(圖1A)。

類似地，在具有*TMPRSS6* SNP rs855791處之主要對偶基因之至少一個複本的患者中，總存活率僅與IL-6含量相關。在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之個體中，存活率成反比地與血清IL-6含量相關，其中血清IL-6含量之最高位中之患者比IL-6含量之最低位中之彼等患者具有統計學上顯著更壞的存活率(圖2B)。相反，針對rs855791處之次要對偶基因為同型接合之患者之總存活率不受IL-6含量影響(圖2A)。

不意欲受理論束縛，在具有*TMPRSS6*主要對偶基因之至少一個複本之患者中，血清IL-6之增加可促進海帕西啶表現增加，從而增加貧血。增加之死亡風險為失調之鐵代謝、所得貧血及/或增加之紅血球生成刺激劑(諸如EPO)劑量之結果。若此等相關性反映因果關係，則其提昇了以下可能性：在患有慢性腎病之患者中，降低之IL-6含量或IL-6信號傳導可降低貧血，減少所需EPO劑量，且增加存活率，但僅在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之彼等患者中，且在具有升高之血清IL-6含量之彼等患者中具有最大作用。

5.14.2 實例2： 急性心肌梗塞後之死亡風險及心臟衰竭風險僅與具有*TMPRSS6* SNP rs855791主要對偶基因之至少一個複本之患者中的IL-6血清含量相關

為判定在患有急性疾病而非慢性疾病之患者中*TMPRSS6* rs855791基因型是否影響IL-6敏感性，結合新確定之SNP基因分型來分析先前在因急性冠狀動脈症候群住院之患者之臨床研究中收集的資料。

方法

自先前入選於血小板抑制及患者結果(PLATO)之多中心研究中之個體分析資料。若患者因急性冠狀動脈症候群(在先前24小時期間具有症狀發作)住院，則其有資格入選於PLATO中。在心肌梗塞後30天開始之此等個體中量測死亡率及心臟衰竭之存在。

結果

針對*TMPRSS6* rs855791 SNP次要對偶基因(A)為同型接合之個體之死亡不與IL-6之變型相關(圖4A)。然而，回應於心肌梗塞後個體中

之升高之IL-6含量，主要對偶基因(G)之一或兩個複本賦予更高之各種原因之死亡(圖4B)。因此，*TMPRSS6*調節心肌梗塞後之IL-6介導之死亡風險。

亦在心肌梗塞後30天開始之入選於PLATO中之個體中量測*TMPRSS6*基因型對IL-6介導之心臟衰竭風險的影響。在針對次要對偶基因(A)為同型接合之個體之心臟衰竭不與IL-6之變型相關(圖5A)。然而，回應於心肌梗塞後個體中之升高之IL-6含量，*TMPRSS6*之G對偶基因賦予更高之心臟衰竭速率(圖5B)。因此，*TMPRSS6*調節心肌梗塞後之IL-6介導之心臟衰竭風險。

論述

此等資料表明*TMPRSS6*基因型、IL-6含量及不利臨床結果之間的相關性不限於患有慢性腎病之患者。不意欲受理論束縛，在具有*TMPRSS6*主要對偶基因之至少一個複本之患者中，血清IL-6增加可驅使海帕西啶表現增加，隨後心肌細胞中鐵之螯合作用增加，繼之以鐵介導之細胞毒性。若此等相關性反映因果關係，則其提昇了以下可能性：降低之IL-6含量或IL-6信號傳導可降低患有急性冠狀動脈症候群之患者之心臟衰竭及死亡，但僅在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之彼等患者中，且在具有升高之血清IL-6含量之彼等患者中具有最大作用。

5.14.3 實例3： 關於源於iPS之人類心肌細胞之活體外研究確認*TMPRSS6*基因型與IL-6介導之細胞毒性之間的因果關係

雖然實例1及2中所觀測之相關性暗示在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本、升高之IL-6含量及貧血或海帕西啶介

導之細胞毒性之患者中，降低之IL-6介導之信號傳導應提供臨床效益，但所觀測相關性不能證明因果關係。因此，在源於人類誘導之多能性細胞之心肌細胞(iPS-CMs)中進行實驗以查詢BMP及BMP加IL-6對海帕西啶表現及細胞針對局部缺血損傷之易感性的作用，該等心肌細胞用*TMPRSS6*之變異體轉染。

5.14.3.1　方法

源於人類iPS之心肌細胞之培養-將iCell心肌細胞(Cellular Dynamics International，CDI Inc.)塗於具有iCell心肌細胞接種培養基(CDI Inc.)之0.1%明膠塗佈之6孔或96孔細胞培養盤上。接種後四十八小時，用維持培養基(CDI Inc.)替代接種培養基。每隔一天至進行實驗之天數更換維持培養基。

經模擬之局部缺血/再充氧方案-如先前所報導，藉由用「局部缺血緩衝液」替代細胞培養基，使iPS心肌細胞經歷經模擬之局部缺血(SI)90分鐘，該局部缺血緩衝液含有118 mm NaCl、24 mm $NaHCO_3$、1.0 mm NaH_2PO_4、2.5 mm $CaCl_2$-$2H_2O$、1.2 mm $MgCl_2$、20 mm乳酸鈉、16 mm KCl、10 mm 2-去氧葡萄糖(pH調節至6.2) (Das, A., Xi, L., 及Kukreja, K. C. (2005) *J. Biol. Chem.* 280: 12944-12955；Das A, Smolenski A, Lohmann SM, Kukreja RC. (2006) *J. Biol Chem.* 281(50):38644-52)。在整個SI時間期期間調節1-2% O_2及5% CO_2之三氣培育箱中在37℃下培育細胞。藉由在常氧條件下用正常細胞培養基替代局部缺血緩衝液來實現再充氧(RO)。細胞分別在再充氧2或18小時後壞死。如上，iCells經歷4小時SI及24小時RO。

細胞活力及細胞凋亡之評估- 進行錐蟲藍排除分析以分析如先前

所報導之細胞壞死(Das, A., Xi, L., 及Kukreja, K. C. (2005) *J. Biol. Chem.* 280, 12944-12955；Das A, Smolenski A, Lohmann SM, Kukreja RC. (2006) *J. Biol. Chem.* 281(50):38644-52)。

iCell心肌細胞之轉染-在接種後第8天，用新鮮之維持培養基替代培養基且將細胞培育4小時。根據製造商說明書(Promega Corp., Madison, WI)使用ViaFect™轉染試劑，用pCMV6-XL5 TMPRSS6 (K523)或pCMV6-XL5 TMPRSS6 (K523)V763A轉染細胞。轉染48小時後，使細胞經歷其他實驗。

西方墨點分析-如先前所描述進行西方墨點(Das, A., Xi, L., 及Kukreja, K. C. (2005) *J. Biol. Chem.* 280, 12944-12955；Das A, Smolenski A, Lohmann SM, Kukreja RC. (2006) *J. Biol. Chem.* 281(50):38644-52)。用裂解緩衝液(Cell Signaling, MA)自細胞提取總可溶性蛋白。在4℃下以10,000 × g離心勻漿5分鐘，且回收清液層。由12%丙烯醯胺凝膠分離蛋白質(來自各樣本之50 μg)且將其轉移至硝基纖維素膜，且接著在TBST (10 mm Tris-HCl、pH 7.4，100 mm NaCl及0.1% Tween 20)中用5%脫脂乳粉阻斷1小時。隨後對於各別蛋白質中之每一者，將家兔單株/多株或山羊多株初級抗體以1:1000之稀釋與膜一起培育過夜，該等各別蛋白質亦即磷酸-苄氯素(Beclin)-1 (Ser93) (D9A5G)家兔單抗、苄氯素-1、SQSTM1/p62、LC3A/B (D3U4C) XP®家兔單抗、磷酸-Akt (Ser473) (D9E) XP®家兔單抗、Akt (pan) (C67E7)家兔單抗、磷酸-S6核糖體蛋白(Ser240/244) (D68F8) XP®家兔單抗、S6核糖體蛋白(5G10)家兔單抗(來自Cell Signaling, MA)、抗間質蛋白酶2 (TMPRSS6)及抗SLC40A1 (運鐵素) (來自Abcam

Company, MA)，及山羊多株肌動蛋白-HRP (Santa Cruz Biotechnology, TX)。隨後將膜與抗家兔辣根過氧化酶結合之二級抗體(1:2000稀釋；Amersham Biosciences)一起培育2小時。使用化學發光系統開發墨點，且掃描條帶且藉由密度測定分析來定量。

即時PCR-塔克曼分析(Taqman assay)-根據製造商之方案(QIAGEN Sciences, MD, USA)使用miRNeasy微套組來分離包括小RNA之總RNA。使用Nanodrop ND-1000分光光度計(Agilent technologies, CA, USA)量測經分離RNA之濃度及純度。簡言之，使用高容量cDNA合成套組(Applied生物系統，CA，USA)用隨機六聚體將1 μg總RNA轉化成cDNA。使用以下PCR條件進行反轉錄反應：25℃持續10分鐘；37℃持續120分鐘且85℃持續5分鐘。使用塔克曼擴增子特異性探針(Applied Biosystems, CA, USA) Hamp (CGGCTCTGCAGCCTTG) (SEQ ID NO:20)在以下PCR循環條件下進行即時PCR：95℃持續10分鐘；95℃持續15秒且60℃持續60秒。將Hamp之表現標準化成GAPDH (CTTCCAGGAGCGAGATCCCGCTAA) (SEQ ID NO:21)管家基因。使用2-ΔΔCt方法分析相對基因表現。

iPS細胞之TMPRSS6突變誘發及轉染- pCMV6-XL5 TMPRSS6購自Origene Technologies (Rockville, MD)，目錄號SC306623，對應於基因銀行(GenBank)寄存編號NM_153609。此純系含有引起胺基酸改變之突變，K253A。進行定點突變誘發以將位置253處之胺基酸回復成典型離胺酸(K)。確認回復後，進行定點突變誘發以引入V736A突變。使用Agilent Technologies QuikChange II XL定點突變誘發套組(Santa Clara, CA；目錄號200521)進行所有突變誘發反應。對所有載體定

序以確認。所使用之引子序列為：反義(as) TMPRSS6 E253K GCATGAGGTCCTTGGGGCCCTGCAG (SEQ ID NO:22)；正義(s) TMPRSS6 E253K CTGCAGGGCCCCAAGGACCTCATGC (SEQ ID NO:23)；反義(as) TMPRSS6 V736A CCTGGTAGCGATAGGCCTCGCTGCACAGG (SEQ ID NO:24)；正義(s) TMPRSS6 V736A CCTGTGCAGCGAGGCCTATCGCTACCAGG (SEQ ID NO:25)。

5.14.3.2 結果

在基線下人類iPS-CMs僅最低限度地表現間質蛋白酶-2。分別仿效同型接合主要對偶基因及同型接合次要對偶基因心肌細胞，將細胞用促進以下之組成性表現的構築體轉染：由*TMPRSS6* rs855791SNP主要對偶基因編碼之間質蛋白酶-2 736A或由次要對偶基因編碼之間質蛋白酶-2 736V。

海帕西啶表現藉由BMP6/SMAD及IL-6/STAT信號傳導路徑調節，其中BMP及IL-6兩者經由其各別受體起作用以促進海帕西啶表現增加。Casanovas等人, *PLOS Comp. Biol.* 10(1):e1003421 (2014)。活體外用信號傳導路徑-重組BMP2及IL-6-之促效劑或單獨用BMP2之促效劑處理主要對偶基因及次要對偶基因iPS心肌細胞，以模型化IL-6含量(或信號傳導)降低之臨床干預。不用促效劑處理對照iPS細胞。在正常氧張力(常氧)下且亦在模擬低氧隨後模擬再充氧(再灌注)之條件下量測細胞死亡率。

圖6A展示當細胞在正常氧含量下處理時之結果。僅表現*TMPRSS6* rs855791次要對偶基因(「736V次要對偶基因」)之iPS心肌

細胞不顯著受IL-6信號傳導之消除影響(「n.s.」)：相較於用BMP2+IL-6進行之處理，當用BMP2處理細胞時，量測為錐蟲藍陽性細胞之百分比之細胞死亡率不顯著降低。相反，當消除IL-6信號傳導時，表現*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之iPS心肌細胞展示統計學上顯著更低之細胞死亡。

圖6B展示當細胞經歷低氧隨後經歷再充氧時之結果。相較於常氧條件，低氧/再充氧對iPS心肌細胞顯著有毒性，其中相較於在常氧條件下之約20%對照細胞，約40百分比之主要及次要對偶基因對照細胞經殺死(將圖6B與圖6A相比較)。相對於此增加之背景毒性，次要對偶基因iPS心肌細胞不顯著受IL-6信號傳導之消除影響：相較於用BMP2+IL-6進行之處理，當單獨用BMP2處理細胞時，細胞死亡率不顯著降低。相反，當消除IL-6信號傳導時，表現*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之iPS心肌細胞展示統計學上顯著更低之細胞死亡。

5.14.3.3 論述

此等資料增強了自實例1及實例2中之臨床試驗資料之後hoc分析所得出之推斷：IL-6信號傳導之降低可有效地降低表現*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之心肌細胞中之IL-6介導之毒性，但在僅表現次要對偶基因之心肌細胞中不如此。不意欲受理論束縛，促進主要對偶基因iPS心肌細胞中之毒性增加之IL-6可起因於海帕西啶表現之IL-6介導之增加，隨後細胞中增加之鐵螯合作用，繼之以鐵介導之細胞毒性。

5.14.4 實例4： 在基因型地類似於人類*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因同型接合子之大鼠之心腎症候群模型中，抗IL-6療法作為當

前標準護理而有效

患有慢性腎病之患者，諸如入選於在實例1中分析之MIMICK研究中之彼等患者，常常罹患減弱之心臟功能，其為死亡率之主要促成者。初次慢性腎病後之此二次心臟損傷稱為4型心腎症候群(4型CRS)。

為測試抗IL-6療法是否作為治療在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之CRS4患者中有效，如藉由實例1及3中之資料所表明，吾人使用基因型地類似於針對*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因為同型接合之人類之大鼠的CRS4模型。

圖7概述了研究設計。

第0週，在CRS動物中誘導心肌梗塞。在第2週進行腎切除。取而代之使對照組經歷假手術。腎切除之前，對個體進行各種評估。評估包括量測血清肌酐、腎小球濾過率、尿液中之24小時蛋白質含量、心臟超音波圖、尾套血壓，及血漿及尿液中之生物標記物。

腎切除後第1天開始治療。將動物分成三組：(i)對照治療劑，(ii)抗IL-6療法及且(iii)標準護理療法。抗IL-6療法為適用於嚙齒動物之抗IL-6抗體。標準護理療法為投與培哚普利、ACE (血管收縮素轉化酶)抑制劑。治療開始時，對所有組中之個體進行評估。評估包括量測血清肌酐、腎小球濾過率、24小時蛋白質含量及血漿中之生物標記物。

在腎切除後第3天及第7天對所有組中之個體進行評估。評估包括在第3天量測血清肌酐及血漿中之生物標記物，及在第7天量測血清肌酐、腎小球濾過率、24小時蛋白質含量、心臟超音波圖、血壓及血

漿中之生物標記物。

在第6週處死個體。處死之前，對所有組中之個體進行各種評估。評估包括量測血清肌酐、腎小球濾過率、24小時蛋白質含量、血壓、血漿中之生物標記物、心臟超音波圖及壓力-容積迴路分析。處死後，亦自所有組中之個體收集組織以用於組織學評估(亦即，心臟組織之天狼星紅染色)。

圖8A-8D展示在概述於圖7中之心腎症候群模型中，以下各者之心臟射血分數：無CRS (「假」)之大鼠、用藥理學上不相關之同型對照抗體(「同型」)治療之CRS動物、用抗IL-6抗體(「IL-6 ab」)治療之CRS動物及用標準護理ACE抑制劑(「Peri」)治療之CRS動物。

圖8A展示心肌梗塞後兩週但腎切除之前且治療之前，所有組之基線射血分數程度，表明以實驗方式誘導之心肌梗塞使得心臟射血分數顯著降低。圖8B為展示腎切除後一週、治療1週後，所有組之射血分數程度的繪圖。圖8C為展示腎切除後兩週、治療2週後，所有組之射血分數程度的繪圖。圖8D為展示腎切除後四週、治療4週後，所有組之射血分數程度的繪圖。結果表述為平均+/-SEM。

治療4週後，與同型對照組相比，處理組-用抗IL-6治療之組及用標準護理ACE抑制劑療法治療之組-均展示統計學上顯著增加之射血分數程度(圖8D) ($p<0.001$)。治療4週後量測之抗IL-6及標準護理組中之類似射血分數程度展示抗IL-6療法具有與ACE抑制劑培哚普利(標準護理療法)等效之功效，表明如藉由心臟射血分數之變化所量測，在保持心腎症候群模型之心臟功能方面，抗IL-6療法具有等效於標準護理療法之治療功效。

心肌收縮性之量測結果(圖9)展示抗IL-6療法亦具有等效於使用ACE抑制劑之標準護理療法之作用。治療4週後，用抗IL-6及標準護理療法治療之組之心肌收縮性顯著增加，高於對照、同型組之心肌收縮性。抗IL-6及標準護理組中之類似心肌收縮性表明如藉由收縮性所量測，在保持心腎症候群模型之心臟功能方面，抗IL-6療法具有等效於ACE抑制劑培哚普利(標準護理療法)的功效。

自所有組中之動物收集之心臟組織的纖維化量測結果亦證實抗IL-6療法具有與標準護理療法等效之作用(圖10A-10C)。心臟組織中之纖維化藉由量測以下兩個區域中之纖維化組織面積百分比來定量：「正常」區及「纖維化界限」區。實例「正常」區藉由展示於圖10A中之顯微圖中之組織切片的劃定部分所指示。顯微圖中之插圖展示「正常」區之放大視圖，展示「正常」區之小部分具有纖維化組織。「纖維化界限」區為在纖維化組織周圍之「正常」區中之組織區。

圖10B及10C中之繪圖展示當在「正常」區(圖10B)或在「纖維化界限」區(圖10C)中量測時，與同型對照組相比，來自用抗IL-6或標準護理療法治療之組中之個體的心臟組織具有顯著減少之纖維化組織面積百分比。另外，在抗IL-6及標準護理療法組中量測之纖維化組織面積百分比為類似的(均在「正常」區及「纖維化界限」區中)，指示抗IL-6具有與ACE抑制劑培哚普利(標準護理療法)等效之抗纖維化作用。

此等資料表明在基因型地類似於針對*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因為同型接合之人類之動物的心腎症候群活體內模型中，用抗IL-6劑進行之治療有效地降低心臟損傷且恢復功能。

5.14.5實例5： 在基因型地類似於人類*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因同型接合子之小鼠之急性心肌梗塞模型中，抗IL-6療法在保持心臟功能方面有效

實例2及3中之資料表明降低之IL-6含量或IL-6信號傳導可降低患有急性冠狀動脈症候群之患者之心臟衰竭及死亡，但僅在具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之至少一個複本之彼等患者中，且在具有升高之血清IL-6含量之彼等患者中具有最大作用。

進行嚙齒動物研究以確定在基因型地類似於針對*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因為同型接合之人類之小鼠中，急性心肌梗塞後抗IL-6療法之作用。

圖11A及11B展示來自活體內模型之資料，在該模型中，在基因型地類似於針對*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因為同型接合之人類之小鼠中誘導心肌梗塞。對照組不接受療法。實驗組用抗鼠類IL-6抗體治療。圖11A展示用抗IL-6進行之治療在射血分數方面提供統計學上顯著之提高。圖11B展示用抗IL-6進行之治療在量測為心臟縮短分數之收縮性方面提供統計學上顯著之提高。資料資料表明在心肌梗塞後立即給出之抗IL-6療法提高了基因型地類似於具有*TMPRSS6* rs855791主要對偶基因之人類患者之嚙齒動物中左心室的功能恢復。

6. 以引用之方式併入

本申請案中所引用之所有公開案、專利、專利申請案及其他文獻均出於所有目的特此以全文引用之方式併入，引用的程度就如同個別地指示將各個別公開案、專利、專利申請案及其他文獻以引用之方式併入以用於所有目的一樣。

7. 等效物

雖然已說明且描述各種具體實施例，但上文說明書不為限制性的。應瞭解，各種變化可在不偏離本發明之精神及範疇之情況下進行。在審閱本說明書時許多變型將對熟習此項技術者而言變得顯而易見。