

**(19) 대한민국특허청(KR)**
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0139886

(43) 공개일자 2022년10월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/22 (2006.01) **A61K 39/00** (2006.01)
A61P 19/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류
C07K 16/22 (2013.01)
A61P 19/00 (2018.01)

(21) 출원번호 10-2022-7027226

(22) 출원일자(국제) 2021년01월08일
 심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2022년08월05일

(86) 국제출원번호 PCT/US2021/012598

(87) 국제공개번호 WO 2021/142191
 국제공개일자 2021년07월15일

(30) 우선권주장
 62/958,448 2020년01월08일 미국(US)
 (뒷면에 계속)

(71) 출원인
리제너론 파아마슈티컬스, 인크.
 미국 뉴욕 10591-6707 테리타운 올드 소오 밀 리버
 로드 777

(72) 발명자
에코노미데스, 아리스티데스
 미국 10591 뉴욕주 테리타운 올드 소오 밀 리버
 로드 777 리제너론 파아마슈티컬스, 인크. 내
포블레오 네토, 에두아르도
 미국 10591 뉴욕주 테리타운 올드 소오 밀 리버
 로드 777 리제너론 파아마슈티컬스, 인크. 내
 (뒷면에 계속)

(74) 대리인
양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 31 항

(54) 발명의 명칭 **진행성 골화성 섬유이형성증의 치료****(57) 요약**

인간 대상체에서 진행성 골화성 섬유이형성증(FOP)을 치료하기 위한 방법이 제공된다. 이러한 방법은 FOP를 갖는 대상체에게 치료학적 유효량의 액티빈 A 길항제, 예컨대, 액티빈 A에 대한 항체를 투여하는 것을 포함한다.

- | | |
|---|---|
| <p>(52) CPC특허분류
A61K 2039/505 (2013.01)</p> <p>(72) 발명자
곤잘레스 트로터, 덩코
미국 10591 뉴욕주 테리타운 올드 소오 밀 리버 로
드 777 리제너론 파아마슈티컬스, 인크. 내
헤르만, 개리
미국 10591 뉴욕주 테리타운 올드 소오 밀 리버 로
드 777 리제너론 파아마슈티컬스, 인크. 내
랭킨, 앤드류
미국 10591 뉴욕주 테리타운 올드 소오 밀 리버 로
드 777 리제너론 파아마슈티컬스, 인크. 내
멜리스, 스코트
미국 10591 뉴욕주 테리타운 올드 소오 밀 리버 로
드 777 리제너론 파아마슈티컬스, 인크. 내</p> | <p>(30) 우선권주장
63/076,691 2020년09월10일 미국(US)
63/081,428 2020년09월22일 미국(US)</p> |
|---|---|
-

명세서

청구범위

청구항 1

FOP를 갖는 인간 대상체에서 새로운 이소성 골화증 병변(heterotopic ossification lesion)의 형성을 감소시키는 방법으로서, 상기 인간 대상체에게 치료학적 유효량의 액티브 A 길항제를 투여함으로써, 상기 인간 대상체에서 새로운 이소성 골화증 병변의 형성을 감소시키는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 새로운 이소성 골화증 병변의 형성이 상기 인간 대상체에서 예방되는, 방법.

청구항 3

FOP를 갖는 인간 대상체에서 새로운 이소성 골화증 병변의 형성을 예방하는 방법으로서, 상기 인간 대상체에게 치료학적 유효량의 액티브 A 길항제를 투여함으로써, 상기 인간 대상체에서 새로운 이소성 골화증 병변의 형성을 예방하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 대상체가 대조군에 비해 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 약 25%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 5% 내지 90%, 적어도 10% 내지 90%, 적어도 20% 내지 90%, 적어도 30% 내지 90%, 적어도 40% 내지 90%, 적어도 50% 내지 90%, 적어도 60% 내지 90%, 적어도 70% 내지 90%, 적어도 80% 내지 90%, 적어도 5% 내지 80%, 적어도 5% 내지 70%, 적어도 5% 내지 60%, 적어도 5% 내지 50%, 적어도 5% 내지 40%, 적어도 5% 내지 30%, 적어도 5% 내지 20%, 또는 적어도 5% 내지 10%의 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타내는, 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 대상체가 대조군에 비해 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 5% 내지 50%, 적어도 10% 내지 50%, 적어도 20% 내지 50%, 적어도 30% 내지 50%, 적어도 40% 내지 50%, 적어도 5% 내지 40%, 적어도 5% 내지 30%, 적어도 5% 내지 20%, 또는 적어도 5% 내지 10%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타내는, 방법.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 대상체가 대조군에 비해 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 5% 내지 50%, 적어도 10% 내지 50%, 적어도 20% 내지 50%, 적어도 30% 내지 50%, 적어도 40% 내지 50%, 적어도 5% 내지 40%, 적어도 5% 내지 30%, 적어도 5% 내지 20%, 또는 적어도 5% 내지 10%의 새로운 이소성 골화증 병변 성장 및 미세알화 속도의 감소를 나타내는, 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 대상체가 대조군에 비해 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 5% 내지 50%, 적어도 10% 내지 50%, 적어도 20% 내지 50%, 적어도 30% 내지 50%, 적어도 40% 내지 50%, 적어도 5% 내지 40%, 적어도 5% 내지 30%, 적어도 5% 내지 20%, 또는 적어도 5% 내지 10%의 새로운 이소성 골화증 병변 강도의 감소를 나타내는, 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 대상체가 대조군에 비해 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 5% 내지 80%, 적어도 10% 내지 80%, 적어도 20% 내지 80%, 적어도 30% 내지 80%, 적어도 40% 내지 80%, 적어도 50% 내지 80%, 적어도 60% 내지 80%, 적어도 70% 내지 80%, 적어도 5% 내지 70%, 적어도 5% 내지 60%, 적어도 5% 내지 50%, 적어도 5% 내지 40%, 적어도 5% 내지 30%, 적어도 5% 내지 20%, 또는 적어도 5% 내지 10%

의 상기 이소성 골화증 병변의 총 병변 활성(total lesion activity: TLA)의 감소를 나타내는, 방법.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 대상체가 대조군에 비해 약 0.2배, 0.5배, 1배, 1.5배, 2배, 3배, 0.2 내지 3배, 0.5 내지 3배, 1 내지 3배, 1.5 내지 3배, 2 내지 3배, 2.5 내지 3배, 0.2 내지 2.5배, 0.2 내지 2배, 0.2 내지 1.5배, 0.2 내지 1배, 또는 0.2 내지 0.5배의 일일 평균 통증-NRS의 감소를 나타내는, 방법.

청구항 10

제4항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대조군이 상기 액티빈 A 길항제가 투여되지 않은 FOP를 갖는 인간 대상체의 집단으로부터 수집된 평균 측정치 또는 값인, 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 치료학적 유효량의 액티빈 A 길항제가 대조군에 비해 상기 인간 대상체에서 고통스러운 플레어-업(flare-up)의 발생을 감소시키는, 방법.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 새로운 이소성 골화증 병변이 양전자 방출 단층촬영(PET) 스캔, 컴퓨터 단층촬영(CT) 스캔, 또는 이들의 조합에 의해 분석되는, 방법.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 PET 스캔 분석이 상기 인간 대상체에 방사성표지된 ^{18}F 소듐 플루오라이드(^{18}F -NaF)의 투여에 의해 수행되는, 방법.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 치료학적 유효량의 액티빈 A 길항제가 상기 인간 대상체에게 적어도 8주 동안 투여되는, 방법.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 새로운 이소성 골화증 병변의 형성 감소로부터 이익을 얻을 FOP를 갖는 대상체를 선택하는 단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 새로운 이소성 골화증 병변의 형성 감소로부터 이익을 얻을 대상체가 수술을 받게 될 예정인, 방법.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 인간 대상체가 FOP에 대한 치료적 치료를 받게 될 예정인, 방법.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 액티빈 A 길항제가 상기 인간 대상체에서 임의의 기존 병변의 수, 용적 또는 크기를 감소시키지 않는, 방법.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 액티빈 A 길항제가 단백질 또는 소분자인, 방법.

청구항 20

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 액티빈 A 길항제가 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단

편인, 방법.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 키메라, 베니어드(veneered), 인간화 또는 인간 항체, 또는 이의 항원-결합 단편인, 방법.

청구항 22

제20항 또는 제21항에 있어서, 상기 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 인간 카파 IgG1 항체인, 방법.

청구항 23

제20항 또는 제21항에 있어서, 상기 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 하기 6개의 CDR 서열을 포함하는, 방법:

- (a) 서열 GGSFSSHF와 적어도 약 80%의 동일성을 갖는 HCDR1;
- (b) 서열 ILYTGGT와 적어도 약 80%의 동일성을 갖는 HCDR2;
- (c) 서열 ARARSGITFTGIIVPGSFDI와 적어도 약 80%의 동일성을 갖는 HCDR3;
- (d) 서열 QSVSSSY와 적어도 약 80%의 동일성을 갖는 LCDR1;
- (e) 서열 GAS와 적어도 약 80%의 동일성을 갖는 LCDR2; 및
- (f) 서열 QQYGSSPWT와 적어도 약 80%의 동일성을 갖는 LCDR3.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 하기 6개의 CDR 서열을 포함하는, 방법:

- (a) 서열 GGSFSSHF를 갖는 HCDR1;
- (b) 서열 ILYTGGT를 갖는 HCDR2;
- (c) 서열 ARARSGITFTGIIVPGSFDI를 갖는 HCDR3;
- (d) 서열 QSVSSSY를 갖는 LCDR1;
- (e) 서열 GAS를 갖는 LCDR2; 및
- (f) 서열 QQYGSSPWT를 갖는 LCDR3.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 서열번호 1과 적어도 90%의 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 5와 적어도 90%의 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 방법.

청구항 26

제25항에 있어서, 상기 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 서열번호 1과 적어도 95%의 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 5와 적어도 95%의 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 서열번호 1을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 5를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 서열번호 25를 포함하는 중쇄 및 서열번호 26을 포함하는 경쇄를 포함하는, 방법.

청구항 29

제20항 또는 제21항에 있어서, 상기 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 서열번호 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 5와 적어도 90% 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 방법.

청구항 30

제20항 또는 제21항에 있어서, 상기 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 하기 6개의 CDR 서열을 포함하는 항체와 결합에 대해 경쟁하는, 방법:

- (a) 서열 GGSFSSHF를 갖는 HCDR1;
- (b) 서열 ILYTGGT를 갖는 HCDR2;
- (c) 서열 ARARSGITFTGIIVPGSFDI를 갖는 HCDR3;
- (d) 서열 QSVSSSY를 갖는 LCDR1;
- (e) 서열 GAS를 갖는 LCDR2; 및
- (f) 서열 QQYGSSPWT를 갖는 LCDR3.

청구항 31

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 액티빈 A 길항제가 제2 요법과 조합하여 투여되는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원

[0002] 본 출원은 2020년 1월 8일에 출원된 미국 가출원 제62/958,448호; 2020년 9월 10일에 출원된 미국 가출원 제63/076,691호; 및 2020년 9월 22일에 출원된 미국 가출원 제63/081,428호를 우선권으로 주장하며, 이러한 문헌들 각각의 전체 내용은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 명백하게 인용된다.

배경 기술

[0003] 몽크마이더병(Munchmeyer disease)으로도 알려진 진행성 골화성 섬유이형성증(fibrodysplasia ossificans progressiva: FOP)은 골격근 및 관련 결합 조직의 조기 발병, 일시적 및 진행성 골화를 특징으로 하는 상염색체 우성 장애이다. FOP 대상체에서, 정상 골격 외부의 연조직에서 골이 형성되는 것으로서, 이는 이소성 골화(heterotopic ossification: HO)로 알려진 과정이며, 이는 2차 골격의 발달을 야기할 수 있고, 환자의 이동 능력을 점진적으로 제한할 수 있다. 신생 골 형성의 제거는 비효과적인 것으로 나타났고, 추가적인 신생 골 성장의 발달로 이어진다.

[0004] FOP는 ACVR1의 세포내 도메인(ALK2)에서의 돌연변이에 의해 유도되며, 대다수는 아르기닌 206을 히스티딘으로 변경시킨다(R206H)(Pignolo, RJ et al. 2011, *Orphanet J. Rare Dis.*6:80). ACVR1은 골 형태형성 단백질(bone morphogenic protein: BMP)에 대한 유형 I 수용체이다. 특히, R206H 돌연변이는 활성화에 대한 수용체의 민감성을 증가시키고 이를 침묵에 대해 더 내성이 되게 하는 것으로 여겨진다.

[0005] 플레어-업(flare-up) 동안 FOP와 관련된 통증 및 부종을 완화시키기 위해 특정 유형의 약물들이 사용되었지만, 현재 FOP에 대한 효과적인 의학적 치료는 알려져 있지 않다.

발명의 내용

[0006] 본 개시내용은 FOP를 갖는 대상체에게 치료학적 유효량의 액티빈 A 길항제를 투여하는 것을 포함하는, 진행성 골화성 섬유이형성증(FOP)을 치료하는 방법을 제공한다. 특히, 본 출원의 발명자들은 놀랍게도, 인간에서 II상 임상 시험을 수행한 후에만, 액티빈 A 길항제로 FOP 대상체의 치료가 새로운 이소성 골화증(HO) 골 성장의 발달을 크게 감소 및/또는 예방하고, 감소된 평균 병변 성장 및 미네랄화의 속도를 감소시킨다는 것을 발견하였다.

[0007] 일 양태에서, 본 개시내용은 FOP를 갖는 인간 대상체에게 치료학적 유효량의 액티빈 A 길항제를 투여함으로써

FOP를 치료하는 것을 포함하는, 진행성 골화성 섬유이형성증(FOP)을 치료하는 방법을 제공한다.

- [0008] 일부 실시형태에서, 액티빈 A 길항제는 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. 일부 실시형태에서, 항체는 H4H10446P, H4H10430P 또는 A1로 명명된 항체의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체와 결합에 대해 경쟁한다. 일부 실시형태에서, 항체는 H4H10446P, H4H10430P 또는 A1로 명명된 항체의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항체는 키메라, 베니어드, 인간화 또는 인간 항체이다. 일부 실시형태에서, 항체는 온전한 항체이다. 일부 실시형태에서, 항체는 인간 카파 IgG1 항체이다. 일부 실시형태에서, 항체는 ACVR1, ACVR2A, 또는 ACVR2B 세포외 도메인-Fc 융합 단백질과의 병용 요법으로 투여된다.
- [0009] 본 개시내용은 추가로 FOP를 갖는 대상체에게 치료학적 유효량의 액티빈 A의 길항제를 투여하는 것을 포함하는 진행성 골화성 섬유이형성증(FOP)을 치료하는 방법에 사용하기 위한 액티빈 A의 길항제를 제공한다. 선택적으로, 액티빈 A 길항제는 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. 선택적으로, 본 개시내용은 FOP를 치료하기 위한 의약의 제조에서의 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 용도를 제공한다. 선택적으로, 항체는 키메라, 베니어드, 인간화 또는 인간 항체이다. 선택적으로, 항체는 온전한 항체이다. 선택적으로, 항체는 인간 카파 IgG1 항체이다. 선택적으로, 항체는 ACVR1, ACVR2A 또는 ACVR2B 세포외 도메인-Fc 융합 단백질과의 병용 요법으로 투여된다.
- [0010] 일 양태에서, 본 개시내용은 FOP를 갖는 인간 대상체에서 새로운 이소성 골화증 병변의 형성을 감소시키는 방법으로서, 상기 방법은 인간 대상체에게 치료학적 유효량의 액티빈 A 길항제를 투여함으로써, 인간 대상체에서 새로운 이소성 골화증 병변의 형성을 감소시키는 것을 포함하는 방법을 제공한다.
- [0011] 일 실시형태에서, 인간 대상체에서 새로운 이소성 골화증 병변의 형성이 예방된다.
- [0012] 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군에 비해 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 5% 내지 90%, 적어도 10% 내지 90%, 적어도 20% 내지 90%, 적어도 30% 내지 90%, 적어도 40% 내지 90%, 적어도 50% 내지 90%, 적어도 60% 내지 90%, 적어도 70% 내지 90%, 적어도 80% 내지 90%, 적어도 5% 내지 80%, 적어도 5% 내지 70%, 적어도 5% 내지 60%, 적어도 5% 내지 50%, 적어도 5% 내지 40%, 적어도 5% 내지 30%, 적어도 5% 내지 20%, 또는 적어도 5% 내지 10%의 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타낸다.
- [0013] 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군에 비해 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 5% 내지 50%, 적어도 10% 내지 50%, 적어도 20% 내지 50%, 적어도 30% 내지 50%, 적어도 40% 내지 50%, 적어도 5% 내지 40%, 적어도 5% 내지 30%, 적어도 5% 내지 20%, 또는 적어도 5% 내지 10%의 새로운 이소성 골화증 병변 용적의 감소를 나타낸다.
- [0014] 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군에 비해 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 5% 내지 50%, 적어도 10% 내지 50%, 적어도 20% 내지 50%, 적어도 30% 내지 50%, 적어도 40% 내지 50%, 적어도 5% 내지 40%, 적어도 5% 내지 30%, 적어도 5% 내지 20%, 또는 적어도 5% 내지 10%의 새로운 이소성 골화증 병변 성장 및 미네랄화 속도의 감소를 나타낸다.
- [0015] 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군에 비해 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 5% 내지 50%, 적어도 10% 내지 50%, 적어도 20% 내지 50%, 적어도 30% 내지 50%, 적어도 40% 내지 50%, 적어도 5% 내지 40%, 적어도 5% 내지 30%, 적어도 5% 내지 20%, 또는 적어도 5% 내지 10%의 새로운 이소성 골화증 병변 강도의 감소를 나타낸다.
- [0016] 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군에 비해 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 5% 내지 80%, 적어도 10% 내지 80%, 적어도 20% 내지 80%, 적어도 30% 내지 80%, 적어도 40% 내지 80%, 적어도 50% 내지 80%, 적어도 60% 내지 80%, 적어도 70% 내지 80%, 적어도 5% 내지 70%, 적어도 5% 내지 60%, 적어도 5% 내지 50%, 적어도 5% 내지 40%, 적어도 5% 내지 30%, 적어도 5% 내지 20%, 또는 적어도 5% 내지 10%의 이소성 골화증 병변의 총 병변 활성(TLA)의 감소를 나타낸다.
- [0017] 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군에 비해 약 0.2배, 0.5배, 1배, 1.5배, 2배, 3배, 0.2 내지 3배, 0.5 내지 3배, 1 내지 3배, 1.5 내지 3배, 2 내지 3배, 2.5 내지 3배, 0.2 내지 2.5배, 0.2 내지 2배, 0.2 내지 1.5배, 0.2 내지 1배, 또는 0.2 내지 0.5배의 일일 평균 통증-NRS의 감소를 나타낸다.

- [0018] 일 실시형태에서, 대조군은 액티빈 A 길항제가 투여되지 않은 FOP를 갖는 인간 대상체의 집단으로부터 수집된 평균 측정치 또는 값이다.
- [0019] 일 실시형태에서, 치료학적 유효량의 액티빈 A 길항제는 대조군에 비해 인간 대상체에서 고통스러운 플레어-업의 발생을 감소시킨다.
- [0020] 일 실시형태에서, 새로운 이소성 골화증 병변은 양전자 방출 단층촬영(PET) 스캔, 컴퓨터 단층촬영(CT) 스캔, 또는 이들의 조합에 의해 분석된다. 일 실시형태에서, PET 스캔 분석은 인간 대상체에 방사성표지된 ^{18}F 소듐 플루오라이드(^{18}F -NaF)의 투여에 의해 수행된다.
- [0021] 일 실시형태에서, 치료학적 유효량의 액티빈 A 길항제는 적어도 8주 동안 인간 대상체에게 투여된다.
- [0022] 일 실시형태에서, 방법은 새로운 이소성 골화증 병변의 형성 감소로부터 이익을 얻을 FOP를 갖는 대상체를 선택하는 것을 더 포함한다. 일 실시형태에서, 새로운 이소성 골화증 병변의 형성 감소로부터 이익을 얻을 대상체는 수술을 받게 될 예정이다.
- [0023] 일 실시형태에서, 인간 대상체는 FOP에 대한 치료적 치료를 받게 될 예정이다.
- [0024] 일 실시형태에서, 액티빈 A 길항제는 인간 대상체에서 임의의 기존 병변의 수, 용적 또는 크기를 감소시키지 않는다.
- [0025] 일 실시형태에서, 액티빈 A 길항제는 단백질 또는 소분자이다.
- [0026] 일 실시형태에서, 액티빈 A 길항제는 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. 일 실시형태에서, 항-액티빈 A 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 키메라, 베니어드, 인간화 또는 인간 항체, 또는 이의 항원-결합 단편이다.
- [0027] 일 실시형태에서, 항-액티빈 A 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 카파 IgG1 항체이다.
- [0028] 일 실시형태에서, 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 하기 6개의 CDR 서열을 포함한다: (a) 서열 GGSFSSHF와 적어도 약 80%의 동일성을 갖는 HCDR1; (b) 서열 ILYTGGT와 적어도 약 80%의 동일성을 갖는 HCDR2; (c) 서열 ARARSGITFTGIIVPGSFDI와 적어도 약 80%의 동일성을 갖는 HCDR3; (d) 서열 QSVSSSY와 적어도 약 80%의 동일성을 갖는 LCDR1; (e) 서열 GAS와 적어도 약 80%의 동일성을 갖는 LCDR2; 및 (f) 서열 QQYGSPWT와 적어도 약 80%의 동일성을 갖는 LCDR3.
- [0029] 일 실시형태에서, 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 하기 6개의 CDR 서열을 포함한다: (a) 서열 GGSFSSHF를 갖는 HCDR1; (b) 서열 ILYTGGT를 갖는 HCDR2; (c) 서열 ARARSGITFTGIIVPGSFDI를 갖는 HCDR3; (d) 서열 QSVSSSY를 갖는 LCDR1; (e) 서열 GAS를 갖는 LCDR2; 및 (f) 서열 QQYGSPWT를 갖는 LCDR3.
- [0030] 일 실시형태에서, 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 5와 적어도 90% 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0031] 일 실시형태에서, 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호 1과 적어도 95% 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 5와 적어도 95% 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0032] 일 실시형태에서, 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호 1을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 5를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0033] 일 실시형태에서, 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호 25를 포함하는 중쇄 및 서열번호 26을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0034] 일 실시형태에서, 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 5와 적어도 90% 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0035] 일 실시형태에서, 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 하기 6개의 CDR 서열을 포함하는 항체와 결합에 대해 경쟁한다: (a) 서열 GGSFSSHF를 갖는 HCDR1; (b) 서열 ILYTGGT를 갖는 HCDR2; (c) 서열 ARARSGITFTGIIVPGSFDI를 갖는 HCDR3; (d) 서열 QSVSSSY를 갖는 LCDR1; (e) 서열 GAS를 갖는 LCDR2; 및 (f) 서열 QQYGSPWT를 갖는 LCDR3.
- [0036] 일 실시형태에서, 액티빈 A 길항제는 제2 요법과 조합하여 투여된다.

- [0037] 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 FOP를 갖는 인간 대상체에서 새로운 이소성 골화증 병변의 형성을 예방하는 방법으로서, 상기 방법은 인간 대상체에게 치료학적 유효량의 액티빈 A 길항제를 투여함으로써, 인간 대상체에서 새로운 이소성 골화증 병변의 형성을 예방하는 것을 포함하는 방법을 제공한다.
- [0038] 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군에 비해 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 5% 내지 90%, 적어도 10% 내지 90%, 적어도 20% 내지 90%, 적어도 30% 내지 90%, 적어도 40% 내지 90%, 적어도 50% 내지 90%, 적어도 60% 내지 90%, 적어도 70% 내지 90%, 적어도 80% 내지 90%, 적어도 5% 내지 80%, 적어도 5% 내지 70%, 적어도 5% 내지 60%, 적어도 5% 내지 50%, 적어도 5% 내지 40%, 적어도 5% 내지 30%, 적어도 5% 내지 20%, 또는 적어도 5% 내지 10%의 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타낸다.
- [0039] 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군에 비해 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 5% 내지 50%, 적어도 10% 내지 50%, 적어도 20% 내지 50%, 적어도 30% 내지 50%, 적어도 40% 내지 50%, 적어도 5% 내지 40%, 적어도 5% 내지 30%, 적어도 5% 내지 20%, 또는 적어도 5% 내지 10%의 새로운 이소성 골화증 병변 용적의 감소를 나타낸다.
- [0040] 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군에 비해 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 5% 내지 50%, 적어도 10% 내지 50%, 적어도 20% 내지 50%, 적어도 30% 내지 50%, 적어도 40% 내지 50%, 적어도 5% 내지 40%, 적어도 5% 내지 30%, 적어도 5% 내지 20%, 또는 적어도 5% 내지 10%의 새로운 이소성 골화증 병변 성장 및 미네랄화 속도의 감소를 나타낸다.
- [0041] 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군에 비해 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 5% 내지 50%, 적어도 10% 내지 50%, 적어도 20% 내지 50%, 적어도 30% 내지 50%, 적어도 40% 내지 50%, 적어도 5% 내지 40%, 적어도 5% 내지 30%, 적어도 5% 내지 20%, 또는 적어도 5% 내지 10%의 새로운 이소성 골화증 병변 강도의 감소를 나타낸다.
- [0042] 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군에 비해 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 5% 내지 80%, 적어도 10% 내지 80%, 적어도 20% 내지 80%, 적어도 30% 내지 80%, 적어도 40% 내지 80%, 적어도 50% 내지 80%, 적어도 60% 내지 80%, 적어도 70% 내지 80%, 적어도 5% 내지 70%, 적어도 5% 내지 60%, 적어도 5% 내지 50%, 적어도 5% 내지 40%, 적어도 5% 내지 30%, 적어도 5% 내지 20%, 또는 적어도 5% 내지 10%의 이소성 골화증 병변의 총 병변 활성(TLA)의 감소를 나타낸다.
- [0043] 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군에 비해 약 0.2배, 0.5배, 1배, 1.5배, 2배, 3배, 0.2 내지 3배, 0.5 내지 3배, 1 내지 3배, 1.5 내지 3배, 2 내지 3배, 2.5 내지 3배, 0.2 내지 2.5배, 0.2 내지 2배, 0.2 내지 1.5배, 0.2 내지 1배 또는 0.2 내지 0.5배의 일일 평균 통증-NRS의 감소를 나타낸다.
- [0044] 일 실시형태에서, 대조군은 액티빈 A 길항제가 투여되지 않은 FOP를 갖는 인간 대상체의 집단으로부터 수집된 평균 측정치 또는 값이다.
- [0045] 일 실시형태에서, 치료학적 유효량의 액티빈 A 길항제는 대조군에 비해 인간 대상체에서 고통스러운 플레어-업의 발생을 감소시킨다.
- [0046] 일 실시형태에서, 새로운 이소성 골화증 병변은 양전자 방출 단층촬영(PET) 스캔, 컴퓨터 단층촬영(CT) 스캔, 또는 이들의 조합에 의해 분석된다. 일 실시형태에서, PET 스캔 분석은 인간 대상체에 방사성표지된 ^{18}F 소듐 플루오라이드($^{18}\text{F-NaF}$)의 투여에 의해 수행된다.
- [0047] 일 실시형태에서, 치료학적 유효량의 액티빈 A 길항제는 적어도 8주 동안 인간 대상체에게 투여된다.
- [0048] 일 실시형태에서, 상기 방법은 새로운 이소성 골화증 병변의 형성 감소로부터 이익을 얻을 FOP를 갖는 대상체를 선택하는 것을 더 포함한다. 일 실시형태에서, 새로운 이소성 골화증 병변의 형성 감소로부터 이익을 얻을 대상체는 수술을 받게 될 예정이다.
- [0049] 일 실시형태에서, 인간 대상체는 FOP에 대한 치료적 치료를 받게 될 예정이다.
- [0050] 일 실시형태에서, 액티빈 A 길항제는 인간 대상체에서 임의의 기존 병변의 수, 용적 또는 크기를 감소시키지 않는다.

- [0051] 일 실시형태에서, 액티빈 A 길항제는 단백질 또는 소분자이다.
- [0052] 일 실시형태에서, 액티빈 A 길항제는 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. 일 실시형태에서, 항-액티빈 A 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 키메라, 베니어드, 인간화 또는 인간 항체, 또는 이의 항원-결합 단편이다.
- [0053] 일 실시형태에서, 항-액티빈 A 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 카파 IgG1 항체이다. 일 실시형태에서, 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 하기 6개의 CDR 서열을 포함한다: (a) 서열 GGSFSSHF와 적어도 약 80%의 동일성을 갖는 HCDR1; (b) 서열 ILYTGGT와 적어도 약 80%의 동일성을 갖는 HCDR2; (c) 서열 ARARSGITFTGIIVPGSFDI와 적어도 약 80%의 동일성을 갖는 HCDR3; (d) 서열 QSVSSSY와 적어도 약 80%의 동일성을 갖는 LCDR1; (e) 서열 GAS와 적어도 약 80%의 동일성을 갖는 LCDR2; 및 (f) 서열 QQYGSSPWT와 적어도 약 80%의 동일성을 갖는 LCDR3.
- [0054] 일 실시형태에서, 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 하기 6개의 CDR 서열을 포함한다: (a) 서열 GGSFSSHF를 갖는 HCDR1; (b) 서열 ILYTGGT를 갖는 HCDR2; (c) 서열 ARARSGITFTGIIVPGSFDI를 갖는 HCDR3; (d) 서열 QSVSSSY를 갖는 LCDR1; (e) 서열 GAS를 갖는 LCDR2; 및 (f) 서열 QQYGSSPWT를 갖는 LCDR3.
- [0055] 일 실시형태에서, 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 5와 적어도 90% 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0056] 일 실시형태에서, 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호 1과 적어도 95% 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 5와 적어도 95% 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0057] 일 실시형태에서, 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호 1을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 5를 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0058] 일 실시형태에서, 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호 25를 포함하는 중쇄 및 서열번호 26을 포함하는 경쇄를 포함한다.
- [0059] 일 실시형태에서, 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열번호 1과 적어도 90% 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역 및 서열번호 5와 적어도 90% 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함한다.
- [0060] 일 실시형태에서, 항-액티빈 A 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 하기 6개의 CDR 서열을 포함하는 항체와 결합에 대해 경쟁한다: (a) 서열 GGSFSSHF를 갖는 HCDR1; (b) 서열 ILYTGGT를 갖는 HCDR2; (c) 서열 ARARSGITFTGIIVPGSFDI를 갖는 HCDR3; (d) 서열 QSVSSSY를 갖는 LCDR1; (e) 서열 GAS를 갖는 LCDR2; 및 (f) 서열 QQYGSSPWT를 갖는 LCDR3.
- [0061] 일 실시형태에서, 액티빈 A 길항제는 제2 요법과 조합하여 투여된다.

도면의 간단한 설명

- [0062] **도 1**은 이소성 골의 총 병변 활성 및 용적에서 항-액티빈 A 길항제의 영향을 평가하기 위한 이중-맹검 연구의 개략도를 도시한다.
- 도 2a** 및 **도 2b**는 PET 영상화를 도시한 것으로서, 이는 FOP 질환 진행(**도 2a**), 및 이소성 골화증(HO) 병변에 대한 액티빈 A 길항제의 효과(**도 2b**)를 입증한 것이다.
- 도 3a**는 액티빈 A 길항제로의 치료가 PET 영상화에 의해 분석한 경우, 총 병변 활성을 대략 25%만큼 감소시킴($p=.074$)을 도시한 것이며; CT 분석에 의해 유사한 감소가 또한 관찰되었다.
- 도 3b**는 기존("표적") 병변이 새로운 병변과 별도로 검사될 때 액티빈 A 길항제의 효과가 더 명백함을 입증하는 PET/CT 영상화 분석으로부터의 결과를 도시한다.
- 도 4**는 활성 HO 분석 세트(AHO)에서 ^{18}F -NaF PET에 의한 총 병변 활성의 기준선으로부터의 변화 백분율을 도시한다.
- 도 5**는 활성 HO 분석 세트(AHO)에서 수치 평가 척도(NRS)에 의한 주간 평균 통증의 기준선으로부터의 변화를 도시한다.
- 도 6**은 활성 HO 분석 세트(AHO)에서 이중-맹검 기간에 새로운 병변을 갖는 환자에 대해 28주에 ^{18}F -NaF PET에

의한 새로운 병변에 대한 총 병변 활성을 도시한다.

도 7은 활성 HO 분석 세트(AHO)에서 ^{18}F -NaF PET에 의한 새로운 HO 병변을 갖는 환자의 백분율을 도시한다.

도 8은 활성 HO 분석 세트(AHO)에서 이중-맹검 기간에 새로운 병변을 갖는 환자에 대해 28주에 CT에 의한 총 새로운 병변 용적을 도시한다.

도 9는 활성 HO 분석 세트(AHO)에서 CT에 의한 새로운 HO 병변을 갖는 환자의 백분율을 도시한다.

도 10은 예시적인 항-액티빈 A 단클론성 항체의 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열(각각 서열번호 25 및 26)을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

정의

길항제는 통상적으로 단리된 형태로 제공된다. 이는 길항제가 통상적으로 이의 생산 또는 정제로부터 발생하는 간접 단백질 및 다른 오염물의 적어도 50% w/w 순수성을 의미하지만, 길항제가 과량의 약학적으로 허용되는 담체(들) 또는 이의 사용을 용이하게 하기 위해 의도된 다른 비히클과 조합될 가능성을 배제하는 것은 아니다. 때때로 길항제는 생산 또는 정제로부터의 간접 단백질 및 오염물이 적어도 60, 70, 80, 90, 95 또는 99% w/w 순수하다.

아미노산 치환을 보존적 또는 비보존적으로 분류하기 위해, 아미노산은 하기와 같이 그룹핑된다: 그룹 I(소수성 측쇄): met, ala, val, leu, ile; 그룹 II(중성 친수성 측쇄): cys, ser, thr; 그룹 III(산성 측쇄): asp, glu; 그룹 IV(염기성 측쇄): asn, gln, his, lys, arg; 그룹 V(사슬 배향에 영향을 미치는 잔기): gly, pro; 및 그룹 VI(방향족 측쇄): trp, tyr, phe. 보존적 치환은 동일한 부류의 아미노산 사이의 치환을 포함한다. 비보존적 치환은 이러한 부류 중 하나의 구성원을 다른 부류의 구성원으로 교환하는 것을 구성한다.

백분율 서열 동일성은 가변 영역에 대한 Kabat 넘버링 규약 또는 불변 영역에 대한 EU 넘버링에 의해 최대 정렬된 항체 서열로 결정된다. 다른 단백질의 경우, 서열 동일성은 디폴트 잭 파라미터를 사용하여 Wisconsin Genetics Software Package Release 7.0(Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI)에서 BESTFIT, FASTA 및 TFASTA와 같은 알고리즘을 사용하여 서열을 정렬함으로써, 또는 검사 및 최상의 정렬에 의해 결정될 수 있다. 정렬 후, 대상체 항체 영역(예를 들어, 중쇄 또는 경쇄의 전체 성숙 가변 영역)이 참조 항체의 동일한 영역과 비교되는 경우, 대상체 항체 영역과 참조 항체 영역 사이의 백분율 서열 동일성은 대상체 항체 영역 및 참조 항체 영역 둘 다에서 동일한 아미노산에 의해 점유되는 위치들의 수를 2개 영역의 정렬된 위치들의 총 수로 나눈 값(값은 카운팅되지 않음)에 100을 곱하여 백분율로 변환한다.

하나 이상의 인용된 요소들을 "포함하는" 조성물 또는 방법은 구체적으로 언급되지 않은 다른 요소들을 포함할 수 있다. 예를 들어, 항체를 포함하는 조성물은 항체를 단독으로 또는 다른 성분과 조합하여 함유할 수 있다.

인간화 항체는 비-인간 "공여자" 항체로부터의 CDR이 인간 "수용체" 항체 서열에 그래프팅된 유전적으로 조작된 항체이다(예를 들어, 문헌[Queen, US 5,530,101 및 5,585,089; Winter, US 5,225,539; Carter, US 6,407,213; Adair, US 5,859,205 및 6,881,557; Foote, US 6,881,557] 참조). 수용체 항체 서열은, 예를 들어, 성숙 인간 항체 서열, 이러한 서열의 복합체, 인간 항체 서열의 공통 서열, 또는 생식계열 영역 서열일 수 있다. 따라서, 인간화 항체는 전체적으로 또는 실질적으로 공여자 항체 및 가변 영역 프레임워크 서열 및 불변 영역으로부터, 및 존재하는 경우, 완전히 또는 실질적으로 인간 항체 서열로부터의 일부 또는 모든 CDR을 완전히 또는 실질적으로 갖는 항체이다. 유사하게, 인간화 중쇄는 전체적으로 또는 실질적으로 공여자 항체 중쇄, 및 중쇄 가변 영역 프레임워크 및 중쇄 불변 영역으로부터, 존재하는 경우에, 실질적으로 인간 중쇄 가변 영역 프레임워크 및 불변 영역 서열로부터의 적어도 1, 2 및 대개 3개 모두의 CDR을 갖는다. 유사하게, 인간화된 경쇄는 전체적으로 또는 실질적으로 공여자 항체 경쇄, 및 경쇄 가변 영역 프레임워크 서열 및 경쇄 불변 영역으로부터, 및 존재하는 경우에, 실질적으로 인간 경쇄 가변 영역 프레임워크 및 불변 영역 서열로부터의 적어도 1, 2 및 대개 3개 모두의 CDR을 갖는다. 나노바디 및 dAb 외에, 인간화 항체는 인간화 중쇄 및 인간화 경쇄를 포함한다. 인간화 항체에서 CDR은 상응하는 잔기(Kabat에 의해 정의됨)의 적어도 85%, 90%, 95% 또는 100%가 개개 CDR들 사이에서 동일할 때 비-인간 항체에서 상응하는 CDR로부터 실질적으로 유래한다. 항체 사슬의 가변 영역 프레임워크 서열 또는 항체 사슬의 불변 영역은 Kabat에 의해 정의된 상응하는 잔기의 적어도 85, 90, 95 또는 100%가 동일할 때 각각 실질적으로 인간 가변 영역 프레임워크 서열 또는 인간 불변 영역으로부터 유래한다.

- [0069] 인간화 항체가 종종 마우스 항체로부터의 모든 6개의 CDR(바람직하게는 Kabat에 의해 정의된 바와 같음)을 도입하지만, 이러한 것들은 또한 모든 CDR 미만(예를 들어, 마우스 항체로부터 적어도 3, 4, 또는 5개의 CDR)으로 제조될 수 있다(예를 들어, 문헌[Pascalis et al., J. Immunol. 169:3076, 2002; Vajdos et al., Journal of Molecular Biology, 320: 415-428, 2002; Iwahashi et al., Mol. Immunol. 36:1079-1091, 1999; Tamura et al., Journal of Immunology, 164:1432-1441, 2000]).
- [0070] 키메라 항체는 비-인간 항체(예를 들어, 마우스)의 경쇄 및 중쇄의 성숙 가변 영역이 인간 경쇄 및 중쇄 불변 영역과 조합된 항체이다. 이러한 항체는 마우스 항체의 결합 특이성을 실질적으로 또는 완전히 보유하고, 약 2/3의 인간 서열이다.
- [0071] 베니어드 항체는 비-인간 항체의 비-인간 가변 영역프레임워크 잔기의 일부 및 일부 및 대개 모든 CDR을 보유하지만, B- 또는 T-세포 에피토프에 기여할 수 있는 다른 가변 영역 프레임워크 잔기, 예를 들어, 노출된 잔기(Padlan, Mol. Immunol. 28:489, 1991)를 인간 항체 서열의 상응하는 위치로부터의 잔기로 대체하는 한 유형의 인간화 항체이다. 결과는 CDR이 전체적으로 또는 실질적으로 비-인간 항체로부터 유래된 것이며 비-인간 항체의 가변 영역 프레임워크가 치환에 의해 더욱 인간-유사로 만드는 항체이다.
- [0072] 인간 항체는 인간으로부터 단리될 수 있거나, 그렇지 않으면 인간 면역글로불린 유전자의 발현으로부터(예를 들어, 형질전환 마우스에서, 시험관내 또는 파지 디스플레이에 의해) 생성될 수 있다. 인간 항체를 생산하기 위한 방법은 문헌[Oestberg et al., *Cys muoma* 2:361-367 (1983)]; Oestberg, 미국 특허 제4,634,664호; 및 Engleman et al., 미국 특허 제4,634,666호]의 트리오마(trioma) 방법을 포함한다. 단클론성 항체는 또한 인간 면역계 유전자를 지닌 형질전환 마우스, 예를 들어, Regeneron Pharmaceuticals, Inc.로부터의 VelocImmune® 마우스(Murphy, PNAS 111 no. 14, 5153-5158 (2014), Xenomouse, Jakobovits, Nature Biotechnology 25, 1134-1143 (2007)) 또는 Medarex, Inc.의 HuMAb 마우스(Lonberg, Handbook Exp. Pharmacol. 181, 69-97 (2008); Lonberg et al., WO93/12227 (1993); US 5,877,397, US 5,874,299, US 5,814,318, US 5,789,650, US 5,770,429, US 5,661,016, US 5,633,425, US 5,625,126, US 5,569,825, US 5,545,806, *Nature* 148, 1547-1553 (1994), *Nature Biotechnology* 14, 826 (1996), Kuchelapati, WO 91/10741 (1991))에 의해 생산될 수 있다. 인간 항체는 또한 파지 디스플레이 방법에 의해 생산될 수 있다(예를 들어, Dower et al., WO 91/17271 및 McCafferty et al., WO 92/01047, US 5,877,218, US 5,871,907, US 5,858,657, US 5,837,242, US 5,733,743 및 US 5,565,332 참조).
- [0073] 길항제가 이것이 유래되는 모 항체의 특성을 보유한다고 할 때, 보유는 완전하거나 부분적일 수 있다. 활성의 완전한 보유는 길항제의 활성이 실험 오차 내에서 동일하거나 이것이 유래되는 분자의 활성보다 큰 것을 의미한다. 활성의 부분적 보유는 음성 대조군의 배경 수준을 상당히 초과하는(즉, 실험 오차를 초과하는) 활성 및 바람직하게는 이것이 유래되는 분자의 상응하는 활성의 적어도 50%를 의미한다.
- [0074] 하나의 항체의 결합을 감소 또는 제거하는 항원에서의 모든 아미노산 돌연변이가 다른 항체의 결합을 감소 또는 제거하는 경우, 2개의 항체는 동일한 에피토프를 갖는다. 하나의 항체의 결합을 감소 또는 제거하는 일부 아미노산 돌연변이가 다른 항체의 결합을 감소 또는 제거하는 경우, 2개의 항체는 중첩 에피토프를 갖는다.
- [0075] 항체들 간의 경쟁은 시험 중인 항체가 공통 항원에 대한 참조 항체의 특이적 결합을 억제하는 검정에 의해 결정된다(예를 들어, 문헌[Junghans et al., Cancer Res. 50:1495, 1990] 참조). 시험 항체는, 과량의 시험 항체(예를 들어, 적어도 2x, 5x, 10x, 20x 또는 100x)가 경쟁적 결합 검정에서 측정 시, 기준 항체의 결합을 적어도 50%, 그러나 바람직하게는 75%, 90% 또는 99%만큼 억제하는 경우, 기준 항체와 경쟁한다. 경쟁 검정에 의해 확인된 항체(경쟁 항체)는 기준 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체 및 입체 장애가 발생하기 위해 기준 항체에 의해 결합된 에피토프에 충분히 근접한 인접 에피토프에 결합하는 항체를 포함한다.
- [0076] **상세한 설명**
- [0077] **I. 개요**
- [0078] 액티빈 A 항체는 이전에 진행성 골화성 섬유이형성증(FOP)의 마우스 모델에서 시험되었다(예를 들어, 2015년 9월 14일에 출원된 EP3191512B1호 참조, 이러한 문헌의 전체 내용은 본 명세서에 참조로서 명백히 포함됨). 그러나, FOP의 마우스 모델, 예를 들어, *Acvr1*^{[R206H]COIN/+}; *Gt(ROSA26)Sor*^{CreERT2/+} 마우스 모델은 모두 조건부 녹아웃인데, 왜냐하면, 구성적 돌연변이가 생존할 수 없는 것으로 밝혀졌기 때문이다. 따라서, FOP 마우스 모델에서, 질병은 타목시펜으로 "활성화"될 수 있으며, 이러한 현재 이용 가능한 FOP 마우스 모델은 인간 질병을 연구하기

위한 최적의 모델이 아니며, 여기서, 돌연변이체 단백질(예를 들어, $ALK2^{R206H}$)의 발현이 구성적이다.

[0079] 본 개시내용은 부분적으로, 액티빈 A 길항제로 FOP 인간 대상체의 치료가 새로운 이소성 골화증(HO) 골 성장의 발달을 크게 감소시키고/시키거나 예방하고, 평균 병변 성장 및 미네랄화의 속도를 감소시킨다는 놀라운 발견을 기초로 한 것이다. 그러나, 액티빈 A 길항제로의 치료는 놀랍게도 이미 존재하는 골 병변에 영향을 미치지 않았다.

[0080] 따라서, 인간에서 몽크마이아병으로도 알려진 진행성 골화성 섬유이형성증(FOP)을 치료하기 위한 방법이 본 명세서에 개시된다. 이러한 방법은 FOP를 갖는 인간 대상체에게 치료학적 유효량의 액티빈 A 길항제를 투여하는 것을 포함한다.

[0081] II. 액티빈 A

[0082] 리간드의 형질전환 성장 인자 β (TGF β) 슈퍼패밀리는, 예를 들어, 골 형태형성 단백질(BMP) 및 성장 및 분화 인자(GDF)를 포함한다. 이러한 리간드에 대한 수용체는 유형 I 및 유형 II 막횡단 세린/트레오닌 키나제 수용체로 구성된 헤테로머 수용체 복합체이다. 유형 I 수용체의 예는 액티빈 수용체 유형 IA(ACVRIA, ACVR1, 또는 ALK2), BMP 수용체 유형 IA 및 BMP 수용체 유형 IB를 포함한다. 유형 II 수용체의 예는 액티빈 수용체 유형 IIA 및 IIB(ACVRIIA 또는 ACVR2A 및 ACVRIIB 또는 ACVR2B) 및 BMP 수용체 유형 II를 포함한다. TGF β 슈퍼패밀리의 리간드는 각각 상이한 유형 I 및 유형 II 수용체에 대해 상이한 친화성을 갖는다.

[0083] 인간에서 액티빈 A는 호모다имер 또는 헤테로다имер 단백질로 존재할 수 있다. 호모다имер 단백질은 호모다имер 베타 A 서브유닛 쌍을 함유한다. 헤테로다имер 단백질은 베타 서브유닛 및 베타 B, 베타 C 또는 베타 E 서브유닛(즉, 베타 A 베타 B, 베타 A 베타 C, 또는 베타 A 베타 E)을 함유한다. 서브유닛은 각각 신호 펩타이드, 프로 펩타이드 및 성숙 폴리펩타이드를 포함하는 전구체 폴리펩타이드로서 발현된다. 인간 베타 A 서브유닛 전구체의 예시적인 형태는 Swiss Prot P08476으로 명명된 426개 아미노산 길이의 폴리펩타이드이며, 이의 잔기 1 내지 20은 신호 펩타이드이며, 잔기 21 내지 310은 프로펩타이드이며, 잔기 311 내지 426은 성숙 폴리펩타이드이다. 베타 B 서브유닛 전구체 폴리펩타이드의 예시적인 형태는 Swiss Prot P09529로 지정되며, 이의 잔기 1 내지 28은 신호 펩타이드이며, 잔기 29 내지 292는 프로펩타이드이며, 잔기 293 내지 407은 성숙 폴리펩타이드이다. 베타 C 서브유닛의 예시적인 형태는 Swiss Prot P55103으로 지정되며, 이의 잔기 1 내지 18은 신호 펩타이드이며, 잔기 19 내지 236은 프로펩타이드이며, 잔기 237 내지 352는 성숙 폴리펩타이드이다. 베타 E 서브유닛 전구체의 예시적인 형태는 Swiss Prot P58166으로 지정되며, 이의 잔기 1 내지 19는 신호 펩타이드이며, 잔기 20 내지 236은 프로펩타이드이며, 잔기 237 내지 350은 성숙 폴리펩타이드이다. 이러한 서열의 여러 변이체는 Swiss Prot 데이터베이스에 기재된 바와 같이 공지되어 있다. 액티빈 A에 대한 언급은 임의의 베타 A 호모다имер, 베타 A 베타 B, 베타 A 베타 C 및 베타 A 베타 E 헤테로다имер 형태뿐만 아니라 이들의 서브유닛, 뿐만 아니라 서브유닛이 제공된 예시적인 Swiss Prot 서열 또는 이러한 서열의 다른 자연 발생 인간 형태에 의해 정의된 폴리펩타이드 및/또는 신호 펩타이드에 부착된 이들의 전구체를 포함한다. 액티빈 A는 ACVR2A 또는 ACVR2B에 대한 결합을 통해 신호를 전달하지만, ACVR1에 대한 리간드인 것으로 알려져 있지 않다. 액티빈 A는 돌연변이 ACVR을 통해 비정상적으로 신호를 보내서 골형성 신호를 형질도입하고 이소성 골 형성을 유발한다.

[0084] 유형 I 및 유형 II 수용체 둘 다는 세포의 리간드 결합 도메인(ECD) 및 세포내 세린/트레오닌 키나제 도메인을 갖는다. 또한, 유형 I 수용체는 키나제 도메인 앞에 있는 글리신/세린-풍부 영역(GS-box) 및 키나제 도메인 내에 L45 루프를 갖는다. 둘 다의 수용체는 리간드가 Smad 및 비-Smad 신호전달 경로와 같은 다운스트림 신호전달 경로를 활성화시키기 위해 함께 작용한다. 활성화는 리간드 결합, 리간드-수용체 올리고머화 및 유형 II 수용체 키나제에 의한 유형 I 수용체의 GS 박스의 트랜스인산화를 포함한다. 유형 II 수용체 키나제는 구성적으로 활성화되고, 리간드 결합 및 유형 I 수용체의 활성화에서 역할을 한다.

[0085] 액티빈 수용체 유형 I, ACVR1A, ACVRLK2, 또는 ALK2로도 알려진 ACVR1은 리간드의 TGF β 슈퍼패밀리에 대한 유형 I 수용체이다. ACVR1은 세린/트레오닌 키나제 활성을 가지고, Smad 단백질을 인산화시키고, 다운스트림 신호전달 경로를 활성화시킨다. ACVR1은 골격근 및 연골을 포함하는 신체의 많은 조직에서 발견되고, 뼈 및 근육의 성장 및 발달을 조절하는 데 도움을 준다. 본 명세서의 다른 곳에 기술된 바와 같이, ACVR1 유전자의 특정 돌연변이는 FOP를 유발한다. ACVR1 활성화의 예는 리간드에 결합하는 능력, 유형 II 수용체와 복합체를 형성하는 능력, 또는 Smad 경로와 같은 다운스트림 신호전달 경로를 활성화시키는 능력을 포함한다.

[0086] 액티빈 수용체 유형 II로도 알려진 ACVR2는 리간드의 TGF β 슈퍼패밀리에 대한 유형 II 수용체이다. 적어도 2개의 ACVR2 수용체, 예를 들어, 액티빈 수용체 유형 IIA(ACVR2A 또는 ACVRIIA) 및 액티빈 수용체 유형

IIB(ACVR2B 또는 ACTRIIB)가 존재한다. ACVR2에 대한 언급은 ACVR2A 및 ACVR2B 중 하나 또는 둘 다를 포함한다. ACVR2A 및 ACVR2B는 골격근, 위, 심장, 자궁내막, 고환, 전립선, 난소, 및 신경 조직을 포함하는 다수의 조직에서 발현될 수 있다.

[0087] 리간드 결합시, ACVR2 수용체는 유형 I 수용체, 예컨대, ACVR1과 복합체를 형성하고, 유형 I 수용체의 GS 박스를 인산화시켜, 유형 I 수용체의 키나제 활성을 향상시킨다. ACVR2A 및 ACVR2B 활성의 예는 리간드에 결합하는 능력, 유형 I 수용체와 복합체를 형성하는 능력, 또는 유형 I 수용체를 인산화시키는 능력을 포함한다.

[0088] 인간 ACVR2A의 예시적인 형태는 Swiss Prot 수탁 번호 P27037을 갖는다. 잔기 1 내지 19는 신호 펩타이드이며, 잔기 20 내지 135는 세포외 도메인이며, 잔기 59 내지 116은 액티빈 유형 I 및 II 수용체 도메인이며, 잔기 136 내지 161은 막횡단 도메인이며, 잔기 162 내지 513은 세포질 도메인이다. 인간 ACVR2B의 예시적인 형태는 스위스 단백질 번호 Q13705로 할당된다. 잔기 1 내지 18은 신호 서열이며, 잔기 19 내지 137은 세포외 도메인이며, 잔기 27 내지 117은 액티빈 유형 I 및 II 수용체 도메인이며, 잔기 138 내지 158은 막횡단 도메인이며, 잔기 159 내지 512는 세포질 도메인이다. 인간 ACVR1의 예시적인 형태는 Swiss Prot 수탁 번호 Q04771을 갖는다. 잔기 1 내지 20은 신호 서열이며, 잔기 21 내지 123은 세포외 도메인이며, 잔기 33 내지 104는 액티빈 유형 I 및 II 수용체 도메인이며, 잔기 124 내지 146은 막횡단 도메인이며, 잔기 147 내지 509는 세포질 도메인이다. ACVR1, ACVR2A 및 ACVR2B 중 임의의 것에 대한 언급은 이러한 예시적인 형태, 이의 공지된 아이소형 및 다형성, 예컨대, Swiss Prot 데이터베이스에 열거된 것들, 다른 종으로부터의 동족 형태, 및 예시된 형태와 적어도 90, 95, 96, 97, 98 또는 99% 서열 동일성을 갖는 다른 변이체를 포함한다.

[0089] 상기 정의된 예시된 서열 이외의 ACVR2A, ACVR2B 및 ACVR1 형태의 잔기는 상응하는 예시된 서열과의 최대 정렬에 의해 넘버링되어 정렬된 잔기가 동일한 번호로 할당된다. 예시된 서열로부터의 치환은 보존적 또는 비보존적 치환일 수 있다. ACVR1, ACVR2A 또는 ACVR2B에 대한 언급은 또한 무손상 세포외 도메인(예를 들어, 각각 ACVR2A, ACVR2B 및 ACVR1의 잔기 20 내지 135, 19 내지 137 또는 21 내지 123) 또는 막횡단 및 세포질 부분이 없거나 실질적으로 없는 이의 일부를 포함한다. 세포외 도메인의 일부는 무손상 세포외 도메인에 결합하여 관련 수용체를 길항하는 적어도 하나의 리간드 또는 반대 수용체에 결합하기에 충분한 무손상 세포외 도메인의 잔기를 보유한다(예를 들어, 각각 ACVR2A, ACVR2B 및 ACVR1의 잔기 59 내지 116, 27 내지 117 또는 33 내지 104).

[0090] III. 액티빈 A의 길항제

[0091] A. 항체

[0092] 용어 "항체"는 2쌍의 중쇄 및 경쇄를 갖는 무손상 항체, 항원에 결합할 수 있는 항체 단편(예를 들어, Fab, F(ab')₂, Fv, 단쇄 항체, 이중체, 항체 키메라, 하이브리드 항체, 이중특이적 항체, 인간화 항체 등), 및 상기를 포함하는 제조합 펩타이드를 포함한다.

[0093] "항체 단편"은 무손상 항체의 일부, 바람직하게는 무손상 항체의 항원-결합 또는 가변 영역을 포함한다. 항체 단편의 예는 Fab, F(ab')₂, 및 Fv 단편; 이중체; 선형 항체(Zapata *et al.* (1995) *Protein Eng.* 10:1057-1062); 단쇄 항체 분자; 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함한다.

[0094] 항체는 단클론성 또는 다클론성일 수 있다. "단클론성 항체"는 실질적으로 균질한 항체의 집단으로부터 수득된 항체이며, 즉, 집단을 포함하는 개별 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연 발생 돌연변이를 제외하고는 동일하다. 단클론성 항체는 종종 매우 특이적이며, 단일 항원 부위에 대해 유도된다. 또한, 상이한 결정인자(에피토프)에 대해 유도된 상이한 항체를 통상적으로 포함하는 기존(다클론성) 항체 제조물과 대조적으로, 각각의 단클론성 항체는 통상적으로 항원 상의 단일 결정인자에 대해 유도된다. 수식어 "단클론성"은 B-세포의 클론 집단에 의해 생산된 것과 같은 항체의 실질적으로 균질한 집단으로부터 수득되는 항체의 특성을 나타내고, 임의의 특정 방법에 의한 항체의 생산을 필요로 하지 않는다.

[0095] 본 명세서에 제공된 방법에 따라 사용되는 단클론성 항체는 문헌[Kohler *et al.* (1975) *Nature* 256:495]에 최초로 기술된 하이브리도마 방법, 또는 이의 변형에 의해 제조될 수 있다. 통상적으로, 마우스와 같은 동물은 항원(예를 들어, 액티빈 A, ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B 폴리펩타이드, 또는 특히 세포외 도메인(수용체에서) 또는 이의 일부)을 함유하는 용액으로 면역화된다.

[0096] 면역화는 염수, 바람직하게는 프로인트 완전 애쥬번트와 같은 애쥬번트에서 항원-함유 용액을 혼합 또는 유화시키고, 혼합물 또는 에멀션을 비경구적으로 주사함으로써 수행될 수 있다. 동물의 면역화 후, 비장(및 선택적으로, 여러 개의 큰 림프절)이 제거되고 단일 세포로 해리된다. 비장 세포는 세포 현탁액을 관심 항원이 코팅된

플레이트 또는 웰에 적용함으로써 스크리닝될 수 있다. 항원에 특이적인 막 결합된 면역글로불린을 발현하는 B-세포는 플레이트에 결합하고, 세정되지 않는다. 생성된 B-세포 또는 모든 해리된 비장 세포는 이후 골수종 세포와 융합되도록 유도되어 하이브리도마를 형성하고, 선택적 배지에서 배양된다. 생성된 세포는 연속 희석에 의해 플레이트되고, 관심 항원에 특이적으로 결합하는(및 관련되지 않은 항원에는 결합하지 않는) 항체의 생산에 대해 검정된다. 선택된 단클론성 항체(mAb)-분비 하이브리도마는 이후 시험관내(예를 들어, 조직 배양 병 또는 중공 섬유 반응기에서) 또는 생체내(마우스에서 복수로서)에서 배양된다.

[0097] 대안적으로, 단클론성 항체는 재조합 DNA 방법에 의해 제조될 수 있다(예를 들어, 미국 특허 제4,816,567호 참조). 단클론성 항체는 또한, 예를 들어, 문헌[Claackson *et al.* (1991) *Nature* 352:624-628; Marks *et al.* (1991) *J. Mol. Biol.* 222:581-597]; 및 미국 특허 제5,514,548호에 기술된 기술들을 이용하여 파지 항체 라이브러리로부터 단리될 수 있다.

[0098] "항체"는 임의의 액티빈 A, ACVR1, ACVR2A, ACVR2B 및 상기 정의된 바와 같은 키메라, 베니어드, 인간화 및 인간 단클론성 항체를 포함한다.

[0099] 이들의 중쇄의 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라, 면역글로불린은 상이한 부류로 할당될 수 있다. 면역글로불린의 5개의 주요 부류, 즉, IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM이 있으며, 이들 중 몇몇은 하위부류(아이소형), 예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, 및 IgA2로 추가로 나누어질 수 있다. 상이한 부류의 면역글로불린에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 알파, 델타, 엡실론, 감마, 및 뮤로 지칭된다. 상이한 부류의 면역글로불린의 서브유닛 구조 및 3차원 배열은 잘 알려져 있다.

[0100] 본 발명의 단클론성 항체 또는 Fc 융합 단백질은 임의의 다양한 항체 부류일 수 있다. 일 실시형태에서, 단클론성 항체는 IgG 부류 항체이다. 다른 실시형태에서, 단클론성 항체는 IgM, IgE, IgD 또는 IgA 부류일 수 있다. 특정 실시형태에서, 항체는 IgG의 아이소형, 예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4, 특히 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4이다.

[0101] 경쇄 및/또는 중쇄의 아미노 또는 카복시 말단에 있는 하나 이상의 아미노산, 예를 들어, 중쇄의 C-말단 리신은 분자의 집단 또는 모두에서 누락되거나 유도체화될 수 있다. 보체-매개 세포독성 또는 ADCC와 같은 이펙터 기능을 감소 또는 증가시키기 위해(예를 들어, Winter *et al.*, 미국 특허 제5,624,821호; Tso *et al.*, 미국 특허 제5,834,597호; 및 문헌[Lazar *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103:4005, 2006] 참조), 또는 인간에서 반감기를 연장하기 위해(예를 들어, 문헌[Hinton *et al.*, *J. Biol. Chem.* 279:6213, 2004] 참조) 불변 영역에서 치환이 이루어질 수 있다. 예시적인 치환은 항체의 반감기를 증가시키기 위한 위치 250에서의 Gln 및/또는 위치 428에서의 Leu(EU 넘버링)를 포함한다. 위치 234, 235, 236 및/또는 237 중 임의의 위치에서의 치환은 Fc γ 수용체, 특히 Fc γ RI 수용체에 대한 친화성을 감소시킨다(예를 들어, US 6,624,821 참조). 선택적으로, 인간 IgG2의 위치 234, 236 및/또는 237은 알라닌으로 및 위치 235는 글루타민으로 치환된다(예를 들어, US 5,624,821 참조). 이펙터 기능은 또한 위치 232 내지 236에서 EFLG를 PVA로 치환함으로써 감소될 수 있다(W014/121087 참조). 선택적으로, 위치 428의 S는 특히 인간 IgG4에서 P로 대체되어 내인성 면역글로불린과 외인성 면역글로불린 사이의 교환을 감소시킬 수 있다. 다른 변형은 N-X-S/T 모티프에서 N-연결된 글리코실화와 같은 번역-후 변형 부위를 추가 또는 제거할 수 있다. 변형은 또한 이중특이적 항체의 생산을 위한 상이한 중쇄들 사이의 헤테로다имер의 형성을 촉진하기 위한 노브(즉, 하나 이상의 아미노산의 더 큰 아미노산으로의 교체) 또는 홀(즉, 하나 이상의 아미노산의 더 작은 아미노산으로의 교체)의 도입을 포함할 수 있다. 노브 및 홀 쌍을 형성하기 위한 예시적인 치환은 각각 T336Y 및 Y407T이다(Ridgeway *et al.*, *Protein Engineering* vol.9 no.7 pp.617-621, 1996). 변형은 또한 EU 넘버링 시스템에서 단백질 A 상호작용(예를 들어, H435R 및 Y436F)을 감소시키는 돌연변이를 포함할 수 있다. 하나의 중쇄가 이러한 변형을 가지고 다른 중쇄가 이러한 변형을 가지지 않은 이중특이적 항체는 단백질-A 친화성 크로마토그래피에 의해 이들의 모 항체로부터 분리될 수 있다.

[0102] 항체는 또한 액티빈 A에 특이적으로 결합하는 항체를 포함할 수 있다. 이러한 항체는 액티빈 A의 베타 A 베타 A, 베타 A 베타 B, 베타 A 베타 C 및 베타 A 베타 E 형태 중 임의에 또는 전부에 특이적으로 결합할 수 있다. 일부 항체는 이러한 형태(즉, 베타 A 베타 A, 베타 A 베타 B, 베타 A 베타 C 또는 베타 A 베타 E) 중 하나에만 특이적으로 결합한다. 베타 A 베타 B, 베타 A 베타 C 및 베타 A 베타 E 형태에 대한 특이성은 각각 베타 B, 베타 C 또는 베타 E 서브유닛 내의 에피토프에 의해, 또는 헤테로다имер의 둘 다의 성분이 기여하는 에피토프에 의해 부여될 수 있다. 베타 A 베타에 대한 특이성은 호모다имер 내(예를 들어, 서브유닛의 계면에서) 둘 다의 분자에 의해 기여되는 에피토프에 대해 부여될 수 있다. 일부 항체는 이러한 모든 형태의 액티빈 A에 특이적으로 결합하며, 이러한 경우에 에피토프는 통상적으로 베타 A 서브유닛에 있다. 항체는 통상적으로 전구체 단백질

의 성숙 폴리펩타이드 성분 내에 에피토프를 갖는다. 일부 항체는 알파(Swiss Prot P05111) 베타 A 또는 알파 베타 B 헤테로다имер의 형태로 존재하는, 인간 인히빈에 결합하지 않고 임의의 또는 모든 형태의 액티빈 A에 특이적으로 결합한다. 일부 항체는 액티빈 A의 임의의 또는 모든 형태에 특이적으로 결합하고 인간 인히빈의 어느 하나 또는 둘 다의 형태에 결합한다. 이러한 항체가 이의 역수용체, ACVR2A 및/또는 ACVR2B 및/또는 BMPR2 중 하나 이상을 통해 액티빈 A의 신호 전달을 억제하는 것으로 여겨지지만, FOP를 치료하는 방법에서 이러한 항체의 사용을 위해 메커니즘의 이해가 필요한 것은 아니다.

[0103] 액티빈 A에 대한 상당한 수의 항체가 보고되었다. 예를 들어, 미국특허 제9,718,881호에는 H4H10423P, H4H10424P, H4H10426P, H4H10429P, H4H10430P, H4H10432P2, H4H10433P2, H4H10436P2, H4H10437P2, H4H10438P2, H4H10440P2, H4H10442P2, H4H10445P2, H4H10446P2, H4H10447P2, H4H10447P2, H4H10448P2, H4H10452P2로 명명된 인간 항체들이 기재되어 있다. US 8,309,082에는 인간 항체 A1 내지 A14가 개시되어 있다. 액티빈 A에 대한 마우스 항체는 R&D Systems의 MAB3381 또는 Novus Biologicals의 9H16 또는 MM0074-7L18(ab89307) AbCam과 같은 여러 상업적 공급업체로부터 입수 가능하다.

[0104] 바람직한 항체는 적어도 10^8 M^{-1} , 10^9 M^{-1} , 10^{10} M^{-1} , 10^{11} M^{-1} , 10^{12} M^{-1} , 또는 10^{13} M^{-1} 의 액티빈 A에 대한 친화력 (US2015/00373339호의 실시예 3에서와 같이 25°C에서 측정됨)를 갖는다. 일부 항체는 10^9 내지 10^{12} M^{-1} 범위 내의 친화력을 갖는다. 바람직한 항체는 4 nM 미만, 및 바람직하게는 400 pM 또는 40 pM 미만의 IC50으로 액티빈 A의 신호 전달을 억제한다. 일부 항체는 4 nM 내지 10 pM 또는 3.5 nM 내지 35 pM 범위의 IC50으로 신호 전달을 억제한다.

[0105] 신호 전달 억제는 하기 요약된 미국 특허 제9,718,881호의 실시예 6에서와 같이 측정될 수 있다. 인간 A204 횡문근육종 세포주는 Smad 2/3-루시페라제 리포터 플라스미드로 형질감염되어 A204/CAGAx12-Luc 세포주를 생산한다. A204/CAGAx12-Luc 세포는 10% 우태아 혈청, 페니실린/스트렙토마이신/글루타민 및 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 G418이 보충된 McCoy의 5A에서 유지되었다. 생물검정을 위해, A204/CAGAx12-Luc 세포는 저혈청 배지, 0.5% FBS 및 OPTIMEM에서 10,000개 세포/웰로 96-웰 검정 플레이트에 시딩되고, 37°C 및 5% CO₂에서 밤새 인큐베이션되었다. 액티빈 A는 100 내지 0.002 nM로 1:3으로 연속 희석되고, 액티빈을 함유하지 않는 대조군과 함께 출발하여 세포에 첨가된다. 항체는 적절한 아이소형 대조군 항체를 함유하거나 항체가 없는 대조군 샘플을 포함하여 100 내지 0.002 nM, 1000 내지 0.02 nM, 또는 300 내지 0.005 nM에서 시작하여 1:3으로 연속 희석되고, 100 pM 액티빈 A의 일정한 농도로 세포에 첨가된다.

[0106] 일부 항체는 수용체가 세포로부터 발현되거나 세포의 도메인이 융합 단백질로서 Fc 도메인과 융합되고, 융합 단백질이 지지체(예를 들어, Biacore 센서 칩)에 고정될 때 측정시 ACVR2A 및/또는 ACVR2B 및/또는 BMPR2에 대한 액티빈 A의 결합을 적어도 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%만큼 억제한다. 이러한 측정에서, 항체 및 액티빈 A는 등몰량으로 존재하며, 수용체 또는 세포의 도메인은 과량으로 존재해야 한다.

[0107] 일부 항체는 성숙 단백질의 C11-S33 및 C81-E111에 상응하는, 전장 액티빈 A의 잔기 321 내지 343 또는 391 내지 421 내의 에피토프에 결합한다.

[0108] 본 실시예에서 사용된 예시적인 항체는 미국 특허 제9,718,881호에서 H4H10446P로 명명된다. 각각 미국 특허 제9,718,881호의 서열번호 162, 164, 166 및 168의 아미노산 서열을 갖는 이의 중쇄 가변 영역 및 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3(현재 각각 서열번호 1, 2, 3 및 4). 각각 미국 특허 제9,718,881호의 서열번호 146, 148, 150 및 152의 아미노산 서열을 갖는 이의 경쇄 가변 영역 및 경쇄 CDR, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3(현재 각각 서열번호 5, 6, 7 및 8). H4H10446P는 ACVR2A 및/또는 ACVR1IB를 통한 액티빈 A 매개 신호전달을 억제하지만, ACRIIA 또는 ACVR2B에 대한 액티빈 A 결합을 강력하게 억제하지는 않는다. 인간 액티빈 A에 대한 결합 또는 인간 액티빈 A 상의 H4H10446P와 동일한 에피토프에 대한 결합에 대해 H4H10446P와 경쟁하는 다른 항체가 포함되며, 신호전달의 억제를 공유하는 것이 또한 포함된다.

[0109] 본 방법에 사용하기 위한 또 다른 예시적인 항체는 미국 특허 제9,718,881호에서 H4H10430P로 명명된다. 미국 특허 제9,718,881호에서 각각 서열번호 66, 68, 70 및 72를 갖는 이의 중쇄 가변 영역 및 중쇄 CDR CDRH1, CDRH2 및 CDRH3(현재 각각 서열번호 9, 10, 11 및 12). 미국특허 제9,718,881호에서 각각 서열번호 74, 76, 78 및 80을 갖는 이의 경쇄 가변 영역 및 경쇄 CDR CDRL1, CDRL2 및 CDRL3(현재 각각 서열번호 13, 14, 15 및 16). 이러한 항체는 ACVR2A 및/또는 ACVR2B에 대한 액티빈 A의 결합을 억제하고, 이러한 수용체들 중 하나 또는 둘 다를 통한 신호 전달을 억제한다. 액티빈 A에 결합하기 위해 또는 H4H10430P와 액티빈 A 상의 동일한 에피토프

프에 결합하기 위해 H4H10430P와 경쟁하고 ACVR2A 및 ACVR2B에 대한 액티빈 A 결합 및 이를 통한 신호 전달을 억제하는 이의 특성을 공유하는 다른 항체가 또한 포함된다.

[0110] 본 방법에 사용하기 위한 예시적인 항체는 가레토스맵이다. 재조합 단클론성 항체 가레토스맵은 2개의 다이설파이드-연결된 인간 중쇄(IgG4 아이소형)로 구성된 공유 헤테로테트라머이며, 각각은 다이설파이드 결합을 통해 인간 카파 경쇄에 공유적으로 연결되어 있다. 1차 서열에 기초하여, 글리칸이 없는 항체는 16개의 정규 다이설파이드 결합의 형성 및 각각의 중쇄 C-말단으로부터 Lys453의 제거를 가정할 때 145,235.3 Da의 예측 분자량을 갖는다. 각각의 중쇄는 Fc 도메인의 힌지 영역 내의 아미노산 Pro234에서 세린-대-프롤린 돌연변이를 함유하여, IgG4 아이소형 항체가 용액에서 반-항체를 형성하는 경향을 감소시킨다. 분자의 Fc 도메인의 불변 영역 내에 위치하는, 각각의 중쇄 상에 단일 N-연결 글리코실화 부위(Asn303)가 존재한다. 가레토스맵 중쇄 및 경쇄 가변 도메인 내의 상보성-결정 영역(CDR)은 함께 이의 표적에 대한 결합 부위를 형성한다: 액티빈 A, 액티빈 AB, 및 액티빈 AC. 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열, 각 폴리펩타이드 사슬 내의 CDR의 위치, 중쇄 N-연결된 글리코실화 부위의 위치, 및 가레토스맵 단클론성 항체의 예측된 다이설파이드 결합 구조는 도 10에 제시되어 있다.

[0111] 본 방법에 사용하기 위한 또 다른 예시적인 항체는 미국 특허 제8,309,082호에서 A1로 명명된 항체이며, 이는 미국 특허 제8,309,082호에서 서열번호 9 및 10을 갖는 경쇄 및 중쇄 가변 영역을 특징으로 한다(현재 각각 서열번호 17 및 18). 미국 특허 제8,309,082호에서 각각 서열번호 11, 12, 및 13(현재 각각 서열번호 19, 20 및 21)을 갖는 이의 경쇄 CDR, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3, 및 미국 특허 제8,309,082호에서 각각 서열번호 62, 63 및 64(현재 각각 서열번호 22, 23 및 24)를 갖는 이의 중쇄 CDR, CDRH1, CDRH2 및 CDRH3. 액티빈 A에 결합하기 위해 또는 H4H10430P와 액티빈 A 상의 동일한 에피토프에 결합하기 위해 H4H10430P와 경쟁하고, ACVR2A 및/또는 ACVR2B에 대한 액티빈 A 결합을 억제하고 이를 통해 신호를 전달하는 이의 특성을 공유하는 다른 항체가 또한 포함된다.

[0112] 다른 항체는 임의의 상기 언급된 항체의 중쇄 및 경쇄를 인코딩하는 cDNA의 돌연변이유발에 의해 수득될 수 있다. 성숙한 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열에서 임의의 상기 언급된 항체와 적어도 90%, 95% 또는 99% 동일하고 이의 기능적 특성을 유지하고/거나 소수의 기능적으로 중요하지 않은 아미노산 치환(예를 들어, 보존적 치환), 결실, 또는 삽입에 의한 개개 항체와 상이한 단클론성 항체가 또한 본 개시내용에 포함된다. 임의의 예시된 항체의 상응하는 CDR과 90%, 95%, 99% 또는 100% 동일한 적어도 1, 2, 3, 4, 5개 및 바람직하게는 6개 모두의 CDR(들)을 갖는 단클론성 항체가 또한 포함된다. CDR은 바람직하게는 Kabat에 의해 정의된 바와 같지만, 임의의 기존의 대안적인 정의, 예컨대, Chothia, 복합 Kabat-Chothia, 접촉 정의 또는 AbM 정의에 의해 정의될 수 있다(월드 와이드 웹 bioinf.org.uk/abs 참조).

[0113] B. 단백질/펩타이드 억제제

[0114] 본 개시내용의 방법에 유용한 액티빈 A의 길항제는 다양한 분자, 예를 들어, 액티빈 A의 펩타이드 억제제뿐만 아니라 이의 다양한 억제 단편, 유도체, 및 유사체를 포함한다. 또한, 액티빈 A 신호전달의 경쟁적 억제제로서 기능할 수 있는 액티빈 A의 펩타이드 억제제뿐만 아니라 이의 다양한 억제 단편, 유도체, 및 유사체가 본 개시내용에 포함된다. 일부 실시형태에서, 펩타이드 억제제는 액티빈 A와 본 명세서에 개시된 임의의 이의 수용체 사이의 신호전달 경로를 억제하는 폴리스타틴(예를 들어, PCT 공개 번호 WO 2014/064292 참조) 또는 이의 유도체 또는 유사체이다. 신호 전달 억제는 본 명세서에 이미 개시된 바와 같이 측정될 수 있다.

[0115] 액티빈 A의 펩타이드 억제제는 당 분야에 널리 공지된 다양한 발현 시스템을 사용하여 핵산의 상응하는 단편으로부터 재조합적으로 생산될 수 있으며, 박테리아(예를 들어, 이 콜라이(*E. coli*)), 효모(예를 들어, *Saccharomyces cerevisiae*), 곤충(예를 들어, Sf9), 및 포유동물 세포(예를 들어, CHO, COS-7)를 포함하는 다양한 숙주 시스템이 생산을 위해 적합하다. 많은 발현 벡터가 개발되었고, 이러한 숙주 각각에 대해 이용 가능하다. 클로닝 및 발현을 위한 벡터 및 절차는, 예를 들어, 문헌[Sambrook et al. (Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1987))] 및 문헌[Ausubel et al., 1995]에 논의되어 있다. 본 개시내용에 유용한 표준 발현 벡터는 당 분야에 널리 공지되어 있고, 플라스미드, 코스미드, 파지 벡터, 바이러스 벡터, 및 효모 인공 염색체를 포함한다(그러나 이로 제한되지 않음). 벡터 서열은 에서리키아 콜라이(*E. coli*)에서 전파를 위한 복제 기점; SV40 복제 기점; 숙주 세포에서의 선택을 위한 암피실린, 네오마이신, 또는 퓨로마이신 내성 유전자; 및/또는 우성 선택 가능한 마커 및 관심 유전자를 증폭시키는 유전자(예를 들어, 다이하이드로폴레이트 리덕타제 유전자)를 함유할 수 있다.

[0116] 대안적으로, 액티빈 A의 펩타이드 억제제는, 예를 들어, 통상적인 메리필드(Merrifield) 고체 상 f-Moc 또는 t-Boc 화학과 같은 당 분야에 공지된 기술을 사용하여 화학적으로 합성될 수 있다. 펩타이드 합성의 방법에 대해

서는 또한 문헌[Bodansky, "Principles of Peptide Synthesis," (Springer Verlag, Berlin (1993)) and Grant (ed.), "Synthetic Peptides: A User's Guide," (W. H. Freeman and Company, New York (1992))]을 참조한다. 또한, 자동화된 펩타이드 합성기는 상업적으로 이용 가능하다(예를 들어, Advanced ChemTech Model 396; Milligen/Biosearch 9600).

[0117] 특정 실시형태에서, 유용한 액티빈 A의 길항제는 펩타이드 및 펩타이드미메틱과 같은 소분자이다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "펩타이드미메틱"은 화학적으로 변형된 펩타이드 및 비-천연 발생 아미노산, 펩토이드 등을 함유하는 펩타이드-유사 분자를 포함한다. 펩타이드미메틱은 대상체에게 투여될 때 향상된 안정성을 포함하여 펩타이드에 비해 다양한 장점을 제공한다. 펩타이드미메틱을 동정하는 방법은 당 분야에 잘 알려져 있고, 잠재적 펩타이드미메틱의 라이브러리를 함유하는 데이터베이스의 스크리닝을 포함한다. 예를 들어, 캠브리지 구조 데이터베이스(Cambridge Structural Database)는 공지된 결정 구조를 갖는 300,000개 초과 화합물의 집합을 함유한다(Allen *et al.*, *Acta Crystallogr. Section B* 35:2331 (1979)). 표적 분자의 결정 구조가 이용 가능하지 않은 경우, 예를 들어, 프로그램 CONCORD(Rusinko *et al.*, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 29:251 (1989))를 사용하여 구조가 생성될 수 있다. 또 다른 데이터베이스인 사용 가능한 화학물질 디렉토리(Available Chemicals Directory)(Molecular Design Limited, Information Systems; 캘리포니아 산 리안드로 소재)는 상업적으로 이용 가능하고 또한 잠재적인 펩타이드미메틱을 확인하기 위해 검색될 수 있는 약 100,000개의 화합물을 함유한다.

[0118] 특정 실시형태에서, 액티빈 A의 펩타이드 억제제는 번역-후 변형을 더 포함할 수 있다. 이러한 변형은 아세틸화, 카복실화, 글리코실화, 인산화, 지질화, 및 아실화를 포함하지만, 이로 제한되지 않는다. 결과적으로, 변형된 가용성 폴리펩타이드는 폴리에틸렌 글리콜, 지질, 다당류 또는 단당류, 및 포스페이트와 같은 비-아미노산 요소를 함유할 수 있다. 폴리펩타이드의 기능성에 대한 이러한 비-아미노산 요소의 효과는 본 명세서에 기술된 기능적 검정을 사용하여 시험될 수 있다.

[0119] C. 소분자 억제제

[0120] 본 개시내용은 또한 액티빈 A의 소분자 억제제를 포함한다. 소분자는 일반적으로 저분자량(바람직하게는 약 2000 달톤 미만, 약 1000 달톤 미만, 또는 약 500 달톤 미만)을 갖는 합성 및 천연 물질의 다양한 그룹이다. 소분자는, 제한 없이, 예를 들어, 핵산, 펩타이드, 폴리펩타이드, 펩타이드 핵산, 펩타이드미메틱, 탄수화물, 지질, 또는 다른 유기(탄소 함유) 또는 무기 분자일 수 있고, 합성 또는 자연 발생 또는 선택적으로 유도체화될 수 있다. 이러한 소분자는 치료적으로 전달 가능한 물질일 수 있거나, 전달 또는 표적화를 용이하게 하기 위해 추가로 유도체화될 수 있다. 이러한 것들은 천연 공급원(예를 들어, 식물, 진균, 미생물 등)으로부터 분리되거나, 합성 또는 천연 화합물의 무작위 또는 조합 화학 라이브러리로부터 분리되거나, 합성될 수 있다(Werner *et al.*, (2006) *Brief Funct. Genomic Proteomic* 5(1):32-6). 사용될 수 있는 많은 무작위 또는 조합 라이브러리가 당 분야에 공지되어 있다. 당류, 펩타이드, 및 핵산 기반 화합물의 무작위 및 유도 합성을 위해 현재 수많은 수단이 사용된다. 합성 화합물 라이브러리는 Maybridge Chemical Co.(영국 콘월 트레빌레트 소재), Comgenex(뉴저지주 프린스턴 소재), Brandon Associates(뉴햄프셔주 메리맥 소재), 및 Microsource(코네티컷주 뉴밀포드 소재)로부터 상업적으로 이용 가능하다. 희귀 화학 라이브러리는 Aldrich(위스콘신주 밀워키 소재)로부터 입수 가능하다. 대안적으로, 박테리아, 진균, 식물 및 동물 추출물 형태의 천연 화합물의 라이브러리는 예를 들어, Pan Laboratories(워싱턴주 보셀 소재) 또는 MycoSearch(노스캐롤라이나주 소재)로부터 입수 가능하거나, 용이하게 생산 가능하다. 추가적으로, 천연 및 합성적으로 생산된 라이브러리 및 화합물은 기존 화학적, 물리적, 및 생화학적 수단을 통해 용이하게 변형된다(Blondelle *et al.*, (1996) *Tib Tech* 14:60).

[0121] 액티빈 A의 길항제, 예를 들어, 소분자 억제제의 동정 및 스크리닝은, 예를 들어, X-선 결정학, 중성자 회절, 핵 자기 공명 분광법, 및 구조 결정을 위한 다른 기술을 사용하여 관련된 단백질의 구조적 특징을 결정함으로써 추가로 촉진될 수 있다. 이러한 기술은 액티빈 A의 길항제의 합리적인 설계 또는 동정을 제공한다.

[0122] D. 액티빈 A 신호전달에서 액티빈 A 발현 또는 다운스트림 분자 사건에 영향을 미치는 화합물

[0123] 본 개시내용은 또한 액티빈 A 발현을 억제하거나 액티빈 A가 이의 다운스트림 신호전달 경로(들)와 결합하는 것을 방지하는 액티빈 A의 억제제를 포함한다. 유용한 발현 억제제의 비제한적인 예는, 예를 들어, 간섭 RNA(예를 들어, siRNA), dsRNA, RNA 폴리머라제 III 전사된 DNA, 리보자임, 및 안티센스 핵산을 포함한다.

[0124] 안티센스 DNA, RNA, 및 DNA/RNA 분자를 포함하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 표적화된 mRNA에 결합하고 단백질 번역을 방지함으로써 mRNA의 번역을 직접 차단하는 작용을 한다. 예를 들어, 적어도 약 15개 염기이고 표적 DNA 서열의 독특한 영역에 상보적인 안티센스 올리고뉴클레오타이드는, 예를 들어, 기존 포스포다이에스테

르 기술에 의해 합성될 수 있다(Dallas et al., (2006) Med. Sci. Monit. 12(4):RA67-74; Kalota et al., (2006) Handb. Exp. Pharmacol. 173:173-96; Lutzelburger et al., (2006) Handb. Exp. Pharmacol. 173:243-59).

[0125] siRNA는 통상적으로 15 내지 50개의 염기쌍 및 바람직하게는 21 내지 25개의 염기쌍을 함유하고 세포 내에서 발현된 표적 유전자 또는 RNA와 동일하거나 거의 동일한 뉴클레오타이드 서열을 갖는 이중 가닥 구조를 포함한다. 안티센스 폴리뉴클레오타이드는 모르폴리노, 2'-O-메틸 폴리뉴클레오타이드, DNA, RNA 등을 포함하지만, 이로 제한되지 않는다. 액티빈 A 발현을 억제하는 siRNA의 예는 문헌[Hoda et al., Br J Cancer. 2012 Dec 4;107(12):1978-86]에 개시된 항-액티빈 A siRNA를 포함하지만, 이로 제한되지 않는다.

[0126] RNA 폴리머라제 III 전사된 DNA는 U6 프로모터와 같은 프로모터를 함유한다. 이러한 DNA는 siRNA로서 기능할 수 있는 세포에서의 작은 헤어핀 RNA 또는 안티센스 RNA로서 기능할 수 있는 선형 RNA를 생산하기 위해 전사될 수 있다. 억제제는 시험관내 중합되거나, 재조합 RNA는 키메라 서열, 또는 이들 기의 유도체를 함유할 수 있다. 억제제는 표적 RNA 및/또는 유전자가 억제되도록 하는, 리보뉴클레오타이드, 데옥시리보뉴클레오타이드, 합성 뉴클레오타이드, 또는 임의의 적합한 조합을 함유할 수 있다. 또한, 이러한 형태의 핵산은 단일, 이중, 삼중, 또는 사중 가닥일 수 있다(예를 들어, Bass (2001) Nature, 411, 428-429; Elbashir et al., (2001) Nature, 411, 494-498; 및 PCT 공개 번호 WO 00/44895, WO 01/36646, WO 99/32619호, WO 00/01846, WO 01/29058, WO 99/07409, WO 00/44914 참조).

[0127] 리보자임은 RNA의 특정 절단을 촉매할 수 있는 효소 RNA 분자이다. 리보자임 작용의 메커니즘은 상보적 표적 RNA에 대한 리보자임 분자의 서열 특이적 하이브리드화, 이후 세포내핵분해 절단(endonucleolytic cleavage)을 포함한다. mRNA 서열의 세포내핵분해 절단을 특이적이고 효율적으로 촉매화하는 조작된 해머헤드 모티프 리보자임 분자는 또한 본 개시내용의 범위 내에 있다. GUA, GUU, 및 GUC의 서열을 포함하는 리보자임 절단 부위에 대한 표적 분자의 스캐닝은 초기에 임의의 잠재적 RNA 표적 내의 특정 리보자임 절단 부위를 동정한다. 동정된 직후에, 절단 부위를 함유하는 표적 유전자의 영역에 상응하는 약 15 내지 20개의 리보뉴클레오타이드의 짧은 RNA 서열은 올리고뉴클레오타이드 서열을 부적합하게 만들 수 있는 이차 구조와 같은 예측된 구조적 특징에 대해 평가될 수 있다. 후보 표적의 적합성은 또한, 예를 들어, 리보뉴클레아제 보호 검정을 사용하여 상보적인 올리고뉴클레오타이드와의 하이브리드화에 대한 이들의 접근성을 시험함으로써 평가될 수 있다.

[0128] 본 개시내용의 발현 억제제는 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 이러한 것들은, 예를 들어, 고체상 포스포아마이트 화학적 합성에 의한 것과 같은 화학적 합성을 위한 기술을 포함한다. 대안적으로, 안티센스 RNA 분자는 RNA 분자를 인코딩하는 DNA 서열의 시험관내 또는 생체내 전사에 의해 생성될 수 있다. 이러한 DNA 서열은 T7 또는 SP6 폴리머라제 프로모터와 같은 적합한 RNA 폴리머라제 프로모터를 도입하는 매우 다양한 벡터에 도입될 수 있다(예를 들어, 문헌[Weintraub, H. et al., Antisense RNA as a molecular tool for genetic analysis, Reviews--Trends in Genetics, Vol. 1 (1) 1986] 참조).

[0129] 본 개시내용의 올리고뉴클레오타이드에 대한 다양한 변형은 세포내 안정성 및 반감기를 증가시키는 수단으로서 도입될 수 있다. 가능한 변형은 분자의 5' 및/또는 3' 말단에 리보뉴클레오타이드 또는 데옥시리보뉴클레오타이드의 플랭킹 서열의 첨가, 또는 올리고뉴클레오타이드 골격 내의 포스포다이에스테라제 연결보다는 포스포로티오에이트 또는 2'-O-메틸의 사용을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0130] 다양한 표적 분자에 결합하는 압타머 핵산 서열은 용이하게 제조된다. 본 개시내용의 압타머 핵산 서열은 전부 RNA 또는 일부 RNA, 또는 전부 또는 일부 DNA 및/또는 다른 뉴클레오타이드 유사체로 구성될 수 있다. 압타머는 통상적으로 SELEX(Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment)로 알려진 공지된 생체내 또는 시험관내(가장 통상적으로, 시험관내) 선택 기술을 이용함으로써 특정 리간드에 결합하도록 개발된다. 압타머의 제조 방법은, 예를 들어, 문헌[Ellington and Szostak (1990) Nature 346:818, Tuerk and Gold (1990) Science 249:505, 미국 특허 제5,582,981호; PCT 공개 번호 WO 00/20040; 미국 특허 제5,270,163호; Lorsch and Szostak (1994) Biochem. 33:973; Mannironi et al., (1997) Biochem. 36:9726; Blind (1999) Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 96:3606-3610; Huizenga and Szostak (1995) Biochem. 34:656-665; PCT 공개 번호 WO 99/54506, WO 99/27133, 및 WO 97/42317; 및 미국특허 제5,756,291호]에 기술되어 있다.

[0131] IV. ACVR1, ACVR2A, ACVR2B의 길항제

[0132] 유형 I 수용체 ACVR1 및 유형 II 수용체 ACVR2 단백질(예를 들어, ACVR2A 및/또는 ACVR2B)의 길항제가 FOP를 치료하기 위해 제공된다. 이러한 길항제는 다른 메커니즘 중에서 수용체에 직접 결합함으로써(ACVR1, ACVR2A 또

는 ACVR2B에 대한 항체의 경우), 또는 리간드 또는 반대 수용체에 결합하고 리간드 또는 반대 수용체가 ACVR1, ACVR2A 또는 ACVR2B에 결합하는 것을 억제함으로써(ACVR1, ACVR2A 또는 ACVR2B의 융합 단백질의 경우) 수용체를 길항화할 수 있다. ACVR2A 및 ACVR2B의 길항제는 또한 액티빈 A에 결합할 수 있다.

[0133] 본 명세서에서 제공되는 ACVR1, ACVR2A 또는 ACVR2B 길항제는 ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B의 활성을, 길항제를 투여받지 않은 대조군 세포 또는 동물 모델에 비해 적어도 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99% 또는 그 이상만큼 억제 또는 감소시킬 수 있다.

[0134] 액티빈 A의 임의의 길항제는 FOP를 치료하는 방법에서 단독으로 또는 ACVR1, ACVR2A 또는 ACVR2B 중 하나 이상의 길항제와 조합하여 사용될 수 있다. 길항제는, 예를 들어, 액티빈 A, ACVR1, ACVR2A 또는 ACVR2B 폴리펩타이드, 예컨대, 세포외 도메인, 길항제 항체, 또는 소분자 억제제를 포함할 수 있다.

[0135] A. ACVR1, ACVR2A 및 ACVR2B 폴리펩타이드의 세포외 도메인

[0136] 길항제는 각각 ACVR1, ACVR2A 및 ACVR2B의 적어도 하나의 활성을 억제하는 데 효과적인 ACVR1, ACVR2A 및 ACVR2B 단백질 및 이의 단편을 포함한다. 이러한 길항제는 통상적으로 ACVR1, ACVR2A 또는 ACVR2B 또는 이의 일부의 세포외 도메인을 포함한다. 바람직하게는, 이러한 세포외 도메인에는 막횡단 및 세포질 영역이 완전히 또는 실질적으로 없다(즉, 이러한 영역으로부터의 임의의 나머지 잔기는 세포외 도메인의 기능에 유의한 영향을 미치지 않는다). 다시 말해서, 이러한 길항제의 ACVR2A, ACVR2B 또는 ACVR1 성분은 상기 정의된 바와 같은 ACVR2A, ACVR2B 또는 ACVR1의 전체 세포외 도메인 또는 이들의 일부로 구성되거나 이를 필수적으로 포함한다. 이러한 길항제는 하기 추가로 설명되는 바와 같이 ACVR2A, ACVR2B 또는 ACVR1과 별개의 다른 성분(들)을 포함하거나 포함하지 않을 수 있다. 막횡단 및 세포질 도메인이 없거나 실질적으로 없는 이러한 세포외 도메인은 가용성이다. 이러한 세포외 도메인은 가용성 리간드 또는 카운터 수용체에 결합하고, ACVR1, ACVR2A 또는 ACVR2B 세포 표면 수용체에 결합하는 리간드 또는 카운터 수용체와 효과적으로 경쟁함으로써, 리간드 또는 카운터 수용체의 생체내 이용가능성을 조절(감소)시킴으로써 길항제로서 기능할 수 있다.

[0137] 가용성 세포외 도메인은 초기에 신호 서열로 발현될 수 있고, 이는 발현 과정에서 절단된다. 신호 서열은 미국 특허 제7,709,605호(전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨)에 기술된 것과 같은 ACVR1, ACVR2A 또는 ACVR2B의 천연 신호 서열일 수 있거나, 상이한 단백질, 예컨대 꿀벌 멜리틴(HBM) 또는 조직 플라스미노겐 활성화제(TPA)로부터의 신호 서열일 수 있다. 대안적으로, 가용성 세포외 ACVR1, ACVR2A 또는 ACVR2B 폴리펩타이드는 신호 서열 없이 합성되거나 발현될 수 있다.

[0138] ACVR1, ACVR2A 및 ACVR2B의 ECD 또는 리간드 결합 도메인은 마우스 및 인간을 포함하는 종 중에서 고도로 보존된다. ECD는 시스템인 풍부 영역 및 C-말단 테일 영역을 함유한다. ACVR1, ACVR2A 및 ACVR2B의 ECD는, 예를 들어, 액티빈 A, 미오스타틴(GDF-8), GDF-11 및 BMP를 포함하는 다양한 그룹의 TGF β 패밀리의 리간드에 결합한다(예를 들어, 문헌[Souza et al. (2008) Molecular Endocrinology 22(12):2689-2702] 참조).

[0139] ACVR2A 및 ACVR2B 폴리펩타이드 및 가용성 ACVR2A 및 ACVR2B 폴리펩타이드의 예는 미국 특허 제7,842,633호; 미국 특허 제7,960,343호; 및 미국 특허 제7,709,605호에 개시된 것을 포함하며, 이러한 문헌 각각은 전문이 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0140] ACVR1, ACVR2A 또는 ACVR2B 폴리펩타이드의 ECD는 변이체 폴리펩타이드가 변경된 리간드 결합 특성(예를 들어, 결합 특이성 또는 친화성)을 갖도록 돌연변이될 수 있다. 일부 변이체 ACVR1, ACVR2A 또는 ACVR2B 폴리펩타이드는 특정 리간드에 대해 변경된(예를 들어, 상승되거나 감소된) 결합 친화성을 갖는다. 변이체는 자연 발생 ACVR1, ACVR2A 또는 ACVR2B 서열과 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%의 서열 동일성을 가지고, 생물학적 활성을 보유하고, 이에 따라, 본 명세서의 다른 곳에 기술된 바와 같은 ACVR1, ACVR2A 또는 ACVR2B 활성을 갖는다. ACVR2A 및 ACVR2B의 활성 변이체 및 단편은, 예를 들어, 미국 특허 제7,842,633; 미국 특허 제7,960,343호; 및 미국 특허 제7,709,605호에 기술되어 있으며, 이러한 문헌 각각은 그 전체가 본 명세서에 참조에 의해 인용된다.

[0141] ACVR1, ACVR2A 또는 ACVR2B 활성을 측정하기 위한 검정은 예를 들어, 미국 특허 제7,842,633호; 미국 특허 제7,960,343호; 및 미국 특허 제7,709,605호에 개시되어 있다. 예를 들어, ACVR1, ACVR2A 또는 ACVR2B 폴리펩타이드 변이체는 리간드에 결합하는 능력 또는 ACVR1, ACVR2A 또는 ACVR2B 수용체 단백질에 대한 리간드의 결합을 방지하는 능력에 대해 스크리닝될 수 있다.

[0142] B. 융합 단백질

- [0143] 상기 기술된 ACVR1, ACVR2A 및 ACVR2B 폴리펩타이드는 ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B 폴리펩타이드의 적어도 일부 및 하나 이상의 융합 도메인을 갖는 융합 단백질로서 발현될 수 있다.
- [0144] 융합 도메인은 면역글로불린 중쇄 불변 영역(Fc), 인간 혈청 알부민(HSA), 글루타티온 S 트랜스퍼라제(GST), 단백질 A, 단백질 G, 또는 융합 단백질을 안정화, 가용화, 단리 또는 멀티머화하는 데 유용할 수 있는 임의의 융합 도메인을 포함한다.
- [0145] 면역글로불린 중쇄의 Fc 도메인은 융합 단백질에 대한 바람직한 도메인이다. 면역글로불린의 Fc 부분과의 융합은 광범위한 단백질에 바람직한 약동학적 특성을 부여한다(예를 들어, 단백질의 안정성 및/또는 혈청 반감기를 증가시킨다). 따라서, 본 개시내용은 면역글로불린의 Fc 도메인에 융합된 ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B의 적어도 하나의 ECD를 포함하는 융합 단백질을 제공한다.
- [0146] 본 방법에서 사용하기 위한 Fc 도메인은 임의의 면역글로불린으로부터 유래될 수 있다. IgG, IgA, IgM, IgD 및 IgE를 포함하는 임의의 다양한 부류의 면역글로불린이 사용될 수 있다. IgG 부류 내에는, 예를 들어, IgG₁, IgG₂, IgG₃ 및 IgG₄를 포함하는 상이한 하위부류 또는 아이소형이 있다. 일 실시형태에서, Fc 융합 단백질은 IgG 분자의 Fc 도메인을 포함한다. 추가 실시형태에서, Fc 도메인은 IgG₁ 분자로부터 유래된다. 면역글로불린 분자는, 예를 들어, 포유동물, 설치류, 인간, 마우스, 래트, 햄스터 또는 토끼를 포함하는 임의의 동물 유형일 수 있다. 일 실시형태에서, 면역글로불린 Fc 도메인은 포유동물로부터 유래된다. 또 다른 실시형태에서, Fc 도메인은 인간으로부터 유래된다. 또 다른 실시형태에서, Fc 도메인은 마우스 또는 래트와 같은 설치류로부터 유래된다. 특정 실시형태에서, 융합 단백질의 Fc 도메인은 인간 IgG1로부터 유래된다.
- [0147] 본 명세서에 제공된 Fc-융합 단백질은 당 분야에 공지된 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. Fc-융합 단백질은 적어도 CH2 및 CH3 영역, 및 통상적으로 힌지 영역의 적어도 일부를 포함할 수 있다. CH1 영역이 존재할 수 있지만, 융합 단백질에서는 통상적으로 생략된다.
- [0148] 융합은 면역글로불린 불변 도메인의 Fc 부분 내의 임의의 부위에서 이루어질 수 있다. 융합은 불변 도메인의 Fc 부분의 C-말단, 또는 중쇄의 CH1 영역의 바로 N-말단에 이루어질 수 있다. 특정 부위는 Fc-융합 단백질의 생물학적 활성, 분비 또는 결합 특성을 최적화하기 위해 선택될 수 있다.
- [0149] 일부 경우에, ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B의 ECD를 인코딩하는 핵산은 면역글로불린 불변 도메인 서열의 N-말단을 인코딩하는 핵산에 C-말단으로 융합된다. 다른 경우에, N-말단 융합이 또한 가능하다. ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B의 ECD를 면역글로불린 불변 도메인 서열의 N-말단 및 C-말단 둘 다에 융합시키는 것이 또한 가능하다.
- [0150] 면역글로불린 융합체의 생산을 위해, 또한 미국 특허 제5,428,130호, 미국 특허 제5,843,725호, 미국 특허 제6,018,026호 및 WO2005/070966가 참조되며, 이러한 문헌 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용된다.
- [0151] 융합 단백질은, 예를 들어, 융합 단백질을 인코딩하는 핵산의 재조합 발현에 의해 생산될 수 있다. 예를 들어, 융합 단백질은 ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B의 ECD를 인코딩하는 핵산을 Fc 도메인을 인코딩하는 핵산에 융합 시킴으로써 제조될 수 있다. ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B ECD 핵산은 Fc 도메인을 인코딩하는 핵산의 N-말단에 융합될 수 있거나 Fc 도메인을 인코딩하는 유전자의 C-말단에 융합될 수 있다. 대안적으로, ECD는 Fc 도메인의 임의의 위치에서 융합될 수 있다.
- [0152] ECD 융합 단백질은 또한 링커를 포함할 수 있다. Fc 융합 단백질의 경우, 링커는 ACVR1, ACVR2A 또는 ACVR2B ECD와 Fc 도메인 사이에 위치할 수 있고, 임의로 힌지 영역의 일부 또는 전부를 대체할 수 있다. 링커는 이차 구조가 비교적 없는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 50개 이상의 아미노산일 수 있다. 링커는 글리신 및 프롤린 잔기가 풍부할 수 있고, 예를 들어, 트레오닌/세린 및 글리신의 반복 서열(예를 들어, TG₄ 또는 SG₄ 반복부)을 함유할 수 있다.
- [0153] 2개 이상의 ECD-Fc 융합 단백질은 링커에 의해 함께 연결될 수 있다. 이러한 경우에, 링커는 ECD들 사이에 위치할 수 있거나, 링커는 융합 단백질을 함께 연결하기 위해 Fc 도메인들 사이에 위치할 수 있다. 예를 들어, 1, 2, 3, 4개 이상의 ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B Fc 융합 단백질이 함께 연결될 수 있다.
- [0154] ACVR2A 및/또는 ACVR2B ECD 융합 단백질의 예는 미국 특허 제7,842,633호; 미국 특허 제7,960,343호; 및 미국 특허 제7,709,605호에 개시된 것과 같은 기술되어 있으며, 이러한 문헌들 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의

해 원용된다.

- [0155] ACVR2A 길항제의 일 예는 소타테르셉트(Sotatercept)(ACE-011로도 불림)로 알려져 있다. 소타테르셉트는 인간 IgG1 Fc 도메인에 융합된 ACVR2A의 ECD를 함유하고, 문헌[Carrancio *et al.*, (2014) *British J Haematology*. 165(6):870-872]에 상세히 기술되어 있으며, 이러한 문헌은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용된다.
- [0156] ACVR2B 길항제의 일 예는 ACE-031로 알려져 있다. ACE-031은 인간 IgG1 Fc 도메인에 융합된 ACVR2B의 ECD를 함유하고, 문헌[Sako *et al.*, (2010) *J. Biol. Chem.* 285(27):21037-21048]에 상세히 기술되어 있으며, 이러한 문헌은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용된다.
- [0157] ACVR1 ECD 융합 단백질의 예는 문헌[Berasi, *et al.*, (2011) *Growth Factors*, 29(4):128-139]에 개시된 것과 같이 공지되어 있으며, 이러한 문헌은 전문이 본 명세서에 참조로 포함된다.
- [0158] *C. 하이브리드 ECD 융합 단백질*
- [0159] 하이브리드 또는 다중특이적 ECD 융합 단백질 길항제가 또한 제공된다. 하이브리드 ECD 융합 단백질은 2개 이상의 ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B ECD의 조합을 포함할 수 있다. 예를 들어, 융합 단백질은 ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B ECD의 1, 2, 3, 4개 이상의 분자를 포함할 수 있다. 일 실시형태에서, 길항제는 ACVR2B ECD에 연결된 ACVR2A ECD를 포함한다. 추가 실시형태에서, 길항제는 Fc 도메인을 더 포함한다.
- [0160] 일 실시형태에서, 융합 단백질은 ACVR2A ECD의 하나 이상의 분자 및 ACVR2B ECD의 하나 이상의 분자를 포함할 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 융합 단백질은 ACVR1 ECD의 하나 이상의 분자 및 ACVR2A ECD의 하나 이상의 분자를 포함할 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 융합 단백질은 ACVR1 ECD의 하나 이상의 분자 및 ACVR2B ECD의 하나 이상의 분자를 포함할 수 있다.
- [0161] 일 실시형태에서, 융합 단백질은 함께 복합체를 형성하는 하나 이상의 ACVR2A ECD-Fc 융합 단백질 및 하나 이상의 ACVR2B ECD-Fc 융합 단백질을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 융합 단백질은 함께 복합체를 형성하는 하나 이상의 ACVR1 ECD-Fc 융합 단백질 및 하나 이상의 ACVR2A ECD-Fc 융합 단백질을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 융합 단백질은 함께 복합체를 형성하는 하나 이상의 ACVR1 ECD-Fc 융합 단백질 및 하나 이상의 ACVR2B ECD-Fc 융합 단백질을 포함한다. 이러한 경우에, 융합 단백질은 이들의 Fc 도메인을 통해, 예를 들어, 적어도 하나의 다이설파이드 연결에 의해 또는 링커 서열에 의해 함께 연결될 수 있다. 대안적으로, 융합 단백질의 ECD 부분은 링커 서열에 의해 함께 연결될 수 있다.
- [0162] 일 실시형태에서, 길항제는 제1 Fc 도메인에 융합된 ACVR2A ECD 및 제2 Fc 도메인에 융합된 ACVR2B ECD를 포함한다. 이러한 경우에, Fc 도메인은 서로 복합체를 형성할 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 길항제는 각각 Fc 도메인에 융합된 ACVR2A와 ACVR2B ECD 사이에 링커를 포함한다.
- [0163] 융합 단백질은 탠덤 형식으로 ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B 길항제를 생성하도록 작제될 수 있다. 일 실시형태에서, 융합 단백질은 탠덤으로 ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B로부터의 2개 이상의 ECD에 이어 Fc 도메인을 포함한다. 일부 경우에, 탠덤으로 배열된 ECD는 링커 서열에 의해 분리된다. 이러한 탠덤 융합 단백질은 1, 2, 3, 4개 이상의 ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B ECD를 포함할 수 있다.
- [0164] *D. 항체 길항제*
- [0165] ACVR1, ACVR2A 또는 ACVR2B 길항제는 임의의 이러한 수용체에 대한(즉, 특이적으로 결합하는) 항체, 바람직하게는 세포의 도메인 내에 에피토프를 갖는 항체를 포함한다. 이의 표적 항원에 대한 항체 또는 융합 단백질의 특이적 결합은 적어도 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 , 또는 10^{10} M^{-1} 의 친화력을 의미한다. 특이적 결합은 검출 가능하게 더 높은 크기이고, 적어도 하나의 관련 없는 표적에 발생하는 비특이적 결합과 구별될 수 있다. 항체를 제조하는 방법은 당 분야에 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Kohler & Milstein (1975) *Nature* 256:495-497; 및 Harlow & Lane (1988) *Antibodies: a Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Lab., Cold Spring Harbor, NY] 참조).
- [0166] ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B의 활성을 억제 또는 감소시키는 임의의 항체(예를 들어, 길항제 항체)가 사용될 수 있다. 이러한 ACVR2A 및 ACVR2B 항체는, 예를 들어, 미국 특허 제8,486,403호, 미국 특허 제8,128,933호, WO2009/137075, 및 문헌[Lach-Trifilieff, *et al.* (2014) *Mol. Cell Biol.* 34(4):606-618]에 기재되어 있으며, 이러한 문헌들 각각은 전문이 본 명세서에 참조로 포함된다. 이들 항체 중 임의의 것의 인간화, 키메라 및 베너드 형태는 이들과 결합을 위해 경쟁하는 항체가 포함된다.
- [0167] 일 실시형태에서, 항체는 항-ACVR2A 항체이다. 또 다른 실시형태에서, 항체는 항-ACVR2B 항체이다. 다른 실시형

태에서, 항체는 ACVR2A 및 ACVR2B 둘 다에 대한 이중특이적 항체일 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 항체는 항-ACVR1 항체이다. 다른 실시형태에서, 항체는 ACVR1 및 ACVR2A 둘 다에 대한 또는 ACVR1 및 ACVR2B 둘 다에 대한 이중특이적 항체일 수 있다.

[0168] E. 소분자 길항제

[0169] 액티빈 A, ACVR1, ACVR2A 및 ACVR2B의 길항제는 또한 소분자 길항제일 수 있다. 이러한 소분자 길항제는 액티빈 A, ACVR1, ACVR2A, 또는 ACVR2B의 활성을 억제할 수 있다. ACVR1의 소분자 길항제는, 예를 들어, 문헌[Mohedas *et al.*, (2013) *ACS Chem. Biol.* 8:1291-1302](이의 전문이 본 명세서에 참조로 포함됨)에 기재된 LDN-212854를 포함한다.

[0170] V. 스크리닝 검정

[0171] 본 명세서에 제공된 다양한 액티빈 A, ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B 길항제 및 이의 변이체 또는 단편의 활성은 다양한 검정에서 스크리닝될 수 있다. 예를 들어, ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B 길항제 및 이의 변이체는 리간드에 결합하거나 ACVR1, ACVR2A 또는 ACVR2B 수용체에 결합하는 능력에 대해, ACVR1 및/또는 ACVR2 폴리펩타이드에 대한 리간드의 결합을 억제하는 능력에 대해 및/또는 ACVR1 또는 ACVR2 수용체의 활성을 억제하는 이들의 능력에 대해 스크리닝될 수 있다.

[0172] ACVR1 또는 ACVR2 길항제 또는 이의 변이체 또는 단편의 활성은 시험관내 또는 세포 기반 검정에서 시험될 수 있다. 시험관내 결합 검정 및 수용체 활성의 억제를 측정하기 위한 검정은 잘 알려져 있다. ACVR1, ACVR2A 또는 ACVR2B 길항제의 활성을 측정하기 위한 다양한 검정은, 예를 들어, 미국 특허 제7,842,663호에 상세히 기술되어 있으며, 이러한 문헌은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용된다.

[0173] ACVR1 또는 ACVR2 폴리펩타이드와 이의 결합 단백질 사이의 복합체 형성을 조절하는 길항제의 능력은 다양한 기술에 의해 검출될 수 있다. 예를 들어, 복합체 형성의 조절은, 예를 들어, 검출 가능하게 표지된 단백질, 예를 들어, 방사성 표지된(예를 들어, ^{32}P , ^{35}S , ^{14}C 또는 ^3H), 형광 표지된(예를 들어, FITC), 또는 효소적으로 표지된 ACVR1 또는 ACVR2 폴리펩타이드 또는 이의 결합 단백질을 사용하여 또는 면역검정 또는 크로마토그래피 검출에 의해 정량화될 수 있다.

[0174] ACVR1 또는 ACVR2 수용체-매개 신호 전달을 억제하는 ACVR1 또는 ACVR2 길항제의 능력이 모니터링될 수 있다. 예를 들어, Smad 활성화와 같은 다운스트림 신호전달의 효과는 Smad-반응성 리포터 유전자를 사용하여 모니터링될 수 있다.

[0175] ACVR1 및/또는 ACVR2 길항제 및 이의 변이체 또는 단편은 또한 생체내 검정에서 활성에 대해 스크리닝될 수 있다. 예를 들어, ACVR1 또는 ACVR2 길항제 또는 이의 변이체는 FOP의 마우스 모델에서 FOP를 치료하는 이들의 능력(예를 들어, 이소성 골 형성을 감소시키는 능력)에 대해 스크리닝될 수 있다. *Acvr1*^[R206H]를 인코딩하는 조건부 대립유전자를 보유하는 형질전환 녹-인 마우스가 개발되었다. 이러한 *Acvr1*^{[R206H]COIN/+} 마우스는 US 14/207,320 및 PCT/US2014/026582에 기술되어 있으며, 이러한 문헌들은 전문이 본 명세서에 참조로 포함된다. 이러한 대립유전자는 Cre 재조합효소에 의한 활성화 후에만 R206H 변이체를 발현한다. 이는 상이한 유형의 Cre 드라이버 라인을 사용함으로써 특정 조직 및 특정 시간에 *Acvr1*^[R206H] 발현의 Cre-의존적 활성화를 가능하게 한다. 이러한 방식으로, 생성된 마우스는 또한 *Acvr1*^[R206H]의 비조절된 녹-인 대립유전자로 관찰된 주산기 치사율을 우회한다. 젊은 또는 성체 마우스에서 *Acvr1*^[R206H] 발현의 활성화는 이소성 골 형성을 초래한다. 예를 들어, *Acvr1*^{[R206H]COIN/+}; *Gt(ROSA26)Sor*^{CreERT2/+} 마우스(여기서 CreERT2는 타목시펜-조절 가능한 재조합효소(문헌 [Feil *et al.* (1997) *Biochem Biophys Res Commun.* 237(3):752-7](이러한 문헌은 *Gt(ROSA26)Sor* 유전자좌에 도입되었고, 따라서 이는 구성적으로 그리고 전체적으로 발현됨)) 참조)는 타목시펜에 노출된 후 FOP를 발생시킨다. 간략하게, 타목시펜의 부재 하에, CreERT2는 불활성이다. 타목시펜은 Cre의 발현을 활성화시킨 다음 *Acvr1*^{[R206H]COIN/+}에 작용하여 이를 *Acvr1*^{[R206H]/+}로 전환시킴으로써 마우스의 유전자형을 ACVR1[R206H]인 FOP 환자의 유전자형을 미러링하도록 전환시킨다. *Acvr1*^[R206H] 대립유전자는 *Acvr1*^[R206H]를 발현하며, 이는 *Acvr1*^{[R206H]/+}; *Gt(ROSA26)Sor*^{CreERT2/+} 마우스에서 FOP의 발달을 유도하기에 적합하다. 이는 통상적인 *Acvr1*^[R206H] 녹-인 마우스, *Acvr1*^{tm1Emsh}(<http://www.informatics.jax.org/allele/key/828153>)에서 경험한 배아 치사율을 우회한다. 타목시펜 치료 후, ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B 길항제 또는 대조군은 *Acvr1*^{[R206H]COIN/+}; *Gt(ROSA26)Sor*^{CreERT2/+} 마우스에 투여될 수 있으며, 동물은 이소성 골 형성에 대해 모니터링될 수

있다(문헌[Chakkalakal SA, et al. (2012) An Acvr1 R206H knock-in mouse has fibrodysplasia ossificans progressiva. J Bone Miner Res. 27(8):1746-56] 참조). 이러한 검정은 하기 실시예에 상세히 기술되어 있다.

[0176] **VI. 진행성 골화성 섬유이형성증(FOP)**

[0177] FOP는 이소성 골화증이 결합 조직과 같은 골격의 부위에서 조직학적으로 및 생체역학적으로 '정상' 골을 형성하는 드문 유전성 장애이다. 이러한 장애는 비록 일시적이기는 하지만 누적되고, 중증도가 증가하는 영구 장애를 초래한다. FOP는 이소성 골화증(Heterotopic Ossification: HO)로 알려진 과정인 근육, 힘줄 및 인대가 점진적으로 뼈로 대체되는 수그러들지 않는 진행성, 초희귀 유전 질환이다. 턱, 척추 및 흉곽의 HO는 말하고, 먹거나, 호흡하는 것을 어렵게 하여 체중을 감소시키고, 이동성 상실 및 골격 기형을 증가시킬 수 있다. FOP를 갖는 사람들은 또한 HO가 무증상적으로 뿐만 아니라 증상과 함께 발생할 수 있지만 "플레어-업(flare-up)"으로 알려진 일시적인 국소 염증을 경험한다. FOP를 갖는 대부분의 사람들은 30세까지 휠체어에 의존하며, 평균 생존 연령은 대략 40세이다. 사망은 종종 HO로 인한 폐렴, 심부전 및 흡인과 같은 합병증 및 흉부, 목 및 턱의 이동성 상실로 인해 발생한다.

[0178] FOP의 전 세계 유병률은 대략 1/2,000,000이다. 전 세계적으로 FOP로 진단된 대략 800 내지 1000명의 환자가 있으며, 많은 다른 환자들은 진단되지 않거나 오진된 채로 남아 있는 것으로 생각된다. FOP에 대한 민족적, 인종적, 성별, 또는 지리적 선호는 없다. 이는 극도로 장애를 일으키는 질병일 뿐만 아니라 수명이 상당히 단축되는 병태이다.

[0179] FOP의 특징은, 예를 들어, 엄지발가락의 선천성 기형, 염증을 동반한 머리, 목, 및/또는 등에 고통스러운 연조직 종창을 특징으로 하는 플레어-업 및 연골내 골화를 통한 이소성 골의 점진적 형성을 포함한다.

[0180] FOP는 엄지발가락 기형의 존재에 기초하여 임상적으로 의심될 수 있다. X-선 또는 골 스캔과 같은 진단 시험은 엄지발가락 이상을 입증하고 이소성 골화증의 존재를 확인할 수 있다. FOP 진단은 또한, 예를 들어, *ACVR1* 유전자에서 617 G-to-A(R206H) 돌연변이를 검출함으로써 유전자 시험에 의해 확인될 수 있다.

[0181] FOP는 이소성 골화증의 다른 상태를 포함하는 여러 다른 장애로 오진되는 것이 일반적이다. FOP는, 예를 들어, 분리된 선천성 기형, 림프부종, 연조직 육종, 테스모이드 종양, 공격성 청소년 섬유종증, 청소년 건막류, 분리된 단지증, 진행성 골 이형성증 및 이소성 골화증을 포함하는 장애와의 감별 진단에 의해 구별되어야 한다. 엄지발가락 선천성 기형 및 고통스러운 연조직 플레어-업의 존재는 FOP를 다른 장애와 구별하는 데 사용될 수 있다.

[0182] FOP를 갖는 환자는 엄지발가락의 선천성 기형을 갖지만, 그렇지 않으면 출생시 정상으로 보인다. FOP와 관련된 플레어-업은 생후 첫 10년 동안 시작된다. 플레어-업은, 예를 들어, 연조직 손상, 낙상, 피로, 바이러스 감염 또는 근육내 주사에 의해 촉발될 수 있다. 플레어-업의 결과는 인대, 골격근 또는 힘줄과 같은 연조직의 이소성 골로의 변형이다.

[0183] FOP에 대한 또는 FOP와 관련된 HO의 예방 또는 역전에 대한 이전의 치료적 치료는 없었다. FOP는 개선된 안전성 및 손상을 최소화하기 위한 전략, 근육내 주사 피하기 및 치과 치료를 받을 때 돌봄과 같은 예방 조치에 의해 관리되었다. 플레어-업의 처음 24시간 이내에 시작된 고용량 코르티코스테로이드 치료는 플레어-업과 관련된 염증 및 부종을 줄이는 데 도움이 될 수 있다. 이소성 골을 제거하기 위한 외과적 전략은 비생산적이고 새로운 외상-유발 이소성 골화증을 유발하므로 권장되지 않는다.

[0184] 본 명세서에서 상호교환적으로 사용되는 "새로운 이소성 골화증", "새로운 이소성 골화증 병변", "신규 골 병변", 또는 "새로운 병변"은 예를 들어, 액티빈 A 길항제의 투여 전, 또는 액티빈 A 길항제의 투여 시에 대상체에서 기존에 존재하지 않는 이소성 골화증을 지칭한다. 일 실시형태에서, 새로운 이소성 골화증은 액티빈 A 길항제의 투여 후 예방되거나 이의 용적이 감소될 수 있다. 일 실시형태에서, 새로운 이소성 골화증은 기존의 이소성 골화증을 제거하기 위한 수술을 받은 후 대상체에서 발생할 수 있다(그리고 액티빈 A 길항제의 투여는 이러한 발생을 예방할 수 있다). 새로운 이소성 골화증 병변의 발달은 당 분야의 표준인 기술을 사용하여 측정/결정될 수 있다. 예를 들어, 병변은, 예를 들어, 본 명세서에서 더욱 상세히 논의되는 바와 같이 양전자 방출 단층촬영(PET)의 사용에 의해 결정될 수 있다.

[0185] 새로운 이소성 골화증 병변의 "강도" 또는 "중증도"는, 예를 들어, 이의 활성, 강도, 용적, 일일 평균 통증, 성장 및 미네랄화 속도, 고통스러운 재발의 발생, 및/또는 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 관점에서, 새로운 이소성 골화증 병변의 형성을 분석하는 데 사용되는 임의의 하나 이상의 불리한 표현형을 지칭한다. 새로운 이소성 골화증 병변의 강도, 중증도, 또는 활성은, 예를 들어, ¹⁸F-NaF PET와 함께 양전자 방출 단층촬영(PET)의

사용에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Botman *et al.*, 2019(Bone. 2019 Jul;124:1-6)](이러한 문헌은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨)에는 FOP에서 HO 성장의 예측인자로서 18F-NaF PET의 사용이 기술되어 있고, 고강도 18F-NaF PET 신호와 특이적으로 관련된 활성 HO 병변의 평가를 위한 기초로서 작용한다. 일 실시 형태에서, 병변 활성(LA) = 병변에서 18F-NaF의 총 신호.

[0186] 단일 인접 표적 또는 새로운 이소성 골화증 병변의 용적은 당 분야에 공지된 하나 이상의 방법에 의해 측정될 수 있다. 일 실시형태에서, 용적 컴퓨터 단층촬영(CT)은 이소성 골 형성의 변화를 측정하고, 새로운 이소성 골 화증 병변의 용적을 결정하는 데 사용될 수 있다.

[0187] 본 명세서에서 사용되는 총 병변 활성(TLA)은 하기와 같이 정의된다: TLA = 제공된 시점에서 환자에 대한 모든 표적 및 새로운 병변에 대한 병변 활성의 환자-수준 합계 - 성장 및 미네랄화 HO 부하의 측정치.

[0188] "골 성장 및 미네랄화 활성의 속도"는 이소성 골 형성의 변화를 지칭한다. 일 실시형태에서, 18F-NaF PET는 골 성장 및 미네랄화 활성의 민감하고 특이적이고 전신 정량적 측정을 제공하는 데 사용될 수 있다. 또 다른 실시 형태에서, 18F-NaF PET를 이용한 양전자 방출 단층촬영(PET) 및 용적 컴퓨터 단층촬영(CT)을 사용하여 골 성장 및 미네랄화 활성의 변화를 측정할 수 있다.

[0189] "일일 평균 통증-NRS"는 통증 관리를 위해 0 내지 10의 숫자 등급 척도(NRS)를 사용하여 매주 내의 일일 통증을 평균화하는 것을 지칭한다. 통증 강도의 평가는 임상 통증 연구에서 핵심 결과 도메인들 중 하나로 간주된다(Dworkin *et al.*, 2005; 이러한 문헌은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨). 숫자 등급 척도(NRS)는 통증의 강도를 추정하는데 이용 가능한 최상의 단일-항목 방법 중 하나로 간주된다(Jensen *et al.*, 1999; Breivik *et al.*, 2000; 이러한 문헌은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨). NRS는 본 명세서에 개시된 모든 병변 활성과 관련하여 "통증 없음"을 나타내는 0 및 "참을 수 없는 통증"을 나타내거나 유사한 진술을 갖는 10을 갖는 0 내지 10의 등급 척도를 사용하여 통증 강도를 평가한다.

[0190] "플레이어-업"은 이소성 골화증 또는 새로운 이소성 골화증에 선행하거나 동반할 수 있는 통증성 및/또는 부종성 증기를 지칭한다. 특히, 이소성 골화증 및 만성 질환 진행은 또한 플레이어-업의 부재 하에서 보고되었다. 플레이어-업은 HO와 관련이 있든 없든 FOP 환자에게 상당한 부담이다. 액티빈 A 길항제의 투여 후 플레이어-업의 빈도 및 강도의 감소는 FOP에서의 플레이어-업이 액티빈 A와 관련이 있음을 나타낸다.

[0191] "기준 병변"은, 예를 들어, 투여 전 및/또는 투여 시점에 대상체에 이전에 존재하고, 새로운 이소성 골화증 병변이 아닌 병변을 지칭한다. 일 실시형태에서, 인간 대상체에게 치료학적 유효량의 액티빈 A 길항제를 투여하는 것은 대상체의 기준 병변에 영향을 미치지 않는다. 일 실시형태에서, 인간 대상체에게 유효량의 액티빈 A 길항제의 투여는 투여 전 대상체의 기준 병변의 수와 비교하여 대상체의 기준 병변의 수에 영향을 미치지 않는다. 일 실시형태에서, 인간 대상체에게 유효량의 액티빈 A 길항제의 투여는 투여 전 대상체에서 기준 병변의 용적과 비교하여, 대상체에서 기준 병변의 용적에 영향을 미치지 않는다. 또 다른 실시형태에서, 치료학적 유효량의 액티빈 A 길항제를 투여하는 것은 투여 전 대상체에서 기준 병변의 강도 또는 중증도와 비교하여 기준 병변의 강도 또는 중증도를 감소시키지 않는다. 일 실시형태에서, 인간 대상체에게 치료학적 유효량의 액티빈 A 길항제를 투여하는 것은 대조군 대상체에 비해 기준 병변의 이소성 골화증 병변 성장 및/또는 기준 병변의 미네랄화 속도를 감소시키지 않는다. 일 실시형태에서, 인간 대상체에게 치료학적 유효량의 액티빈 A 길항제를 투여하는 것은 대조군 대상체에 비해 기준 병변의 수를 감소시키지 않는다. 일 실시형태에서, 인간 대상체에게 치료학적 유효량의 액티빈 A 길항제를 투여하는 것은 대조군 대상체에 비해 기준 병변의 강도 또는 활성을 감소시키지 않는다.

[0192] VII. 치료 방법

[0193] FOP를 갖는 대상체에게 치료학적 유효량의 액티빈 A, ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B 길항제를 투여하는 것을 포함하는, FOP를 치료하는 방법이 본 명세서에 제공된다. 일 실시형태에서, FOP는 치료학적 유효량의 액티빈 A 길항제를 투여함으로써 치료된다. 일 실시형태에서, FOP는 액티빈 A에 대한 치료학적 유효량의 항체를 투여함으로써 치료된다. 일 실시형태에서, 치료학적 유효량의 ACVR2A 길항제 및 ACVR2B 길항제가 투여된다. 추가 실시형태에서, ACVR2A 길항제는 Fc 융합 단백질이고 ACVR2B 길항제는 Fc 융합 단백질이다.

[0194] 일 양태에서, 본 개시내용은 진행성 골화성 섬유이형성증(FOP)을 갖는 인간 대상체에서 새로운 이소성 골화증 병변의 강도 또는 중증도를 감소시키는 방법으로서, 방법은 FOP를 갖는 대상체에게 치료학적 유효량의 액티빈 A 길항제를 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다. 일 실시형태에서, 인간 대상체에서 새로운 이소성 골화증 병변의 강도 또는 중증도는 액티빈 A 길항제가 투여되지 않은 인간 대상체에 비해 적어도 50%, 적어도 40%, 적

어도 30%, 적어도 20%, 적어도 10%, 또는 적어도 5%만큼 감소한다.

- [0195] FOP를 갖는 대상체를 "치료하는"은 FOP를 갖는 대상체에게 액티빈 A에 대한 치료학적 유효량의 항체를 투여하는 것을 의미하며, 여기서, 이의 목적은 FOP의 하나 이상을 치료, 치유, 경감, 경감, 변경, 구제, 개선하거나, 이의 상태에 영향을 미친다.
- [0196] "대상체"는 임의의 동물(즉, 포유동물), 예컨대, 인간, 영장류, 설치류, 예컨대, 마우스 및 래트, 농업 동물 및 가축, 예컨대, 개, 고양이, 소, 말, 돼지, 양 등이며, 여기서, 이는 FOP를 치료하고자 하는 것이다. 임의의 본 방법에서, 대상체는 포유동물, 및 바람직하게는 인간일 수 있다.
- [0197] "대조군"은 대상체의 샘플, 측정치, 또는 값과의 비교를 위한 참조로서 역할을 하는 샘플, 측정치, 또는 값을 지칭한다. 예를 들어, 대조군은 액티빈 A 길항제의 투여 전에 대상체로부터 취해지거나 측정될 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 대조군은 액티빈 A 길항제의 투여 시점에 대상체로부터 측정되거나 취해질 수 있다. 대조군은 또한 유사한 개인의 집단으로부터 수집된 평균 측정치 또는 값을 나타낼 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 대조군은 질병 또는 병태, 예를 들어, FOP를 갖는 개인의 집단으로부터 수집된 평균 또는 중간 값 또는 측정치일 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 대조군은 건강한 집단, 예를 들어, FOP를 갖지 않는 집단으로부터 수집된 평균 또는 중간 값 또는 측정치일 수 있다. 당업자는 대조군이 본 명세서에 개시된 임의의 수의 파라미터, 예를 들어, HO 병변 용적, 새로운 HO 병변 수 등의 평가를 위해 설계될 수 있음을 인지할 것이다.
- [0198] 치료학적 유효량의 액티빈 A, ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B 길항제는 FOP의 적어도 하나의 징후 또는 증상에서 양성 반응을 일으키는 길항제의 투여량, 빈도 및 투여 경로의 조합을 의미한다. 양성 반응은 FOP의 적어도 하나의 징후 또는 증상을 감소, 제거, 개선, 악화 억제, 또는 지연시키는 것을 포함할 수 있다. 양성 반응의 대상이 될 수 있는 FOP의 징후 또는 증상은, 예를 들어, 이소성 또는 이소성 골 형성, FOP 플레어-업, 또는 플레어-업과 관련된 통증 및 부종을 포함한다. 치료학적 유효량은 치료 전 및 후에 징후 및 증상을 비교함으로써 단일 환자에서 평가될 수 있다. 치료 후 적어도 하나의 징후 또는 증상이 양성 반응을 나타내는 경우 양은 효과적인 것으로 간주된다. 치료학적 유효량은 대안적으로 또는 추가로 본 개시내용의 길항제 또는 길항제로 치료된 대상체의 집단의 징후 및 증상을 치료를 받지 않은 대상체의 대조군 집단과 비교함으로써 평가될 수 있다. 이러한 비교를 위한 대상체는 동물 모델, 또는 임상 시험(예를 들어, I상, II상, IIa상, IIb상, 또는 III상)의 인간 대상체일 수 있다. 적어도 하나의 징후 또는 증상에서 집단 사이에 통계적으로 유의한 양성 반응이 있는 경우 양은 효과적인 것으로 간주된다.
- [0199] 일 양태에서, 본 개시내용은 FOP를 갖는 인간 대상체에서 새로운 이소성 골화증 병변의 형성을 예방하는 방법으로서, 방법은 인간 대상체에게 치료학적 유효량의 액티빈 A 길항제를 투여함으로써, 인간 대상체에서 새로운 이소성 골화증 병변의 형성을 예방하는 것을 포함하는 방법을 제공한다.
- [0200] 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 FOP를 갖는 인간 대상체에서 새로운 이소성 골화증 병변의 강도 또는 중증도를 감소시키는 방법으로서, 방법은 인간 대상체에게 치료학적 유효량의 액티빈 A 길항제를 투여하여 인간 대상체에서 새로운 이소성 골화증 병변의 중증도 또는 강도를 감소시키는 것을 포함하는 방법을 제공한다.
- [0201] 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 5 내지 80%, 적어도 10 내지 80%, 적어도 20 내지 80%, 적어도 30 내지 80%, 적어도 40 내지 80%, 적어도 50 내지 80%, 적어도 60 내지 80%, 적어도 70 내지 80%, 적어도 5 내지 70%, 적어도 5 내지 60%, 적어도 5 내지 50%, 적어도 5 내지 40%, 적어도 5 내지 30%, 적어도 5 내지 20%, 또는 적어도 5 내지 10%만큼의 새로운 이소성 골화증 병변의 강도 또는 중증도의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 5%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 강도 또는 중증도의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 10%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 강도 또는 중증도의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 20%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 강도 또는 중증도의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 30%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 강도 또는 중증도의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 40%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 강도 또는 중증도의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 50%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 강도 또는 중증도의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 60%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 강도 또는 중증도의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 70%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 강도 또는 중증도의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 80%만큼 새로운 이소성

[illegible][illegible]

- [0207] 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 5 내지 90%, 적어도 10 내지 90%, 적어도 20 내지 90%, 적어도 30 내지 90%, 적어도 40 내지 90%, 적어도 50 내지 90%, 적어도 60 내지 90%, 적어도 70 내지 90%, 적어도 80 내지 90%, 적어도 5 내지 80%, 적어도 5 내지 70%, 적어도 5 내지 60%, 적어도 5 내지 50%, 적어도 5 내지 40%, 적어도 5 내지 30%, 적어도 5 내지 20%, 또는 적어도 5 내지 10%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 5%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 10%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 20%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수가 감소한다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 30%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 새로운 이소성 골화증 병변의 수가 적어도 40% 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 새로운 이소성 골화증 병변의 수가 적어도 50% 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 60%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 새로운 이소성 골화증 병변의 수가 적어도 70% 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 새로운 이소성 골화증 병변의 수가 적어도 80% 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 90%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 5 내지 90%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 10 내지 90%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 20 내지 90%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 30 내지 90%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 40 내지 90%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 50 내지 90%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 60 내지 90%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 70 내지 90%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 80 내지 90%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수가 감소한다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 5 내지 80%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수에서 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 5 내지 70%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 5 내지 60%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 5 내지 50%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 5 내지 40%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 5 내지 30%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 5 내지 20%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타낸다. 일 실시형태에서, 인간 대상체는 대조군 대상체에 비해 적어도 5 내지 10%만큼 새로운 이소성 골화증 병변의 수의 감소를 나타낸다.
- [0208] FOP를 치료하기 위한 일부 방법에서, 대상체는 액티빈 A, ACVR1, ACVR2A, 및/또는 ACVR2B에 대한 길항제로 치료될 수 있는 다른 병태를 갖고 있지 않으며, 그럴 위험도 없다. 예를 들어, 대상체는 II형 당뇨병, 근이영양증, 근위축성 측삭 경화증(ALS) 및 골다공증 중 어느 하나 또는 모두가 없을 수 있다.
- [0209] A. 투여 방법
- [0210] 액티빈 A, ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B 길항제는 일반적으로 단백질 또는 소분자로서 직접 투여되지만, 단백질의 경우에는 또한 이러한 단백질을 인코딩하는 핵산으로서 투여될 수 있다. 이러한 길항제는 세포 형질감염, 유전자 요법, 전달 비히클 또는 약학적으로 허용되는 담체에 의한 직접 투여, 액티빈 A, ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B 길항제를 인코딩하는 핵산을 포함하는 재조합 세포, 또는 본 명세서에 제공된, 액티빈 A에 대한 항체의 제공에 의한 간접 전달과 같은 다양한 방법에 의해 투여될 수 있다.
- [0211] 다양한 전달 시스템, 예를 들어, 리포솜, 마이크로입자, 마이크로캡슐에서의 캡슐화, 화합물을 발현시킬 수 있는 재조합 세포, 수용체-매개 세포내이입(예를 들어, 문헌[Wu and Wu, 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432]), 레트로바이러스 또는 다른 벡트의 일부로서 핵산의 작제화 등은 본 명세서에 제공된 액티빈 A, ACVR1, ACVR2A

및/또는 ACVR2B 길항제, 또는 액티빈 A에 대한 항체를 투여하기 위해 사용될 수 있다.

[0212] 투여 방법은 장내 또는 비경구일 수 있고, 피내, 근육내, 복강내, 정맥내, 피하, 폐, 비강내, 안내, 경막외, 및 경구 경로를 포함한다. 화합물은 임의의 편리한 경로, 예를 들어, 주입 또는 일시 주사, 상피 또는 점막피부 내층(예를 들어, 구강 점막, 직장 및 장 점막 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있고, 다른 생물학적 활성제와 함께 투여될 수 있다. 투여는 전신적 또는 국소적일 수 있다. 또한, 본 개시내용의 약학적 조성물을 심실내 및 척추강내 주사를 포함하는 임의의 적합한 경로에 의해 중추 신경계로 도입하는 것이 바람직할 수 있다. 심실내 주사는, 예를 들어, Omcan 저장소와 같은 저장소에 부착된 심실내 카테터에 의해 촉진될 수 있다. 폐 투여는 또한, 예를 들어, 흡입기 또는 분무기, 및 에어로졸화제와의 제형의 사용에 의해 사용될 수 있다.

[0213] 본 개시내용의 약학적 조성물은 치료를 필요로 하는 영역에 국소적으로 투여될 수 있으며, 이는, 예를 들어, 수술 중 국소 주입, 국소 적용, 예를 들어, 주사에 의해, 카테터에 의해, 또는 임플란트에 의해 달성될 수 있으며, 상기 임플란트는 다공성, 비다공성, 또는 젤라틴성 물질이고, 막, 예컨대, 시알라스틱 막, 섬유, 또는 상업적인 피부 대체물을 포함한다.

[0214] 또 다른 실시형태에서, 활성제는 소포, 특히 리포솜으로 전달될 수 있다(문헌[Langer (1990) Science 249:1527-1533] 참조). 또 다른 실시형태에서, 활성제는 제어 방출 시스템으로 전달될 수 있다. 일 실시형태에서, 펌프가 사용될 수 있다(상기 문헌[Langer (1990)] 참조). 또 다른 실시형태에서, 중합체 물질이 사용될 수 있다(문헌[Howard *et al.* (1989) *J. Neurosurg.* 71:105] 참조). 본 개시내용의 활성제가 단백질을 인코딩하는 핵산인 또 다른 실시형태에서, 핵산은 적절한 핵산 발현 벡터의 일부로서 작제화하고 이를 투여함으로써, 예를 들어, 레트로바이러스 벡터의 사용(예를 들어, 미국 특허 번호 4,980,286호 참조)에 의해, 또는 직접 주사에 의해, 또는 마이크로입자 충격의 사용, 또는 지질 또는 세포-표면 수용체 또는 형질감염 제제로의 코팅에 의해 세포내가 되는 것 또는 핵에 들어가는 것으로 알려진 호메오박스-유사 캡타이드에 연결하여 투여 등에 의해(예를 들어, 문헌[Joliot *et al.*, 1991, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:1864-1868] 참조), 이의 인코딩된 단백질의 발현을 촉진시키기 위해 생체내 투여될 수 있다. 대안적으로, 핵산은 상동성 재조합에 의해 세포내로 도입되고, 발현을 위해 숙주 세포 DNA 내에 도입될 수 있다.

[0215] B. 병용 요법

[0216] 본 명세서에 제공된 액티빈 A, ACVR1, ACVR2A 및 ACVR2B 길항제, 또는 액티빈 A에 대한 항체는 서로 또는 다른 치료와 조합하여 투여될 수 있다. 일 실시형태에서, FOP를 치료하는 방법은 ACVR2A 길항제 및 ACVR2B 길항제의 공동-투여를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, FOP를 치료하는 방법은 ACVR1, ACVR2A 및 ACVR2B 길항제의 공동-투여를 포함한다. 다른 실시형태에서, ACVR1 길항제는 ACVR2A 및/또는 ACVR2B 길항제와 공동-투여될 수 있다. ACVR1, ACVR2A 및 ACVR2B 길항제는 별도의 약학적 조성물로서 투여될 수 있거나, 이들 제제의 조합을 포함하는 단일 약학적 조성물로서 투여될 수 있다. ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B 길항제, 또는 액티빈 A에 대한 항체는 단독으로 또는 조합하여 하나 이상의 추가 치료 화합물과 함께 투여될 수 있다. 병용 요법은 동시 또는 교대 투여를 포함할 수 있다. 또한, 조합은 급성 또는 만성 투여를 포함할 수 있다.

[0217] C. 약학적 조성물

[0218] 본 개시내용은 또한 본 명세서에 제공된 액티빈 A, ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B 길항제, 또는 액티빈 A에 대한 항체 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 용어 "약학적으로 허용되는"은 연방 또는 주 정부의 규제 기관에 의해 승인되거나 동물, 및 보다 특히 인간에서의 사용에 대해 미국 약전 또는 다른 일반적으로 인정되는 약전에 열거된 것을 의미한다. 용어 "담체"는 치료제가 함께 투여되는 희석제, 애쥬번트, 부형제 또는 비히클을 지칭한다. 이러한 약학적 담체는 멸균 액체, 예를 들어, 물 및 석유, 동물, 식물성 또는 합성 기원의 것들을 포함하는 오일, 예를 들어, 땅콩유, 대두유, 팜유, 참기름 등일 수 있다. 적합한 약학적 부형제는 전분, 글루코스, 락토스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 초크, 실리카 겔, 소듐 스테아레이트, 글리세롤 모노스테아레이트, 탈크, 소듐 클로라이드, 건조 탈지유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등을 포함한다. 원하는 경우, 조성물은 또한 소량의 습윤제 또는 유화제, 또는 pH 완충제를 함유할 수 있다.

[0219] 이러한 조성물은 용액, 현탁액, 에멀션, 정제, 알약, 캡슐, 분말, 서방형 제형 등의 형태를 취할 수 있다. 조성물은 트리글리세리드와 같은 전통적인 결합제 및 담체와 함께 좌제로서 제형화될 수 있다. 경구 제형은 표준 담체, 예를 들어, 약학적 등급의 만니톨, 락토스, 전분, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 사카린, 셀룰로스, 마그네슘 카보네이트 등을 포함할 수 있다. 적합한 약학적 담체의 예는 문헌["Remington's Pharmaceutical Sciences"(E.W. Martin에 의함)]에 기재되어 있다.

- [0220] 일 실시형태에서, 조성물은 인간에게 정맥내 투여하기에 적합한 약학적 조성물로서 일상적인 절차에 따라 제형화된다. 필요한 경우, 조성물은 또한 가용화제 및 주사 부위의 통증을 완화시키기 위해 리도카인과 같은 국소 마취제를 포함할 수 있다. 조성물이 주입에 의해 투여되는 경우, 이는 멸균 약학적 등급의 물 또는 염수를 함유하는 주입 병에 분배될 수 있다. 조성물이 주사에 의해 투여될 때, 주사용 멸균수 또는 염수의 앰플은, 구성성분들이 투여 전에 혼합될 수 있도록, 제공될 수 있다.
- [0221] 본 명세서에 제공된 액티빈 A, ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B 길항제, 또는 액티빈 A에 대한 항체는 중성 또는 염 형태로 제형화될 수 있다. 약학적으로 허용되는 염은 염산, 인산, 아세트산, 옥살산, 타르타르산 등으로부터 유래된 것들과 같은 유리 아미노기와 함께 형성된 것들, 및 소듐, 포타슘, 암모늄, 칼슘, 제2철 수산화물, 이소프로필아민, 트리에틸아민, 2-에틸아미노 에탄올, 히스티딘, 프로카인 등으로부터 유래된 것들과 같은 유리 카복실기와 함께 형성된 것들을 포함한다.
- [0222] FOP의 치료에 효과적인 특정 경로(예를 들어, 치료학적 유효량)로 투여되는 액티빈 A, ACVR1, ACVR2A 및/또는 ACVR2B 길항제, 또는 액티빈 A에 대한 항체의 양 및 빈도는 본 설명을 기초로 한 표준 임상 기술에 의해 결정될 수 있다. 또한, 시험관내 검정은 최적 투여량 범위를 식별하기 위해 사용될 수 있다. 제형에 사용되는 정확한 용량은 또한 투여 경로, 및 병태의 중증도에 의존하고, 의사의 판단 및 각 대상체의 상황에 따라 결정되어야 한다. 그러나, 비경구 투여, 바람직하게는 정맥내 또는 피하 투여에 적합한 투여량 범위는 일반적으로 체중 킬로그램 당 약 20 내지 50000 마이크로그램의 활성 화합물이다. 액티빈 A에 대한 항체의 경우, 적합한 투여량 범위는 1 내지 25 mg/kg, 2 내지 20 mg/kg, 5 내지 15 mg/kg, 8 내지 12 mg/kg 및 10 mg/kg을 포함한다. 비강내 투여에 적합한 투여량 범위는 일반적으로 약 0.01 pg/kg 체중 내지 1 mg/kg 체중이다. 유효 용량은 시험관내 또는 동물 모델 시험 시스템으로부터 유래된 용량-반응 곡선으로부터 외삽될 수 있다.
- [0223] 투여 빈도는 또한 다른 요인 중에서 병태의 중증도 및 작용제의 반감기에 따라 다르지만, 통상적으로, 예를 들어, 주 2회, 매주, 격주, 매월, 격월을 포함하여 매일 내지 분기마다이다. 제제는 또한 환자의 상태 또는 다른 요인들 중에서 역치 미만의 제제의 혈청 수준 감소에 반응하여 불규칙한 간격으로 투여될 수 있다.
- [0224] 상기 또는 하기에 인용된 모든 특허 출원, 웹사이트, 다른 간행물, 수탁 번호 등은 각각의 개별 항목이 참조에 의해 인용되는 것으로 구체적이고 개별적으로 지시된 것과 동일한 정도로 모든 목적을 위해 그 전체가 참조에 의해 인용된다. 상이한 버전의 서열이 상이한 시간에 수탁 번호와 관련된 경우, 본 출원의 유효 출원일에 수탁 번호와 관련된 버전을 의미한다. 유효 출원일은 적용 가능한 경우 수탁 번호를 언급하는 우선권 출원의 실제 출원일 또는 출원일 중 더 빠른 것을 의미한다. 마찬가지로, 다른 버전의 간행물, 웹사이트 등이 다른 시간에 공개되는 경우, 달리 지시되지 않는 한 출원의 유효 출원일에 가장 최근에 공개된 버전을 의미한다. 본 개시내용의 임의의 특징, 단계, 요소, 실시형태, 또는 양태는 달리 구체적으로 지시되지 않는 한 임의의 다른 것과 조합하여 사용될 수 있다.
- [0225] **실시예**
- [0226] **실시예 1: 진행성 골화성 섬유이형성증(FOP)을 갖는 환자에서 새로운 골 병변 활성의 형성 감소**
- [0227] FOP를 갖는 대상체에서, 골은 정상 골격 외부의 연조직에서 형성되며, 이소성(잘못된 곳에서) 골화증(HO)으로 알려진 과정이다. FOP를 갖는 환자에서 액티빈 A 길항제, 예를 들어, 가레토스맵을 평가하기 위해 중추적인 이중-맹검 위약-대조 시험을 수행하였다. 일차 종점에서, 가레토스맵은 CT 스캔에 의해 측정시 새로운 HO 골 성장을 기준선으로부터 25%만큼 감소시켰고, 보다 민감한 PET 골 스캔에 의해 측정시 28주에 걸쳐 병변 성장 및 미네랄화의 평균 속도를 25%만큼 감소시켰다. 가레토스맵은 28주 시점에서만(사후 분석) PET 골 스캔 결과에 대해 통계적으로 유의한 50% 감소를 나타내었고, 이는 주로 새로운 병변의 발생률 및 강도의 유의한 감소에 기인한다. 가레토스맵은 PET 및 CT 스캔 둘 다에 의해 측정시 새로운 골 병변의 발생률을 약 90%만큼 감소시켰고, 환자-보고된 플레어-업의 발생률을 절반만큼 감소시켰다.
- [0228] 이러한 위약-대조 시험의 결과는 새로운 골 발생률을 거의 90% 감소시키면서 새로운 HO 골 형성 및 플레어-업을 거의 소멸시킬 수 있는 효과적인 치료를 입증하며, 이는 FOP를 갖는 사람들에게 획기적인 결과이다. 이러한 데이터는 또한 FOP를 갖는 치료되지 않은 사람들이 이전에 생각했던 것보다 훨씬 더 빈번하고 광범위한 골 병변을 경험한다는 것을 PET 영상화를 통해 입증함으로써 질병에 대한 이해를 상당히 개선시킨다.
- [0229] 이러한 연구는 FOP의 임상 진단 및 ACVR1 유전자 돌연변이의 문서화를 갖는 미국 및 유럽의 44명의 성인 환자(18 내지 60세)를 등록하였다. 시험은 FOP를 갖는 환자에서 HO의 변화에 대한 가레토스맵의 효과를 조사하기 위해 18F-NaF PET 영상화 및 CT 스캔을 사용하였다. 18F-NaF는 파제트병 및 골 관련 암과 같은 여러 골-관련 질병

에서 비정상적인 골 성장, 턴오버 및 미네랄화를 검출하기 위해 고감도로 널리 승인되고 광범위하게 사용되는 골-추적 PET 추적자이다. 이 연구는 무작위, 이중 맹검 위약-대조 치료 기간(6개월), 공개-라벨 치료 기간(이 기간 동안 위약-치료된 환자는 가레토스맵 치료로 바뀜)(6개월), 및 공개-라벨 후속 치료로 구성된 3-기간 시험 설계를 갖는다. 1차 분석은 28주에 기록되었다.

[0230] 연구로부터의 주요 임상 결과는 하기 표 1에 요약되어 있다. 모든 종점은 28주에 있고, 맹검, 독립적인 중앙 검토에 의해 평가되었다.

표 1

	가레토스맵	위약	차이	p-값
PET에 의한 평균 총 골 병변 활성(28주에 걸친 시간 가중 평균)*	-8.1%	+16.6%	-24.6%	0.074
28주에 PET에 의한 총 골 병변 활성의 변화율†	-27.3%	+21.6%	-48.9%	0.043
28주에 CT에 의한 HO 응적의 기준선으로부터의 변화율*	7.1%	32.0%	-24.9%	0.373
일일 평균 통증-NRS의 기준선으로부터의 평균 변화(28주에 걸친 시간 가중 평균)**	-0.51	-0.17	-0.34	0.266
8주에 평균 골 병변 강도(SUV _{max})의	-22.3%	-6.6%	-15.7%	0.007

[0231]

기준선으로부터의 변화율**				
28 주에 평균 골 병변 강도(SUVmax)의 기준선으로부터의 변화율†	-34.0%	-11.6%	-22.4%	<0.0001
28 주에 걸친 PET에 의해 측정된 새로운 골 병변의 수†	0.15 (환자당 총 골 병변 활성을 갖는 총 3 새로운 PET 병변= 34.8)	1.19 (환자당 총 골 병변 활성을 갖는 총 29 새로운 PET 병변= 449.4)	87.4% 감소 (0.126 비율비)	0.006
환자당 새로운 CT 골 병변의 수†	0.15 (환자당 총 CT 용적을 갖는 총 3 새로운 CT 병변= 7.1 cm ³)	1.13 (환자당 총 CT 용적을 갖는 총 27 새로운 CT 병변= 22.3 cm ³)	86.7% 감소 (0.133 비율비)	0.009
28 주에 걸친 PET에 의해 측정된 새로운 골 병변을 갖는 환자의 백분율†	15% (3/20)	46% (11/24)	-31%	0.05
28 주에 걸친 CT에 의해 측정된 새로운 골 병변을 갖는 환자의 백분율†	15% (3/20)	46% (11/24)	-31%	0.05
환자 e-다이어리에 의해 평가된, 플레어-업을 갖는 환자의 백분율^	35% (7/20)	71% (17/24)	-36%	0.032
조사자-평가된 플레어- 업을 갖는 환자의 백분율†	10% (2/20)	42% (10/24)	-32%	0.039

* 일차 종점

** 미리 지정된 종점

^ 탐색적 종점

† 사후 분석

[0232]

[0233]

28주 치료 기간 동안, 가레토스맵은 일반적으로 내약성이 우수한 것으로 관찰되었다. 임의의 심각한 부작용(SAE)은 기저 질환의 중증도와 관련된 것으로 간주되었다. 치료 유발 부작용(treatment emergent adverse event: TEAE)은 위약 및 치료된 군 둘 다의 100%에서 발생하였다; 대다수는 중증도가 경증 내지 중등도였다. TEAE의 주목할 만한 불균형은 코피(50.0% 대 16.7%) 및 피부 사건(눈썹 소실증[눈썹 상실, 25.0% 대 0%], 여드름[30.0% 대 8.3%] 및 농양, 웅(carbuncle), 수두, 모낭염을 포함하는 피부 감염증의 복합체)을 포함하였다. 시험의 공개-라벨 부분에서 2명의 치료된 환자는 배액을 위해 입원을 필요로 하는 심각한 농양을 발달시켰지만, 가레토스맵 치료를 계속하는 동안 해결된 것으로 보고되었다. 시험의 공개-라벨 부분에서 1명의 환자는 치료와 관련이 없는 외상으로 인해 사망하였다.

[0234]

가레토스맵 대 위약은 8주 및 28주 시점, 일차 종점의 기준선 평균으로부터 총 병변 활성 백분율 변화를 감소시켰다(-24.6, p 0.07). 8주 종점에서는 감소가 없었지만, 28주 종점(DB 기간 종료)에서 감소는 49%였다(명목상 p=0.043). 이는 주로 새로운 병변의 발생률, 강도 및 병변 활성의 극적인 현저한 감소에 의해 유도되었다. 새로운 병변에서 총 병변 활성(28주에 PET에 의해 측정됨)은 97%만큼 감소한 반면(p=0.009), 새로운 병변의 총 용적(28주에 CT에 의해 측정됨)은 90%만큼 감소하였다(p=0.017). 환자 보고된 플레어-업에서 실질적인 감소가 관찰되었으며(51%), 조사자는 AE 플레어-업(76%)을 보고하였다. 가레토스맵으로의 치료는 또한 허용되는 안전성 프로파일을 입증하였다.

[0235]

액티빈 A 길항제, 예를 들어, 가레토스맵에 의한 액티빈 A 차단은 새로운 비정상 골 형성 및 고통스러운 플레어-업의 발생을 현저하게 감소시킬 수 있다. 이러한 데이터는 액티빈 A가 FOP를 갖는 환자에서 플레어-업 및 새로운 골 병변 둘 다의 중요한 촉발제라는 가설을 강력하게 지지한다.

[0236]

실시예 2: 액티빈 A 길항제는 새로운 이소성 골화증(HO)를 예방함

- [0237] 가래토스맵과 같은 액티빈 A 길항제가 FOP를 갖는 인간 대상체에서 이소성 골 형성에 대한 액티빈 A 의존성 신호전달을 차단할 것인지 여부를 시험하기 위해 28주 무작위 이중 맹검 위약-대조 연구(기간 1)를 수행하였다.
- [0238] ^{18}F -NaF PET를 이용한 양전자 방출 단층촬영(PET) 및 용적 컴퓨터 단층촬영(CT)을 사용하여 이소성 골 형성의 변화를 측정하였다. ^{18}F -NaF PET는 여러 다른 질병 설정에서 골 미네랄화 활성의 민감하고 특이적이며 전신 정량적 측정을 제공하는 것으로 나타났다. Botman, 2019에 의해 공개된 데이터(전체가 본 명세서에 참조로 포함됨)는 FOP에서 HO 성장의 예측인자로서 ^{18}F NaF PET의 사용을 뒷받침하고, 고강도 ^{18}F -NaF PET 신호와 특이적으로 관련된 활성 HO 병변의 평가를 위한 기초 역할을 한다. 또한, 6개월에 걸친 CT에 의한 HO 병변의 용적 평가는 또한 HO 병변의 성장 및 PET 검출 가능한 병변의 CT 검출 가능한 성숙한 HO 병변으로의 전이의 평가를 가능하게 하였다. 가래토스맵은 ^{18}F -NaF 흡수를 빠르게 감소시키고(PET에 의해), 새로운 이소성 골 형성을 예방하는 것으로(CT에 의해) 관찰되었다.
- [0239] 연구는 28주 평균 총 병변 활성(PET)에서 57%의 감소, 8주에 ^{18}F -NaF SUVmax에서 40% 감소, 및 CT에 의한 총 용적의 60% 차이를 검출하기 위해 80% 검정력으로 설계되었다. 등록된 44명의 환자 중 100%는 PET에 의해 검출된 바와 같이 기준선에서 활성 HO를 가졌다. 결과는 가래토스맵이 새로운 병변의 출현을 억제했지만 확립된 병변의 진행을 중단시키지 않았다는 것을 입증한다(표 2). 가래토스맵은 또한 잘 용인되는 것으로 관찰되었다. SAE는 경향이 없이 가래토스맵 치료된 환자에서 더 빈번하였고 질병의 중증도를 반영한 것 같다. AE의 주목할 만한 불균형은 코피(50.0% 대 16.7%) 및 피부 사건-눈썹소실증(25.0% 대 0%), 여드름(30.0% 대 8.3%) 및 피부 감염증(예를 들어, 농양, 웅, 수두, 모낭염)의 복합체를 포함하였다.
- [0240] 연구 설계의 개략도에 도시된 바와 같이(도 1), 이 연구는 스크리닝/기준선 기간(-28일 내지 -1일), 2개의 6개월 치료 기간, 및 후속 치료 기간(기간 3)으로 구성되었다. 3개의 치료 기간은 다음과 같다: 기간 1: 6개월 무작위 이중-맹검 위약-대조 치료 기간; 기간 2: 6개월의 공개-라벨 가래토스맵 치료 기간; 기간 3: 환자가 76주 방문을 완료하고, 연구에 무작위 배정된 마지막 환자가 28주 방문을 완료하는 시간까지 모든 데이터가 수집되고 검증될 때까지 가래토스맵에 의한 후속 치료 기간(기간 1) 및 안전성 및 효능의 1차 분석 결과는 후원자가 이용할 수 있다.
- [0241] 새로운 데이터(Eekhoff *et al.*, JBMR 2017 & Bone 2017, Upadhyay *et al.*, JBMR 2017; 이들 각각은 전문이 본 명세서에 참조에 의해 인용됨)는 PET 스캔이 "활성" 골 병변을 동정할 수 있음을 시사하였다. 새로운 병변을 예방하기 위한 대체물로서, 이러한 "활성" 골 병변에 대한 가래토스맵의 효과를 연구하였다. 따라서, 일차 종점은 크기 및 강도에 의해 평가되는 바와 같이(추적자의 평가된 흡수) 기존 및 잠재적으로 새로운 골 병변 둘 다에서 PET에 의해 측정된 "총 병변 활성"(TLA)을 평가하였다. 다수의 다른 종점은 PET 및 CT 둘 다에 의해 평가된 바와 같이 전체 병변 및 새로운 병변을 포착하였고, 또한 환자 및 조사자에 의해 보고된 악화를 포착하였다. 골 병변의 일차 분석(PET에 의한 TLA) 및 다수의 다른 분석(CT에 의한 포함)은 가래토스맵으로의 치료가 위약과 비교하여 약 25%의 전반적인 감소와 관련이 있음을 나타내었다. 이러한 감소는 28주에 PET 또는 CT에 의해 평가된 바와 같이 새로운 병변의 대략 90% 감소에 의해 거의 전적으로 주도되었다. 이는 FOP 환자에서 새로운 병변의 놀랍게도 높은 빈도에 기인하였다(각각 하나의 병변을 갖는 가래토스맵 환자 3/20명과 비교하여 11/24의 위약 환자는 28주에 걸쳐 평균 2.7개의 새로운 병변을 가졌다). 또한 환자 보고된 플레어-업에서 상당한 감소가 있었고(50%), 조사자는 AE 플레어-업을 보고하였다(76%). 이러한 데이터는 액티빈 A가 FOP 환자에서 새로운 골 병변의 형성에 필요함을 입증하였다. 그러나, 이는 기존의 PET-양성 및 CT 골 병변에서 중요한 역할을 하지 않는 것으로 보인다.

표 2

종점	결과
28 주에 걸친 총 병변 활성화(18F-NaF PET에 의함)	-24.6% (95% CI: -51.8, +2.5) p=0.0741
28 주에 HO 병변의 총 용적(CT에 의함)	-24.9% (95% CI: -80.8, +30.9) p=0.3726,
28 주에 걸친 통증 NRS	-0.34 (95%CI: -0.96, +0.27) p=0.2656
28 주에 SUVmax의 변화	-34% (95% CI: -32.6, -12.2) p<0.0001
28 주에 걸친 PET에 의한 새로운 병변의 총 수	Pbo: 1.19 새로운 병변 /pt ; 29 새로운 병변 Gar: 0.15/pt 새로운 병변; 3 새로운 병변 p=0.0063
28 주에 걸친 CT에 의한 새로운 병변의 총 수	Pbo: 1.13 새로운 병변 /pt ; 27 총 새로운 병변 Gar: 0.15/pt 새로운 병변; 3 총 새로운 병변 p=0.05
28 주에 걸친 PET에 의한 새로운 병변을 갖는 환자의 백분율	Pbo: 46% 대 Gar: 15%, p=0.05
28 주에 걸친 CT에 의한 새로운 병변을 갖는 환자의 백분율	Pbo: 46% 대 Gar: 15%, p=0.05
플레어-업을 갖는 환자의 백분율	Pbo: 42% 대 Gar: 10%, p=0.038

[0242]

[0243] 영상화

[0244] 방사선표지된 18F 소듐 플루오라이드를 환자에게 주사하고 각 환자의 조합된 PET/CT 이미지를 촬영하였다. PET/CT 영상화 분석의 세부사항은 하기와 같이 명시된다:

[0245] PET: 표준화된 흡수값(SUV)은 스캔으로부터의 방사능의 측정치이다. SUVmean = 이소성 골화증(HO)와 같은 관심 영역(ROI)에서 18F-NaF의 평균 농도 - 평균적으로 ROI가 얼마나 "핫(hot)"인지. SUVmax = ROI 내의 최대("가장 핫(hottest)") 픽셀. 병변 활성화(LA) = 병변에서 18F-NaF의 총 신호. PET에서 병변의 전체 대사 용적(MV)에 걸친 평균 SUV. 총 병변 활성화(TLA) = 제공된 시점에서 환자에 대한 모든 표적 및 새로운 병변에 대한 LA의 환자-수준 합계 - HO 부하의 성장 및 미네랄화 측정. % 변화 TLA의 시간 가중 평균(TWA) = 시점에 걸쳐 HO의 성장 및 미네랄화 부담의 변화를 평가하기 위해 사용된 TLA의 % 변화의 28주에 걸친 평균. PET 영상화는 질병 진행(도 2a), 및 HO 병변에 대한 가레토스마의 효과(도 2b)를 명확하게 입증하였다.

[0246] CT: HO 용적 = 단일 인접 표적 또는 새로운 HO 병변의 용적. 총 HO 용적 = 제공된 시점에서 환자-수준 표적 및 HO 병변의 용적의 합 - 형성된 HO 부담의 측정치.

[0247] 영상화 분석으로부터의 결과는 기준("표적") 병변이 새로운 병변과 별도로 검사될 때, 가레토스마의 효과가 더 명백하다는 것을 입증한다(도 3a 및 도 3b).

[0248] 효능

[0249] 가레토스마는 8주 및 28주 시점에서 평균화될 때 기준선으로부터 총 병변 활성화(새로운 및 기존 둘 다)를 감소시키는 것으로 관찰되었다(-25%, p=0.074). 8주차 종점에서는 감소가 없었지만(p=0.592), 28주차 종점(DB 기간의 종료)에서 감소는 49%였다(명목상 p=0.043). 이는 주로 새로운 병변의 발생률, 활성화(PET) 및 용적(CT)의 급격한 감소에 의해 주도되었다. 새로운 병변에서 총 병변 활성화(28주에 PET에 의해 측정됨)은 97%만큼 감소한 반면(p=0.009), 새로운 병변의 총 용적(28주에 CT에 의해 측정됨)은 90%만큼 감소하였다(p=0.017). 모든 종점은 미리 지정되었고(CT에 의한 새로운 HO 병변이 있는 환자의 수는 제외), 맹검, 독립적인 중앙 검토에 의해 평가되었다. PET/CT 골 스캔에 의해 병변을 평가하였다. 새로운 병변의 100% 상관관계는 CT 스캔의 동시 평가와 PET 스캔의 측정에 의해 결정되었다. 또한 환자 보고된 플레어-업에서 상당한 감소가 있었고(51%), 조사자는 AE 플레어-업을 보고하였다(76%). 이러한 데이터는 액티빈 A가 FOP를 갖는 환자에서 새로운 병변의 형성에 필요한 리간드라는 개념을 강력하게 지지한다. 액티빈 A는 기존 PET/CT 병변의 진행에서 중요한 역할을 하지 않는 것으로

보인다. 따라서, 액티빈 A를 차단하는 것은 이러한 오래 고통받는 환자에 대한 질병 경과를 변화시킬 기회를 제공한다.

[0250] 안전성

[0251] 28주 치료 기간 동안, 치료 유발 부작용(TEAE)은 위약 및 치료된 군 둘 다의 100%에서 발생하였다; 대다수는 중증도가 경증 내지 중등도였다. TEAE의 주목할 만한 불균형은 코피(50.0% 대 16.7%) 및 피부 사건(눈썹 소실증[눈썹 상실, 25.0% 대 0%], 여드름[30.0% 대 8.3%] 및 농양, 용, 수두, 모낭염을 포함하는 피부 감염의 복합물)을 포함하였다.

[0252] **실시예 3: 연구 설계 및 해석**

[0253] 연구 설계가 다른 연구와 어떻게 다른지

[0254] FOP를 갖는 성인에서 정맥내 가래토스맵(4주마다 10 mg/kg으로 투여됨)의 이소성 골 형성에 대한 안전성, 내약성 및 효과를 평가하기 위해 2상, 무작위, 이중-맹검, 위약-대조 연구를 수행하였다. 이는 외부, 이력 대조군 및 비맹검 평가와 관련된 잠재적인 불균형 및 편견을 제거한다.

[0255] 이소성 골화증(HO) 용적이 질병에 대해 알려주는 것

[0256] 진행성 HO는 FOP의 주요 특징이다. HO 용적은 질병 활성 및 관절이 고정될 가능성을 반영할 수 있다. HO의 위치는 환자에게 중요하며 임상적으로 의미가 있을 수 있다. 골의 용적은 방향적으로 관련이 있지만, 병변의 수 및 위치는 질병 활성의 중요한 척도이다. 연구에서, 일차 증점은 위약에 비해 총 병변 활성화에 초점을 맞추었다. 예를 들어, 팔꿈치와 같은 관절의 새로운 병변으로부터의 소량의 뼈는 이를 평생 고정시킬 수 있는 반면, 움직임에 덜 중요한 영역 또는 기존 HO가 있는 영역에 상당한 뼈가 추가될 수 있다. 효과. 또한, "평균 용적" 변화의 해석은 작거나 큰 용적 증가로 1 또는 2개의 이상치를 갖는 데이터 세트를 분석할 때 어려울 수 있다.

[0257] **영상화 합리성**

[0258] 영상화 분석

[0259] 병변은 비정상적인 골과 일치하는 밀도 및 형태, 및 CT 스캔에서 확인된 골격근, 힘줄 또는 인대와 일치하는 위치에 의해 HO로 식별된다. 이는 샘플에 대해 맹검화된 2명의 독립적인 독자에 의해 확인되었고 또한 맹검화된 독립적인 심사관에 의해 확인되었다. 그들은 모두 위원회 인증을 받은 방사선 전문의였다.

[0260] 연구 설계 및 영상화 분석을 위한 병변 선택 및 합리성

[0261] 병변 선택에 대한 기준은 영상 현장에 명확하게 정의되어 있고 FDA에 의해 승인되었다. FOP의 자연 이력 및 HO 형성에 대한 가래토스맵의 효과를 더 잘 이해하기 위해 추가 사후 이미지 분석이 수행된다. "7개 이하의 병변"은 많은 병변이 예상되지 않았기 때문에 그리고 그 수를 초과하는 병변은 독자에게 실용적이지 않을 것이기 때문에 지정되었다. 병변은 정상이동성 리모델링 골에 비해 PET에서 3배 강도를 갖는 것에 기초하여 선택되었다.

[0262] 염증성 골연골종 또는 골관절염으로 인한 위양성의 배제

[0263] 영상화 인가서는 퇴행성 질환, 골연골종 등과 일치할 때마다, 이의 위치(예를 들어, 관절)에 의해 또는 CT 스캔으로부터의 이의 특징으로 인해 비-HO 병리와 관련된 PET의 영역을 주의 깊게 피하도록, 면허가 있는 방사선 전문의인 독립적인 심사관 및 2명의 독립적인 독자에게 지시하였다. 모든 독자는 또한 영상화 인가서에 대한 훈련을 받았다.

[0264] 골모세포 활성을 검출하기 위한 $^{18}\text{FNaF}$ PET/CT와 비교한 골 신티그라피

[0265] 테크네튬-99m 메틸렌 다이포스포네이트($^{99\text{m}}\text{TcMDP}$) 골 신티그라피는 골모세포 활성을 검출하는 데 널리 사용된다. PET/CT는 진단을 위해 단면 기능 및 해부학적 영상화를 결합한 분자 영상화 기술이다. 플루오린-18 플루오라이드(^{18}F -플루오라이드)는 골격 이상의 검출에 사용되는 고감도 골-추적 PET 추적자이다. ^{18}F -플루오라이드의 흡수 메커니즘은 $^{99\text{m}}\text{TcMDP}$ 의 흡수 메커니즘과 유사하다. 그러나, ^{18}F -플루오라이드는 더 빠른 혈액 제거 및 골에서 2배 더 높은 흡수를 포함하는 더 나은 약동학적 특성을 나타낸다. ^{18}F -플루오라이드의 흡수는 혈류 및 골 리모델링을 반영한다. 신규한 하이브리드 PET/CT 시스템의 사용은 연구의 CT 성분이 기능 병변의 형태학적 특성화 및 양성 병변과 전이 사이의 보다 정확한 구별을 가능하게 하기 때문에 ^{18}F -플루오라이드 영상화의 특이성을 유의하게 개

선시했다.

[0266] 불소-18 소듐 플루오라이드 양전자 방출 단층촬영-컴퓨터 단층촬영($^{18}\text{FNaF}$ PET/CT) 영상화는 $^{99\text{m}}\text{TcMDP}$ 골 스캔그 래피에 비해 더 높은 감도 및 더 높은 공간 해상도를 갖는다. 또한, $^{18}\text{FNaF}$ PET/CT 이미지의 품질이 더 우수하고 더 정확하게 정량화될 수 있다. 이는 더 낮은 혈장 단백질 결합 및 골에서의 더 높은 흡수 때문이다.

[0267] $^{18}\text{FNaF}$ PET는 연구에서 일반적으로 사용되는 고감도 기술이다. $^{18}\text{FNaF}$ PET는 CT 영상화가 유사한 결과를 생성할 것인지 여부를 평가하기 위한 연구에서 벤치마크로 사용되었다. 데이터는 CT가 $^{18}\text{FNaF}$ PET에 필적할 만한 민감도로 질병 진행을 모니터링하는 데 사용될 수 있음을 보여주며, 이에 따라 임상 실습에서 사용될 수 있는 이의 능력을 확인시켜 준다.

[0268] **임상 데이터**

[0269] 연구는 액티빈 A를 차단하고 새로운 병변 형성을 차단한다는 가설에 기초하였고, 초기 28주 결과의 전체는 고무적이다.

[0270] 장기 56주 연구가 수행되며, 여기서 위약 환자는 이러한 결과를 추가로 이해하고 맥락에 적용하기 위해 가레토스맵 아암으로 크로스오버될 것이다. 가레토스맵의 주요 효과는 새로운 병변의 예방이다. 일차 종점에 대한 데이터는 가레토스맵 군과 비교하여 위약군에서 더 많은 새로운 병변이 나타났을 때 치료 8주 후에 TLA가 분명히 감소되었음을 명쾌하게 예시한다. 평균적으로 위약군은 가레토스맵 군과 비교하여 28주 연구 기간에 걸쳐 대략 10cm^3 더 많은 새로운 HO를 얻었다(6.5cm^3 대비 기준선으로부터 평균 변화 16.7cm^3).

[0271] FOP를 갖는 환자의 높은 비율은 흉부 기능 부전의 결과로 사망하므로, 폐 기능에 대한 가레토스맵 치료의 영향을 평가하는 것이 중요하다. 데이터는 가레토스맵이 28주에 새로운 HO를 예방함으로써 위약과 비교하여 폐 기능을 보존한다는 것을 입증한다.

[0272] **FOP에 대한 가레토스맵의 영향**

[0273] 가레토스맵의 억제 수준은 확립된 HO 병변의 진행을 방지하거나 새로운 HO 병변의 예방을 위해 긴 간격에 걸쳐 일관되어야 한다. FOP는 HO가 진행 중인 만성 질환이며, 이 중 일부는 무증상이고 플레어-업과 관련이 없다. 따라서, 이를 제어하기 위해 투여는 만성적이어야 한다. 환자의 혈청에서 약의 수준은 새로운 HO의 진행 또는 발달을 방지하기 위해 항상 액티빈 A 포화 수준 이상이어야 한다.

[0274] **소아 연구**

[0275] 소아 및 성인 환자 둘 다에서 평가를 위해 56주 2상 연구가 수행된다.

[0276] 팔바로텐과 달리, 가레토스맵의 전임상 데이터는 성장판에 영향을 미치지 않았다. 데이터는 성인 FOP 환자의 정상 골에서 $^{18}\text{FNaF}$ 의 흡수에 변화가 없었다는 것을 입증한다.

[0277] 4주마다 IV 투여(Q4W)에 의한 10 mg/kg 의 용량 수준이 FOP를 갖는 성인 환자에서 연구되었다. 이러한 연구에서 보고된 부작용(예를 들어, 두통, 코피 및 피부 및 연조직 감염)은 환자에서 약물 노출(Cmax , Cmin 또는 AUC)과 관련이 없는 것으로 보인다. 소아 연구에 용량 확인 코호트(코호트 A)를 포함시키는 이유는 안전성 문제와 관련이 없고, 오히려 본 연구에서 성인 환자에서의 효능과 관련된 것과 유사한 소아 환자의 노출을 달성하는 각각의 체중군(즉, $< 30\text{ kg}$ 또는 $> 30\text{ kg}$ 의 환자)에 대한 용량 요법을 선택하기 위한 것이다.

[0278] FOP를 갖는 환자에서의 소아 연구를 위해 하기 용량 요법이 제안된다: 체중이 30 kg 미만인 환자의 경우 15 mg/kg IV Q4W; 및 체중이 30 kg 이상인 환자에 대해 10 mg/kg IV Q4W. 초기 연구에서, 10 mg/kg IV Q4W의 용량이 FOP를 갖는 성인 환자에서 연구되었고, 이는 효능에서 유리한 반응 및 허용되는 안전성 프로파일을 나타내었다. 이 연구에서, 10 mg/kg IV Q4W 용량 후, 정상-상태 최저 농도의 중앙값(범위)은 FOP를 갖는 성인 환자에서 $120.7(68.1\text{ 내지 }199.0)\text{ mg/l}$ 였다. 초기 연구 및 2개의 인간 최초(FIH) 연구에서 생성된 가레토스맵 및 총 액티빈 A의 농도 데이터에 기초로 하여, 약 50 mg/l 초과와 가레토스맵 농도의 유지는 대략 $0.05\text{ 내지 }0.06\text{ mg/l}$ 의 총 액티빈 A의 일정한 수준에 의해 입증되는 바와 같이, 표적-매개 제거 경로의 포화와 관련된다. 10 mg/kg IV Q4W 용량으로 성인 환자에서 관찰된 노출은 대부분의 환자에서 최대 표적 결합으로 표적-매개 제거 경로의 포화를 유지함으로써 현저한 효능 이점을 제공하는 것으로 간주된다.

[0279] FOP를 갖는 소아 환자에서, 성인 건강한 대상체 및 FOP를 갖는 성인 환자로부터의 데이터에 기반한 집단 PK 모

델을 사용한 시뮬레이션 당, 코호트 A에 대한 제안된 용량(30 kg 미만 환자의 경우 15 mg/kg IV Q4W, 또는 30 kg 이상의 환자에 대한 10 mg/kg IV Q4W)는 초기 연구에서 연구된 10 mg/kg IV Q4W의 성인 환자에서의 노출과 일치할 것으로 예상된다. 코호트 A에서 활성 약물을 투여받은 8명의 환자로부터의 분석 결과에 기초하여, 초기 연구에서 성인과 유사한 약물 노출을 보장하기 위해 하나 이상의 체중군(들)에서 용량이 조정될 수 있다. 코호트 B 환자는 코호트 A에 등록된 환자에서 1일 내지 85일의 데이터에 기초하여 용량이 확인된 후에만 연구 약물을 받기 시작할 것이다. 목적이 효능을 보장하기 위한 표적 포화이기 때문에, FOP 환자에서 상이한 용량이 조사된다. 소아과를 위한 모델링은 더 작은 어린이에서 표적 포화도를 충족시키기 위해 최대 15 mg/ml의 용량을 투여하도록 안내한다. 독성 연구로부터 어린이의 안전성 위험 증가를 시사하는 데이터는 없다.

[0280] PET-스캔 및 CT-스캔 영상화를 위한 절차 개요

[0281] PET/CT 스캔의 검토는 사전-특정, 중심, 독립적, 및 맹검으로 처리된다. 연구 28주 후, 위약 아암의 환자는 가레토스맵으로 전환되고, 그 이후로 모든 연구 참가자는 활성 약물을 투여받는다. 연구의 일차 분석을 수행하기 위해, 이중-맹검 위약-대조 기간(기간 1) 동안 연구 치료 할당은 맹검되지 않았다. 그러나, 기간 1 동안의 개별 치료 할당은 조사자/현장 직원, 또는 독립적인 영상 판독기 또는 영상 판정자에게 공개되지 않음에 유의하는 것이 중요하다. 연구 후원자는 또한 영상화 결과에 대해 맹검이며 56주 데이터베이스 잠금까지 스캔에 접근하지 못할 것이다. 이를 통해 영상 판독기는 56주에 PET/CT 스캔의 맹검 분석을 수행할 수 있다. 또한, 28주 내지 56주 사이, 및 심지어 그 후에도(대부분의 환자는 76주 이후임), 연구자는 위약-대조 기간 동안 그들이 받은 것에 대해 확신하지 않고 연구 환자의 임상 평가를 계속한다.

[0282] 실시예 4: 액티빈 A 길항제는 새로운 이소성 골화증(HO)를 예방함

[0283] 연구 설계

[0284] 진행성 골화성 섬유이형성증(FOP)을 갖는 성인 환자에서 4주마다(Q4W) 투여된 10 mg/kg의 가레토스맵의 안전성, 내약성, 약동학, 및 효능을 평가하기 위해 2상, 무작위, 이중 맹검, 위약-대조 연구를 설계하였다. 효능은 이소성(HO) 골 형성의 ^{18}F -NaF 양전자 방출 단층촬영(PET) 및 저용량 X-선 컴퓨터 단층촬영(CT) 영상화 분석에 의해 평가된다. 위약과 비교하여, 연구는 다음을 보여줄 것으로 예상되었다: a) 가레토스맵은 내성이 좋고; b) 가레토스맵은 용적 CT에 의해 PET 신호의 감소 및 HO 성장의 억제를 입증함으로써 HO를 감소시키고; c) 가레토스맵은 PET 및 CT에 의해 평가된 바와 같이 새로운 HO 병변의 발달을 억제한다.

[0285] 이러한 연구는 4주의 스크리닝/기준선 기간, 6개월의 무작위 이중-맹검 위약-대조 치료 기간(기간 1), 6개월의 공개-라벨 가레토스맵 치료 기간(기간 2), 및 공개-라벨 가레토스맵으로의 최대 치료 기간(기간 3)으로 구성된다. 1차 분석은 모든 환자가 이중-맹검 치료를 완료했을 때 수행되었다(기간 1). 임의의 FOP 관련 ACVR1 돌연변이를 갖는 환자를 포함하는 활성 HO 분석 세트(AHO, n=44) 및 활성 HO ACVR1[R206H] 돌연변이 세트(AHOC, n=42)에 대해 모든 일차 및 이차 28주 효능 중점을 분석하였다. 연구의 영상화 현장은 활성 환자를 중앙 검토에 의해 평가된 바와 같이 정상 기준 골의 적어도 3배의 ^{18}F -NaF PET의 흡수를 나타내는 적어도 하나의 이소성 골화증 병변을 갖는 환자로 정의하였다. 유사하게, PET 및 CT에 의한 새로운 HO 병변의 확인을 위한 기준은 영상화 현장에 미리 지정되었다. 안전성 분석은 안전성 분석 세트에 대해 수행되었고 데이터 컷오프 날짜에 모든 이용 가능한 데이터를 포함하였다. **환자 성향**

[0286] 총 44명의 환자가 무작위화되었다(가레토스맵 군에서 20명의 환자 및 위약 군에서 24명의 환자). 43명(98%)의 환자가 이중-맹검 치료 기간을 완료하였다; 가레토스맵 군으로부터의 1명의 환자는 발열의 부작용으로 인해 이중-맹검 기간 동안 연구를 중단하였다(세부사항은 하기 참조). 이중 맹검 기간을 완료한 43명의 환자 모두는 공개-라벨 기간 2에 들어갔다. 데이터 컷오프 날짜에, 12명의 환자가 후속 치료 기간 3에 들어갔다. 기간 3의 1명의 환자는 낙상 후 심각한 두부 외상으로 인해 사망하였다(치료와 관련 없음). AHO, AHOC 및 SAF 집단의 인구통계학적 및 기준선 질병 특성은 2개의 치료군 간에 균형을 이루었다.

[0287] 효능 결과

[0288] 통계적 계층을 사용하여 시험된 모든 일차 및 주요 이차 중점의 결과는 표 3에 제시되어 있다(통계적 계층의 순서로). 가레토스맵은 AHO에서 위약(p=0.0741)과 비교하여 기준선으로부터 약 25%(LS 평균 차이)만큼 28주에 걸쳐서 기준선으로부터 평균 총 병변 활성(^{18}F -NaF PET에 의한)을 감소시켰다. 사후 분석은 총 병변 활성의 감소가 일정한 속도로 일어나지 않을 수 있음을 입증하였다. 기준선으로부터 8주까지의 총 병변 활성의 퍼센트 변화는 두 치료 군 모두에서 유사하였고, 기준선으로부터 28주까지의 총 병변 활성의 변화 퍼센트는 위약과 비교하여

가레토스맵 군에서 더 낮았다(사후; $p=0.043$; 도 4). 다른 종점과 관련하여, 위약과 비교하여 기준선으로부터 대략 25%(LS 평균 차이) 감소가 또한 AHO에서 28주에 HO 병변의 총 용적(CT에 의한)에서 관찰되었다($p=0.3726$). AHOC 집단에서 유사한 결과가 관찰되었다. AHO에서 위약과 비교하여 가레토스맵 아암에서 감소된 일일 평균 통증에 대해 유리한 경향이 있었다(도 5). 유사한 결과가 AHOC에서 관찰되었다. PET에 의한 총 병변 활성 및 CT에 의한 HO 병변의 총 용적에서 위약과 비교하여 가레토스맵 아암의 감소는 주로 새로운 병변 성장을 감소시키는 데 가레토스맵의 효능에 의해 주도되었다.

표 3

일차 및 주요 이차 효능 종점은 통계적 계층을 초래함

종점	통계적 방법	LS 평균 (SE)		REGEN2477-위약에 대한 LS 평균 차이 (95% CI)	p-값
		REGEN2477	플라시보		
28주에 걸친 18F-NaF PET에 의한 총 병변 활성의 기준선으로부터의 변화율의 시간 가중 평균 (AHO)	ANCOVA	-8.1 (9.93)	16.6 (9.11)	-24.6 (-51.8, 2.5)	0.0741
28주에서 CT에 의해 평가된 HO 병변의 총 용적의 기준선으로부터의 변화율의 시간 가중 평균 (AHO)	MMRM	7.1 (20.43)	32.0 (18.66)	-24.9 (-80.8, 30.9)	0.3726
28주에 걸친 18F-NaF PET에 의한 총 병변 활성의 기준선으로부터의 변화율의 시간 가중 평균 (AHOC)	ANCOVA	-8.0 (10.14)	17.6 (9.73)	-25.6 (-53.9, 2.8)	0.0756
28주에서 CT에 의해 평가된 HO 병변의 총 용적의 기준선으로부터의 변화율의 시간 가중 평균 (AHOC)	MMRM	7.0 (20.87)	34.9 (19.90)	-27.8 (-86.1, 30.5)	0.3407
AHO에서 28주에 걸친 일일 NRS를 이용하여 평가된, FOP에 의한 일일 통증의 기준선으로부터의 변화의 시간 가중 평균	ANCOVA	-0.51 (0.231)	-0.17 (0.205)	-0.34 (-0.96, 0.27)	0.2656
AHOC에서 28주에 걸친 일일 NRS를 이용하여 평가된, FOP에 의한 일일 통증의 기준선으로부터의 변화의 시간 가중 평균 (AHOC)	ANCOVA	-0.48 (0.237)	-0.12 (0.221)	-0.36 (-1.01, 0.29)	0.2651

AHO = 적어도 1개의 활성 HO 병변을 갖는 환자; AHOC = 적어도 1개의 활성 HO 병변 및 전통적인 ACVR1R206H 돌연변이를 갖는 환자; ANCOVA=공분산의 분석; MMRM = 반복 측정을 갖는 혼합 모델. 28주에 판정된 선택된 독자에 의해 제공된 평가는 일차 분석에 사용되었다(28주에 판정이 수행되지 않은 경우 독자 1이 선택됨).

가레토스맵에 의한 새로운 병변의 억제 분석

하기 AHO 집단에서 주요 사전-특정된 이차, 탐색적 및 사후 분석의 분석(표 4)은, PET에 의한 총 병변 활성 및 CT에 의한 HO 병변의 총 용적에서 위약과 비교하여 가레토스맵 아암에서의 감소가 주로 새로운 HO 병변의 발생률, 비율, 병변 활성(PET) 및 용적(CT)과 같은 새로운 HO 병변 성장과 관련된 다중 종점의 거의 90% 감소에 의해 유도된다는 것을 입증한다. 28주에 걸쳐 새로운 PET 병변의 수는 위약과 비교하여 가레토스맵 아암에서 실질적으로 감소하였다(새로운 병변 비율의 87.4% 감소). 새로운 PET 병변의 수는 위약에 비해 가레토스맵 군에서 현저하게 더 낮았다(3 대 29). 새로운 병변과 관련된 환자 당 평균 총 병변 활성은 위약과 비교하여 가레토스맵 군에서 더 낮았다(5.22/pt 대 205.99/pt). 가레토스맵 군에서 새로운 PET 병변이 발생한 환자에서 새로운 병변과 관련된 총 병변 활성은 또한 위약군에 비해 실질적으로 낮았다(도 6). 28주에 걸쳐 새로운 PET 병변이 발생한 환자의 백분율은 위약에 비해 가레토스맵 군에서 더 낮았다(15% 대 46%, 도 7). 28주에 걸쳐 새로운 CT 병변의 수는 위약에 비해 가레토스맵 아암에서 더 낮았다(새로운 병변의 비율의 86.7% 감소). 위약군에서 27개의 새로운 CT 병변과 비교하여 가레토스맵 군에서 3개의 새로운 CT 병변이 있었다. 새로운 병변과 관련된 환자 당 평균 총 CT 용적은 위약에 비해 가레토스맵 군에서 더 낮았다(1.06cm³/pt 대 10.21cm³/pt). 새로운 CT 병변이 발생한 환자에서 새로운 병변과 관련된 총 CT 용적은 또한 위약군에 비해 가레토스맵 군에서 더 낮았다(도 8). 28주에 걸쳐 새로운 CT 병변이 발생한 환자의 백분율은 위약에 비해 가레토스맵 군에서 더 낮았다(15% 대 46%, 도 9). 또한, 환자 일기에 의해 평가된 바와 같이 플레어-업을 갖는 환자의 비율은 연구자-보고된 플레어-업의 부작용으로도 위약에 비해 가레토스맵 군에서 더 낮았다. AHOC 집단에서 유사한 결과가 관찰되었다.

표 4

기타 지지 효능 결과(AHO)

	중점(통계적 방법)	REGN2477	위약	감소	p-값
PET 병변	28주에 걸친 스캔 당 PET에 의한 HO 병변의 수(음성 이항 모델)	3.5	4.8	27% 감소(0.729 비율비)	0.0294
새로운 PET 병변	28주에 걸친 PET에 의해 측정된 새로운 골 병변을 갖는 환자의 수(피서 정확한 시험)	15% (3/20)	46% (11/24)	위험의 67.4% 감소(상대 위험=0.326)	0.0500
새로운 CT 병변(사후)	28주에 걸친 CT에 의해 측정된 새로운 골 병변을 갖는 환자의 수(피서 정확한 시험)	15% (3/20)	46% (11/24)	위험의 67.4% 감소(상대 위험=0.326)	0.0500
새로운 PET 병변(사후)	28주에 걸친 PET에 의해 측정된 새로운 골 병변의 수(음성 이항 모델)	비율: 0.15 카운트: 3 병변 활성: 34.8	비율: 1.19 카운트: 29 병변 활성: 449.4	87.4% 감소(0.126 비율비)	0.0063
새로운 CT 병변(사후)	28주에 걸친 환자 당 새로운 CT 골 병변의 수(음성 이항 모델)	비율: 0.15 카운트: 3 체적: 7.1 cm ³	1.13 카운트: 27, 체적: 22.3 cm ³	86.7% 감소(0.133 비율비)	0.0085
새로운 PET 병변(사후)	28주에 PET에 의한 환자 당 새로운 병변의 총 병변 활성(윌콕슨 시험)	5.22	205.99	97% 상대적 감소	0.0086
새로운 CT 병변(사후)	28주에 CT에 의한 환자 당 새로운 병변의 총 병변 활성(윌콕슨 시험)	1.86	18.21	90% 상대적 감소	0.0172
플레이어-업	환자의 e-다이어리에 의해 평가된, 플레이어-업을 갖는 환자의 수(피서 정확한 시험)	35% (7/20)	71% (17/24)	위험의 50.7% 감소(상대 위험=0.493)	0.0324
플레이어-업	조사자-평가된 플레이어-업을 갖는 환자의 수(피서 정확한 시험)	10% (2/20)	42% (10/24)	위험의 76.2% 감소(상대 위험=0.238)	0.0389

[0292]

[0293]

안전성 결과

[0294]

28주 이중 맹검 치료 기간 동안, 가레토스맙 및 위약군 둘 다의 환자의 100%에서 치료 유발 부작용(TEAE)이 발생하였다; 대다수는 중증도가 경증 내지 중등도였다. 가레토스맙 및 위약군에 대한 TEAE의 주목할 만한 불균형은 각각 코피(50.0% 대 16.7%) 및 피부 사건(눈썹소실증[눈썹 상실; 25.0% 대 0%], 여드름[30.0% 대 8.3%] 및 농양, 낭종, 모낭염, 및 종기를 포함하는 피부 감염). 위약군의 환자가 진행중인 공개 라벨 기간(기간 2)에 가레토스맙으로 전환될 때, 코피 및 상기 피부 사건의 보고 빈도가 증가하였다. 28주 이중-맹검 기간 동안 주입 반응의 빈도는 위약과 가레토스맙 군 사이에서 균형을 이루었다(위약: 6/24(25%; 가레토스맙: 5/20(25%)). 기간 2 동안, 4명의 환자(9.3%)가 가레토스맙을 투여받는 동안 주입 반응을 나타냈다. 심각한 부작용(SAE)은 기간 1 동안 가레토스맙 및 위약 치료군의 각각 20% 및 8.3%에서 보고되었다. 기간 1 동안 발생한 가레토스맙 군에 배정된 환자에서 1건의 SAE(코피)(epistaxis)가 비강 패킹으로 인해 입원하였다. 이 사건은 의심되는 예상치 못한 심각한 부작용(suspected unexpected serious adverse reaction: SUSAR)으로 특성화되었다. 환자는 완전히 회복되었고 연구를 계속하였다. 공개-라벨 기간 동안 및 데이터 컷오프 날짜까지, 3개의 SAE가 보고되었다. 2명의 환자가 기간 2 동안 절개 및 배액을 위해 입원을 필요로 하는 농양의 SAE가 발생하였다(피하 농양 및 낭종 농양, 각각 연구 약물과 관련이 있고 관련이 없는 것으로 조사자에 의해 보고되었다). 농양이 해결되었고 환자는 일시적인 치료 중단 후 가레토스맙을 계속 받았다. 세 번째 환자는 낙상으로 인한 심각한 두부 외상의 SAE를 갖고 사망하였다. 두부 외상은 환자가 가레토스맙의 16회 주입을 받은 후 기간 3 동안 발생하였고, 조사자에 의해 연구 약물과 관련이 없는 것으로 평가되었다. 20명의 가레토스맙 군 환자 중 19명 및 24명의 위약군 환자 중 24명이 기간 1을 완료하였다. 28주 치료 기간에 가레토스맙을 중단한 환자는 중증도에 대해 경증으로 조사자에 의해 평가되었고 연구 약물과 관련이 없는 발열의 부작용이 있었다. 환자가 폐렴의 2개의 SAE(입원)를 나타낸 후 발열의 재발(그 중 하나는 패혈증과 합병증)으로 인해 조사자는 환자를 연구로부터 중단시켰다. 다른 임상

특징 중에서 이 환자의 병력은 중증 제한성 폐 질환, 기관지확장증 및 골격 기형을 포함하였다. 공개-라벨 후속 치료 기간(기간 3)의 1명의 환자는 치료와 관련이 없는 두부 외상으로 인해 사망하였다.

[0295] **결론**

[0296] 가레토스맵은 28주에 걸쳐 기준선으로부터 총 병변 활성(신규 및 기존 둘 다)을 감소시켰다(시간 가중 평균 1s 차이 약 25%, $p=0.0741$). 이는 주로 새로운 병변의 발생률, 비율, 활성(PET) 및 용적(CT)의 대략 90% 감소에 의해 주도되었다. FOP와 같은 매우 드문 조건에서, 충분한 검정력을 보장하기에 충분히 큰 연구를 수행하는 것이 가능하지 않은 경우, 제2종 오류를 피하기 위해 10%의 제1종 오류율을 수용하는 것이 일반적이다. 이러한 관점에서, 전반적인 효능 결과는 강력하고 가레토스맵이 FOP를 갖는 환자에서 새로운 HO의 형성을 감소시킨다는 것을 강력하게 지지한다. 결과는 또한 액티빈 A가 기준선에서 PET/CT에 의해 선택된 기존 HO 병변의 진행에서 중요한 역할을 하지 않는 것으로 보인다는 해석을 뒷받침한다. 가레토스맵으로의 치료는 주입 반응 및 SAE의 발생률이 낮은 허용 가능한 안전성 프로파일을 입증하였다. 대부분의 TEAE는 중증도가 경증 내지 중등도였다. TEAE에서 주목할 만한 불균형은 코피, 여드름, 눈썹소실증 및 농양, 소낭 모낭염 및 종기를 포함하는 피부 감염의 복합물을 포함하였다. 이 진행중인 연구에서, 모든 환자는 공개-라벨 기간(기간 2 및 3)으로 전환되었다. 가레토스맵으로의 위약 환자의 크로스-오버는 56주에 가레토스맵 치료가 대조군과 비교하여 새로운 골 병변 형성의 현저한 감소를 초래한다는 것을 확인할 수 있게 한다(여기서 "대조군"은 이전의 위약 치료 기간 동안 이러한 동일한 환자의 측정임). 56주 데이터는 또한 가레토스맵 치료를 계속하는 환자에서 치료 효과의 지속성에 대한 정보를 제공할 것이다. 요약하면, 연구로부터의 안전성 및 효능 데이터는 FOP를 갖는 성인 환자의 치료에 대한 가레토스맵의 긍정적인 이익-위험을 보여준다. 가레토스맵에 의한 액티빈 A의 차단은 오래 참는 FOP 환자에 대한 질병 경과를 변화시킬 기회를 제공한다.

[0297] **연구 목표**

[0298] **일차 목표**

[0299] 연구의 일차 안전성 목적은 FOP를 갖는 환자에서 가레토스맵의 안전성 및 내약성을 평가하는 것이었다. 연구의 일차 효능 목적은 PET에 의한 HO 병변의 ^{18}F -NaF 흡수 및 CT에 의한 HO 병변의 총 용적에 의해 결정된 바와 같이, FOP 환자에서 HO의 기준선으로부터의 변화에 대한 가레토스맵 대 위약의 효과를 평가하는 것이었다. *이차 목표*

[0300] 연구의 이차 목적은 다음과 같다:

[0301] • 일일 통증 NRS 점수에 기반한 통증에 대한 곡선 아래 면적(AUC)에 의해 측정된 바와 같이, FOP로 인한 통증에 대한 가레토스맵 대 위약의 효과를 비교하기 위함.

[0302] • ^{18}F -NaF PET 또는 CT에 의해 확인된 새로운 HO 병변의 수에 의해 결정된 바와 같이, HO의 기준선으로부터의 변화에 대한 가레토스맵 대 위약의 효과를 평가하기 위함.

[0303] • PET에 의한 개별 활성 HO 부위(들)의 ^{18}F -NaF 표준화된 흡수 값 최대값(SUVmax)의 기준선으로부터의 변화에 대한 가레토스맵 대 위약의 효과를 평가하기 위함.

[0304] • 28주에 위약에서 가레토스맵으로 전환한 환자 대 기준선 내지 28주의 동일한 환자에서 ^{18}F -NaF PET 또는 CT에 의해 확인된 HO 병변의 수, 활성, 및 용적에 대한 28주 내지 56주 사이의 효과를 평가하기 위함.

[0305] • 골 형성의 생화학적 마커의 기준선으로부터의 변화에 대한 가레토스맵 대 위약의 효과를 평가하기 위함.

[0306] • 연구 약물의 제1 용량 후 기준선 및 시간 경과에 따른 총 액티빈 A의 농도를 특성화하기 위함.

[0307] • FOP를 갖는 환자에서 가레토스맵의 농도-시간 프로파일(약동학적 [PK]) 프로파일을 특성화하기 위함.

[0308] • 가레토스맵의 면역원성을 평가하기 위함.

[0309] **연구 설계**

[0310] 이는 FOP를 갖는 성인 환자에서 10 mg/kg IV 가레토스맵 Q4W의 반복 용량의 안전성, 내약성, PK, 및 이소성 골 형성에 대한 효과를 평가하기 위해 설계된 2상, 무작위, 이중 맹검, 위약-대조 연구였다. 연구 설계 도식(도

1)에 도시된 바와 같이, 이 연구는 스크리닝/기준선 기간(-28일 내지 -1일), 2개의 6개월 치료 기간, 및 후속 치료 기간(기간 3)으로 구성되었다.

[0311] 스크리닝/기준선 기간 동안, 모든 환자는 사전 동의 절차 및 스크리닝/기준선 절차를 거쳤다. 이중-맹검 치료 기간(기간 1)에서, 환자는 총 7개의 용량에 대해 10 mg/kg 용량의 가레토스맵 또는 일치하는 위약을 받도록 무작위화되었고, 24주 동안 IC Q4W가 투여되었다. 무작위화는 성별, 고전적인 ACVR1[R206H] 돌연변이/상이한 ACVR1 돌연변이, 및 ^{18}F -NaF-PET/CT에 의해 결정된 기준선 활성 HO 병변의 존재/부재에 의해 계층화되었다. 공개-라벨 치료 기간(기간 2)에서, 이중-맹검 치료 기간을 완료한 모든 환자는 52주까지 총 7회 용량으로 10 mg/kg Q4W의 용량으로 IV 투여된 가레토스맵을 투여받았다. 기간 2를 완료한 환자는 기간 3에서 76주 또는 그 이후까지 가레토스맵을 계속 투여받았다. 영상화 절차는 기준선, 8주, 28주, 56주 및 76주에 수행된다.

[0312] **통계적 방법**

[0313] **분석 집단**

[0314] 인체용 의약품 등록을 위한 기술 요건의 ICH(International Conference of Harmonization) 가이드라인 ICH E9 임상 시험을 위한 통계적 원리(Statistical Principles for Clinical Trials)(1998)의 지침에 따라, 하기 분석 집단을 모든 통계 분석에 사용하였다:

[0315] 기준선-활성 HO 분석 세트(AHO): 기준선-활성 HO 분석 세트(AHO)는 기준선에서 적어도 하나의 활성 HO 병변을 갖는 모든 무작위화된 환자를 포함하였다; 이는 (무작위화로) 할당된 치료에 기반하였다.

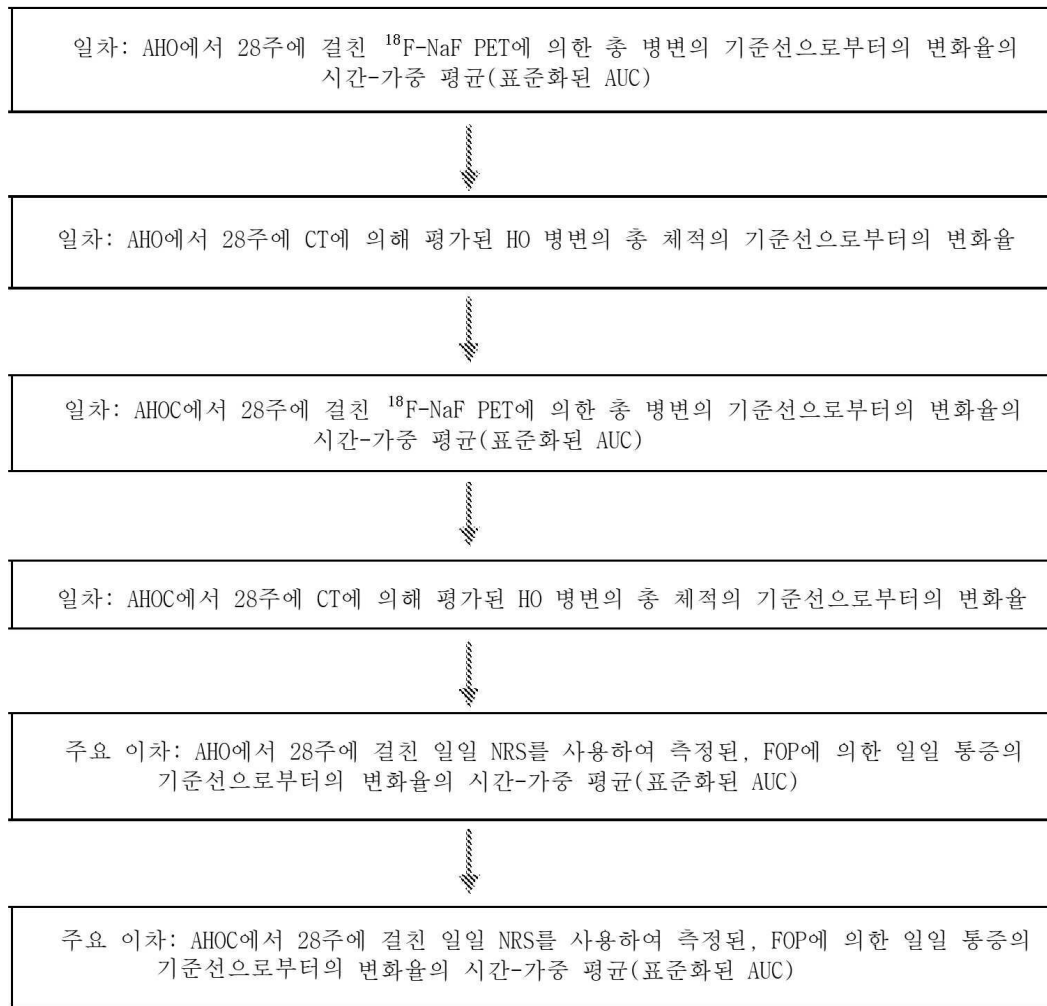
[0316] 기준선-활성 HO 클래식 ACVR1[R206H] 돌연변이 분석 세트(AHOC): 기준선-활성 HO 클래식 ACVR1[R206H] 돌연변이 분석 세트(AHOC)는 클래식 ACVR1[R206H] 돌연변이를 갖고 적어도 하나의 돌연변이를 갖는 모든 무작위화된 환자를 포함하였다. ^{18}F -NaF PET 양성으로 정의되는 기준선에서의 활성 HO 병변(들); 이는 (무작위화로) 할당된 치료에 기초하였다.

[0317] 안전성 분석 세트(SAF): 안전성 분석 세트(SAF)는 임의의 연구 약물을 받은 모든 무작위화된 환자를 포함하였다. 받은 실제 치료를 안전성 분석에 사용하였다.

[0318] **효능 변수의 분석**

[0319] 연구에 대한 효능 변수는 영상화 절차, 임상 종점 및 골 형성의 바이오마커로부터의 평가로 구성되었다.

[0320] 다중도 고려: 연구는 4개의 일차 및 2개의 이차 효능 목표를 가졌다. 제1종 오류율을 제어하기 위해, 계층적 시험 절차를 양측 5% 유의 수준으로 적용하였고, 모든 일차 종점에 대해 통계적 유의성이 확립된 경우에만 주요 이차 효능 종점을 시험하였다. 일차 및 주요 이차 효능 종점에 대한 시험 순서는 다음과 같았다:



[0321]

[0322] 일차 효능 중점:

[0323] AHO에서 28주에 걸쳐 ¹⁸F-NaF PET에 의한 총 병변 활성의 기준선으로부터의 변화 백분율의 시간-가중 평균(표준화 AUC)

[0324] 28주에 걸쳐 ¹⁸F-NaF PET에 의한 총 병변 활성의 기준선으로부터의 변화 백분율의 AUC를 각 환자에 대해 계산하였다. 실제 시간이 아닌 공칭 시간(즉, 8주 및 28주)을 AUC의 계산에 사용하였다. 8주에 대한 영상 스캔이 누락된 경우, 기준선과 28주 사이의 % 변화의 선형 내삽을 사용하여 AUC를 계산하였다. 28주 동안의 영상화 스캔이 누락된 경우, AUC를 계산하기 위해 8주에서의 변화율(%)을 28주로 이월시켰다. 시간 가중 평균(표준화 AUC)은 28주에 걸쳐 ¹⁸F-NaF PET에 의한 총 병변 활성의 기준선으로부터의 변화 백분율의 AUC를 28로 나눈 값으로서 유도되었다. 공분산의 분석(ANCOVA) 모델을 사용하여 28주에 걸친 퍼센트 변화의 시간 가중 평균을 분석하였다. 모델은 치료, 성별 및 기준선 총 병변 활성을 공변량으로 포함하였다. ACVR1 돌연변이 유형은 2명의 환자를 제외한 모든 환자가 ACVR1 고전적 돌연변이를 가졌기 때문에 모델에서 제외되었다. 기준선으로부터의 LS 평균 변화의 차이, 상응하는 95% CI 및 p-값은 위약군에 대한 가레토스맵 군에 대한 비교를 위해 ANCOVA 모델로부터 제공되었다.

[0325] AHO에서 28주에 CT에 의해 평가된 바와 같은 HO 병변의 총 용적의 기준선으로부터의 변화 백분율

[0326] 8주 및 28주에 CT에 의해 평가된 HO 병변의 총 용적에서 기준선으로부터의 변화율을 MMRM 모델을 사용하여 AHO 분석 세트에서 분석하였다. 모델은 치료, 성별, ACVR1 돌연변이 유형(고전적, 비고전적), 방문(8주 및 28주), 기준선 총 용적 및 방문별 치료 상호작용을 포함한다. 시간 사이의 환자내 상관관계를 설명하기 위해 구조화되지 않은 공분산을 사용하였다. 기준선으로부터의 LS 평균 변화의 차이, 상응하는 95% CI 및 p-값은 위약군에 대한 가레토스맵 군에 대한 비교를 위해 MMRM 모델로부터 제공되었다.

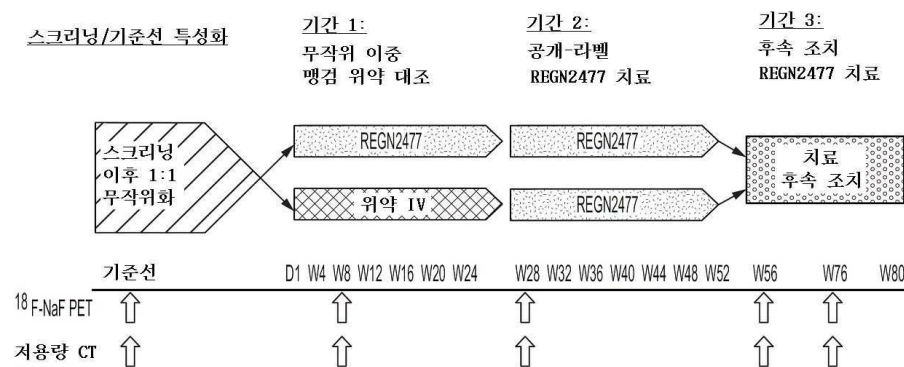
- [0327] AHOC에서 28주에 걸쳐 ^{18}F -NaF PET에 의한 총 병변 활성의 기준선으로부터의 변화 백분율의 시간-가중 평균(표준화 AUC)
- [0328] AHOC에서 28주에 걸쳐 ^{18}F -NaF PET에 의한 총 병변 활성의 기준선으로부터의 변화 백분율의 시간-가중 평균(표준화 AUC)을 AHOC에서 제1 일차 종점과 동일한 방법을 사용하여 분석하였다. 모델은 치료, 성별, 방문(8주 및 28주), 방문별 치료 상호작용 및 기준선 총 병변 활성의 독립 변수를 포함하였다.
- [0329] AHOC에서 28주에 CT에 의해 평가된 바와 같은 HO 병변의 총 용적의 기준선으로부터의 변화 백분율
- [0330] AHOC에서 28주에 CT에 의해 평가된 바와 같은 HO 병변의 총 용적에서 기준선으로부터의 변화율을 AHOC에서 제2 일차 종점에 대한 것과 동일한 방법으로 분석하였다. 이 모델은 치료, 성별, 방문(8주 및 28주), 기준선 총 용적 및 방문별 치료 상호작용을 포함하였다.
- [0331] 주요 이차 효능 종점:
- [0332] AHOC에서 28주에 걸쳐 일일 NRS를 사용하여 측정된, FOP로 인한 일일 통증의 기준선으로부터의 시간-가중 평균(표준화된 AUC) 변화
- [0333] 일일 통증 점수(현재 통증, 최악의 통증, 및 최소 통증의 평균)에서 기준선으로부터의 변화의 시간 가중 평균을 각 환자에 대해 계산하였다. 중간 일에 대한 통증 점수가 누락된 경우, 2개의 인접한 측정 사이의 변화의 선형 보간을 사용하여 시간 가중 평균을 계산하였다. 모노톤이 누락된 경우, 기준선 이후 최종 관찰 이월(LOCF) 방법을 사용하여 누락된 값을 전가하였다. 28주 동안 일일 통증의 시간-가중 평균 변화를 ANCOVA 모델을 사용하여 AHOC에서 분석하였다. 이 모델은 치료, 성별, ACVR1 돌연변이 유형(고전적, 비-고전적), 및 기준선 일일 통증 점수를 포함하였다.
- [0334] AHOC에서 28주에 걸쳐 일일 NRS를 사용하여 측정된, FOP로 인한 일일 통증의 기준선으로부터의 시간-가중 평균(표준화된 AUC) 변화
- [0335] AHOC에서 28주에 걸쳐 일일 NRS를 사용하여 측정된 바와 같이, FOP로 인한 일일 통증의 기준선으로부터의 시간-가중 평균(표준화 AUC) 변화를 이전의 주요 이차 종점(AHOC에서)과 동일한 방법으로 분석하였다. 이 모델은 치료, 성별, 및 기준선 일일 통증 점수를 포함하였다.
- [0336] 안전성 데이터 분석
- [0337] SAF의 모든 환자에 대해 안전성 및 내약성의 요약물 수행하였다. 안전성 분석은 보고된 AE, 임상 실험실 평가 및 활력 징후를 기반으로 하였다. 실험실 변수 및 활력 징후에서 치료 응급 잠재적 임상적으로 유의한 값(PCS V)에 대한 역치를 SAP에서 정의하였다. 치료-응급 PCSV를 결정할 때 기준선은 현재 연구의 기준선 값을 지칭한다.
- [0338] 28주 연구의 연장
- [0339] 가레토스맵을 받은 연구 참가자는 연구의 연장으로 56주까지 계속하였다. 또한, 위약을 투여받은 연구 참가자는 연장 기간 동안 가레토스맵을 투여받을 수 있었다. 연장 기간 동안 가레토스맵을 받은 위약 환자는 맹검 기간 동안(즉, 28주까지) 치료군에서 볼 수 있는 바와 같이 새로운 병변의 수, 병변 용적, 및 통증 점수에서 유사한 감소를 가졌다.
- [0340] **비공식 서열 목록**
- [0341] 서열번호: 1
- [0342] QVQLQESGPG LVKPSSETLSL TCTVSGGSFS SHFWSWIRQP PGKGLEWIGY ILYTGGTSFN PSLKSRVSMS VGTSKNQFSL KLSSVTAADT AVYYCARARS GITFTGIIVP GSFDIWGQGT MVTVSS
- [0343] 서열번호: 2
- [0344] GGSFSSH
- [0345] 서열번호: 3
- [0346] ILYTGGT

[0347]	서열번호: 4
[0348]	ARARSGITFTGIIVPGSFDI
[0349]	서열번호: 5
[0350]	EIVLTQSPGT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SSYLAWYQQK PGQAPRLLIY GASSRATGIP DRFSGSGSGT DFTLTISRLE PEDFAVYYCQ QYGSSPWTFG QGTKVEIK
[0351]	서열번호: 6
[0352]	QSVSSSY
[0353]	서열번호: 7
[0354]	GAS
[0355]	서열번호: 8
[0356]	QQYGSSPWT
[0357]	서열번호: 9
[0358]	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCKASGFAFDDFAMHWVRQAPGKGLEWVSGIVWNSGDIGY
[0359]	ADSVKGRFTISRDNAKNSLYQLNSLRTEDTALYFCVKDMVRGLMGFNYYGMDVWGQGT
[0360]	VTVSS
[0361]	서열번호: 10
[0362]	GFADFDDFA
[0363]	서열번호: 11
[0364]	IVWNSGDI
[0365]	서열번호: 12
[0366]	VKDMVRGLMGFNYYGMDV
[0367]	서열번호: 13
[0368]	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQTI STYLWYRQRPQGAPSLIYDASNRATDIPA
[0369]	RFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPITFGQGTRLEIK
[0370]	서열번호: 14
[0371]	QTISTY
[0372]	서열번호: 15
[0373]	DAS
[0374]	서열번호: 16
[0375]	QQRSNWPIT
[0376]	서열번호: 17
[0377]	SYEVTQAPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYACWYQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPER
[0378]	FSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTAVFGGGTKLTVL
[0379]	서열번호: 18
[0380]	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYGLSWVRQAPGQGLEWMGWIIPYNGNTNS
[0381]	AQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYFCARDRDYGVNYDAFDIWGQGTMTV

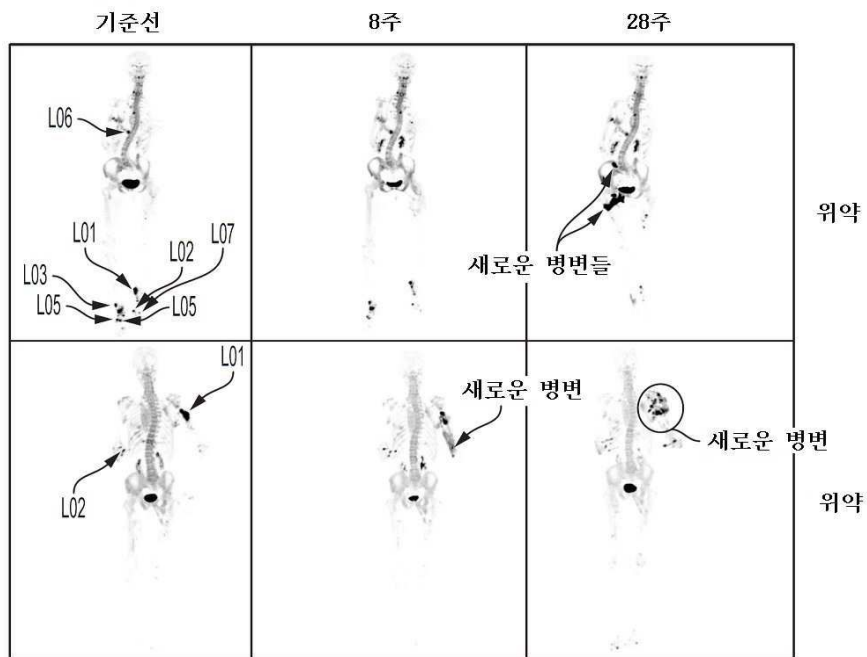
- [0382] SS
- [0383] 서열번호: 19
- [0384] SGDKLGDKYAC
- [0385] 서열번호: 20
- [0386] QDSKRPS
- [0387] 서열번호: 21
- [0388] QAWDSSTAV
- [0389] 서열번호: 22
- [0390] GYTFTSYGLS
- [0391] 서열번호: 23
- [0392] WIIPYNGNTNSAQKLQG
- [0393] 서열번호: 24
- [0394] DRDYGVNYDAFDI

도면

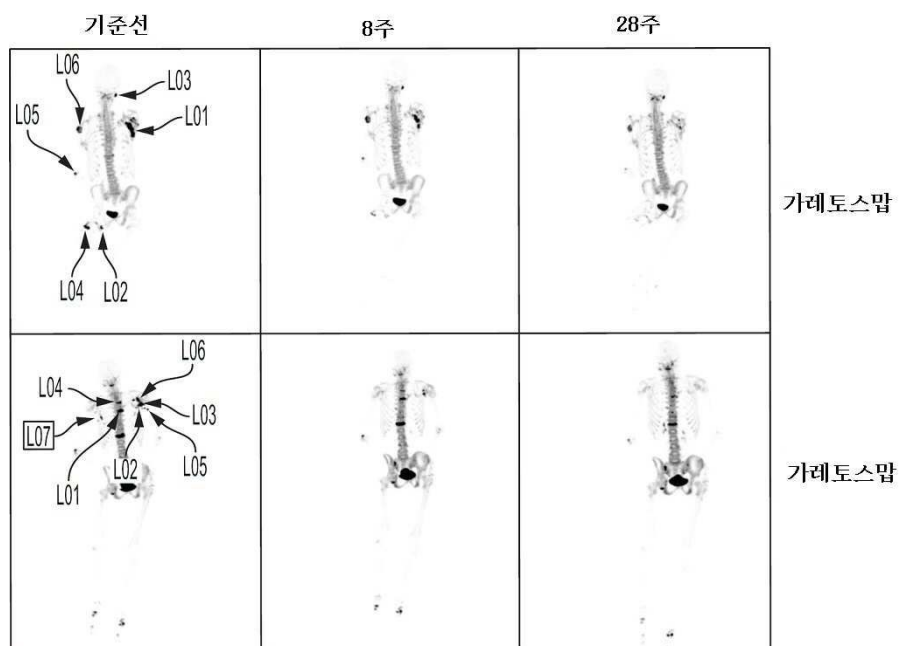
도면1



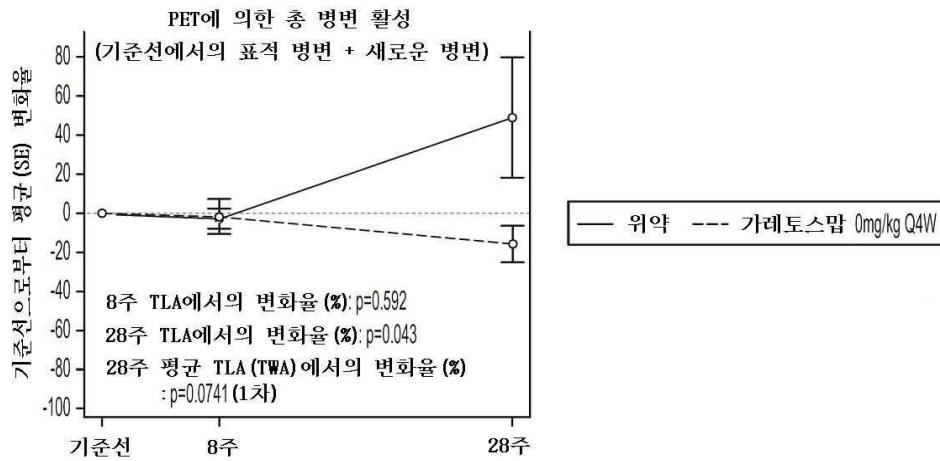
도면2a



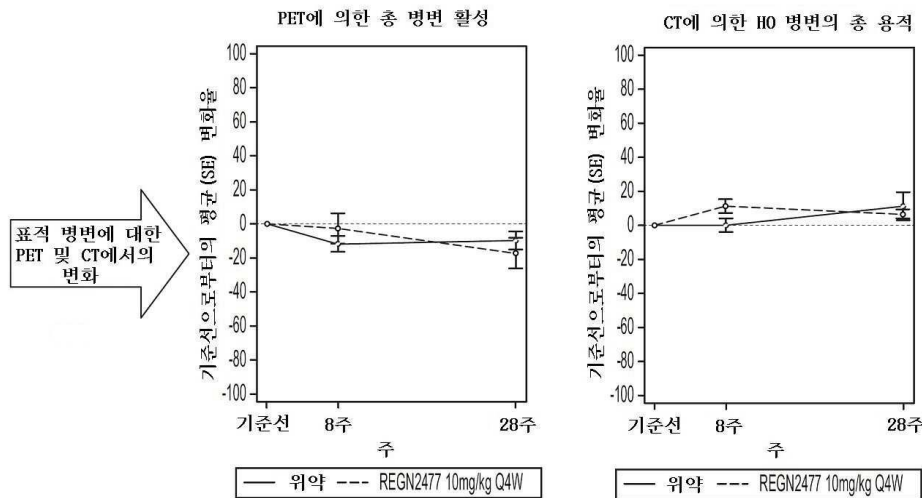
도면2b



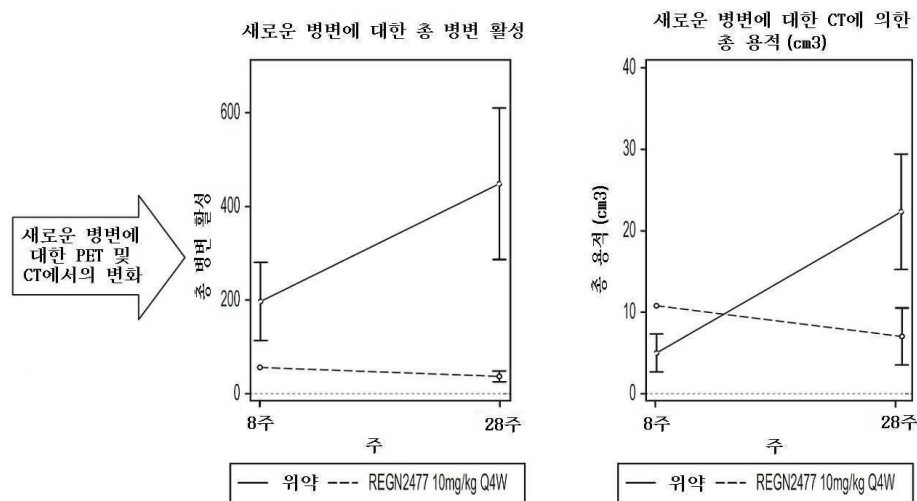
도면3a



도면3ba

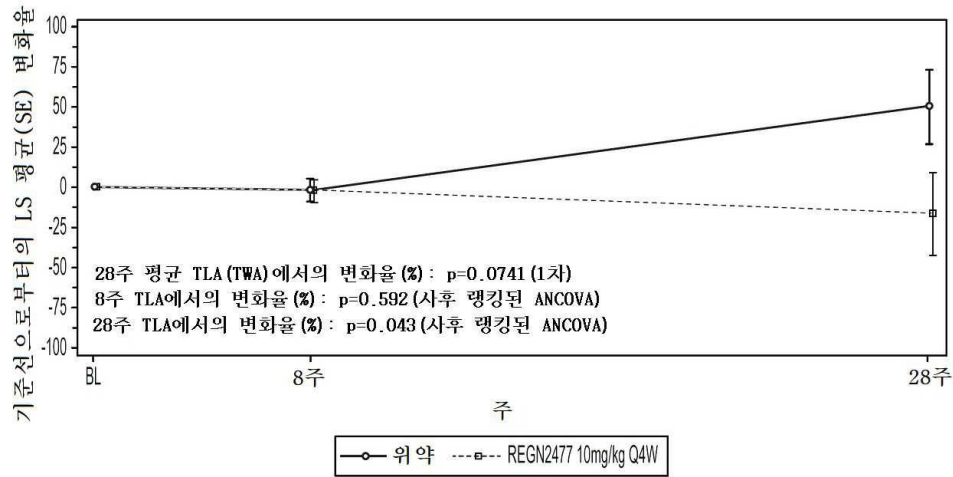


도면3bb

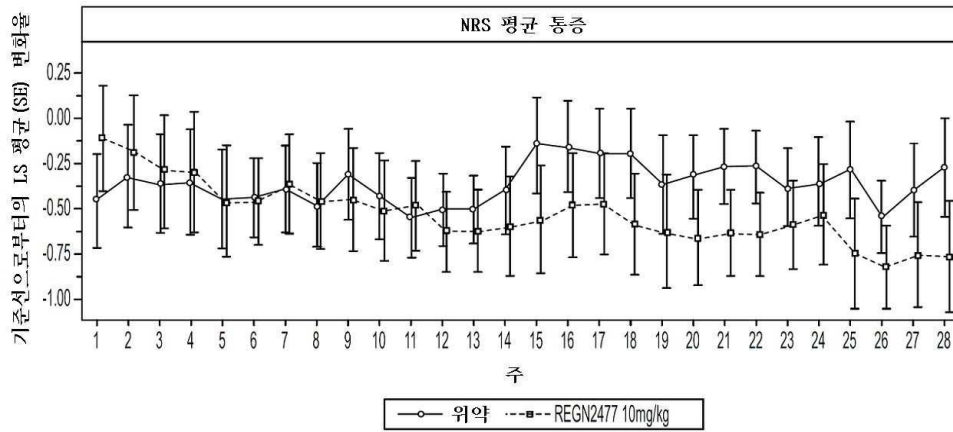


도 3b 계속

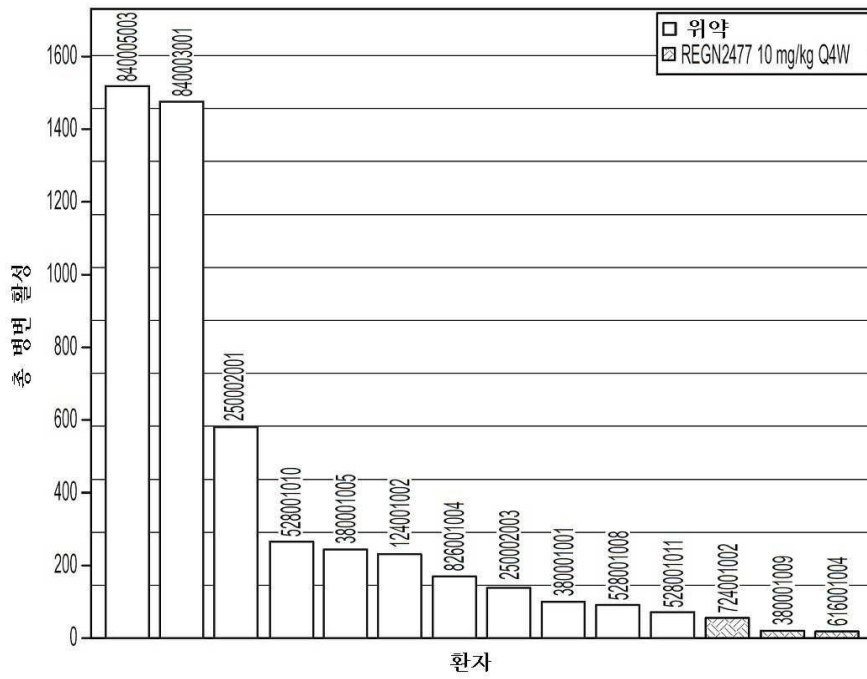
도면4



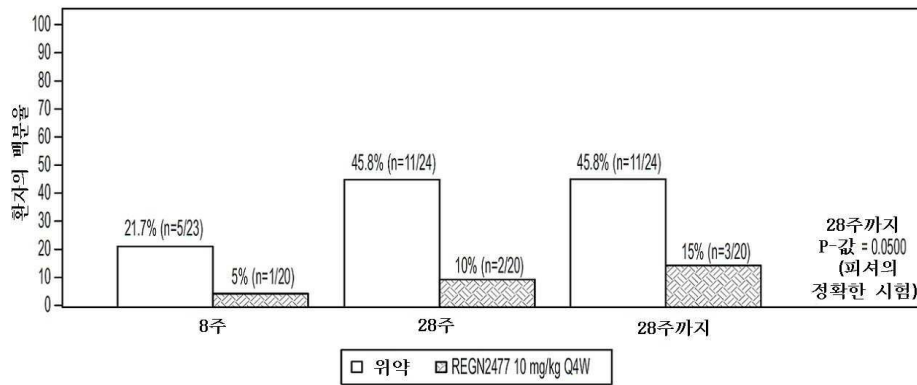
도면5



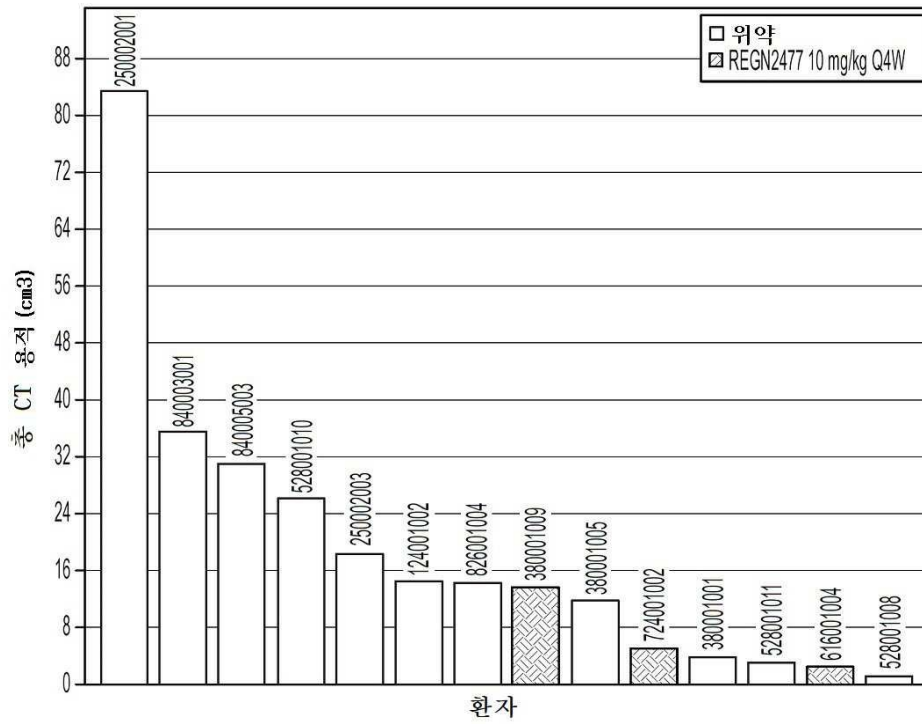
도면6



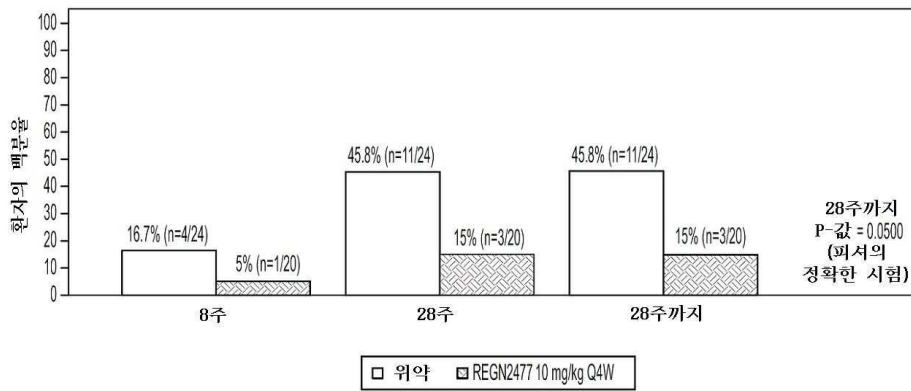
도면7



도면8



도면9



도면10

중쇄

QVQLQESGPG	LVKPSETLSL	TCTVS GGSF S	SHF WSWIRQP	PGKGLEWIGY	ILYTGGT SN ⁶⁰
PSLKSRVMS	VGTSKNQFSL	KLSSVTAADT	AVYY CARARS	GITFTGIIVP	GSFDI WGQT ¹²⁰
MVTVSSASTK	GPSVFPLAPC	SRSTSESTAA	LGCLVKDYFP	EPVTVSWNSG	ALTSGVHTFP
AVLQSSGLYS	LSSVTVTPSS	SLGTKTYTCN	VDHKPSNTKV	DKRVESKYGP	PCP PC PAPEF
CP PC					
LGGPSVFLEP	PKPKDTLMIS	RTPEVTCVVV	DVSQEDPEVQ	FNWYVDGVEV	HNAKTKPREE
Q FN STYRVVS	VLTVLHQDWL	NGKEYCKVS	NKGLPSSIEK	TISKAKGQPR	EPQVYTLPPS
QEEMTKNQVS	LTCLVKGFYP	SDIAVEWESN	GQPENNYKTT	PPVLDSGGSF	FLYSRLTVDK
SRWQEGNVFS	CSVMHEALHN	HYTQKSLSL	LGK		

서열번호 25

EIVLTQSPGT	LSLSPGERAT	LSCRAS QSVS	SS YLAWYQQK	PGQAPRLLIY	GAS SRATGIP
DRFSGSGSGT	DFTLTISRLE	PEDFAVYY CQ	QYGSSPW TFG	QGTKVEIKRT	VAAPSVFIFP
PSDEQLKSGT	ASVVCLLNNE	YPREAKVQWK	VDNALQSGNS	QESVTEQDSK	DSTYLSSTL
TLSKADYEKH	KVYACEVTHQ	GLSSPVTKSF	NRGEC		

서열번호 26

서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.

<120> TREATMENT OF FIBRODYSPLASIA OSSIFICANS PROGRESSIVA

<130> 118003-00620

<140> PCT/US2021/012598

<141> 2021-01-08

<150> US 63/081,428

<151> 2020-09-22

<150> US 63/076,691

<151> 2020-09-10

<150> US 62/958,448

<151> 2020-01-08

<160> 28

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 1

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Phe Ser Ser His

20 25 30

Phe Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Tyr Ile Leu Tyr Thr Gly Gly Thr Ser Phe Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Ser Met Ser Val Gly Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Ala Arg Ser Gly Ile Thr Phe Thr Gly Ile Ile Val Pro Gly Ser

100 105 110

Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 2

Gly Gly Ser Phe Ser Ser His Phe

1 5

<210> 3

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 3

Ile Leu Tyr Thr Gly Gly Thr

1 5

<210> 4

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 4

Ala Arg Ala Arg Ser Gly Ile Thr Phe Thr Gly Ile Ile Val Pro Gly

1 5 10 15

Ser Phe Asp Ile

20

<210> 5

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 5

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro

 85 90 95
Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

 100 105

```

<210> 6
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        peptide"
<400> 6
Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr
1                               5

```

```
<210> 7
<211> 3
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        peptide"
<400> 7
Gly Ala Ser
1
```

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

```

        peptide"
<400> 8
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr
1             5
<210> 9
<211> 125
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221

> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        polypeptide"
<400> 9
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1             5             10             15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ala Phe Asp Asp Phe
             20             25             30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
             35             40             45
Ser Gly Ile Val Trp Asn Ser Gly Asp Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val

             50             55             60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65             70             75             80
Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Phe Cys
             85             90             95
Val Lys Asp Met Val Arg Gly Leu Met Gly Phe Asn Tyr Tyr Gly Met
             100            105            110
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

             115            120            125
<210> 10
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

```

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 10

Gly Phe Ala Phe Asp Asp Phe Ala

1 5

<210> 11

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 11

Ile Val Trp Asn Ser Gly Asp Ile

1 5

<210> 12

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 12

Val Lys Asp Met Val Arg Gly Leu Met Gly Phe Asn Tyr Tyr Gly Met

1 5 10 15

Asp Val

<210> 13

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 13

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1	5	10	15
Glu	Arg	Ala	Thr
Leu	Ser	Cys	Arg
Ala	Ser	Gln	Thr
Ile	Ser	Thr	Tyr
20	25	30	
Leu	Val	Trp	Tyr
Arg	Gln	Arg	Pro
Gly	Gln	Ala	Pro
Ser	Leu	Leu	Ile
35	40	45	
Tyr	Asp	Ala	Ser
Asn	Arg	Ala	Thr
Asp	Ile	Pro	Ala
Arg	Phe	Ser	Gly
50	55	60	
Ser	Gly	Ser	Gly
Thr	Asp	Phe	Thr
Leu	Thr	Ile	Ser
Ser	Leu	Glu	Pro

65	70	75	80
Glu	Asp	Phe	Ala
Val	Tyr	Tyr	Cys
Gln	Gln	Arg	Ser
Asn	Trp	Pro	Ile
85	90	95	
Thr	Phe	Gly	Gln
Gly	Thr	Arg	Leu
Glu	Ile	Lys	
100	105		

<210> 14

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 14

Gln Thr Ile Ser Thr Tyr

1	5
---	---

<210> 15

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 15

Asp Ala Ser

1

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 16

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Ile Thr

1 5

<210> 17

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 17

Ser Tyr Glu Val Thr Gln Ala Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln

1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala

20 25 30

Cys Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr

35 40 45

Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Ala Val

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105

<210> 18

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 18

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Gly Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Ile Pro Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Ser Ala Gln Lys Leu

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Arg Asp Tyr Gly Val Asn Tyr Asp Ala Phe Asp Ile Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 19

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 19

Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala Cys

1 5 10

<210> 20

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 20

Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 21

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 21

Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Ala Val

1 5

<210> 22

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 22

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly Leu Ser

1 5 10

<210> 23

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221

> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 23

Trp Ile Ile Pro Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Ser Ala Gln Lys Leu Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 24

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 24

Asp Arg Asp Tyr Gly Val Asn Tyr Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 25

<211> 457

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 25

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Phe Ser Ser His
 20 25 30
 Phe Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

 Gly Tyr Ile Leu Tyr Thr Gly Gly Thr Ser Phe Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60
 Ser Arg Val Ser Met Ser Val Gly Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80
 Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Ala Arg Ser Gly Ile Thr Phe Thr Gly Ile Ile Val Pro Gly Ser
 100 105 110

 Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 115 120 125
 Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
 130 135 140
 Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 145 150 155 160
 Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 165 170 175

 His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
 180 185 190
 Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr
 195 200 205
 Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
 210 215 220
 Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
 225 230 235 240

 Cys Pro Pro Cys Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 245 250 255
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

260 265 270
 Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
 275 280 285
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 290 295 300

 Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 305 310 315 320
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 325 330 335
 Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 340 345 350
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
 355 360 365

 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 370 375 380
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 385 390 395 400
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 405 410 415
 Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
 420 425 430

 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 435 440 445
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 450 455

 <210> 26
 <211> 215
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 26

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 27

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 27

Thr Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 28

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 28

Ser Gly Gly Gly Gly

1 5