



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I773117 B

(45)公告日：中華民國 111 (2022) 年 08 月 01 日

(21)申請案號：110103864 (22)申請日：中華民國 104 (2015) 年 12 月 03 日

(51)Int. Cl. : *A61K38/18 (2006.01)* *A61K39/395 (2006.01)*
A61P7/06 (2006.01)

(30)優先權：2014/12/03 美國 62/086,977
 2014/12/05 美國 62/088,478
 2015/04/28 美國 62/153,872
 2015/06/10 美國 62/173,782
 2015/09/15 美國 62/218,728

(71)申請人：美商西建公司 (美國) CELGENE CORPORATION (US)
 美國
 美商艾瑟勒朗法瑪公司 (美國) ACCELERON PHARMA, INC. (US)
 美國

(72)發明人：艾堤 肯尼斯 MATTIE, KENNETH M. (US)；羅瓦帝 克里斯多夫 ROVALDI,
 CHRISTOPHER (US)；拉丹 艾德拉曼 LAADEM, ABDERRAHMANE (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：
 US 2009047281A1 US 2012028276A1

審查人員：張維纓

申請專利範圍項數：18 項 圖式數：20 共 252 頁

(54)名稱

活化素-ACTRII 拮抗劑及治療貧血之用途

(57)摘要

本文提供用於治療任何哺乳動物個體之貧血、需要 RBC 輸注之貧血、低或中等-1-風險型骨髓發育不良症候群(MDS)及/或非增生性慢性骨髓單核細胞性白血病(CMML)之方法，其中該等方法包含投與需要該治療之個體活化素-ActRII 信號傳導抑制劑。

Provided herein are methods for the treatment in a subject of anemia, anemia requiring RBC transfusion, low or intermediate-1-risk myelodysplastic syndromes (MDS), and/or non-proliferative chronic myelomonocytic leukemia (CMML) in any mammals wherein the methods comprise administration of Activin-ActRII signaling inhibitors to a subject in need of the treatment.

指定代表圖：

部分1：劑量結果				
參與者20名有原發性 劑量結果	ActRIIA-I 0.1 mg/kg SC q3w			
	ActRIIA-I 0.3 mg/kg SC q3w	評估 5-8次治療 循環後之 紅細胞血 液反應	反應 繼續治療 q3w	進程或治療 失敗 中斷治療
	ActRIIA-I 0.5 mg/kg SC q3w		無反應 中斷治療	評估MDS及 OS q6月，至第 一次治療後 24個月
	ActRIIA-I 1.0 mg/kg SC q3w			
	ActRIIA-I 2.0 mg/kg SC q3w			
部分2：在15名額外病人參與的情況下，部分1中之“勝利”劑量(如籌劃指導委員會測定)用於部分2				

MDS，骨髓單核細胞性症候群；OS，整體存活率；q3w，每3週一次；q6月，每6個月一次；SC，皮下

【圖1】



I773117

【發明摘要】

【中文發明名稱】

活化素-ACTRII拮抗劑及治療貧血之用途

【英文發明名稱】

ACTIVIN-ACTRII ANTAGONISTS AND USES FOR TREATING ANEMIA

【中文】

本文提供用於治療任何哺乳動物個體之貧血、需要RBC輸注之貧血、低或中等-1-風險型骨髓發育不良症候群(MDS)及/或非增生性慢性骨髓單核細胞性白血病(CMML)之方法，其中該等方法包含投與需要該治療之個體活化素-ActRII信號傳導抑制劑。

【英文】

Provided herein are methods for the treatment in a subject of anemia, anemia requiring RBC transfusion, low or intermediate-1-risk myelodysplastic syndromes (MDS), and/or non-proliferative chronic myelomonocytic leukemia (CMML) in any mammals wherein the methods comprise administration of Activin-ActRII signaling inhibitors to a subject in need of the treatment.

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

活化素-ACTRII拮抗劑及治療貧血之用途

【英文發明名稱】

ACTIVIN-ACTRII ANTAGONISTS AND USES FOR TREATING ANEMIA

【技術領域】

本文中提供用於長期治療個體中之以下疾病之方法：(i)貧血；(ii)需要RBC輸注之貧血；(iii)骨髓發育不良症候群(MDS)；及/或(iv)非增生性慢性骨髓單核細胞性白血病(CMML)，其中該等方法包含投與需要長期治療之個體活化素-ActRII信號傳導抑制劑。此類活化素-ActRII信號傳導抑制劑可為ActRIIA及/或ActRIIB信號傳導之信號傳導抑制劑。本文中提供長期治療個體中之以下疾病之方法：(i)貧血；(ii)需要紅血球(RBC)輸注之貧血；(iii)MDS；及/或(iv)非增生性CMML，其中個體具有環形含鐵胚血球。

【先前技術】

貧血為紅血球數目降低或小於血液中血紅蛋白之正常數量。貧血亦可由血紅蛋白之氧結合能力降低引起。貧血為最常見的血液病症。貧血可由無效的紅血球生成引起。若進行活性紅血球生成，但未能以適當速率生成成熟的紅血球，則發生無效的紅血球生成。祖細胞在達到成熟紅血球之狀態之前經歷細胞凋亡。MDS包含由無效血細胞生成表徵之造血幹細胞病症。此外，MDS病症包括由環形含鐵胚血球表徵之病症。環形含鐵胚血球為異常紅血球母細胞。此外，某些與

MDS相關之體細胞突變引起環型含鐵胚血球形成及無效的紅血球生成。編接因子3B1 (SF3B1)中之主要突變與環形含鐵胚血球之形成相關。環形含鐵胚血球為紅血球母細胞，其中存在覆蓋細胞核之至少三分之一周邊的最少五個含鐵(鐵質沉著性)顆粒。參見例如Mufti等人, 2008, *Haematologica*, 93(11):1712-7。環形含鐵胚血球含有載鐵粒線體。可藉由普魯士藍(Prussian blue)染色及觀測來偵測環形含鐵胚血球之存在。可在末梢血液及/或骨髓穿刺塗片中偵測到環形含鐵胚血球。

兩種相關II型受體，ActRIIA及ActRIIB已鑑別為活化素之II型受體(Mathews及Vale, 1991, *Cell* 65:973-982; Attisano等人, 1992, *Cell* 68:97-108)。除活化素以外，ActRIIA及ActRIIB可與若干其他TGF- β 家族蛋白質，包括BMP7、Nodal、GDF8及GDF11以生物化學方式相互作用(Yamashita等人, 1995, *J. Cell Biol.* 130:217-226; Lee及McPherron, 2001, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98:9306-9311; Yeo及Whitman, 2001, *Mol. Cell* 7: 949-957; Oh等人, 2002, *Genes Dev.* 16:2749-54)。ALK4為活化素，尤其活化素A之主要I型受體，且ALK-7可充當活化素，以及尤其活化素B之受體。

由活化素-受體類型IIA (ActRIIA)之細胞外域(ECD)及人類IgG1 Fc域組成之人類化融合蛋白質以高親和力結合於活化素-A，阻斷經由內源性ActRIIA受體進行之信號傳導。活化素-A為紅細胞分化因子，其影響RBC成熟之晚期狀態(Murata M, Onomichi K, Eto Y, Shibai H及Muramatsu M. Expression of erythroid differentiation factor in Chinese hamster ovary cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1988;

151: 230-5)。已關於增加RBC含量來描述ActRII信號傳導抑制劑(例如專利申請公開案第20110038831號；第20100204092號；第20100068215號；第20100028332號；第20100028331號；及第20090163417號)。

【發明內容】

本文中提供治療個體中之血液相關病症之方法，其包含(a)測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比；及(b)若個體中至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或20%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球，則投與個體0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間的醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，血液相關病症為貧血、骨髓發育不良症候群(MDS)或非增生性慢性骨髓單核細胞性白血病(CMML)。在某些實施例中，在第一時間測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比。在某些實施例中，該第一時間為投與個體醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑之1天、2天、3天、4天、5天、6天、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、3個月、4個月、5個月或6個月內。

本文中提供治療個體中之血液相關病症之方法，其包含以醫藥學有效劑量及時間期投與個體II型活化素受體(ActRII)信號傳導處於以達成(i)與個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之初始百分比相比，個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比之長期降低；及/或(ii)與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之血紅蛋白含量相比，個體中之血紅蛋白含量長期增加；其中醫藥學有效劑量在0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間，且其中個體中成

為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之初始百分比為至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%。在某些實施例中，血液相關病症為貧血、MDS或非增生性CMML。本文中提供治療個體中之貧血之方法，其包含以醫藥學有效劑量及時間期投與個體II型活化素受體(ActRII)信號傳導抑制劑以達成(i)與個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之初始百分比相比，個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比之長期降低；及/或(ii)與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之血紅蛋白含量相比，個體中之血紅蛋白含量長期增加；其中醫藥學有效劑量在0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間，且其中個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之初始百分比為至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%。在某些實施例中，個體為需要RBC輸注之個體。本文中提供治療個體中之MDS之方法，其包含以醫藥學有效劑量及時間期投與個體ActRII信號傳導抑制劑以達成(i)與個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之初始百分比相比，個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比之長期降低；及/或(ii)與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之血紅蛋白含量相比，個體中之血紅蛋白含量長期增加；其中醫藥學有效劑量在0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間，且其中個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之初始百分比為至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%。本文中提供治療個體中之非增生性CMML之方法，其包含以醫藥學有效劑量及時間期投與個體ActRII信號傳導抑制劑以達成(i)與個體中成為環形含鐵

胚血球之紅血球母細胞之初始百分比相比，個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比之長期降低；及/或(ii)與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之血紅蛋白含量相比，個體中之血紅蛋白含量長期增加；其中醫藥學有效劑量在0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間，且其中個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之初始百分比為至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%。

在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑投藥之該時間期為1、2、3、4、5或6個月。在某些實施例中，個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之初始百分比為投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥時間期之後，個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比之長期降低保持至少1、2、3、4、5、6、12、18或24個月。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之時間期之後，個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比之長期降低比個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之初始百分比低至少1.5、2.5、5.0、7.5或10.0倍持續至少6、12、18或24個月。在某些實施例中，個體中之初始血紅蛋白含量為投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之血紅蛋白含量。在某些實施例中，該個體中之初始血紅蛋白含量小於約11 g/dL。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥時間期之後，個體中血紅蛋白含量之長期增加保持至少3、4、5、6、12、18或24個月。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之時間

期之後，個體中血紅蛋白含量之長期增加為個體中之血紅蛋白含量在約11 g/dL與18 g/dL之間持續至少3、4、5、6、12、18或24個月。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥時間期之後，個體在至少3、4、5、6、12、18或24個月內無需紅血球輸注。

在某些實施例中，每三週一次投與ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑(i)每28天投與一次；或(ii)每42天投與一次。在某些實施例中，經由注射投與ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，皮下投與ActRII信號傳導抑制劑。

在某些實施例中，該方法進一步包含在ActRII信號傳導抑制劑投藥時間期之後6、12、18及/或24個月測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之另一百分比。在某些實施例中，藉由普魯士藍染色測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比。在某些實施例中，該方法進一步包含在ActRII信號傳導抑制劑投藥時間期之後6、12、18及/或24個月測定個體中之另一血紅蛋白含量。

本文中亦提供治療個體中之血液相關病症之方法，其中該方法包含：(a)測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第一百分比；及(b)(i)若個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第一百分比為至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%，則在短時間期內投與個體0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間的醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑，或(ii)若個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比小於10%，則在長時間期內投與個體0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間的醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，血液相關病症為貧血、需要輸注

之貧血、MDS或非增生性CMML。本文中亦提供治療個體中之貧血之方法，其中該方法包含：(a)測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第一百分比；及(b)(i)若個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第一百分比為至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%，則在短時間期內投與個體0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間的醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑，或(ii)若個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比小於10%，則在長時間期內投與個體0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間的醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，個體為需要輸血之個體。本文中亦提供用於治療個體中之MDS之方法，其中該方法包含：(a)測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第一百分比；及(b)(i)若個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第一百分比為至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%，則在短時間期內投與個體0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間的醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑，或(ii)若個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比小於10%，則在長時間期內投與個體0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間的醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑。本文中亦提供治療個體中之非增生性CMML之用於，其中該方法包含：(a)測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第一百分比；及(b)(i)若個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第一百分比為至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%，則在短時間期內投與個體0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間的醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑，

或(ii)若個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比小於10%，則在長時間期內投與個體0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間的醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑。

在某些實施例中，在短時間期ActRII信號傳導抑制劑投藥之後至少6、12、18或24個月，在短時間期內投與ActRII信號傳導抑制劑之個體中成為個體中之環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第一百分比降低至小於10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或小於1%。在某些實施例中，個體中之血紅蛋白含量小於約11 g/dL。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥時間期之後至少3、4、5、6、12、18或24個月，在短時間期內投與ActRII信號傳導抑制劑之個體中之血紅蛋白含量在約11 g/dL與18 g/dL之間。在某些實施例中，該短時間期為1、2、3、4或5個月。在某些實施例中，該長時間期為至少6、12、18或24個月。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥時間期之後，個體在至少3、4、5、6、12、18或24個月內無需紅血球輸注。

在某些實施例中，每三週一次投與ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑(i)每28天投與一次；或(ii)每42天投與一次。在某些實施例中，經由注射投與ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，皮下投與ActRII信號傳導抑制劑。

在某些實施例中，該方法進一步包含在ActRII信號傳導抑制劑投藥時間期之後6、12、18及/或24個月測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第二百分比。在某些實施例中，藉由普魯士藍染色測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比。在某些實

施例中，該方法進一步包含在ActRII信號傳導抑制劑投藥時間期之後6、12、18及/或24個月測定個體中之血紅蛋白含量。

本文中亦提供治療個體中之血液相關病症之方法，其中該方法包含：(a)測定個體具有個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比為至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%；(b)投與個體0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間的初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑；(c)在一段時間之後，測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第二百分比；及(d)視情況投與個體已調整劑量之ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，血液相關病症為貧血、需要輸注之貧血、MDS或非增生性CMML。本文中亦提供治療個體中之貧血之方法，其中該方法包含：(a)測定個體具有個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比為至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%；(b)投與個體0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間的初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑；(c)在一段時間之後，測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第二百分比；及(d)視情況投與個體已調整劑量之ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，個體為需要輸血之個體。本文中亦提供治療個體中之MDS之方法，其中該方法包含：(a)測定個體具有個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比為至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%；(b)投與個體0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間的初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑；(c)在一段時間之後，測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第二百分比；及(d)視情況投與個體已調整劑量之ActRII

信號傳導抑制劑。本文中亦提供治療個體中之非增生性慢性骨髓單核細胞性白血病(CMML)之方法，其中該方法包含：(a)測定個體具有個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比為至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%；(b)投與個體0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間的初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑；(c)在一段時間之後，測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第二百分比；及(d)視情況投與個體已調整劑量之ActRII信號傳導抑制劑。

在某些實施例中，時間期1、2、3、4、5或6個月。在某些實施例中，經由注射投與初始劑量。在某些實施例中，皮下投與初始劑量。在某些實施例中，每三週一次投與初始劑量。在某些實施例中，初始劑量(i)每28天投與一次；或(ii)每42天投與一次。

在某些實施例中，在測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第一百分比之後立即或在其至多1天、2天、3天、4天、5天、6天或1週、2週、1個月、2個月、3個月、4個月、5個月、6個月、7個月、8個月、9個月、10個月、11個月或12個月內投與個體初始劑量。在某些實施例中，在測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第二百分比之後立即或在其至多1天、2天、3天、4天、5天、6天或1週、2週、1個月、2個月、3個月、4個月、5個月、6個月、7個月、8個月、9個月、10個月、11個月或12個月內投與個體已調整之劑量。在某些實施例中，若個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第二百分比為至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%，則ActRII信號傳導抑制劑之已調

整之劑量大於初始劑量。在某些實施例中，已調整之劑量比初始劑量大約0.05 mg/kg、約0.1 mg/kg、約0.15 mg/kg、約0.25 mg/kg、約0.3 mg/kg、約0.35 mg/kg、約0.4 mg/kg或約0.5 mg/kg、0.75 mg/kg、1.0 mg/kg、1.33 mg/kg、1.5 mg/kg或約1.75 mg/kg。在某些實施例中，已調整之劑量比初始劑量更頻繁地投與。在某些實施例中，已調整之劑量每5、10、15、20、25、28、30、35或40天投與。在某些實施例中，經由注射投與已調整之劑量。在某些實施例中，皮下投與已調整之劑量。在某些實施例中，若個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第二百分比小於10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或小於1%，則不投與個體已調整之劑量。在某些實施例中，投與已調整之劑量持續至多1、2、3、4、5或6個月。

在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥時間期之後，個體在至少3、4、5、6、12、18或24個月內無需紅血球輸注。在某些實施例中，每三週一次投與ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑(i)每28天投與一次；或(ii)每42天投與一次。在某些實施例中，藉由普魯士藍染色測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比。

本文中亦提供治療個體中之血液相關病症之方法，其中該方法包含：(a)測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比；(b)若個體中成為環形含鐵胚血球之個體中之紅血球母細胞之百分比為至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%，則投與個體0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間的醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑；(c)在投與個體ActRII信號傳導抑制劑

之後，測定個體中之血紅蛋白含量；及(d)若個體中之血紅蛋白含量為至少11 g/dL，則中斷個體之ActRII信號傳導抑制劑投藥。在某些實施例中，血液相關病症為貧血、需要輸注之貧血、MDS或非增生性CMML。本文中亦提供治療個體中之貧血之方法，其中該方法包含：(a)測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比；(b)若個體中成為環形含鐵胚血球之個體中之紅血球母細胞之百分比為至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%，則投與個體0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間的醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑；(c)在投與個體ActRII信號傳導抑制劑之後，測定個體中之血紅蛋白含量；及(d)若個體中之血紅蛋白含量為至少11 g/dL，則中斷個體之ActRII信號傳導抑制劑投藥。在某些實施例中，個體需要RBC輸注。本文中亦提供治療個體中之MDS之方法，其中該方法包含：(a)測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比；(b)若個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比為至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%，則投與個體0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間的醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑；(c)在投與個體ActRII信號傳導抑制劑之後，測定個體中之血紅蛋白含量；及(d)若個體中之血紅蛋白含量為至少11 g/dL，則中斷個體之ActRII信號傳導抑制劑投藥。本文中亦提供治療個體中之非增生性CMML之方法，其中該方法包含：(a)測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比；(b)若個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比為至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%，則投

與個體0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間的醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑；(c)在投與個體ActRII信號傳導抑制劑之後，測定個體中之血紅蛋白含量；及(d)若個體中之血紅蛋白含量為至少11 g/dL，則中斷個體之ActRII信號傳導抑制劑投藥。

在某些實施例中，每三週一次投與個體ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑(i)每28天投與一次；或(ii)每42天投與一次。在某些實施例中，經由注射投與ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，皮下投與ActRII信號傳導抑制劑。

在某些實施例中，在投與ActRII信號傳導抑制劑之後6、12、18及/或24個月內測定血紅蛋白含量。

本文中亦提供促進患有血液相關病症之個體中之紅血球生成之方法，該方法包含：(a)測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比；(b)投與個體醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑持續第一時間期；(c)在第一時間期之後，若步驟(a)中個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比高於11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或20%，則降低投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量、降低個體之ActRII信號傳導抑制劑投藥頻率或中斷ActRII信號傳導抑制劑投藥。在某些實施例中，血液相關病症為貧血、需要輸注之貧血、MDS或非增生性CMML。在某些實施例中，該方法進一步包含(i)在第一時間期期間監測個體中之血液學參數；及(ii)若個體中之血液學參數恢復正常，則降低或中斷個體之ActRII信號傳導抑制劑投藥。在某些實施例中，該方法進一步包含(i)在第一時間期期間監測個體中之血液學參數；及(ii)若個體中之血液

學參數恢復正常，則降低投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量。在某些實施例中，該方法進一步包含(i)在第一時間期期間監測個體中之血液學參數；及(ii)若個體中之血液學參數恢復正常，則降低個體之ActRII信號傳導抑制劑之投藥頻率。在某些實施例中，該方法進一步包含(i)在第一時間期期間監測個體中之血液學參數；及(ii)若個體中之血液學參數恢復正常，則中斷個體之ActRII信號傳導抑制劑投藥。在某些實施例中，個體中之恢復正常之血液學參數為參考群體中之血液學參數之位準。在某些實施例中，個體中恢復正常之血液學參數為個體中之血液學參數與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之血液學參數相比改善至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。在某些實施例中，投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期為至少1天、2天、3天、4天、5天、6天、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、3個月、4個月、5個月或6個月。在某些實施例中，血液學參數為血紅蛋白含量、血容比、紅血球計數或個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比。

在某些實施例中，每三週一次投與個體ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑(i)每28天投與一次；或(ii)每42天投與一次。在某些實施例中，經由注射投與ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，皮下投與ActRII信號傳導抑制劑。

在某些實施例中，若個體中至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或20%紅血球母細胞成為環形含鐵胚血球，則個體之一或多個血液學參數恢復正常的可能性提高。在某些實

施例中，血液學參數為血紅蛋白含量、血容比、紅血球計數或個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比。

在某些實施例中，恢復正常之血液學參數為參考群體中血液學參數之位準。在某些實施例中，恢復正常之血液學參數為與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之血液學參數相比改善至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。在某些實施例中，投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期為至少1天、2天、3天、4天、5天、6天、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、3個月、4個月、5個月或6個月。

本文中提供長期治療個體中之貧血之方法，其包含以醫藥學有效劑量及時間期投與個體II型活化素受體(ActRII)抑制劑以達成(i)與個體中環形含鐵胚血球與正常紅血球母細胞之初始比率相比，個體中環形含鐵胚血球與正常紅血球母細胞之比率之長期降低；及(ii)與投與個體ActRII抑制劑之前個體中之血紅蛋白含量相比，個體中之血紅蛋白含量之長期增加；其中醫藥學有效劑量在0.75 mg/kg與2.0 mg/kg之間，且其中個體中之初始環形含鐵胚血球與正常紅血球母細胞比率為至少1:10、至少1:7或至少1:5。在某些實施例中，個體為需要RBC輸注之個體。

本文中提供長期治療個體中之低或中等-1-風險型骨髓發育不良症候群(MDS)之方法，其包含以醫藥學有效劑量及時間期投與個體II型活化素受體(ActRII)抑制劑以達成(i)與個體中環形含鐵胚血球與正常紅血球母細胞之初始比率相比，個體中環形含鐵胚血球與正常紅血

球母細胞之比率之長期降低；及(ii)與投與個體ActRII抑制劑之前個體中之血紅蛋白含量相比，個體中之血紅蛋白含量之長期增加；其中醫藥學有效劑量在0.75 mg/kg與2.0 mg/kg之間，且其中個體中之初始環形含鐵胚血球與正常紅血球母細胞比率為至少1:10、至少1:7或至少1:5。

本文中提供長期治療個體中之非增生性慢性骨髓單核細胞性白血病(CMML)之方法，其包含以醫藥學有效劑量及時間期投與個體II型活化素受體(ActRII)抑制劑以達成(i)與個體中環形含鐵胚血球與正常紅血球母細胞之初始比率相比，個體中環形含鐵胚血球與正常紅血球母細胞之比率之長期降低；及(ii)與投與個體ActRII抑制劑之前個體中之血紅蛋白含量相比，個體中之血紅蛋白含量之長期增加；其中醫藥學有效劑量在0.75 mg/kg與2.0 mg/kg之間，且其中個體中之初始環形含鐵胚血球與正常紅血球母細胞比率為至少1:10、至少1:7或至少1:5。

本文中亦提供增加個體中之嗜中性白血球含量之方法，其包含投與個體醫藥學有效劑量之II型活化素受體(ActRII)信號傳導抑制劑。

本文中亦提供增加個體中之血小板含量之方法，其包含投與個體醫藥學有效劑量之II型活化素受體(ActRII)信號傳導抑制劑。

在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為多肽，其包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：(a)與SEQ ID NO:2具有90%一致性；(b)與SEQ ID NO:2具有95%一致性；(c)與SEQ ID NO:2具有98%一致性；(d)SEQ ID NO:2；(e)與SEQ ID NO:3具有90%一致性；(f)與SEQ ID

NO:3具有95%一致性；(g)與SEQ ID NO:3具有98%一致性；(h)SEQ ID NO:3；(i)與SEQ ID NO:6具有90%一致性；(j)與SEQ ID NO:6具有95%一致性；(k)與SEQ ID NO:6具有98%一致性；(l)SEQ ID NO:6；(m)與SEQ ID NO:7具有90%一致性；(n)與SEQ ID NO:7具有95%一致性；(o)與SEQ ID NO:7具有98%一致性；(p)SEQ ID NO:7；(q)與SEQ ID NO:12具有90%一致性；(r)與SEQ ID NO:12具有95%一致性；(s)與SEQ ID NO:12具有98%一致性；(t)SEQ ID NO:12；(u)與SEQ ID NO:17具有90%一致性；(v)與SEQ ID NO:17具有95%一致性；(w)與SEQ ID NO:17具有98%一致性；(x)SEQ ID NO:17；(y)與SEQ ID NO:20具有90%一致性；(z)與SEQ ID NO:20具有95%一致性；(aa)與SEQ ID NO:20具有98%一致性；(bb)SEQ ID NO:20；(cc)與SEQ ID NO:21具有90%一致性；(dd)與SEQ ID NO:21具有95%一致性；(ee)與SEQ ID NO:21具有98%一致性；(ff)SEQ ID NO:21；(gg)與SEQ ID NO:25具有90%一致性；(hh)與SEQ ID NO:25具有95%一致性；(ii)與SEQ ID NO:25具有98%一致性；及(jj)SEQ ID NO:25。

在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIA信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRIIA信號傳導抑制劑為多肽，其包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：(a)與SEQ ID NO:2具有90%一致性；(b)與SEQ ID NO:2具有95%一致性；(c)與SEQ ID NO:2具有98%一致性；(d)SEQ ID NO:2；(e)與SEQ ID NO:3具有90%一致性；(f)與SEQ ID NO:3具有95%一致性；(g)與SEQ ID NO:3具有98%一致性；(h)SEQ ID NO:3；(i)與SEQ ID NO:6具有90%一致性；(j)與SEQ ID NO:6具有95%一致性；(k)與SEQ ID NO:6具有98%一致性；(l)SEQ ID

NO:6；(m)與SEQ ID NO:7具有90%一致性；(n)與SEQ ID NO:7具有95%一致性；(o)與SEQ ID NO:7具有98%一致性；(p)SEQ ID NO:7。

在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為包含SEQ ID NO:7之胺基酸序列的多肽。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為由ActRIIA之細胞外域及人類IgG1 Fc域組成之人類化融合蛋白質。

在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIB之信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRIIB信號傳導抑制劑為多肽，其包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：(a)與SEQ ID NO:17具有90%一致性；(b)與SEQ ID NO:17具有95%一致性；(c)與SEQ ID NO:17具有98%一致性；(d)SEQ ID NO:17；(e)與SEQ ID NO:20具有90%一致性；(f)與SEQ ID NO:20具有95%一致性；(g)與SEQ ID NO:20具有98%一致性；(h)SEQ ID NO:20；(i)與SEQ ID NO:21具有90%一致性；(j)與SEQ ID NO:21具有95%一致性；(k)與SEQ ID NO:21具有98%一致性；(l)SEQ ID NO:21；(m)與SEQ ID NO:25具有90%一致性；(n)與SEQ ID NO:25具有95%一致性；(o)與SEQ ID NO:25具有98%一致性；及(p)SEQ ID NO:25。

在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為包含SEQ ID NO:25之胺基酸序列的多肽。

在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為由ActRIIA之細胞外域及人類IgG1 Fc域組成之人類化融合蛋白質。

在某些實施例中，個體為人類。

在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之劑量在0.1與2.25 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之劑量在0.1與

2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之劑量在0.7與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之劑量為約0.1 mg/kg、0.125 mg/kg、0.3 mg/kg、0.5 mg/kg、0.7 mg/kg、1.0 mg/kg、1.25 mg/kg、1.33 mg/kg、1.5 mg/kg、1.75 mg/kg、2.0 mg/kg或2.25 mg/kg。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之劑量在0.1 mg/kg與0.5 mg/kg之間、在0.3 mg/kg與0.7 mg/kg之間、在0.5 mg/kg與1.0 mg/kg之間、在0.7 mg/kg與1.25 mg/kg之間、在1.0 mg/kg與2.0 mg/kg之間或在1.5與2.25 mg/kg之間。

【圖式簡單說明】

圖1描述實例2之給藥方案及研究設計。參見章節8.2。ActRIIA-I係指ActRIIA信號傳導抑制劑(SEQ ID NO:7)。

圖2描述對於高輸注負擔(HTB)個體，實現大於或等於56天之RBC輸注非依賴性(RBC-TI)之個體比例，或對於低輸注負擔(LTB)個體，實現大於或等於56天之RBC-TI且在8週無輸注週期內平均血紅蛋白(Hb)增加大於或等於1.5 g/dL之個體比例。ActRIIA-I係指ActRIIA信號傳導抑制劑(SEQ ID NO:7)。

圖3描繪由接收1.0 mg/kg劑量之ActRIIA (SEQ ID NO:7)之例示性HTB個體接收之RBC輸注單位之血紅蛋白含量(Hb, g/dL)及數目。圖3說明例示性HTB個體實現RBC-TI超過56天。

圖4說明在用所指示劑量之ActRIIA信號傳導抑制劑(SEQ ID NO:7)治療後，HTB反應者(n=19)之輸注負擔反應之最大持續時間。ActRIIA-I係指ActRIIA信號傳導抑制劑(SEQ ID NO:7)。

圖5說明在用所指示劑量之ActRIIA信號傳導抑制劑(SEQ ID

NO:7)治療後，實現大於或等於56天之RBC-TI之HTB個體(n=5)之RBC-TI反應之最大持續時間。ActRIIA-I係指ActRIIA信號傳導抑制劑(SEQ ID NO:7)。

圖6說明在用所指示劑量之ActRIIA信號傳導抑制劑(SEQ ID NO:7)治療後，實現大於或等於56天之RBC-TI及大於或等於1.5 g/dL之平均Hb增加之LTB個體(n=9)之比例。ActRIIA-I係指ActRIIA信號傳導抑制劑(SEQ ID NO:7)。

圖7說明在用所指示劑量之ActRIIA (SEQ ID NO:7)治療後，實現大於或等於56天之RBC-TI及大於或等於1.5 g/dL之平均Hb增加之LTB個體(n=5)之RBC-TI反應之最大持續時間。ActRIIA-I係指ActRIIA信號傳導抑制劑(SEQ ID NO:7)。

圖8描述實例2之給藥方案及研究設計。參見章節8.3。BL=基線。ActRIIB-I係指ActRIIB信號傳導抑制劑(SEQ ID NO:25)。

圖9描述在用所指示劑量之ActRIIB信號傳導抑制劑(SEQ ID NO:25)治療後，LTB個體中之最大血紅蛋白增加。

圖10描述在用所指示劑量之ActRIIB信號傳導抑制劑(SEQ ID NO:25)治療後，LTB個體中之網狀紅血球之增加。

圖11描述以所指示劑量且根據所指示治療方案投與ActRIIB信號傳導抑制劑(SEQ ID NO:25)之例示性LTB個體中之血紅蛋白含量。BL=基線。

圖12描述以所指示劑量且根據所指示治療方案投與ActRIIB信號傳導抑制劑(SEQ ID NO:25)之例示性LTB個體中之血紅蛋白含量。BL=基線。

圖 13描述以所指示劑量且根據所指示治療方案投與 ActRIIB 信號傳導抑制劑 (SEQ ID NO:25) 之例示性 HTB 個體中之血紅蛋白含量。BL=基線。

圖 14描繪由接收 1.0 mg/kg 劑量之 ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7) 之例示性 HTB 個體接收之 RBC 輸注單位之血紅蛋白含量 (Hb, g/dL) 及數目。圖 14 說明在開始用 ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7) 治療後，例示性 HTB 個體實現 RBC-TI 持續至少 337 天。

圖 15描繪由接收 1.0 mg/kg 劑量之 ActRIIA (SEQ ID NO:7) 之例示性 LTB 個體接收之 RBC 輸注單位之血紅蛋白含量 (Hb, g/dL) 及數目。圖 15 說明在開始用 ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7) 治療後，例示性 LTB 個體實現 Hb 含量之持續增加達至少 337 天。

圖 16描繪適合實現輸注非依賴性之個體中之輸注負擔。用 0.75 mg/kg 與 1.75 mg/kg 之間的 ActRIIB-hFc 治療個體。

圖 17描述在接收 ActRIIA-hFc 融合物 (SEQ ID NO:7) 之患者中，在任何 8 週週期內實現 RBC 輸注非依賴性 (RBC-TI) 及 LTB 患者之平均血紅蛋白增加等於或大於 1.5 g/dL 之個體之比例。深灰色陰影表示 HTB 患者且淺灰色陰影表示 LTB 患者。

圖 18說明在 12 個月 ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7) 治療擴展研究過程中，例示性 HTB 個體之血紅蛋白反應。第一及最後一次治療劑量由箭頭表示。輸血事件由條柱表示。針對時間 (天) 標繪血紅蛋白 (Hgb) 結果 (g/dL)。

圖 19說明在 12 個月 ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7) 治療擴展研究過程中，例示性 LTB 個體之血紅蛋白反應。針對時間 (月) 標繪 Hgb (g/L) 之

平均變化。

圖20說明在12個月ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)治療擴展研究過程中，在接收1.0 mg/kg (由下部四個條柱表示之個體)及1.75 mg/kg (由上部條柱表示之個體)之劑量的ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)治療時，在六名個體中觀測到的輸注非依賴性反應。四名患者在整個研究期間經歷持續輸注非依賴性(中間4個條柱)。一名患者在約一個月的ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)治療(上部條柱)之後獲得輸注非依賴性。一名患者在約2個月內經歷間歇性輸注非依賴性(下部條柱)。

【實施方式】

對相關申請案之交叉參考

本申請案主張2014年12月3日申請之美國臨時專利申請案第62/086,977號之優先權。本申請案亦主張2014年12月5日申請之美國臨時專利申請案第62/088,478號；2015年4月28日申請之美國臨時專利申請案第62/153,872號；2015年6月10日申請之美國臨時專利申請案第62/173,782號；及2015年9月15日申請之美國臨時專利申請案第62/218,728號之優先權，其中之每一者之全部內容以引用之方式併入本文中且用於所有目的。

序列表

本申請案提供大小為93,638個位元組之以文件名「12827_978_228_Sequence_Listing.txt」提交之序列表之電腦可讀形式(CRF)拷貝，其在2015年11月19日建立，其與序列表之紙質拷貝相同且以全文引用之方式併入本文中且用於所有目的。

7.1概述

意外發現患有血液相關病症之患者中環形含鐵胚血球之含量可用於鑑別患者對用活化素-ActRII信號傳導抑制劑進行之治療的反應。此類血液相關病症可為(i)貧血；(ii)需要RBC輸注之貧血；(iii)MDS；及/或(iv)非增生性CMML。參見章節7.8。不希望受理論約束，患有血液相關病症之患者中約15%或15%以上紅血球母細胞成為環形含鐵胚血球預示與患有相同血液相關病症但小於約15%紅血球母細胞成為環形含鐵胚血球之患者相比，患者中對活化素-ActRII信號傳導抑制劑之改善之臨床反應。此類改善之臨床反應可提高血液學參數(諸如血紅蛋白含量、紅血球含量及血容比)之反應。此類改善之臨床反應本身可以降低之輸注負擔顯示。此外，此類改善之臨床反應可在不持續投與活化素-ActRII信號傳導抑制劑情況下對患者產生長期益處。換言之，本文中所提供之方法可在停止投與活化素-ActRII信號傳導抑制劑之後的時間期內改善患者中一或多個血液學參數。

因此，本文中提供治療患有血液相關病症之患者之方法，其中該方法包含(a)測定紅血球母細胞中之環形含鐵胚血球之百分比；及(b)若約15%或15%以上紅血球母細胞為環形含鐵胚血球，則投與患者活化素-ActRII信號傳導抑制劑。更特定言之，本文中提供治療患有血液相關病症之患者之方法，其中該方法包含(a)測定患者中紅血球母細胞中之環形含鐵胚血球之百分比；(b)投與患者活化素-ActRII信號傳導抑制劑；及(c)若至少約15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球，則(i)在一段時間之後降低活化素-ActRII信號傳導抑制劑之劑量或中斷活化素-ActRII信號傳導抑制劑之投藥及/或(ii)在一段時間之後降低活化素-ActRII信號傳導抑制劑之投藥頻率。此等方法之詳細描述可

見於章節7.3及7.4中。

7.2 術語及縮寫

如本文中所使用，「ActRII」係指II型活化素受體。如本文中所使用，「ActRIIA」係指IIA型活化素受體。參見例如Mathews及Vale, 1991, *Cell* 65:973-982。GenBank™寄存編號NM_001278579.1提供例示性人類ActRIIA核酸序列。GenBank™寄存編號NP_001265508.1提供例示性人類ActRIIA胺基酸序列。如本文中所使用，「ActRIIB」係指IIB型活化素受體。參見例如Attisano等人, 1992, *Cell* 68: 97-108。GenBank™寄存編號NM_001106.3提供例示性人類ActRIIB核酸序列。GenBank™寄存編號NP_001097.2提供例示性人類ActRIIB胺基酸序列。

如本文中所使用，「ActRIIA-mFc」或「mActRIIA-Fc」係指IIA型小鼠活化素受體-IgG1融合蛋白質。參見例如美國專利第8,173,601號。如本文中所使用，「mActRIIB-Fc」或「ActRIIB-mFc」係指IIB型小鼠活化素受體-IgG1融合蛋白質。參見例如美國專利第8,173,601號。如本文中所使用，「hActRIIA-Fc」或「ActRIIA-hFc」係指IIA型人類活化素受體-IgG1融合蛋白質。參見例如美國專利第8,173,601號。在一個特定實施例中，hActRIIA-Fc為索塔西普(sotatercept)(SEQ ID NO:7)。如本文中所使用，「hActRIIB-Fc」或「ActRIIB-hFc」係指IIB型人類活化素受體-IgG1融合蛋白質。參見例如美國專利第8,173,601號。在一個特定實施例中，hActRIIB-Fc為盧帕西普(luspatercept)(SEQ ID NO:25)。

如本文中所使用，「ALK」係指多形性淋巴瘤激酶。

如本文中所使用，「BL」係指基線。

如本文中所使用，「BMP7」係指骨形態生成蛋白質7。

如本文中所使用，「CMML」係指慢性骨髓單核細胞性白血病。

如本文中所使用，「DEXA」係指雙重能量X射線吸光測定法。

如本文中所使用，「DNMT3A」係指DNA (胞嘧啶-5)-甲基轉移酶3A。 GenBank™ 寄存編號 NM_153759.3、NM_022552.4、NM_175629.2及NM_175630.1提供人類DNMT3A之例示性核酸序列。 GenBank™ 寄存編號 NP_715640.2、NP_783329.1、NP_783328.1及NP_072046.2提供人類DNMT3A之例示性胺基酸序列。

如本文中所使用，「ECD」係指細胞外域。

如本文中所使用，「EPO」係指紅血球生成素。

如本文中所使用，「ESA」係指紅血球生成刺激劑。

如本文中所使用，「G-CSF」係指顆粒球群落刺激因子。

如本文中所使用，「GM-CSG」係指顆粒球巨噬細胞群落刺激因子。

如本文中所使用，「Hb」係指血紅蛋白。

如本文中所使用，「HBML」係指蜜蜂蜂毒肽。

如本文中所使用，「HI-E」係指紅血球血液學改善。在某些實施例中，HI-E係如IWG所定義。在某些實施例中，HI-E係如經修飾之2006 IWG所定義。在某些實施例中，低輸注負擔患者之HI-E為患者中之血紅蛋白濃度增加至少1.5 g/dL持續至少8週。在某些實施例中，高輸注負擔患者之HI-E為在8週內RBC輸注之至少4個單位降低。

如本文中所使用，「HTB」係指高輸注負擔。在某些實施例中，

HTB個體在8週時程內接收大於或等於4個RBC單位。

如本文中所使用，「IgG」係指免疫球蛋白G。

如本文中所使用，「Int-1」係指中間物1之IPSS評分。參見章節7.8。

如本文中所使用，「IPSS」係指國際預後評分系統(International Prognostic Scoring System)。參見章節7.8。

如本文中所使用，「IWG」係指國際工作組(International Working Group)。參見例如Cheson等人 Blood. 2000 96:3671-3674。在某些實施例中，IWG係指經修飾之2006準則。參見例如Cheson等人, 2006, Blood, 108(2)。

如本文中所使用，「LTB」係指低輸注負擔。在某些實施例中，LTB個體在8週時程內接收小於4個RBC單位。

如本文中所使用，「MDS」係指骨髓發育不良症候群。

如本文中所使用，「PD」係指藥效學。

如本文中所使用，「PK」係指藥物動力學。

如本文中所使用，「qCT」係指定量電腦斷層攝影。

如本文中所使用，「RARS」係指具有環形含鐵胚血球之難治性貧血。

如本文中所使用，「RBC」係指紅血球。

如本文中所使用，「RBC-TI」係指紅血球輸注非依賴性。

如本文中所使用，「RCMD-RS」係指具有多譜系發育不良及環形含鐵胚血球之難治性細胞減少症。

如本文中所使用，「RS」係指環形含鐵胚血球。

如本文中所使用，「SC」係指皮下。

如本文中所使用，「SETBP1」係指SET結合蛋白質1。GenBank™寄存編號NM_015559.2及NM_001130110.1提供人類SETBP1之例示性核酸序列。GenBank™寄存編號NP_056374.2及NP_001123582.1提供人類SETBP1之例示性胺基酸序列。

如本文中所使用，「SF3B1」係指編接因子3B1。GenBank™寄存編號NM_012433.3、NM_001005523.2及NM_001308824.1提供人類SF3B1之例示性核酸序列。GenBank™寄存編號NP_001295753.1、NP_001005526.1及NP_036565.2提供人類SF3B1之例示性胺基酸序列。

如本文中所使用，「SPR」係指表面電漿子共振。

如本文中所使用，「SRSF2」係指富含絲胺酸/精胺酸之編接因子2。GenBank™寄存編號NM_003016.4及NM_001195427.1提供人類SRSF2之例示性核酸序列。GenBank™寄存編號NP_001182356.1及NP_003007.2提供人類SRSF2之例示性胺基酸序列。

如本文中所使用，「TET2」係指tet甲基胞嘧啶二加氧酶 2。GenBank™寄存編號NM_001127208.2及NM_017628.4提供人類TET2之例示性核酸序列。GenBank™寄存編號NP_001120680.1及NP_060098.3提供人類TET2之例示性胺基酸序列。

如本文中所使用，「TGF」係指轉型生長因子。

如本文中所使用，「TPA」係指組織纖維蛋白溶酶原活化因子。

7.3 治療方法

在某些實施例中，本文中提供治療患有血液病症病症之個體之

方法，其中該方法包含(a)測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比；及(b)若個體中至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或20%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球，則投與個體醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，若個體中至少15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球，則投與個體ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，在第一時間測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比。在某些實施例中，該第一時間為投與個體醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑之1天、2天、3天、4天、5天、6天、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、3個月、4個月、5個月或6個月內。在某些實施例中，血液相關病症為如章節7.8中所描述之血液相關病症。在某些實施例中，個體為如章節7.8中所描述之個體。在某些實施例中，個體之血紅蛋白含量小於11 g/dL。在某些實施例中，個體與參考群體相比具有降低之血紅蛋白含量。在某些實施例中，參考群體如章節7.10中所描述。在某些實施例中，個體患有貧血。在某些實施例中，個體為需要RBC輸注之個體。在某些實施例中，個體患有MDS。在某些實施例中，個體患有非增生性CMML。在某些實施例中，若個體中至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或20%紅血球母細胞成為環形含鐵胚血球，個體之一或多個血液學參數恢復正常的可能性提高。在某些實施例中，若個體中至少15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球，則個體之一或多個血液學參數恢復正常的可能性提高。在某些實施例中，血液學參數為血紅蛋白含量。在某些實施例中，血液學參數為血容比。在某些實施例中，血液學參數為紅血球

計數。在某些實施例中，血液學參數為個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比。在某些實施例中，恢復正常之血液學參數為參考群體中血液學參數之位準。在某些實施例中，參考群體為如章節7.10中所描述之參考群體。在某些實施例中，一或多個血液學參數之恢復正常之為與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之血液學參數相比改善至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。在某些實施例中，投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期為至少1天、2天、3天、4天、5天、6天、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、3個月、4個月、5個月或6個月。在某些實施例中，根據如章節7.10中所描述之分析測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比。在某些實施例中，根據如章節7.10中所描述之分析鑑別環形含鐵胚血球。在某些實施例中，根據普魯士藍染色鑑別環形含鐵胚血球。在某些實施例中，根據如章節7.10中所描述之分析鑑別紅血球母細胞。在某些實施例中，根據如章節7.10中所描述之分析測定個體中之血紅蛋白含量。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為如章節7.7中所描述之劑量。在某些實施例中，醫藥學有效劑量以如章節7.7中所描述之頻率投與。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為如章節7.7中所描述投與。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為如章節7.7中所描述之初始劑量。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為如章節7.7中所描述之已調整之劑量。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑以如章節7.11中所描述之組合物形式投與。在某些實施例中，以如章節7.7中所描述之頻率投與組合物。在某些實施例中，如章節7.7中所描述投

與組合物。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為如章節7.9中所描述之ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIA信號傳導抑制劑。在某些實施例中，每21天一次皮下投與ActRIIA信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIA-Fc，諸如ActRIIA-hFc (例如SEQ ID NO:7)。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIB信號傳導抑制劑。在某些實施例中，每21天一次皮下投與ActRIIB信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRII-Fc，諸如ActRIIB-hFc (例如SEQ ID NO:25)。

在某些實施例中，本文中提供治療個體中之血液相關病症之方法，其包含以醫藥學有效劑量及時間期投與個體II型活化素受體(ActRII)信號傳導抑制劑以達成(i)與個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之初始百分比相比，個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比長期降低；及(ii)與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之血紅蛋白含量相比，個體中之血紅蛋白含量長期增加；其中醫藥學有效劑量在0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間，且其中個體中至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，醫藥學有效劑量在0.75 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，血液相關病症為如章節7.8中所描述之血液相關病症。在某些實施例中，個體為如章節7.8中所描述之個體。在某些實施例中，個體中15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期為至少1

天、2天、3天、4天、5天、6天、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、3個月、4個月、5個月或6個月。在某些實施例中，個體為需要RBC輸注之個體。如本文中所使用，「環形含鐵胚血球」及「RS」可互換地使用。在某些實施例中，投與ActRII信號傳導抑制劑持續至多1、2、3、4、5或6個月。在某些實施例中，個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之初始百分比為投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比。在某些實施例中，投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期為至少1天、2天、3天、4天、5天、6天、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、3個月、4個月、5個月或6個月。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥時間期之後，個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比之長期降低保持至少3、4、5、6、12、18或24個月。在某些實施例中，在投與最後一次劑量之ActRII信號傳導抑制劑且不進一步投與ActRII信號傳導抑制劑之後，個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比之長期降低保持至少3、4、5、6、12、18或24個月。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之時間期之後，個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比之長期降低比個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之初始百分比低至少1.5、2.5、5.0、7.5或10.0倍持續至少6、12、18或24個月。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥時間期之後，個體中血紅蛋白含量之長期增加保持至少3、4、5、6、12、18或24個月。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之時間期之後，個體中血紅蛋白含量之長期增加為個體中

之血紅蛋白含量在約11 g/dL與18 g/dL之間持續至少3、4、5、6、12、18或24個月。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥時間期之後，個體在至少3、4、5、6、12、18或24個月內無需RBC輸注。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之後，該方法消除個體之RBC輸注需求保持至少3、4、5、6、12、18或24個月。在某些實施例中，個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比之長期降低為在投與最後一次劑量之ActRII信號傳導抑制劑且不進一步投與ActRII信號傳導抑制劑之後，比個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之初始百分比低至少1.5、2.5、5.0、7.5或10.0倍保持至少6、12、18或24個月。在某些實施例中，在投與最後一次劑量之ActRII信號傳導抑制劑且不進一步投與ActRII信號傳導抑制劑之後，個體中血紅蛋白含量之長期增加保持至少3、4、5、6、12、18或24個月。在某些實施例中，個體中之血紅蛋白含量之長期增加為在投與最後一次劑量之ActRII信號傳導抑制劑且不進一步投與ActRII信號傳導抑制劑之後，個體中之血紅蛋白含量在約11 g/dL與18 g/dL之間保持至少3、4、5、6、12、18或24個月。在某些實施例中，在投與最後一次劑量ActRII信號傳導抑制劑且不進一步投與ActRII信號傳導抑制劑之後，個體在至少3、4、5、6、12、18或24個月內無需RBC輸注。在某些實施例中，在投與最後一次劑量之ActRII信號傳導抑制劑且不進一步投與ActRII信號傳導抑制劑之後，該方法消除個體之RBC輸注需求保持至少3、4、5、6、12、18或24個月。

在某些實施例中，該方法進一步包含在ActRII信號傳導抑制劑投藥時間期之後6、12、18及/或24個月測定個體中成為環形含鐵胚血球

之紅血球母細胞之另一百分比。在某些實施例中，該方法進一步包含在ActRII信號傳導抑制劑投藥時間期之後6、12、18及/或24個月測定個體中之另一血紅蛋白含量。

在某些實施例中，根據如章節7.10中所描述之分析測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比。在某些實施例中，根據如章節7.10中所描述之分析鑑別環形含鐵胚血球。在某些實施例中，根據普魯士藍染色鑑別環形含鐵胚血球。在某些實施例中，根據如章節7.10中所描述之分析鑑別紅血球母細胞。在某些實施例中，根據如章節7.10中所描述之分析測定個體中之血紅蛋白含量。在某些實施例中，個體為如章節7.8中所描述之個體。在某些實施例中，個體中至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，個體為如章節7.8中所描述之個體。在某些實施例中，個體中至少15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，個體之血紅蛋白含量小於11 g/dL。在某些實施例中，個體與參考群體相比具有降低之血紅蛋白含量。在某些實施例中，參考群體如章節7.10中所描述。在某些實施例中，個體患有貧血。在某些實施例中，個體為需要RBC輸注之個體。在某些實施例中，個體患有MDS。在某些實施例中，個體患有非增生性CMML。

在某些實施例中，醫藥學有效劑量為如章節7.7中所描述之劑量。在某些實施例中，醫藥學有效劑量以如章節7.7中所描述之頻率投與。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為如章節7.7中所描述投與。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為初始劑量。在某些實施例

中，根據如章節7.4中所描述之方法投與初始劑量。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為已調整之劑量。在某些實施例中，根據如章節7.4中所描述之方法投與已調整之劑量。

在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑以如章節7.11中所描述之組合物形式投與。在某些實施例中，以如章節7.7中所描述之頻率投與組合物。在某些實施例中，如章節7.7中所描述投與組合物。

在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為如章節7.9中所描述之ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIA信號傳導抑制劑。在某些實施例中，每21天一次皮下投與ActRIIA信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIA-Fc，諸如ActRIIA-hFc (例如SEQ ID NO:7)。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIB信號傳導抑制劑。在某些實施例中，每21天一次皮下投與ActRIIB信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRII-Fc，諸如ActRIIB-hFc (例如SEQ ID NO:25)。

在某些實施例中，本文中提供治療個體中之血液相關病症之方法，其中該方法包含：(a)測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比；及(b)(i)若個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比為至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%，則在短時間期內投與個體0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間的醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑，或(ii)若個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比小於10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或1%，則在長時間期內投與個體

0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間的醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，血液相關病症為如章節7.8中所描述之血液相關病症。在某些實施例中，個體為如章節7.8中所描述之個體。在某些實施例中，醫藥學有效劑量在0.75 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，個體為需要RBC輸注之個體。在某些實施例中，個體之ActRII信號傳導抑制劑投藥之短時間期為1、2、3、4或5個月。在某些實施例中，個體之ActRII信號傳導抑制劑投藥之長時間期為至少6、12、18或24個月。在一個特定實施例中，在短時間期投藥之後，在ActRII信號傳導抑制劑之最後一次投藥之後至少0、3、4、5、6、12、28、24或48個月測試環形含鐵胚血球之含量。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為如章節7.9中所描述之ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIA信號傳導抑制劑。在某些實施例中，每21天一次皮下投與ActRIIA信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIA-Fc，諸如ActRIIA-hFc (例如SEQ ID NO:7)。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIB信號傳導抑制劑。在某些實施例中，每21天一次皮下投與ActRIIB信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRII-Fc，諸如ActRIIB-hFc (例如SEQ ID NO:25)。

在某些實施例中，該方法進一步包含在ActRII信號傳導抑制劑投藥時間期之後6、12、18及/或24個月測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之另一百分比。在某些實施例中，該方法進一步包含在ActRII信號傳導抑制劑投藥時間期之後6、12、18及/或24個月測定個體中之另一血紅蛋白含量。

在某些實施例中，該方法進一步包含在ActRII信號傳導抑制劑投藥時間期之後6、12、18及/或24個月測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之另一百分比。在某些實施例中，該方法進一步包含在ActRII信號傳導抑制劑投藥時間期之後6、12、18及/或24個月測定個體中之血紅蛋白含量。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之後，該方法消除個體之紅血球輸注需求保持至少3、4、5、6、12、18或24個月。在某些實施例中，在投與最後一次劑量之ActRII信號傳導抑制劑且不進一步投與ActRII信號傳導抑制劑之後，該方法消除個體之紅血球輸注需求保持至少3、4、5、6、12、18或24個月。

在某些實施例中，根據如章節7.10中所描述之分析測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比。在某些實施例中，根據如章節7.10中所描述之分析鑑別環形含鐵胚血球。在某些實施例中，根據普魯士藍染色鑑別環形含鐵胚血球。在某些實施例中，根據如章節7.10中所描述之分析鑑別紅血球母細胞。在某些實施例中，根據如章節7.10中所描述之分析測定個體中之血紅蛋白含量。在某些實施例中，根據如章節7.10中所描述之分析測定個體中之血紅蛋白含量。

在某些實施例中，個體為如章節7.8中所描述之個體。在某些實施例中，個體中至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，個體中至少15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，個體之血紅蛋白含量小於11 g/dL。在某些實施例中，個體與參考群體相比具有降低之血紅蛋白含量。在某些實施例中，參考群體如章節7.10中所描述。在某些實施例中，個體患有貧血。在某

些實施例中，個體為需要RBC輸注之個體。在某些實施例中，個體患有MDS。在某些實施例中，個體患有非增生性CMML。

在某些實施例中，醫藥學有效劑量為如章節7.7中所描述之劑量。在某些實施例中，醫藥學有效劑量以如章節7.7中所描述之頻率投與。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為如章節7.7中所描述投與。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為初始劑量。在某些實施例中，根據如章節7.4中所描述之方法投與初始劑量。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為已調整之劑量。在某些實施例中，根據如章節7.4中所描述之方法投與已調整之劑量。

在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑以如章節7.11中所描述之組合物形式投與。在某些實施例中，以如章節7.7中所描述之頻率投與組合物。在某些實施例中，如章節7.7中所描述投與組合物。

在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為如章節7.9中所描述之ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIA信號傳導抑制劑。在某些實施例中，每21天一次皮下投與ActRIIA信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIA-Fc，諸如ActRIIA-hFc (例如SEQ ID NO:7)。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIB信號傳導抑制劑。在某些實施例中，每21天一次皮下投與ActRIIB信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRII-Fc，諸如ActRIIB-hFc (例如SEQ ID NO:25)。

在某些實施例中，本文中提供治療個體中之血液相關病症之方法，其包含投與個體醫藥學有效劑量之II型活化素受體(ActRII)信號

傳導抑制劑，且其中該個體表現包含一或多種突變之SF3B1。在某些實施例中，該一或多種突變在非編碼區中。在某些實施例中，該一或多種突變在編碼區中。在某些實施例中，SF3B1為SF3B1蛋白質。在某些實施例中，SF3B1為編碼SF3B1之基因。在某些實施例中，個體為如章節7.8中所描述之個體。在某些實施例中，血液相關病症為如章節7.8中所描述之血液相關病症。在某些實施例中，SF3B1中之一或多種突變如章節7.8中所描述。在某些實施例中，個體中至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，個體中至少15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，個體之血紅蛋白含量小於11 g/dL。在某些實施例中，個體與參考群體相比具有降低之血紅蛋白含量。在某些實施例中，參考群體如章節7.10中所描述。在某些實施例中，個體患有貧血。在某些實施例中，個體為需要RBC輸注之個體。在某些實施例中，個體患有MDS。在某些實施例中，個體患有非增生性CMML。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體患有血小板減少。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為如章節7.7中所描述之劑量。在某些實施例中，ActR11信號傳導抑制劑之醫藥學有效劑量在0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，ActR11信號傳導抑制劑之醫藥學有效劑量在0.75 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，醫藥學有效劑量以如章節7.7中所描述之頻率投與。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為如章節7.7中所描述投與。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為初始劑量。在某些實施例中，根據如章節7.4中所描述之方法投與初始劑量。在某些實施例中，醫藥學有效

劑量為已調整之劑量。在某些實施例中，根據如章節7.4中所描述之方法投與已調整之劑量。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑以如章節7.11中所描述之組合物形式投與。在某些實施例中，以如章節7.7中所描述之頻率投與組合物。在某些實施例中，如章節7.7中所描述投與組合物。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為如章節7.9中所描述之ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIA信號傳導抑制劑。在某些實施例中，每21天一次皮下投與ActRIIA信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIA-Fc，諸如ActRIIA-hFc (例如SEQ ID NO:7)。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIB信號傳導抑制劑。在某些實施例中，每21天一次皮下投與ActRIIB信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRII-Fc，諸如ActRIIB-hFc (例如SEQ ID NO:25)。需要增加嗜中性白血球含量之個體可為患有環形含鐵胚血球、貧血、需要RBC輸注之貧血、非增生性CMML及/或MDS之個體。

7.3.1 遺傳標記

在某些實施例中，本文中提供治療個體中之血液相關病症之方法，其包含投與個體醫藥學有效劑量之II型活化素受體(ActRII)信號傳導抑制劑，且其中該個體表現包含一或多種突變之SF3B1。在某些實施例中，該一或多種突變在非編碼區中。在某些實施例中，該一或多種突變在編碼區中。在某些實施例中，SF3B1為SF3B1蛋白質。在某些實施例中，SF3B1為編碼SF3B1之基因。在某些實施例中，個體為如章節7.8中所描述之個體。在某些實施例中，血液相關病症為如

章節7.8中所描述之血液相關病症。在某些實施例中，SF3B1中之一或多種突變如章節7.8中所描述。在某些實施例中，個體中至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，個體中至少15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，個體之血紅蛋白含量小於11 g/dL。在某些實施例中，個體與參考群體相比具有降低之血紅蛋白含量。在某些實施例中，參考群體如章節7.10中所描述。在某些實施例中，個體患有貧血。在某些實施例中，個體為需要RBC輸注之個體。在某些實施例中，個體患有MDS。在某些實施例中，個體患有非增生性CMML。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體患有血小板減少。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為如章節7.7中所描述之劑量。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之醫藥學有效劑量在0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之醫藥學有效劑量在0.75 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，醫藥學有效劑量以如章節7.7中所描述之頻率投與。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為如章節7.7中所描述投與。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為初始劑量。在某些實施例中，根據如章節7.4中所描述之方法投與初始劑量。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為已調整之劑量。在某些實施例中，根據如章節7.4中所描述之方法投與已調整之劑量。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑以如章節7.11中所描述之組合物形式投與。在某些實施例中，以如章節7.7中所描述之頻率投與組合物。在某些實施例中，如章節7.7中所描述投與組合物。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為如章節7.9

中所描述之ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIA信號傳導抑制劑。在某些實施例中，每21天一次皮下投與ActRIIA信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIA-Fc，諸如ActRIIA-hFc (例如SEQ ID NO:7)。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIB信號傳導抑制劑。在某些實施例中，每21天一次皮下投與ActRIIB信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRII-Fc，諸如ActRIIB-hFc (例如SEQ ID NO:25)。需要增加嗜中性白血球含量之個體可為患有環形含鐵胚血球、貧血、需要RBC輸注之貧血、非增生性CMML及/或MDS之個體。

7.4 經調節之給藥方法

在某些實施例中，本文中提供治療個體中之血液相關病症之方法，其中該方法包含：(a)測定個體中至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球；(b)投與個體0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間的初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑；(c)在一段時間之後，測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第二百分比；及(d)視情況投與個體已調整劑量之ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，血液相關病症為如章節7.8中所描述之血液相關病症。在某些實施例中，個體為如章節7.8中所描述之個體。在某些實施例中，初始劑量在0.75 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，個體為需要RBC輸注之個體。在某些實施例中，在測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第一百分比之後立即或在至多1天、2天、3天、4天、5天、6天或1

週、2週、1個月、2個月、3個月、4個月、5個月、6個月、7個月、8個月、9個月、10個月、11個月或12個月內投與個體初始劑量。在某些實施例中，投與個體初始劑量與測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第二百分比之間的時間期為1天、2天、3天、4天、5天、6天或1週、2週、1個月、2個月、3個月、4個月、5個月、6個月、7個月、8個月、9個月、10個月、11個月或12個月。在某些實施例中，在測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第二百分比之後立即或在其至多1天、2天、3天、4天、5天、6天或1週、2週、1個月、2個月、3個月、4個月、5個月、6個月、7個月、8個月、9個月、10個月、11個月或12個月內投與個體已調整之劑量。在某些實施例中，若個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第二百分比為至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%，則ActR11信號傳導抑制劑之已調整之劑量小於初始劑量。在某些實施例中，個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第二百分比為至少15%。在某些實施例中，若個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之第二百分比小於10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或1%，則不投與個體已調整之劑量。在某些實施例中，在ActR11信號傳導抑制劑投藥之後，該方法消除個體之紅血球輸注需求保持至少3、4、5、6、12、18或24個月。

在某些實施例中，個體為如章節7.8中所描述之個體。在某些實施例中，個體中至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，個體中至少15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某

些實施例中，個體之血紅蛋白含量小於11 g/dL。在某些實施例中，個體與參考群體相比具有降低之血紅蛋白含量。在某些實施例中，參考群體如章節7.10中所描述。在某些實施例中，個體患有貧血。在某些實施例中，個體為需要RBC輸注之個體。在某些實施例中，個體患有MDS。在某些實施例中，個體患有非增生性CMML。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為如章節7.7中所描述之初始劑量。在某些實施例中，劑量為如章節7.7中所描述之已調整之劑量。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為已調整之劑量。在某些實施例中，醫藥學有效劑量以如章節7.7中所描述之頻率投與。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為如章節7.7中所描述投與。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑以如章節7.11中所描述之組合物形式投與。在某些實施例中，以如章節7.7中所描述之頻率投與組合物。在某些實施例中，如章節7.7中所描述投與組合物。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為如章節7.9中所描述之ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIA信號傳導抑制劑。在某些實施例中，每21天一次皮下投與ActRIIA信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIA-Fc，諸如ActRIIA-hFc（例如SEQ ID NO:7）。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIB信號傳導抑制劑。在某些實施例中，每21天一次皮下投與ActRIIB信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRII-Fc，諸如ActRIIB-hFc（例如SEQ ID NO:25）。

在某些實施例中，本文中提供促進患有血液相關病症之個體中之紅血球生成之方法，該方法包含：(a)測定個體中成為環形含鐵胚

血球之紅血球母細胞之百分比；(b)投與個體醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑持續第一時間期；及(c)在第一時間期之後，若步驟(a)中個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比高於11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或20%，則降低投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量、降低個體之ActRII信號傳導抑制劑投藥頻率或中斷ActRII信號傳導抑制劑投藥。在某些實施例中，該方法進一步包含(i)在第一時間期期間監測個體中之血液學參數；及(ii)若個體中之血液學參數恢復正常，例如若個體中之血液學參數至少為參考群體中之血液學參數之位準，則降低(例如降低劑量或降低頻率)或中斷個體之ActRII信號傳導抑制劑投藥。在某些實施例中，參考群體為如章節7.10中所描述之參考群體。在某些實施例中，該方法進一步包含(i)在第一時間期期間監測個體中之血液學參數；及(ii)若個體中之血液學參數恢復正常，例如若個體中之血液學參數與第二時間期之個體中之血液學參數相比改善至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%，則降低(例如降低劑量或降低頻率)或中斷個體之ActRII信號傳導抑制劑投藥，其中該第二時間期為在投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期。在某些實施例中，該第一時間期為至少1個月、2個月、3個月、4個月、5個月、6個月、7個月、8個月、9個月、10個月、11個月或1年。在某些實施例中，該第二時間期為1天、2天、3天、4天、5天、6天、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、3個月、4個月、5個月或6個月。在某些實施例中，血液學參數為血紅蛋白含量。在某些實施例中，血液學參數為血容比。在某些實施例中，血液學參

數為紅血球計數。在某些實施例中，血液學參數為個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之降低之劑量為如章節7.7中所描述之劑量。在某些實施例中，降低之投與ActRII信號傳導抑制劑之頻率為如章節7.7中所描述之頻率。在某些實施例中，血液相關病症為如章節7.8中所描述之血液相關病症。在某些實施例中，個體為如章節7.8中所描述之個體。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為如章節7.7中所描述之初始劑量。在某些實施例中，劑量為如章節7.7中所描述之已調整之劑量。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為已調整之劑量。在某些實施例中，醫藥學有效劑量以如章節7.7中所描述之頻率投與。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為如章節7.7中所描述投與。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑以如章節7.11中所描述之組合物形式投與。在某些實施例中，以如章節7.7中所描述之頻率投與組合物。在某些實施例中，如章節7.7中所描述投與組合物。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為如章節7.9中所描述之ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIA信號傳導抑制劑。在某些實施例中，每21天一次皮下投與ActRIIA信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIA-Fc，諸如ActRIIA-hFc（例如SEQ ID NO:7）。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIB信號傳導抑制劑。在某些實施例中，每21天一次皮下投與ActRIIB信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRII-Fc，諸如ActRIIB-hFc（例如SEQ ID NO:25）。

7.5 增加嗜中性白血球含量之方法

在某些實施例中，本文中提供用於增加需要增加嗜中性白血球含量之個體中之嗜中性白血球含量的方法，其包含投與個體醫藥學有效劑量之II型活化素受體(ActRII)信號傳導抑制劑。在某些實施例中，嗜中性白血球含量為絕對嗜中性白血球計數。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之嗜中性白血球含量相比，個體中之嗜中性白血球含量增加至少 0.1×10^9 個/公升、 0.5×10^9 個/公升、 1.0×10^9 個/公升、 5×10^9 個/公升、 1.0×10^{10} 個/公升、 5×10^{10} 個/公升或 1.0×10^{11} 個。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之嗜中性白血球含量相比，個體中之嗜中性白血球含量增加至少1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍或10倍。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之嗜中性白血球含量相比，個體中之嗜中性白血球含量增加至多1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍或10倍。在某些實施例中，在投與個體醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑之後，個體中之嗜中性白血球含量在至少1、2、3、4、5或6個月內增加。在某些實施例中，在終止投與個體醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑之後，個體中之嗜中性白血球含量在至少1、2、3、4、5或6個月內增加。亦參見章節7.4。在某些實施例中，投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期為至少1天、2天、3天、4天、5天、6天、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、3個月、4個月、5個月或6個月。在某些實施例中，如章節

7.10中所描述量測嗜中性白血球含量。在某些實施例中，如章節7.10中所描述量測絕對嗜中性白血球計數。在某些實施例中，個體為如章節7.8中所描述之個體。在某些實施例中，個體中至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，個體中至少15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，個體之血紅蛋白含量小於11 g/dL。在某些實施例中，個體與參考群體相比具有降低之血紅蛋白含量。在某些實施例中，參考群體如章節7.10中所描述。在某些實施例中，個體患有貧血。在某些實施例中，個體為需要RBC輸注之個體。在某些實施例中，個體患有MDS。在某些實施例中，個體患有非增生性CMML。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體患有血小板減少。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為如章節7.7中所描述之劑量。在某些實施例中，醫藥學有效劑量以如章節7.7中所描述之頻率投與。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為如章節7.7中所描述投與。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為初始劑量。在某些實施例中，根據如章節7.4中所描述之方法投與初始劑量。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為已調整之劑量。在某些實施例中，根據如章節7.4中所描述之方法投與已調整之劑量。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑以如章節7.11中所描述之組合物形式投與。在某些實施例中，以如章節7.7中所描述之頻率投與組合物。在某些實施例中，如章節7.7中所描述投與組合物。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為如章節7.9中所描述之ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIA信號傳導抑制劑。在某

些實施例中，每21天一次皮下投與ActRIIA信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIA-Fc，諸如ActRIIA-hFc (例如SEQ ID NO:7)。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIB信號傳導抑制劑。在某些實施例中，每21天一次皮下投與ActRIIB信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRII-Fc，諸如ActRIIB-hFc (例如SEQ ID NO:25)。需要增加嗜中性白血球含量之個體可為患有環形含鐵胚血球、貧血、需要RBC輸注之貧血、非增生性CMML及/或MDS之個體。

7.6 增加血小板含量之方法

在某些實施例中，本文中提供用於增加需要增加血小板含量之個體中之血小板含量的方法，其包含投與個體醫藥學有效劑量之II型活化素受體(ActRII)信號傳導抑制劑。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前時間期個體中之血小板含量相比，個體中之血小板含量增加至少 1×10^{10} 個/公升、 3×10^{10} 個/公升、 5×10^{10} 個/公升、 1×10^{11} 個/公升、 5×10^{11} 個/公升或至少 1×10^{12} 個/公升。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之血小板含量相比，個體中之血小板含量增加至少1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍或10倍。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之血小板含量相比，個體中之血小板含量增加至多1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍或10倍。在某些實施例中，投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑

制劑之前的時間期為至少1天、2天、3天、4天、5天、6天、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、3個月、4個月、5個月或6個月。在某些實施例中，在投與個體醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑之後，個體中之血小板含量在至少1、2、3、4、5或6個月內增加。在某些實施例中，在終止投與個體醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑之後，個體中之嗜中性白血球含量至少在1、2、3、4、5或6個月內增加。亦參見章節7.4。在某些實施例中，如章節7.10中所描述量測血小板含量。

在某些實施例中，個體為如章節7.8中所描述之個體。在某些實施例中，個體中至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，個體中至少15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，個體之血紅蛋白含量小於11 g/dL。在某些實施例中，個體與參考群體相比具有降低之血紅蛋白含量。在某些實施例中，參考群體如章節7.10中所描述。在某些實施例中，個體患有貧血。在某些實施例中，個體為需要RBC輸注之個體。在某些實施例中，個體患有MDS。在某些實施例中，個體患有非增生性CMML。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體患有嗜中性白細胞減少症。

在某些實施例中，醫藥學有效劑量為如章節7.7中所描述之劑量。在某些實施例中，醫藥學有效劑量以如章節7.7中所描述之頻率投與。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為如章節7.7中所描述投與。在某些實施例中，醫藥學有效劑量為初始劑量。在某些實施例中，根據如章節7.4中所描述之方法投與初始劑量。在某些實施例

中，醫藥學有效劑量為已調整之劑量。在某些實施例中，根據如章節7.4中所描述之方法投與已調整之劑量。

在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑以如章節7.11中所描述之組合物形式投與。在某些實施例中，以如章節7.7中所描述之頻率投與組合物。在某些實施例中，如章節7.7中所描述投與組合物。

在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為如章節7.9中所描述之ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIA信號傳導抑制劑。在某些實施例中，每21天一次皮下投與ActRIIA信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIA-Fc，諸如ActRIIA-hFc (例如SEQ ID NO:7)。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIB信號傳導抑制劑。在某些實施例中，每21天一次皮下投與ActRIIB信號傳導抑制劑。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRII-Fc，諸如ActRIIB-hFc (例如SEQ ID NO:25)。

需要增加嗜中性白血球含量之個體可為患有環形含鐵胚血球、貧血、需要RBC輸注之貧血、非增生性CMML及/或MDS之個體。

7.7 劑量

本文中提供用於治療個體中之血液相關病症(例如貧血、需要RBC輸注之貧血、MDS及/或非增生性CMML)之方法，其中該方法包含投與需要治療之個體醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑(參見章節7.9)。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為如章節7.9.1中所闡述之ActRIIA信號傳導抑制劑。在其他實施例中，ActRII抑制劑為如章節7.9.2中所闡述之ActRIIB信號傳導抑制劑。在某些實施例

中，ActRII信號傳導抑制劑為ActRIIA信號傳導抑制劑與ActRIIB信號傳導抑制劑之組合。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為SEQ ID NO:7。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為SEQ ID NO:25。

本文中提供之劑量可用於治療血液相關疾病，諸如貧血、需要RBC輸注之貧血、MDS及/或非增生性CMML。在某些實施例中，劑量為醫藥學有效劑量。

在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之醫藥學有效劑量為足以改善貧血之一或多種症狀之劑量。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之醫藥學有效劑量為足以預防貧血之至少一種症狀惡化之劑量。貧血之非限制性實例包括疲乏、活力喪失、心跳快速、呼吸短促、頭痛、注意力難以集中、眩暈、皮膚蒼白、腿部抽筋及失眠。

在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之醫藥學有效劑量為足以改善非增生性CMML之一或多種症狀之劑量。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之醫藥學有效劑量為足以預防非增生性CMML之一或多種症狀惡化之劑量。CMML之症狀之非限制性實例包括脾腫大、肝腫大、貧血、疲乏、呼吸短促、白細胞減少症、頻繁感染、血小板減少、易於挫傷或出血、發燒、體重減輕、皮膚蒼白及食慾不振。

在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之醫藥學有效劑量為足以改善MDS之一或多種症狀之劑量。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之醫藥學有效劑量為足以改善MDS之一或多種症狀惡化之劑量。MDS之症狀之非限制性實例包括貧血、呼吸短促、疲乏、皮膚蒼

白、白細胞減少症、頻繁感染、嗜中性白細胞減少症、血小板減少、易於挫傷或出血、體重減輕、發燒、食慾不振、虛弱及骨痛。

在某些實施例中，以足以達到0.2微克/公斤或0.2微克/公斤以上之血清濃度，例如1微克/公斤或2微克/公斤或2微克/公斤以上之血清含量的間隔及投藥量投與ActRII信號傳導抑制劑。給藥方案可經設計以達成0.2與15微克/公斤之間，且視情況1與5微克/公斤之間的血清濃度。在人類中，可用0.1 mg/kg或0.1 mg/kg以上之單一劑量達到0.2微克/公斤之血清含量且可用0.3 mg/kg或0.3 mg/kg以上之單一劑量達到1微克/公斤之血清含量。所觀測之分子之血清半衰期為約20與30天之間，實質上比大多數Fc融合蛋白質長，且因此可例如依每週或每兩週給藥之基礎投與0.2-0.4 mg/kg，或可拉長投藥間隔時間投與更高劑量，以達到持續有效血清含量。舉例而言，1至3 mg/kg之劑量可在每月或每兩月基礎上使用，且對骨骼之影響可充分持久使得僅每3、4、5、6、9、12或更多個月一次需要給藥。ActRII信號傳導抑制劑之血清含量可藉由熟習此項技術者已知之任何方式量測。舉例而言，針對ActRII信號傳導抑制劑之抗體可用於使用例如ELISA測定ActRII信號傳導抑制劑之血清含量。在一個特定實施例中，本文中提供之方法亦實現對骨密度及強度之顯著作用。

在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之劑量為約0.1 mg/kg、約0.3 mg/kg、約0.5 mg/kg、0.75 mg/kg、約1.0 mg/kg、約1.25 mg/kg、約1.5 mg/kg、約1.75 mg/kg、約2.0 mg/kg或約2.25 mg/kg。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之劑量在0.1與2.25 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之劑量在0.1 mg/kg與1

mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之劑量在0.3 mg/kg與1.25 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之劑量在0.5 mg/kg與1.5 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之劑量在0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之劑量在0.75 mg/kg與1.0 mg/kg之間、在1.0 mg/kg與1.25 mg/kg之間、在1.25 mg/kg與1.5 mg/kg之間、在1.5 mg/kg與1.75 mg/kg之間或在1.75 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之劑量為醫藥學有效劑量。當結合本文提供之劑量(例如ActRII信號傳導抑制劑之劑量或第二活性劑之劑量)使用時，字「約」係指在參考數字之1%、5%或10%內之任何數字。

在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之劑量為醫藥學有效劑量。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之醫藥學有效劑量為約0.1 mg/kg、約0.3 mg/kg、約0.5 mg/kg、0.75 mg/kg、約1.0 mg/kg、約1.25 mg/kg、約1.5 mg/kg、約1.75 mg/kg、約2.0 mg/kg或約2.25 mg/kg。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之醫藥學有效劑量在0.1 mg/kg與2.25 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之醫藥學有效劑量在0.1 mg/kg與1 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之醫藥學有效劑量在0.3 mg/kg與1.25 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之醫藥學有效劑量在0.5 mg/kg與1.5 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之醫藥學有效劑量在0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之醫藥學有效劑量在0.75 mg/kg與1.0 mg/kg之間、在1.0 mg/kg與1.25 mg/kg之間、在1.25 mg/kg與1.5 mg/kg

之間、在1.5 mg/kg與1.75 mg/kg之間或在1.75 mg/kg與2.0 mg/kg之間。

在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之劑量為初始劑量。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之初始劑量為約0.1 mg/kg、約0.3 mg/kg、約0.5 mg/kg、0.75 mg/kg、約1.0 mg/kg、約1.25 mg/kg、約1.5 mg/kg、約1.75 mg/kg、約2.0 mg/kg或約2.25 mg/kg。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之初始劑量在0.1 mg/kg與2.25 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之初始劑量在0.1 mg/kg與1 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之初始劑量在0.3 mg/kg與1.25 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之初始劑量在0.5 mg/kg與1.5 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之初始劑量在0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之初始劑量在0.75 mg/kg與1.0 mg/kg之間、在1.0 mg/kg與1.25 mg/kg之間、在1.25 mg/kg與1.5 mg/kg之間、在1.5 mg/kg與1.75 mg/kg之間或在1.75 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之初始劑量(i)每28天投與一次；或(ii)每42天投與一次。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之初始劑量每三週投與一次。

在某些實施例中，劑量為已調整之劑量。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之已調整之劑量為約0.1 mg/kg、約0.3 mg/kg、約0.5 mg/kg、0.75 mg/kg、約1.0 mg/kg、約1.25 mg/kg、約1.5 mg/kg、約1.75 mg/kg、約2.0 mg/kg或約2.25 mg/kg。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之已調整之劑量在0.1 mg/kg與2.25 mg/kg

之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之已調整之劑量在0.1 mg/kg與1 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之已調整之劑量在0.3 mg/kg與1.25 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之已調整之劑量在0.5 mg/kg與1.5 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之已調整之劑量在0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之已調整之劑量在0.75 mg/kg與1.0 mg/kg之間、在1.0 mg/kg與1.25 mg/kg之間、在1.25 mg/kg與1.5 mg/kg之間、在1.5 mg/kg與1.75 mg/kg之間或在1.75 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之已調整之劑量(i)每28天投與一次；或(ii)每42天投與一次。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之已調整之劑量每三週投與一次。

在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之已調整之劑量大於初始劑量。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之已調整之劑量比ActRII信號傳導抑制劑之初始劑量大約2.5 mg、約5 mg、約10 mg、約15mg、約20 mg或約35 mg，或比ActRII信號傳導抑制劑之初始劑量大約0.05 mg/kg、約0.1 mg/kg、約0.15 mg/kg、約0.25 mg/kg、約0.3 mg/kg、約0.35 mg/kg、約0.4 mg/kg或約0.5 mg/kg。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之已調整之劑量比ActRII信號傳導抑制劑之初始劑量更頻繁地投與。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之已調整之劑量每5、10、15、20、25、28、30、35或40天投與。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之已調整之劑量每1或2週投與。

在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之已調整之劑量小於初始劑量。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之已調整之劑量比ActRII信號傳導抑制劑之初始劑量小約2.5 mg、約5 mg、約10 mg、約15mg、約20 mg或約35 mg，或比ActRII信號傳導抑制劑之初始劑量小約0.05 mg/kg、約0.1 mg/kg、約0.15 mg/kg、約0.25 mg/kg、約0.3 mg/kg、約0.35 mg/kg、約0.4 mg/kg或約0.5 mg/kg。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之已調整之劑量比ActRII信號傳導抑制劑之初始劑量較不頻繁地投與。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之已調整之劑量每30、35、40、42、50、60、70、80或90天投與。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之已調整之劑量每4、5、6、7或8週投與。

在某些實施例中，經由注射投與ActRII信號傳導抑制劑之劑量。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之劑量每28天投與一次或每42天投與一次。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之劑量每21天投與一次。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為SEQ ID NO:7。

在某些實施例中，經由注射投與ActRII信號傳導抑制劑之劑量。在某些實施例中，皮下投與ActRII信號傳導抑制劑之劑量。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑之劑量每3週投與一次。在某些實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為SEQ ID NO:25。

在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比相比，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量

足以使個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比降低至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或至少100%。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比相比，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比降低至多5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或至多100%。在某些實施例中，投與個體ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期為至少1天、2天、3天、4天、5天、6天、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、3個月、4個月、5個月或6個月。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之後，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以在至少3、4、5、6、12、18、24或48個月內降低個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之後，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以永久性降低個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比。在某些實施例中，劑量在0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，劑量在0.75 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，根據如章節7.10中所描述之分析測定個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之環形含鐵胚血球含量相比，根據本文所提供

之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使個體中之環形含鐵胚血球含量降低至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或至少100%。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之環形含鐵胚血球含量相比，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使個體中之環形含鐵胚血球含量降低至多5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或至多100%。在某些實施例中，投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期為至少1天、2天、3天、4天、5天、6天、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、3個月、4個月、5個月或6個月。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之後，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以在至少3、4、5、6、12、18、24或48個月內降低個體中之環形含鐵胚血球含量。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之後，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以永久性降低個體中之環形含鐵胚血球含量。在某些實施例中，劑量在0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，劑量在0.75 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，根據如章節7.10中所描述之分析測定個體中之環形含鐵胚血球含量。

在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之血紅蛋白含量相比，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使個體中之血紅蛋白含量

增加至少 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、150%、200%、300%、400%或至少 500%。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之 ActRII 信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之血紅蛋白含量相比，根據本文所提供之方法投與個體之 ActRII 信號傳導抑制劑之劑量足以使個體中之血紅蛋白含量增加至多 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、150%、200%、300%、400%或至多 500%。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之 ActRII 信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之血紅蛋白含量相比，根據本文所提供之方法投與個體之 ActRII 信號傳導抑制劑之劑量足以使個體中之血紅蛋白含量增加至少 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%或至少 60%。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之 ActRII 信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之血紅蛋白含量相比，根據本文所提供之方法投與個體之 ActRII 信號傳導抑制劑之劑量足以使個體中之血紅蛋白含量增加至多 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%或至多 60%。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之 ActRII 信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之血紅蛋白含量相比，根據本文所提供之方法投與個體之 ActRII 信號傳導抑制劑之劑量足以使血紅蛋白含量增加至少 0.5 g/dL、1.0 g/dL、1.1 g/dL、1.3 g/dL、1.5 g/dL、1.8 g/dL、2.0 g/dL、2.2 g/dL、2.4 g/dL、2.6 g/dL、2.8 g/dL、3.0 g/dL、3.2 g/dL、3.4 g/dL、3.6 g/dL、3.8 g/dL、4.0 g/dL、4.2 g/dL、4.4 g/dL 或至少 4.6

g/dL。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之血紅蛋白含量相比，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使血紅蛋白含量增加至多0.5 g/dL、1.0 g/dL、1.1 g/dL、1.3 g/dL、1.5 g/dL、1.8 g/dL、2.0 g/dL、2.2 g/dL、2.4 g/dL、2.6 g/dL、2.8 g/dL、3.0 g/dL、3.2 g/dL、3.4 g/dL、3.6 g/dL、3.8 g/dL、4.0 g/dL、4.2 g/dL、4.4 g/dL或至多4.6 g/dL。在某些實施例中，投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期為至少1天、2天、3天、4天、5天、6天、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、3個月、4個月、5個月或6個月。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之後，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以在至少3、4、5、6、12、18、24或48個月內增加個體中之血紅蛋白含量。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之後，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以永久性增加個體中之血紅蛋白含量。在某些實施例中，劑量在0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，劑量在0.75 mg/kg與2.0 mg/kg之間。

在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之網狀紅血球含量相比，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使個體中之網狀紅血球含量增加至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之網狀紅血球含量相比，根據本文所提供之

方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使個體中之網狀紅血球含量增加至多5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或至多100%、150%、200%、300%、400%或至多500%。在某些實施例中，投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期為至少1天、2天、3天、4天、5天、6天、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、3個月、4個月、5個月或6個月。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之後，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以在至少3、4、5、6、12、18、24或48個月內增加個體中之網狀紅血球含量。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之後，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以永久性增加個體中之網狀紅血球含量。在某些實施例中，劑量在0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，劑量在0.75 mg/kg與2.0 mg/kg之間。

在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期之紅血球輸注依賴性相比，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以降低個體中之紅血球輸注依賴性。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之紅血球輸注頻率相比，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以降低個體中之紅血球輸注頻率。在某些實施例中，投與根據本文所提供之方法治療之個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使紅血球輸注降低至少30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或至少100%。在某些實施例中，

投與根據本文所提供之方法治療之個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使紅血球輸注降低至多30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或至多100%。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中輸注之紅血球單位相比，投與根據本文所提供之方法治療之個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使個體中輸注之紅血球單位降低至少4、5、6、7、8、9、11、12或13個單位。在某些實施例中，投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期為至少1天、2天、3天、4天、5天、6天、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、3個月、4個月、5個月或6個月。在某些實施例中，投與根據本文所提供之方法治療之個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使紅血球輸注頻率降低至少30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或至少100%。在某些實施例中，投與根據本文所提供之方法治療之個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使紅血球輸注頻率降低至多30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之後，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以在至少3、4、5、6、12、18、24或48個月內消除個體之紅血球輸注需求。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之後，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以永久性消除個體中之紅血球輸注需求。在某些實施例中，劑量在0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，劑量在0.75 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，一個RBC單位係指約150 mL、200 mL、250 mL、300 mL、350 mL、100-200 mL、150-250 mL、200-300 mL或250

至350 mL RBC。

在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之輸注負擔相比，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使個體中之輸注負擔降低至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或至少100%。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之輸注負擔相比，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使個體中之輸注負擔降低至多5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或至多100%。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之輸注負擔相比，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使個體中之輸注負擔降低至少33%。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之輸注負擔相比，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使個體中之輸注負擔降低至少50%。在某些實施例中，投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期為至少1天、2天、3天、4天、5天、6天、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、3個月、4個月、5個月或6個月。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之後，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以在至少3、4、5、6、12、18、24或48個月內降低個體中之輸注負擔。在某些

實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之後，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以永久性降低個體中之輸注負擔。在某些實施例中，劑量在0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，劑量在0.75 mg/kg與2.0 mg/kg之間。

在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之鐵螯合療法(例如劑量或頻率)相比，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使個體中之鐵螯合療法(例如劑量或頻率)降低至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或至少100%。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之鐵螯合療法(例如劑量或頻率)相比，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使個體中之鐵螯合療法(例如劑量或頻率)降低至多5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或至多100%。在某些實施例中，投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期為至少1天、2天、3天、4天、5天、6天、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、3個月、4個月、5個月或6個月。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之後，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以在至少3、4、5、6、12、18、24或48個月內降低個體中之鐵螯合療法(例如劑量或頻率)。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之後，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量

足以永久性降低個體中之鐵螯合療法(例如劑量或頻率)。在某些實施例中，劑量在0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，劑量在0.75 mg/kg與2.0 mg/kg之間。

在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之血清鐵蛋白含量相比，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使個體中之血清鐵蛋白含量降低至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或至少50%。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之血清鐵蛋白含量相比，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使個體中之血清鐵蛋白含量降低至多5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%。在某些實施例中，投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期為至少1天、2天、3天、4天、5天、6天、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、3個月、4個月、5個月或6個月。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之後，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以在至少3、4、5、6、12、18、24或48個月內降低個體中之血清鐵蛋白含量。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之後，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以永久性降低個體中之血清鐵蛋白含量。在某些實施例中，劑量在0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，劑量在0.75 mg/kg與2.0 mg/kg之間。

在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑

之前的時間期個體中之紅血球血液學改善相比，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以引起個體中之紅血球血液學改善達至少1.5 g/dL、1.8 g/dL、2.0 g/dL、2.2 g/dL、2.4 g/dL、2.6 g/dL、2.8 g/dL、3.0 g/dL、3.2 g/dL、3.4 g/dL、3.6 g/dL、3.8 g/dL或至少4.0 g/dL。在某些實施例中，投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期為至少1天、2天、3天、4天、5天、6天、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、3個月、4個月、5個月或6個月。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之後，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑劑量足以在至少3、4、5、6、12、18、24或48個月內引起個體中之紅血球血液學改善。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之後，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以永久性引起個體中之紅血球血液學改善。在某些實施例中，低輸注負擔患者之紅血球血液學改善為患者中之血紅蛋白濃度增加至少1.5 g/dL保持至少8週。在某些實施例中，高輸注負擔患者之紅血球血液學改善為RBC輸注降低至少4個單位保持8週。在某些實施例中，劑量在0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，劑量在0.75 mg/kg與2.0 mg/kg之間。

在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之嗜中性白血球含量相比，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使個體中之嗜中性白血球含量增加至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、

95%、100%、150%、200%、300%、400%或至少500%。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之嗜中性白血球含量相比，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使個體中之嗜中性白血球含量增加至多5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、150%、200%、300%、400%或至多500%。在某些實施例中，與投與ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之嗜中性白血球含量相比，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使嗜中性白血球含量增加至少 0.1×10^9 個/公升、 0.5×10^9 個/公升、 1.0×10^9 個/公升、 5×10^9 個/公升、 1.0×10^{10} 個/公升、 5×10^{10} 個/公升或 1.0×10^{11} 個/公升。在某些實施例中，投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期為至少1天、2天、3天、4天、5天、6天、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、3個月、4個月、5個月或6個月。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之後，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以在至少3、4、5、6、12、18、24或48個月內增加個體中之嗜中性白血球含量。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之後，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以永久性增加個體中之嗜中性白血球含量。在某些實施例中，劑量在0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，劑量在0.75 mg/kg與2.0 mg/kg之間。

在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑

之前的時間期個體中之血小板含量相比，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使個體中之血小板含量增加至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、150%、200%、300%、400%或至多500%。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之血小板含量相比，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使個體中之血小板含量增加至多5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、150%、200%、300%、400%或至多500%。在某些實施例中，與投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期個體中之血小板含量相比，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以使血小板含量增加至少 1×10^{10} 個/公升、 3×10^{10} 個/公升、 5×10^{10} 個/公升、 1×10^{11} 個/公升、 5×10^{11} 個/公升或至少 1×10^{12} 個/公升。在某些實施例中，投與個體初始劑量之ActRII信號傳導抑制劑之前的時間期為至少1天、2天、3天、4天、5天、6天、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、3個月、4個月、5個月或6個月。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之後，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以在至少3、4、5、6、12、18、24或48個月內增加個體中之血小板含量。在某些實施例中，在ActRII信號傳導抑制劑投藥之後，根據本文所提供之方法投與個體之ActRII信號傳導抑制劑之劑量足以永久性增加個體中之血小板含量。在某些實施例中，劑量在

0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間。在某些實施例中，劑量在0.75 mg/kg與2.0 mg/kg之間。

當結合本文提供之劑量(例如ActRII信號傳導抑制劑之劑量或第二活性劑之劑量)使用時，字「約」係指在參考數字之1%、5%或10%內之任何數字。

在某些實施例中，皮下或靜脈內投與如本文中所描述之ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，每三週一次皮下投與如本文中所描述之ActRII信號傳導抑制劑。在某些實施例中，每三週一次皮下投與根據本文所提供之方法治療之個體ActRIIA-hFC (SEQ ID NO:7；亦稱為索塔西普)。在某些實施例中，每三週一次皮下投與根據本文所提供之方法治療之個體ActRIIB-hFC (SEQ ID NO:25；亦稱為盧帕西普)。

7.8 患者群體

根據本文所描述之方法治療之個體可為任何哺乳動物，諸如啮齒動物及靈長類動物，且在一個較佳實施例中為人類。在某些實施例中，個體為人類。在某些實施例中，本文所描述之方法可用於治療任何哺乳動物，諸如啮齒動物及靈長類動物且在一個較佳實施例中，人類個體中之貧血、需要RBC輸注之貧血、MDS及/或非增生性CMML。在某些實施例中，本文所描述之方法可用於增加任何哺乳動物，諸如啮齒動物及靈長類動物且在一個較佳實施例中，人類個體中之嗜中性白血球含量。在某些實施例中，本文所描述之方法可用於增加任何哺乳動物，諸如啮齒動物及靈長類動物且在一個較佳實施例中，人類個體中之血小板含量。

在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比為至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比為至少15%。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比為約15%。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比在約10%與約20%之間。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體中成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比在約12%與17%之間。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體中之環形含鐵胚血球與正常紅血球母細胞之比率為至少1:10、至少1:7或至少1:5。

在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體具有血液相關病症。在某些實施例中，血液相關病症為貧血。在某些實施例中，血液相關病症為需要輸注之貧血。在某些實施例中，血液相關病症為MDS。在某些實施例中，血液相關病症為非增生性CMML。

在某些實施例中，已診斷根據本文所提供之方法治療之個體患有貧血。在一些態樣中，貧血個體之Hb含量小於或等於9.0 g/dL。在一些態樣中，在根據本文所提供之方法治療之前，貧血個體在84天內需要2個或2個以上RBC輸注單位。在某些實施例中，個體具有高輸注負擔(HTB)。HTB個體每56天需要至少4個RBC輸注單位。在某些實施例中，個體具有低輸注負擔(LTB)。LTB個體每56天需要小於4個RBC輸注單位。在某些實施例中，個體為需要RBC輸注之個體。在某些實

施例中，根據本文所提供之方法治療之個體患有鐵粒幼細胞性貧血，諸如X連鎖性鐵粒幼細胞貧血、常染色體隱性吡哆醇難治性鐵粒幼細胞性貧血、X連鎖性鐵粒幼細胞貧血及脊髓小腦失調、肌病、乳酸酸中毒及鐵粒幼細胞性貧血、肌病、乳酸酸中毒及鐵粒幼細胞性貧血、硫胺反應性巨紅血球貧血、皮爾森骨髓-胰腺症候群(pearson marrow-pancreas syndrome)、具有環形含鐵胚血球之難治性貧血、具有環形含鐵胚血球及經標記之血小板增多之難治性貧血以及酒精誘導及藥物誘導之鐵粒幼細胞性貧血。在某些實施例中，已診斷根據本文所提供之方法治療之個體患有貧血且個體中至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，個體中至少15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。

在某些實施例中，已診斷根據本文所提供之方法治療之個體患有IPSS定義之MDS。在某些實施例中，已診斷根據本文所提供之方法治療之個體患有IPSS定義之MDS且個體中至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，個體中至少15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。

IPSS係指國際預後評分系統，其用於評估骨髓發育不良症候群中之預後。參見例如Greenberg等人，Blood, 1997; 89(6):2079-2088，及Erratum, Blood, 1998; 91:1100。IPSS利用準則點系統將骨髓發育不良症候群患者結果表徵為低風險(0點；中值存活期為5.7年)、中等1(0.5 -1點；中值存活期為3.5年)；中等2風險(1.5-2.0點；中值存活期

為1.2年)；或高風險(2.5-3.5點；中值存活期為0.4年)。點系統評估(i)個體中之骨髓母細胞之百分比；(ii)個體之核型；及(iii)及個體中之血球減少症(定義為血紅蛋白濃度小於10 g/dL、絕對嗜中性白血球計數小於1,800個/微升及血小板計數小於100,000個/微升)。

在某些實施例中，已診斷根據本文所提供之方法治療之個體患有IPSS-R定義之MDS。在某些實施例中，已診斷根據本文所提供之方法治療之個體患有IPSS-R定義之MDS且個體中至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%紅血球母細胞為含鐵胚血球含鐵胚血球。在某些實施例中，個體中至少15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。

IPSS-R係指經修改之國際預後評分系統，其用於評估骨髓發育不良症候群中之預後。參見例如 Greenberg 等人，Blood, 2012; 120(12):2454-2465，及Erratum, Blood, 1998; 91:1100。IPSS-R利用準則點系統將骨髓發育不良症候群患者結果表徵為極低風險(小於或等於1.5點；中值存活期為8.8年)、低風險(大於1.5點，小於或等於3點；中值存活期為5.3年)；中等風險(大於3點，小於或等於4.5點；中值存活期為3年)；高風險(大於4.5點，小於或等於6點；中值存活期為1.6年)；或極高(大於6點；中值存活期為0.8年)。點系統尤其評估(i)個體中之骨髓母細胞之百分比；(ii)個體之核型；及(iii)及個體中之血球減少症(定義為血紅蛋白濃度小於10 g/dL、絕對嗜中性白血球計數小於1,800個/微升及血小板計數小於100,000個/微升)。

在某些實施例中，已診斷根據本文所提供之方法治療之個體患有非增生性CMML。在某些實施例中，已診斷根據本文所提供之方法

治療之個體患有非增生性CMML且個體中至少10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%或至少20%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。

在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體患有MDS。在某些實施例中，MDS為IPSS定義之低風險MDS。在某些實施例中，MDS為IPSS定義之中等-1風險MDS。在某些實施例中，MDS為IPSS定義之中等-2風險MDS。在某些實施例中，MDS為IPSS定義之高風險MDS。在某些實施例中，MDS為IPSS-R定義之極低風險MDS。在某些實施例中，MDS為IPSS-R定義之低風險MDS。在某些實施例中，MDS為IPSS-R定義之中等風險MDS。在某些實施例中，MDS為IPSS-R定義之高風險MDS。在某些實施例中，MDS為IPSS-R定義之極高風險MDS。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體(i)患有MDS及(ii)患有RARS。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體(i)患有MDS及(ii)患有RCMD-RS。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體(i)患有MDS，(ii)患有RARS及(iii)患有RCMD-RS。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體(i)患有MDS及(ii)個體中至少15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體(i)患有MDS，(ii)患有RARS及(iii)個體中至少15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體(i)患有MDS，(ii)患有RCMD-RS及(iii)個體中至少15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體(i)患有MDS，(ii)患有RARS及(iii)患有RCMD-RS及(iv)個體中至少15%

紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體(i)患有MDS，(ii)患有RARS及(iii)表現具有一或多種突變之SF3B1。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體(i)患有MDS，(ii)患有RCMD-RS及(iii)表現具有一或多種突變之SF3B1。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體(i)患有MDS，(ii)患有RARS，(iii)患有RCMD-RS及(iv)表現具有一或多種突變之SF3B1。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體(i)患有MDS，(ii)個體中至少15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球及(iii)表現具有一或多種突變之SF3B1。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體(i)患有MDS，(ii)患有RARS，(iii)個體中至少15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球及(iv)表現具有一或多種突變之SF3B1。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體(i)患有MDS，(ii)患有RCMD-RS，(iii)個體中至少15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球及(iv)表現具有一或多種突變之SF3B1。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體(i)患有MDS，(ii)患有RARS，(iii)患有RCMD-RS，(iv)個體中至少15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球及(v)表現具有一或多種突變之SF3B1。

在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體患有非增生性CMML。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體(i)患有非增生性CMML及(ii)患有RARS。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體(i)患有非增生性CMML及(ii)患有RCMD-RS。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體(i)患有非增生性CMML，(ii)患有RARS及(iii)患有RCMD-RS。在某些實施例中，根據

本文所提供之方法治療之個體 (i) 患有非增生性 CMML 及 (ii) 個體中至少 15% 紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體 (i) 患有非增生性 CMML，(ii) 患有 RARS 及 (iii) 個體中至少 15% 紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體 (i) 患有非增生性 CMML，(ii) 患有 RCMD-RS 及 (iii) 個體中至少 15% 紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體 (i) 患有非增生性 CMML，(ii) 患有 RARS 及 (iii) 患有 RCMD-RS 及 (iv) 個體中至少 15% 紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體 (i) 患有非增生性 CMML，(ii) 表現具有一或多種突變之 SF3B1。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體 (i) 患有非增生性 CMML，(ii) 患有 RARS 及 (iii) 表現具有一或多種突變之 SF3B1。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體 (i) 患有非增生性 CMML，(ii) 患有 RCMD-RS 及 (iii) 表現具有一或多種突變之 SF3B1。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體 (i) 患有非增生性 CMML，(ii) 患有 RARS，(iii) 患有 RCMD-RS 及 (iv) 表現具有一或多種突變之 SF3B1。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體 (i) 患有非增生性 CMML，(ii) 個體中至少 15% 紅血球母細胞為環形含鐵胚血球及 (iii) 表現具有一或多種突變之 SF3B1。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體 (i) 患有非增生性 CMML，(ii) 患有 RARS，(iii) 個體中至少 15% 紅血球母細胞為環形含鐵胚血球及 (iv) 表現具有一或多種突變之 SF3B1。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體 (i) 患有非增生性 CMML，(ii) 患有 RCMD-

RS，(iii)個體中至少15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球及(iv)表現具有一或多種突變之SF3B1。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體(i)患有非增生性CMML，(ii)患有RARS，(iii)患有RCMD-RS，(iv)個體中至少15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球及(v)表現具有一或多種突變之SF3B1。

在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體表現具有與無效紅血球生成相關之突變的基因。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體表現包含一或多種突變之一或多種編接因子基因。在一個特定實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體表現具有一或多種突變之SF3B1。在某些實施例中，該一或多種突變在非編碼區中。在某些實施例中，SF3B1為編碼SB3B1之基因。在某些實施例中，該一或多種突變在編碼區中。在某些實施例中，SF3B1為SF3B1蛋白質。在某些實施例中，SF3B1蛋白質中之一或多種突變係選自由以下組成之群：E622D、R625C、H662Q、H662D、K66N、K666T、K666Q、K666E、A672D、K700E、I704N。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體表現具有突變E622D之SF3B1蛋白質。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體表現具有突變R625C之SF3B1蛋白質。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體表現具有突變H662Q之SF3B1蛋白質。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體表現具有突變H662D之SF3B1蛋白質。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體表現具有突變K66N之SF3B1蛋白質。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體表現具有突變K666T之SF3B1蛋白質。在某些實施例

中，根據本文所提供之方法治療之個體表現具有突變K666Q之SF3B1蛋白質。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體表現具有突變K666E之SF3B1蛋白質。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體表現具有突變A672D之SF3B1蛋白質。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體表現具有突變K700E之SF3B1蛋白質。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體表現具有突變I704N之SF3B1蛋白質。在一個特定實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體表現具有一或多種突變之SRSF2。在一個特定實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體表現具有一或多種突變之DNMT3A。在一個特定實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體表現具有一或多種突變之TET2。在一個特定實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體表現具有一或多種突變之SETBP1。

在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體患有血小板減少。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體具有小於 1×10^{11} 個血小板/公升。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體患有嗜中性白細胞減少症。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體之絕對嗜中性白血球計數小於 1×10^9 個/公升。

在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體具有小於13,000個白血球/微升、小於12,000個白血球/微升、小於11,000個白血球/微升、小於10,000個白血球/微升、小於7,500個白血球/微升或小於500個白血球/微升。

在某些實施例中，根據本文中提供之方法治療之個體中之血紅蛋白含量小於10 g/dL、9 g/dL、8 g/dL或7 g/dL。在某些實施例中，

根據本文所提供之方法治療之個體中之血紅蛋白含量在7 g/dL與7.5 g/dL之間、在7.5 g/dL與8 g/dL之間、在8 g/dL與8.5 g/dL之間、在8.5 g/dL與9.0 g/dL之間、在9.0 g/dL與9.5 g/dL之間或在9.5 g/dL與10.0 g/dL之間。

在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體具有低輸注負擔。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之具有低輸注負擔之個體每8週需要至多0、1、2或3個紅血球單位。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體具有高輸注負擔。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之具有高輸注負擔之個體每8週需要至少4、5、6、7、8、9、10、11、12或13個紅血球單位。

在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體對一或多種ESA不具有反應、具有反應缺失或低反應機率。

在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體先前經歷用一或多種ESA治療或當前正在進行用一或多種ESA治療。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體先前經歷用低甲基化劑治療。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體先前經歷用來拉度胺(lenalidomine)治療。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體未經歷用阿紮胞苷(azacitidine)、地西他濱(decitabine)、ESA、G-CSF、GM-CSG或來那度胺治療。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體對用一或多種ESA治療不起反應。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體對用一或多種ESA治療具有難治性。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體變成對用一或多種ESA治療具有難治性。在某些實施例中，根據本文所

提供之方法治療之個體對先前ESA治療具有難治性。在某些實施例中，對先前ESA治療具有難治性之個體經記錄對先前含有ESA之療程(呈單一藥劑或組合(例如與G-CSF)形式)不起反應或不再保持反應；ESA療程必須為(a)大於40,000 IU/週保持至少8個劑量或等效物之重組型人類紅血球生成素，或(b)每三週一次大於500 µg保持至少4個劑量或等效物之達貝泊汀α (darbepoetin alpha)。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體對先前ESA治療不耐受。在某些實施例中，對先前ESA治療不耐受之個體經記錄在在引入之後的任何時間由於不耐受性或不良事件而停止先前含有ESA之療程(呈單一藥劑或組合(例如與G-CSF)形式)。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體為ESA不合格。在某些實施例中，基於先前未用ESA治療之個體中大於200 U/L之內源性血清紅血球生成素含量，ESA不合格之個體對ESA具有低反應機率。

在某些實施例中，根據本文所描述之方法治療之個體可為任何年齡。在某些實施例中，根據本文所描述之方法治療之個體小於18歲。在一特定實施例中，根據本文所描述之方法治療之個體小於13歲。在另一特定實施例中，根據本文所描述之方法治療之個體小於12、小於11、小於10、小於9、小於8、小於7、小於6或小於5歲。在另一特定實施例中，根據本文所描述之方法治療之個體為1至3歲、3至5歲、5至7歲、7至9歲、9至11歲、11至13歲、13至15歲、15至20歲、20至25歲、25至30歲或大於30歲。在另一特定實施例中，根據本文所描述之方法治療之個體為30至35歲、35至40歲、40至45歲、45至50歲、50至55歲、55至60歲或大於60歲。在另一特定實施例中，根據

本文所描述之方法治療之個體為60至65歲、65至70歲、70至75歲、75至80歲或大於80歲。

在某些實施例中，根據本文所描述之方法治療之個體患有MDS。在某些實施例中，治療本文所描述之方法根據之個體患有MDS及完整染色體5q。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體患有MDS、完整染色體5q且不具有所記錄之來那度胺治療失敗。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體患有MDS、完整染色體5q且記錄有來那度胺治療失敗。在某些實施例中，根據本文所描述之方法治療之個體患有具有染色體5q缺失之MDS。具有染色體5q缺失之MDS包含長臂染色體5之缺失且其特徵尤其在於具有卵形大紅血球之大紅血球性貧血、正常至稍微降低之白血球計數、正常至升高之血小板計數及骨髓以及血液中小於5%母細胞。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體患有具有染色體5q缺失之MDS且不具有所記錄之來那度胺治療失敗。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體患有具有染色體5q缺失之MDS且記錄有來那度胺治療失敗。在某些實施例中，來那度胺治療失敗包含對來那度胺不起反應、在用來那度胺治療4個月之後對來那度胺不起反應、對用來那度胺治療不耐受或妨礙用來那度胺治療之細胞減少症。

在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體在骨髓及血液具有小於5%母細胞。

在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體具有大於500 mIU/mL之EPO血清濃度。在某些實施例中，根據本文所提供之方法治療之個體具有大於200 mIU/mL之EPO血清濃度。

7.9 ACTRII受體之信號傳導抑制劑

本文中涵蓋之ActRII受體之抑制劑包括ActRIIA信號傳導抑制劑及ActRIIB信號傳導抑制劑(參見下文)。在某些實施例中，ActRII受體信號傳導抑制劑對ActRIIA具有特異性。在其他實施例中，ActRII受體信號傳導抑制劑對ActRIIB具有特異性。在某些實施例中，ActRII受體信號傳導抑制劑優先抑制ActRIIA。在其他實施例中，ActRII受體信號傳導抑制劑優先抑制ActRIIB。在某些實施例中，ActRII受體信號傳導抑制劑抑制ActRIIA及ActRIIB。

在某些實施例中，ActRII受體之信號傳導抑制劑可為包含ActRII之活化素結合域之多肽。不受理論束縛，此類包含活化素結合域之多肽螯合活化素且藉此防止活化素信號傳導。此等包含活化素結合域之多肽可包含ActRII受體之細胞外域中之所有或一部分(亦即ActRIIA之細胞外域中之所有或一部分或ActRIIB之細胞外域中之所有或一部分)。在特定實施例中，ActRII受體之細胞外域可溶。

在某些實施例中，包含活化素結合域之多肽連接至抗體之Fc部分(亦即產生包含ActRII受體之包含活化素結合域的多肽及抗體之Fc部分之結合物)。不希望受理論約束，抗體部分賦予結合物增加之穩定性。在某些實施例中，活化素結合域經由連接子，例如肽連接子連接至抗體之Fc部分。

用於本文所描述之組合物及方法中之ActRII受體之信號傳導抑制劑包含直接或間接，細胞外或細胞內抑制ActRIIA信號傳導及/或ActRIIB信號傳導之分子。在一些實施例中，本文中所描述之組合物及方法中使用之ActRIIA及/或ActRIIB之信號傳導抑制劑經由與受體

本身相互作用來抑制 ActRIIA 及/或 ActRIIB。在其他實施例中，本文中所描述之組合物及方法中使用之 ActRIIA 及/或 ActRIIB 之信號傳導抑制劑經由與 ActRIIA 及/或 ActRIIB 配位體(例如活化素)相互作用來抑制 ActRIIA 及/或 ActRIIB。

7.9.1 ACTRIIA 之信號傳導抑制劑

如本文所用，術語「ActRIIA」係指來自任何物種及變異體之 IIa 型活化素受體(ActRIIA)蛋白質之家族，其藉由突變誘發或其他修飾衍生自此類 ActRIIA 蛋白質。本文中提及 ActRIIA 理解為提及目前鑑定形式中之任一者。ActRIIA 家族之成員通常為跨膜蛋白質，其由以下構成：具有富含半胱胺酸之區域之配位體結合細胞外域、跨膜域及具有預測絲胺酸/蘇胺酸激酶活性之細胞質域。

欲用於本文所描述之組合物及方法中之 ActRIIA 信號傳導抑制劑包括(但不限於)活化素結合之可溶 ActRIIA 多肽、結合至活化素(尤其活化素 A 或 B 子單位，亦稱為 β A 或 β B)且破壞 ActRIIA 結合之抗體、結合至 ActRIIA 且破壞活化素結合之抗體、針對活化素或 ActRIIA 結合選擇之非抗體蛋白(關於此類蛋白之實例及其設計及選擇方法，參見例如 WO/2002/088171、WO/2006/055689、WO/2002/032925、WO/2005/037989、US 2003/0133939 及 US 2005/0238646，其中之每一者以全文引用之方式併入本文中)及針對活化素或 ActRIIA 結合選擇之可結合於 Fc 域之隨機化肽。

在某些實施例中，具有活化素或 ActRIIA 結合活性之兩種或兩種以上不同蛋白質(或其他部分)，尤其分別阻斷 I 型(例如可溶 I 型活化素受體)及 II 型(例如可溶 II 型活化素受體)結合位點之活化素結合子可一

起連接以產生抑制ActRIIA且因此可用於本文所描述之組合物及方法中之雙官能或多官能結合分子。在某些實施例中，抑制ActRIIA之活化素-ActRIIA信號傳導軸拮抗劑包括核酸適體，包括用於本文所描述之組合物及方法中之小分子及其他試劑。

(a) 包含ActRIIA多肽之ActRIIA信號傳導抑制劑

術語「ActRIIA多肽」包括包含ActRIIA家族成員之任何天然存在之多肽以及保留適用活性之其任何變異體(包括突變體、片段、融合物及肽模擬物形式)的多肽。舉例而言，ActRIIA多肽包括來源於具有與ActRIIA多肽序列至少約80%一致，且視情況至少85%、90%、95%、97%、98%、99%或99%以上一致性之序列的任何已知ActRIIA序列的多肽。舉例而言，ActRIIA多肽可結合於ActRIIA蛋白質及/或活化素且抑制ActRIIA蛋白質及/或活化素之功能。ActRIIB多肽可針對其促進骨骼生長及骨骼礦化之能力選擇。ActRIIA多肽之實例包括人類ActRIIA前驅體多肽(SEQ ID NO:1)及可溶性人類ActRIIA多肽(例如SEQ ID NO:2、3、7及12)。相對於胺基酸序列在SEQ ID NO:1處描述之ActRIIA前驅體多肽，人類ActRIIA前驅體多肽之信號肽位於胺基酸位置1至20處；細胞外域位於胺基酸位置21至135處且人類ActRIIA前驅體多肽(SEQ ID NO: 1)之N連接糖基化位點位於SEQ ID NO: 1之胺基酸位置43及56處。編碼SEQ ID NO:1之人類ActRIIB前驅體多肽之核酸序列揭示為SEQ ID NO: 4 (基因庫條目NM_001616之核苷酸164-1705)。編碼SEQ ID NO:2之可溶人類ActRIIA多肽之核酸序列揭示為SEQ ID NO:5。關於序列之描述，參見表21。

在特定實施例中，用於本文所描述之組合物及方法中之ActRIIA

多肽為可溶性ActRIIA多肽。ActRIIA蛋白之細胞外域可結合至活化素且通常可溶，且因此可稱為可溶性結合活化素之ActRIIA多肽。因此，如本文所用，術語「可溶性ActRIIA多肽」通常係指包含ActRIIA蛋白之細胞外域，包括ActRIIA蛋白之任何天然存在之細胞外域及其任何變異體(包括突變體、片段及肽模擬物形式)之多肽。可溶性ActRIIA多肽可結合至活化素；然而，野生型ActRIIA蛋白在結合於活化素相對於GDF8/11方面不展示顯著選擇性。天然或變化之ActRIIA蛋白質可藉由與第二活化素選擇性結合劑偶合來給與附加對活化素之特異性。可溶性結合活化素之ActRIIA多肽之實例包括SEQ ID NO:2、3、7、12及13中所示之可溶性多肽。可溶性結合活化素之ActRIIA多肽之其他實例除ActRIIA蛋白之細胞外域以外包含信號序列，例如蜜蜂蜂毒肽(mellitin)前導序列(SEQ ID NO:8)、組織纖維蛋白溶酶原活化因子(TPA)前導(SEQ ID NO:9)或天然ActRIIA前導(SEQ ID NO:10)。SEQ ID NO:13中所示之ActRIIA-hFc多肽使用TPA前導。

在某些實施例中，用於本文所描述之組合物及方法中之ActRIIA信號傳導抑制劑包含結合物/融合蛋白質，其包含ActRIIA之活化素結合域連接至抗體之Fc部分。在某些實施例中，活化素結合域經由連接子，例如肽連接子，連接至抗體之Fc部分。視情況，Fc域在殘基具有一或多種突變，諸如Asp-265、離胺酸322及Asn-434。在某些情況下，具有此等突變中之一或多者(例如Asp-265突變)之突變型Fc域與野生型Fc域相比具有降低之結合於Fc γ 受體之能力。在其他情況下，具有此等突變中之一或多者(例如Asn-434突變)之突變型Fc域與野生型Fc域相比具有增加之結合於I類MHC相關之Fc受體(FcRN)之能力。

包含 ActRIIA 之可溶細胞外域與 Fc 域融合之例示性融合蛋白質述於 SEQ ID NO:6、7、12 及 13 中。

在一個特定實施例中，用於本文所描述之組合物及方法中之 ActRIIA 信號傳導抑制劑包含 ActRIIA 之細胞外域或其部分連接至抗體之 Fc 部分，其中該 ActRIIA 信號傳導抑制劑包含與選自 SEQ ID NO:6、7、12 及 13 之胺基酸序列具有至少 75% 一致性之胺基酸序列。在另一特定實施例中，用於本文所描述之組合物及方法中之 ActRIIA 信號傳導抑制劑包含 ActRIIA 之細胞外域或其部分連接至抗體之 Fc 部分，其中該 ActRIIA 信號傳導抑制劑包含與選自 SEQ ID NO:6、7、12 及 13 之胺基酸序列具有至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 一致性之胺基酸序列。

在某些實施例中，用於本文所描述之組合物及方法中之 ActRIIA 信號傳導抑制劑包含 ActRIIA 之細胞外域之截短形式。截短可在 ActRIIA 多肽之羧基端及/或胺基端處。在某些實施例中，截短可比成熟 ActRIIA 多肽細胞外域長 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24 或 25 個胺基酸。在某些實施例中，截短可為成熟 ActRIIA 多肽細胞外域之 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24 或 25 個 N 端胺基酸。在某些實施例中，截短可為成熟 ActRIIA 多肽細胞外域之 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24 或 25 個 C 端胺基酸。舉例而言，ActRIIA 之截短形式包括具有胺基酸 20-119、20-128、20-129、20-130、20-131、20-132、20-133、20-134、20-

131、21-131、22-131、23-131、24-131及25-131之多肽，其中胺基酸位置指在SEQ ID NO:1中之胺基酸位置。

在某些實施例中，用於本文所描述之組合物及方法中之ActRIIA信號傳導抑制劑包含具有一或多個胺基酸取代之ActRIIA之細胞外域。在某些實施例中，用於本文所描述之組合物及方法中之ActRIIA信號傳導抑制劑包含亦攜帶胺基酸取代之ActRIIA細胞外域之截短形式。

在一個特定實施例中，欲用於本文所描述之組合物及方法中之ActRIIA信號傳導抑制劑為人類ActRIIA受體之細胞外域與IgG1之Fc部分之間的融合蛋白質。在另一特定實施例中，欲用於本文所描述之組合物及方法中之ActRIIA信號傳導抑制劑為人類ActRIIA受體之截短細胞外域與IgG1之Fc部分之間的融合蛋白質。在另一特定實施例中，欲用於本文所描述之組合物及方法中之ActRIIA信號傳導抑制劑為人類ActRIIA受體之截短細胞外域與IgG1之Fc部分之間的融合蛋白，其中人類ActRIIA受體之截短細胞外域具有一或多個胺基酸取代。

ActRIIA多肽之功能活性片段可例如藉由篩選以重組方式由編碼ActRIIA多肽之核酸之對應片段產生之多肽獲得。此外，片段可使用此項技術中已知之技術，諸如習知梅里菲爾德(Merrifield)固相f-Moc或t-Boc化學方法來化學合成。片段可經產生(以重組方式或藉由化學合成)且測試以鑑定可充當藉由活化素介導之ActRIIA蛋白或信號傳導之拮抗劑(抑制劑)的彼等肽基片段。

此外，ActRIIA多肽之功能活性變異體可例如藉由篩選以重組方式由編碼ActRIIA多肽之相應誘變核酸產生之經修飾之多肽之文庫獲

得。變異體可經產生且測試以鑑定可充當ActRIIA蛋白質或藉由活化素介導之信號傳導之拮抗劑(抑制劑)之彼等。在某些實施例中，ActRIIA多肽之功能性變異體包含與選自SEQ ID NO:2或3之胺基酸序列具有至少75%一致性之胺基酸序列。在某些情況下，功能性變異體具有與選自SEQ ID NO:2或3之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%或100%一致性之胺基酸序列。

功能性變異體可例如藉由出於諸如增強治療功效或穩定性(例如離體存放期及活體內對蛋白水解降解之耐受性)的目的改變ActRIIA多肽之結構產生。當經選擇以保留活化素結合時將此類經修飾之ActRIIA多肽認為天然存在之ActRIIA多肽之功能等效物。經修飾之ActRIIA多肽亦可例如藉由胺基酸取代、缺失或添加產生。舉例而言，期望用異白胺酸或纈胺酸獨立置換白胺酸，用麩胺酸鹽置換天冬胺酸鹽、用絲胺酸置換蘇胺酸或用結構上相關胺基酸類似置換胺基酸(例如保守性突變)將不對所得分子之生物活性具有主要影響為合理的。保守性置換為在其側鏈中相關之胺基酸家族內進行的彼等置換。ActRIIA多肽之胺基酸序列變化是否產生功能同源物可容易地藉由評估變異ActRIIA多肽以類似於野生型ActRIIA多肽之方式在細胞中產生反應之能力確定。

在某些實施例中，本文中提供ActRIIA多肽之特異性突變，其可改變多肽之糖基化。可選擇此類突變以引入或消除一或多個糖基化位點，諸如O-連接或N-連接之糖基化位點。天冬醯胺連接之糖基化識別位點一般包含藉由合適細胞糖基化酶特異性識別之三肽序列，天冬醯胺-X-蘇胺酸(或天冬醯胺-X-絲胺酸)(其中「X」為任何胺基酸)。改

變亦可藉由添加一或多個絲胺酸或蘇胺酸殘基或藉由一或多個絲胺酸或蘇胺酸殘基取代至野生型ActRIIA多肽之序列(對於O-連接之糖基化位點)進行。在糖基化識別位點之第一或第三胺基酸位置中之一者或兩者處的多種胺基酸取代或缺失(及/或在第二位置處之胺基酸缺失)引起在經修飾之三肽序列處之非糖基化。增加ActRIIA多肽上碳水化合物部分之數目的另一方式為藉由醣苷與ActRIIA多肽之化學或酶促偶合。取決於所使用之偶合模式，糖可連接至(a)精胺酸及組胺酸；(b)游離羧基；(c)游離硫氫基，諸如半胱胺酸之游離硫氫基；(d)游離羥基，諸如絲胺酸、蘇胺酸或羥脯胺酸之游離羥基；(e)芳族殘基，諸如苯丙胺酸、酪胺酸或色胺酸之芳族殘基；或(f)麩醯胺酸之醯胺基。此等方法描述於1987年9月11日公開之WO 87/05330及Aplin及Wriston(1981) *CRC Crit. Rev. Biochem.*, 第259-306頁中，其以引用的方式併入本文中。存在於ActRIIA多肽上之一或多個碳水化合物部分之移除可以化學方式及/或以酶促方式實現。化學去糖基化可涉及例如使ActRIIA多肽暴露於化合物三氟甲磺酸或等效化合物。此處理使得除連接糖(N-乙醯基葡萄糖胺糖或N-乙醯基半乳胺糖)外之大多數或所有糖裂解，而保持胺基酸序列完整。化學去糖基化由Hakimuddin等人, (1987) *Arch. Biochem. Biophys.* 259:52及由Edge等人, (1981) *Anal. Biochem.* 118:131進一步描述。ActRIIA多肽上碳水化合物部分之酶促裂解可藉由使用如由Thotakura等人(1987) *Meth. Enzymol.* 138:350所描述之各種內醣苷酶及外醣苷酶來達成。ActRIIA多肽之序列可按需要視使用之表現系統類型而調整，因為哺乳動物、酵母、昆蟲及植物細胞可均引入可受肽之胺基酸序列影響之不同糖基化模式。通常，用

於人類之ActRIIA蛋白質將在提供適當糖基化之哺乳動物細胞株，諸如HEK293或CHO細胞株中表現，儘管其他表現系統，諸如其他哺乳動物表現細胞株、具有工程改造糖基化酶之酵母細胞株及昆蟲細胞預期同樣適用。

本文進一步提供產生突變體，尤其ActRIIA多肽之組合突變體集合以及截短突變體之方法；組合突變體之池尤其適用於鑑定功能性變異體序列。篩選此類組合庫之目的可為產生例如可充當促效劑或拮抗劑，或替代地一起具有新穎活性之ActRIIA多肽變異體。以下提供多種篩選分析，且此類分析可用於評估變異體。舉例而言，可針對結合於ActRIIA配位體、防止ActRIIA配位體與ActRIIA多肽之結合或干擾由ActRIIA配位體所引起之信號傳導之能力篩選ActRIIA多肽變異體。

可產生相對於天然存在之ActRIIA多肽，具有選擇性或一般增加之效能的組合衍生變異體。同樣地，突變誘發可產生具有與對應野生型ActRIIA多肽顯著不同之細胞內半衰期之變異體。舉例而言，可使改變之蛋白質對蛋白水解降解或導致天然ActRIIA多肽之破壞或者失活之其他細胞過程較穩定或較不穩定。此類變異體及編碼其之基因可用於藉由調節ActRIIA多肽之半衰期改變ActRIIA多肽含量。舉例而言，短半衰期可產生更短暫生物影響且可允許較緊密控制個體內之重組型ActRIIA多肽含量。在Fc融合蛋白質中，突變可在連接子(若存在)及/或Fc部分中進行以改變蛋白質之半衰期。

組合庫可藉助於編碼各包括至少一部分潛在ActRIIA多肽序列之多肽庫之基因之簡併庫產生。舉例而言，可將合成寡核苷酸之混合物以酶促方式接合至基因序列中使得簡併組之潛在ActRIIA多肽核苷

酸序列可作為個別多肽，或替代地作為一組較大融合蛋白質(例如用於噬菌體呈現)表現。

存在許多可由簡併寡核苷酸序列產生潛在同源物庫之方式。簡併基因序列之化學合成可在自動DNA合成器中進行，且合成基因隨後接合至合適載體中以便表現。簡併寡核苷酸之合成在此項技術中眾所周知(參見例如Narang, S A (1983) *Tetrahedron* 39:3；Itakura等人, (1981) *Recombinant DNA, Proc. 3rd Cleveland Sympos. Macromolecules*, AG Walton編, Amsterdam: Elsevier 第273-289頁；Itakura等人, (1984) *Annu. Rev. Biochem.* 53:323；Itakura等人, (1984) *Science* 198:1056；Ike等人, (1983) *Nucleic Acid Res.* 11:477)。此類技術已用於其他蛋白質之定向進化(參見例如Scott等人, (1990) *Science* 249:386-390；Roberts等人, (1992) *PNAS USA* 89:2429-2433；Devlin等人, (1990) *Science* 249: 404-406；Cwirla等人, (1990) *PNAS USA* 87: 6378-6382；以及美國專利第5,223,409號、第5,198,346號及第5,096,815號)。

或者，可利用其他形式之突變誘發產生組合庫。舉例而言，ActRIIA多肽變異體可藉由使用例如丙胺酸掃描突變誘發及其類似技術篩選(Ruf等人, (1994) *Biochemistry* 33:1565-1572；Wang等人, (1994) *J. Biol. Chem.* 269:3095-3099；Balint等人, (1993) *Gene* 137:109-118；Grodberg等人, (1993) *Eur. J. Biochem.* 218:597-601；Nagashima等人, (1993) *J. Biol. Chem.* 268:2888-2892；Lowman等人, (1991) *Biochemistry* 30:10832-10838；及Cunningham等人, (1989) *Science* 244:1081-1085)、藉由連接子掃描突變誘發(Gustin等人,

(1993) *Virology* 193:653-660 ; Brown 等人, (1992) *Mol. Cell Biol.* 12:2644-2652 ; McKnight 等人, (1982) *Science* 232:316)、藉由飽和突變誘發 (Meyers 等人, (1986) *Science* 232:613)、藉由 PCR 突變誘發 (Leung 等人, (1989) *Method Cell Mol Biol* 1:11-19) 或藉由隨機突變誘發, 包括化學突變誘發等 (Miller 等人, (1992) *A Short Course in Bacterial Genetics*, CSHL Press, Cold Spring Harbor, N.Y. ; 及 Greener 等人, (1994) *Strategies in Mol Biol* 7:32-34) 產生及自庫分離。連接子掃描突變誘發 (尤其在組合設置中) 為鑑定截短 (生物活性) 形式之 ActRIIA 多肽之有吸引力的方法。

此項技術中已知各種用於篩選藉由點突變及截短製造之組合庫之基因產物, 且就此而言用於針對具有某一特性之基因產物篩選 cDNA 庫的技術。此類技術將一般適合於快速篩選藉由 ActRIIA 多肽之組合突變誘發產生之基因庫。篩選大型基因庫之最廣泛使用之技術通常包含將基因庫選殖至可複製表現載體中, 用所得載體庫轉型合適細胞, 且在所需活性之偵測促進編碼產物經偵測之基因之載體之相對容易分離的條件下表現組合基因。較佳分析包括活化素結合分析及活化素介導之細胞信號傳導分析。

在某些實施例中, ActRIIA 多肽可進一步包含除任何天然存在於 ActRIIA 多肽中之修飾以外的轉譯後修飾。此類修飾包括 (但不限於) 乙醯化、羧化、糖基化、磷酸化、脂質化及醯化。因此, 經修飾之 ActRIIA 多肽可含有非胺基酸要素, 諸如聚乙二醇、脂質、多醣或單醣及磷酸鹽。此類非胺基酸要素對 ActRIIA 多肽之功能性之影響可藉由熟習此項技術者已知之任何方法測試。當 ActRIIA 多肽在細胞中藉

由裂解新生形式之ActRIIA多肽產生時，轉譯後處理亦可對於蛋白質之適當摺疊及/或功能重要。不同細胞(諸如CHO、HeLa、MDCK、293、W138、NIH-3T3或HEK293)對於此類轉譯後活性具有特定細胞機制及特徵機制且可經選擇以確保ActRIIA多肽之正確修飾及處理。

在某些態樣中，ActRIIA多肽之功能性變異體或經修飾之形式包括具有ActRIIA多肽之至少一部分及一或多個融合域之融合蛋白質。此等融合域之熟知實例包括(但不限於)聚組胺酸、Glu-Glu、麩胱甘肽S轉移酶(GST)、硫氧還原蛋白、蛋白質A、蛋白質G、免疫球蛋白重鏈恆定區(Fc)、麥芽糖結合蛋白(MBP)或人類血清白蛋白。融合域可經選擇以便賦予所需特性。舉例而言，一些融合域特別適用於藉由親和性層析法分離融合蛋白質。出於親和純化之目的，使用用於親和性層析法之相關基質，諸如麩胱甘肽、澱粉酵素及鎳或鈷結合樹脂。許多此類基質可以「套組」形式獲得，諸如對(HIS6)融合搭配物適用之Pharmacia GST純化系統及QIAexpress.TM.系統(Qiagen)。作為另一實例，融合域可經選擇以便促進ActRIIA多肽之偵測。此等偵測域之實例包括各種螢光蛋白質(例如GFP)以及「抗原決定基標籤」，其通常為特異性抗體可用之短肽序列。特異性單株抗體容易可用之熟知抗原決定基標籤包括FLAG、流感病毒血球凝集素(HA)及c-myc標籤。在一些情況下，融合域具有蛋白酶裂解位點(諸如用於因子Xa或凝血酶)，其允許相關蛋白酶部分消化融合蛋白且藉此自其釋放重組型蛋白質。釋放之蛋白質可隨後藉由隨後層析分離自融合域分離。在某些較佳實施例中，ActRIIA多肽與活體內穩定ActRIIA多肽之域(「穩定劑」域)融合。「穩定」意謂增加血清半衰期，不論此是否由於破壞減少、腎

臟清除率降低或其他藥物動力學影響之任何者。與免疫球蛋白之Fc部分融合已知賦予各種蛋白質所需藥物動力學特性。同樣地，與人類清白蛋白融合可賦予所需特性。可選擇之其他類型之融合域包括多聚化(例如二聚、四聚)域及功能域(賦予額外生物功能，諸如視需要進一步刺激骨骼生長或肌肉生長)。

應瞭解融合蛋白質之不同要素可以符合所需功能性之任何方式配置。舉例而言，ActRIIA多肽可針對異源域經置放C端，或替代地異源域可針對ActRIIA多肽經置放C端。ActRIIA多肽域及異源域在融合蛋白中無需相鄰，且額外域或胺基酸序列可經包括C端或N端至任一域或域之間。

在某些實施例中，本文中所描述之ActRIIA多肽含有能夠使ActRIIA多肽穩定之一或多個修飾。舉例而言，此類修飾增強ActRIIA多肽之活體外半衰期，增強ActRIIA多肽之循環半衰期或減少ActRIIA多肽之蛋白水解降解。此類穩定修飾包括(但不限於)融合蛋白質(包括例如包含ActRIIA多肽及穩定劑域之融合蛋白質)、修飾糖基化位點(包括例如添加糖基化位點至ActRIIA多肽)及修飾碳水化合物部分(包括例如自ActRIIA多肽移除碳水化合物部分)。在融合蛋白之情況下，ActRIIA多肽融合至穩定劑域，諸如IgG分子(例如Fc域)。如本文中所使用，術語「穩定劑域」不僅指融合域(例如Fc)，如在融合蛋白質之情況下，且亦包括非蛋白性修飾，諸如碳水化合物部分，或非蛋白性聚合物，諸如聚乙二醇。

在某些實施例中，自其他蛋白質分離或者實質上不含其他蛋白質之分離及/或純化形式之ActRIIA多肽可與本文所描述之方法及組合

物一起使用。ActRIIA多肽將一般藉由自重組型核酸表現產生。

在某些態樣中，本文中提供編碼ActRIIA多肽(例如可溶性ActRIIA多肽)中之任一者之經分離及/或重組型核酸，其包括本文中所示之片段、功能性變異體及融合蛋白質。舉例而言，SEQ ID NO:4編碼天然存在之人類ActRIIA前驅體多肽，而SEQ ID NO:5編碼ActRIIA之經處理細胞外域。個體核酸可為單股或雙股。此類核酸可為DNA或RNA分子。此等核酸可用於例如製造ActRIIA多肽之方法中或用作直接治療劑(例如在基因療法方法中)。

在某些態樣中，應進一步理解，編碼ActRIIA多肽之個體核酸包括作為SEQ ID NO:4或5之變異體的核酸。變異核苷酸序列包括相差一或多個核苷酸取代、添加或缺失之序列，諸如對偶基因變異體。

在某些實施例中，本文中提供經分離或重組型核酸序列，其與SEQ ID NO:4或5具有至少80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%或100%一致性。一般熟習此項技術者應瞭解，本文中亦涵蓋與SEQ ID NO:4或5互補之核酸序列及SEQ ID NO:4或5之變異體。在其他實施例中，本文中提供之核酸序列可為分離型、重組型及/或與異源核苷酸序列融合，或在DNA文庫中。

在其他實施例中，本文中提供之核酸亦包括在高嚴格度條件下與SEQ ID NO:4或5中指定之核苷酸序列、SEQ ID NO:4或5之補體序列或其片段雜交之核苷酸序列。如上文所論述，一般熟習此項技術者將易於理解，促進DNA雜交之適合的嚴格度條件可變化。一般熟習此項技術者應理解可改變促進DNA雜交之合適嚴格條件。舉例而言，吾人可在約攝氏45度下在 $6.0 \times$ 氯化鈉/檸檬酸鈉(SSC)下進行雜交，接著

在攝氏 50 度下進行 $2.0 \times \text{SSC}$ 之洗滌。舉例而言，洗滌步驟中之鹽濃度可選自在攝氏 50 度下約 $2.0 \times \text{SSC}$ 之低嚴格度至在攝氏 50 度下約 $0.2 \times \text{SSC}$ 之高嚴格度。此外，洗滌步驟中之溫度可自在室溫(約攝氏 22 度)下之低嚴格度條件增加至在約攝氏 65 度下之高嚴格度條件。可改變溫度及鹽兩者，或溫度或鹽濃度可保持恆定，而改變另一變數。在一個實施例中，在室溫下在 $6 \times \text{SSC}$ 之低嚴格度條件下雜交，接著在室溫下在 $2 \times \text{SSC}$ 下洗滌之核酸可與本文所描述之方法及組合物一起使用。

本文中亦涵蓋由於基因密碼中之簡併而與 SEQ ID NO:4 或 5 中所闡述之核酸不同之經分離之核酸。舉例而言，藉由一種以上三重態指定多種胺基酸。指定相同胺基酸之密碼子或同義語(例如 CAU 及 CAC 為組胺酸之同義語)可引起不影響蛋白質之胺基酸序列之「靜默」突變。然而，吾人預期引起本發明蛋白質之胺基酸序列改變之 DNA 序列多形現象將存在於哺乳動物細胞中。熟習此項技術者將瞭解編碼特定蛋白質之核酸之一或多種核苷酸(多達約 3-5% 之核苷酸)之此等變異可由於天然對偶基因變異存在於給定物種之個體中。本文中涵蓋任何及所有此類核苷酸變化及所得胺基酸多形性。

在某些實施例中，重組型核酸可操作地連接於表現構築體中之一或多個調節核苷酸序列。調節核苷酸序列將一般適合於用於表現之宿主細胞。對於多種宿主細胞，此項技術中已知許多類型之合適表現載體及適合調節序列。通常該一或多個調節核苷酸序列可包括(但不限於)啟動子序列、前導或信號序列、核糖體結合位點、轉錄起始及終止序列、轉譯起始及終止序列及強化子或活化因子序列。本文中

涵蓋如此項技術中已知之組成性或誘導性啟動子。啟動子可為天然存在之啟動子，或組合一種以上啟動子之元件之混合啟動子。表現構築體可存在於細胞中游離基因體(諸如質體)上，或表現構築體可插入染色體中。在一個較佳實施例中，表現載體含有可選擇標記基因以允許選擇經轉型宿主細胞。可選擇標記基因為此項技術中熟知且將隨使用之宿主細胞變化。

在某些態樣中，在包含編碼ActRIIA多肽且可操作地連接於至少一個調節序列之核苷酸序列之表現載體中提供本發明之核酸。調節序列為此項技術中公認的且針對ActRIIA多肽之直接表現選擇。因此，術語調節序列包括啟動子、強化子及其他表現控制元件。例示性調節序列描述於Goeddel; *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology*, Academic Press, San Diego, Calif. (1990)中。舉例而言，當可操作地連接於DNA序列時控制其表現之廣泛多種表現控制序列中之任一者可在等載體中使用以表現編碼ActRIIA多肽之DNA序列。此等適用之表現控制序列包括例如SV40之早期及晚期啟動子、tet啟動子、腺病毒或細胞巨大病毒立即早期啟動子、RSV啟動子、lac系統、trp系統、TAC或TRC系統、表現藉由T7核糖核酸聚合酶引導之T7啟動子、噬菌體 λ 之主要操縱子及啟動子區域、fd鞘蛋白之控制區域、3-磷酸甘油酸激酶或其他糖分解酶之啟動子、酸性磷酸酶之啟動子(例如Pho5)、酵母 α -交配因子之啟動子、桿狀病毒系統及已知控制原核或真核細胞或其病毒基因之表現之其他序列的多面體啟動子及其各種組合。應理解表現載體之設計可視諸如欲轉型之宿主細胞之選擇及/或需要表現之蛋白質之類型的因素而定。此外，亦應考慮載體之

複本數、控制該複本數之能力及藉由載體(諸如抗生素標記)編碼之任何其他蛋白質之表現。

本文中提供之重組型核酸可藉由將選殖基因或其部分接合至適用於在原核細胞、真核細胞(酵母、禽類、昆蟲或哺乳動物)或兩者中表現之載體中來產生。用於產生重組型ActRIIA多肽之表現載體包括質體及其他載體。舉例而言，適合的載體包括以下類型之質體：pBR322衍生之質體、pEMBL衍生之質體、pEX衍生之質體、pBTac衍生之質體及pUC衍生之質體，其用於在原核細胞，諸如大腸桿菌中表現。

一些哺乳動物表現載體含有促進載體在細菌中繁殖之原核序列及在真核細胞中表現之一或多個真核轉錄單位兩者。pcDNA1/amp、pcDNA1/neo、pRc/CMV、pSV2gpt、pSV2neo、pSV2-dhfr、pTk2、pRSVneo、pMSG、pSVT7、pko-neo及pHyg衍生之載體為適用於轉染真核細胞之哺乳動物表現載體之實例。此等載體中之一些用來自細菌質體，諸如pBR322之序列修飾以促進在原核細胞及真核細胞中複製及抗藥性選擇。替代地，諸如牛乳頭狀瘤病毒(BPV-1)或埃-巴二氏病毒(pHEBo、pREP衍生及p205)之病毒衍生物可用於蛋白質在真核細胞中之短暫表現。其他病毒(包括反轉錄病毒)表現系統之實例可見於以下基因療法遞送系統之描述中。質體之製備及宿主生物體之轉型中使用之各種方法在此項技術中熟知。關於原核及真核細胞之其他適合的表現系統以及一般重組程序，參見Sambrook、Fritsch及Maniatis編之Molecular Cloning A Laboratory Manual, 第3版(Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001)。在一些情況下，可能需要藉由使用桿狀病毒

表現系統表現重組型多肽。此等桿狀病毒表現系統之實例包括pVL衍生之載體(諸如pVL1392、pVL1393及pVL941)、pAcUW衍生之載體(諸如pAcUW1)及pBlueBac衍生之載體(諸如含有 β -gal之pBlueBac III)。

在一個較佳實施例中，載體將經設計以在CHO細胞中產生本發明之ActRIIA多肽，諸如Pcmv-Script載體(Stratagene, La Jolla, Calif.)、pcDNA4載體(Invitrogen, Carlsbad, Calif.)及pCI-neo載體(Promega, Madison, Wis.)。如將顯而易見，個體基因構築體可用於引起個體ActRIIA多肽在於培養物中繁殖之細胞中表現例如以產生蛋白質，包括融合蛋白質或變異蛋白質，以便純化。

本發明亦係關於經包括個體ActRIIA多肽中之一或多者之編碼序列(例如SEQ ID NO:4或5)之重組型基因轉染的宿主細胞。宿主細胞可為任何原核或真核細胞。舉例而言，本文中提供之ActRIIA多肽可在細菌細胞(諸如大腸桿菌)、昆蟲細胞(例如使用桿狀病毒表現系統)、酵母或哺乳動物細胞中表現。其他適合之宿主細胞為熟習此項技術者已知。

因此，本文提供產生ActRIIA多肽之方法。舉例而言，用編碼ActRIIA多肽之表現載體轉染之宿主細胞可在合適條件下培養以允許ActRIIA多肽之表現發生。ActRIIA多肽可自細胞與含有ActRIIA多肽之培養基之混合物分泌及分離。替代地，ActRIIA多肽可以細胞質方式或在膜部分中保留且收集細胞，溶解且分離蛋白質。細胞培養物包括宿主細胞、培養基及其他副產物。用於細胞培養之適合培養基在此項技術中熟知。個體ActRIIA多肽可使用此項技術中已知之用於純化

蛋白質之技術自細胞培養基、宿主細胞或兩者分離，該等技術包括離子交換層析、凝膠過濾層析、超過濾、電泳、用對ActRIIA多肽之特定抗原決定基具有特異性之抗體免疫親和純化及用結合至與ActRIIA多肽融合之域之試劑親和純化(例如蛋白A管柱可用於純化ActRIIA-Fc融合物)。在一個較佳實施例中，ActRIIA多肽為含有促進其純化之域的融合蛋白質。在一個較佳實施例中，純化藉由一系列管柱層析步驟實現，該等步驟以任何順序包括例如以下中之三者或三者以上：蛋白質A層析、Q瓊脂糖層析、苯基瓊脂糖層析、尺寸排外層析及陽離子交換層析。純化可用病毒過濾及緩衝液更換完成。如本文中所展現，將ActRIIA-hFc蛋白質純化至如藉由尺寸排外層析所測定之>98%及如藉由SDS PAGE所測定之>95%之純度。此純度水準足以達成對小鼠中之骨骼之所需影響及在小鼠、大鼠及非人類靈長類動物中之可接受安全概況。

在另一實施例中，針對純化前導序列，諸如在重組型ActRIIA多肽之所需部分之N端處的聚-(His)/腸激酶裂解位點序列編碼之融合基因可允許藉由使用Ni²⁺金屬樹脂之親和性層析純化表現之融合蛋白質。純化前導序列可隨後藉由用腸激酶處理來隨後移除以提供純化ActRIIA多肽(例如參見Hochuli等人，(1987) *J. Chromatography* 411:177；及Janknecht等人，*PNAS USA* 88:8972)。

製造融合基因之技術已為吾人所熟知。實質上，針對不同多肽序列編碼之各種DNA片段之接合根據習知技術進行，其使用用於連接之鈍端或交錯末端、提供合適末端之限制酶消化、按需要黏端之填充、避免非所需接合之鹼性磷酸酶處理及酶促連接。在另一實施例

中，融合基因可藉由包括自動DNA合成器之習知技術合成。替代地，基因片段之PCR擴增可使用錨定引子進行，該等錨定引子在可隨後黏接以產生嵌合基因序列之兩個連續基因片段之間產生互補突出物(參見例如Current Protocols in Molecular Biology, Ausubel等人編, John Wiley & Sons: 1992)。

ActRIIA-Fc融合蛋白質可在來自pAID4載體(SV40 ori/強化子，CMV啟動子)之穩定轉染CHO-DUKX B1 1細胞中使用SEQ ID NO:9之組織纖維蛋白溶酶原前導序列表現。Fc部分為人類IgG1 Fc序列，如SEQ ID NO:7中所示。在某些實施例中，在表現後，含有之蛋白質平均具有每分子ActRIIA-Fc融合蛋白，在約1.5與2.5莫耳之間的唾液酸。

在某些實施例中，ActRIIA-Fc融合物之長血清半衰期可為在人類個體中25-32天。另外，CHO細胞表現物質可具有比針對在人類293細胞中表現之ActRIIA-hFc融合蛋白報導之親和力高的對活化素B配位體之親和力(del Re等人, J Biol Chem. 2004 Dec 17;279(51):53126-35)。另外，不希望受理論約束，使用TPA前導序列提供比其他前導序列大之產量，且不同於用天然前導表現之ActRIIA-Fc，可提供高純度之N端序列。使用天然前導序列可產生ActRIIA-Fc之各具有不同N端序列之兩個主要物種。

7.9.2 ACTRIIB之信號傳導抑制劑

如本文所用，術語「ActRIIB」係指來自任何物種之活化素受體IIB型(ActRIIB)蛋白質之家族及藉由突變誘發或其他修飾衍生自此等ActRIIB蛋白質之變異體。本文中提及ActRIIB理解為提及受體之目前

鑑定形式中之任一者。ActRIIB家族之成員通常為跨膜蛋白，其由以下構成：具有富含半胱胺酸之區域之配位體結合細胞外域、跨膜域及具有預測絲胺酸/蘇胺酸激酶活性之細胞質域。

欲用於本文所描述之組合物及方法中之ActRIIB信號傳導抑制劑包括(但不限於)活化素結合之可溶ActRIIB多肽、結合至活化素(尤其活化素A或B子單位，亦稱為 β A或 β B)且破壞ActRIIB結合之抗體、結合至ActRIIB且破壞活化素結合之抗體、針對活化素或ActRIIB結合選擇之非抗體蛋白及針對活化素或ActRIIB結合選擇之可結合至Fc域之隨機化肽。

在某些實施例中，具有活化素或ActRIIB結合活性之兩種或兩種以上不同蛋白質(或其他部分)，尤其分別阻斷I型(例如可溶I型活化素受體)及II型(例如可溶II型活化素受體)結合位點之活化素結合子可一起連接以產生抑制ActRIIB且因此可用於本文所描述之組合物及方法中之雙官能或多官能結合分子。在某些實施例中，抑制ActRIIB之活化素-ActRIIB信號傳導軸拮抗劑包括核酸適體，包括用於本文所描述之組合物及方法中之小分子及其他試劑。

(a) 包含ActRIIB多肽之ActRIIB信號傳導抑制劑

如本文所用，術語「ActRIIB多肽」係指包含ActRIIB家族成員之任何天然存在之多肽的多肽以及保留適用活性之其任何變異體(包括突變體、片段、融合物及肽模擬物形式)。舉例而言，ActRIIB多肽包括衍生自具有與ActRIIB多肽序列具有至少約80%一致性，且視情況至少85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或99%以上一致性之序列的任何已知ActRIIB受體序列的多肽。舉例而言，ActRIIB多肽可

結合於ActRIIB蛋白質及/或活化素且抑制ActRIIB蛋白質及/或活化素之功能。ActRIIB多肽之實例包括人類ActRIIB前驅體多肽(SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28)。相對於胺基酸序列描繪為SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之ActRIIB前驅體多肽(亦即人類ActRIIB前驅體多肽)，ActRIIB前驅體多肽之信號肽位於胺基酸1至18處；細胞外域位於胺基酸19至134處且潛在N-連接之糖基化位點位於胺基酸位置42及65處。編碼SEQ ID NO:16之人類ActRIIB前驅體多肽之核酸序列揭示為SEQ ID NO:19 (SEQ ID NO:19在對應於胺基酸位置64之密碼子處提供丙胺酸，但替代地可容易地由熟習此項技術者使用此項技術中已知之方法修飾以在對應於胺基酸位置64之密碼子處提供精胺酸)。關於序列之描述，參見表21。

除非另外特定指明，否則本文所描述之所有ActRIIB相關多肽之胺基酸之編號係基於SEQ ID NO:16及SEQ ID NO:28 (其僅僅在於位置64表現之胺基酸方面不同)之胺基酸編號。舉例而言，若ActRIIB多肽描述為在胺基酸位置79具有取代/突變，則應理解位置79係指衍生ActRIIB多肽之SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28中之第79個胺基酸。同樣地，若ActRIIB多肽描述為在胺基酸位置64具有丙胺酸或精胺酸，則應理解位置64係指衍生ActRIIB多肽之SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28中之第64個胺基酸。

在某些實施例中，用於本文所描述之組合物及方法中之ActRIIB信號傳導抑制劑包含具有ActRIIB之活化素結合域之多肽。在一些實施例中，ActRIIB之活化素結合域包含ActRIIB之細胞外域或其部分。在特定實施例中，ActRIIB之細胞外域或其部分可溶。ActRIIB多肽之

說明性經修飾形式揭示於美國專利申請公開案第20090005308號及第20100068215號中，其揭示內容以全文引用之方式併入本文中。

在特定實施例中，用於本文所描述之組合物及方法中之ActRIIB多肽為可溶ActRIIB多肽。術語「可溶性ActRIIB多肽」通常係指包含ActRIIB蛋白之細胞外域，包括ActRIIB蛋白之任何天然存在之細胞外域之多肽以及其任何變異體(包括突變體、片段及肽模擬物形式)。可溶性ActRIIB多肽可結合至活化素；然而，相對於GDF8/11，野生型ActRIIB蛋白不展示在結合至活化素方面之顯著選擇性。在某些實施例中，具有不同結合特性之變化形式之ActRIIB可用於本文所提供之方法中。此等變化形式揭示於例如國際專利申請公開案第WO 2006/012627號及第WO 2010/019261號中，其揭示內容以全文引用之方式併入本文中。可藉由使原生或變化ActRIIB蛋白質與第二活化素選擇性結合劑偶合來給與其對活化素之附加特異性。例示性可溶性ActRIIB多肽包括人類ActRIIB多肽(例如SEQ ID NO:17、18、23、26、27、29、30、31、32、33、36、37、42及43)之細胞外域。

已證明由Hilden等人(Blood, 1994, 83(8):2163-70)揭示之具有ActRIIB細胞外序列之Fc融合蛋白質(其在對應於ActRIIB前驅體胺基酸序列，亦即SEQ ID NO:16(本文中稱為「A64」)之胺基酸64之位置處具有丙胺酸)對活化素及GDF-11具有相對低親和力。相比之下，在ActRIIB前驅體胺基酸序列(本文中稱為「R64」)之位置64處具有精胺酸之Fc融合蛋白質對活化素及GDF-11具有低奈莫耳至高皮莫耳範圍內之親和力(參見例如美國專利申請公開案第20100068215號，其揭示內容以全文引用之方式併入本文中)。在位置64具有精胺酸之ActRIIB

前驅體胺基酸序列呈現在SEQ ID NO:28中。同樣，在某些實施例中，根據本文中所描述之組合物及方法使用之ActRIIB多肽可包含(i)對應於ActRIIB前驅體胺基酸序列之胺基酸64之位置處的丙胺酸，亦即SEQ ID NO:16；或(ii)ActRIIB前驅體胺基酸序列，亦即SEQ ID NO:28之位置64處的精胺酸。在其他實施例中，根據本文所描述之組合物及方法使用之ActRIIB多肽可包含不為在對應於ActRIIB前驅體胺基酸序列，亦即SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸64之位置處之丙胺酸或精胺酸的胺基酸。

已顯示在ActRIIB之細胞外域之C端缺失脯胺酸節降低受體對活化素之親和力(參見例如Attisano等人, Cell, 1992, 68(1):97-108)。含有SEQ ID NO:28之胺基酸20-119之ActRIIB-Fc融合蛋白(亦即SEQ ID NO:32)「ActRIIB(20-119)-Fc」相對於包括脯胺酸節區域及完整近膜域之含有SEQ ID NO:28之胺基酸20-134之ActRIIB-Fc融合蛋白(亦即SEQ ID NO:31)「ActRIIB(20-134)-Fc」，具有降低之與GDF-11及活化素之結合。然而，含有SEQ ID NO:28之胺基酸20-129之ActRIIB-Fc融合蛋白質「ActRIIB(20-129)-Fc」相對於ActRIIB之未截短細胞外域保留類似但略微降低之活性，儘管脯胺酸節區域經破壞。因此，包含在SEQ ID NO:28 (或SEQ ID NO:16)之胺基酸134、133、132、131、130及129處終止之細胞外域之ActRIIB多肽均預期為活性，但在胺基酸134或133處終止之構築體可為活性最強。類似地，在殘基129-134中之任一者處之突變不預期藉由較大邊緣改變配位體結合親和力，如藉由SEQ ID NO:28之P129及P130之突變不實質上減少配位體結合之事實所指示。因此，根據本文所描述之方法及組合物使用之ActRIIB

多肽可早在SEQ ID NO:28 (或SEQ ID NO:16)之胺基酸109 (亦即最終半胱胺酸)終止，然而，在SEQ ID NO:28 (或SEQ ID NO:16)之胺基酸位置109及119處或之間終止之形式預期具有降低之配位體結合能力。

SEQ ID NO:16及SEQ ID NO:28之胺基酸29代表ActRIIB前驅體序列中之初始半胱胺酸。吾人預期在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之N端之胺基酸29處或在此等胺基酸位置之前開始之ActRIIB多肽將保留配位體結合活性。在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之位置24處之丙胺酸至天冬醯胺突變在不實質上影響配位體結合之情況下引入N連接糖基化序列。此證實對應於SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸20-29之在信號裂解肽與半胱胺酸交聯區域之間的區域中之突變充分耐受。特定言之，在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸位置20、21、22、23及24處開始之ActRIIB多肽將保留活性，且在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸位置25、26、27、28及29處開始之ActRIIB多肽亦預期保留活性。在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸位置22、23、24或25處開始之ActRIIB多肽將具有最大活性。

綜合而言，欲根據本文所描述之方法及組合物使用之ActRIIB前驅蛋白(亦即SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28)之活性部分(亦即ActRIIB多肽)將一般包含SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸29-109，且此等ActRIIB多肽可例如在對應於SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸19-29中之任一者之殘基處開始且在對應於SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸109-134中之任一者之位置處終止。本文涵蓋之ActRIIB多肽之特定實例包括在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之19-29、20-29或21-29之胺基酸位置處開始且在SEQ ID NO:16或SEQ ID

NO:28之119-134、119-133或129-134、129 133之胺基酸位置處終止之彼等多肽。本文涵蓋之ActRIIB多肽之其他特定實例包括在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之20-24 (或21-24或22-25)之胺基酸位置處開始且在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之109-134 (或109-133)、119-134 (或119-133)或129-134 (或129-133)之胺基酸位置處終止彼等多肽。亦涵蓋屬於此等範圍內之變異型ActRIIB多肽，尤其與SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之對應部分具有至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性或序列同源性之彼等多肽。

在某些實施例中，用於本文所描述之組合物及方法中之ActRIIB信號傳導抑制劑包含ActRIIB之細胞外域之截短形式。截短可在ActRIIB多肽之羧基端及/或胺基端處。在某些實施例中，相對於成熟ActRIIB多肽細胞外域，截短可為1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25個胺基酸長。在某些實施例中，截短可為成熟ActRIIB多肽細胞外域之1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25個N端胺基酸。在某些實施例中，截短可為成熟ActRIIB多肽細胞外域之1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25個C端胺基酸。舉例而言，ActRIIB之截短形式包括具有胺基酸20-119、20-128、20-129、20-130、20-131、20-132、20-133、20-134、20-131、21-131、22-131、23-131、24-131及25-131之多肽，其中胺基酸位置指在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28中之胺基酸位置。

ActRIIB之額外例示性截短形式包括(i)在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸21-29中之任一者處開始(視情況在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之22-25處開始)且在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸109-134中之任一者處結束之多肽；(ii)在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸20-29中之任一者處開始(視情況在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之22-25處開始)且在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸109-133中之任一者處結束之多肽；(iii)在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸20-24中之任一者處開始(視情況在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之22-25處開始)且在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸109-133中之任一者處結束之多肽；(iv)在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸21-24中之任一者處開始且在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸109-134中之任一者處結束之多肽；(v)在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸20-24中之任一者處開始且在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸118-133中之任一者處結束之多肽；(vi)在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸21-24中之任一者處開始且在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸118-134中之任一者處結束之多肽；(vii)在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸20-24中之任一者處開始且在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸128-133中之任一者處結束之多肽；(viii)在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸20-24中之任一者處開始且在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸128-133中之任一者處結束之多肽；(ix)在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸21-29中之任一者處開始且在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸118-134中之任一者處結束之多肽；(x)在SEQ ID

NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸20-29中之任一者處開始且在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸118-133中之任一者處結束之多肽；(xi)在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸21-29中之任一者處開始且在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸128-134中之任一者處結束之多肽；及(xii)在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸20-29中之任一者處開始且在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸128-133中之任一者處結束之多肽。在一個特定實施例中，ActRIIB多肽包含在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸位置25處開始且在SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸位置131處結束之胺基酸序列、基本上由該胺基酸序列組成或由該胺基酸序列組成。在另一特定實施例中，ActRIIB多肽由SEQ ID NO:17、18、23、26、27、29、30、31、32、33、36、37、42或43之胺基酸序列組成或基本上由該胺基酸序列組成。

本文中所揭示之ActRIIB多肽中之任一者可以均二聚體形式產生。本文中所揭示之ActRIIB多肽中之任一者可以具有異源部分之融合蛋白質形式調配，該異源部分包含來自IgG重鏈之恆定區，諸如Fc域。本文中所揭示之ActRIIB多肽中之任一者可包含對應於SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之位置79之位置處的酸性胺基酸，視情況與相對於SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之一或多個其他胺基酸取代、缺失或插入組合。

在特定實施例中，用於本文所描述之組合物及方法中之ActRIIB信號傳導抑制劑包含具有一或多個胺基酸取代/突變之ActRIIB之細胞外域。此類胺基酸取代/突變可為例如自SEQ ID NO:16或SEQ ID

NO:28之胺基酸位置79處之白胺酸交換為酸性胺基酸，諸如天冬胺酸或麩胺酸。舉例而言，SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之位置L79可在ActRIIB細胞外域多肽中改變以賦予改變之活化素-肌肉抑制素(GDF-11)結合特性。與活化素結合相比L79A及L79P突變在更大程度上減少GDF-11結合。L79E及L79D突變保留GDF-11結合，同時展現極大減少之活化素結合。

在某些實施例中，本文中所描述之組合物及方法中使用之ActRIIB信號傳導抑制劑包含ActRIIB細胞外域之截短形式，其亦具有胺基酸取代，例如SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸位置79處之白胺酸換成酸性胺基酸，諸如天冬胺酸或麩胺酸。在一個特定實施例中，用於本文所描述之組合物及方法中之亦攜帶胺基酸取代之ActRIIB多肽之細胞外域的截短形式為SEQ ID NO:23。截短及/或具有一或多個胺基酸取代之ActRIIB之形式可連接至如上文所論述之抗體之Fc域。

ActRIIB多肽之功能活性片段可例如藉由篩選以重組方式由編碼ActRIIB多肽之核酸之對應片段產生之多肽獲得。此外，片段可使用此項技術中已知之技術，諸如習知梅里菲爾德固相f-Moc或t-Boc化學方法來化學合成。片段可經產生(以重組方式或藉由化學合成)且測試以鑑定可充當ActRIIB蛋白或藉由活化素介導之信號傳導之拮抗劑(抑制劑)的彼等肽基片段。

此外，ActRIIB多肽之功能活性變異體可例如藉由篩選以重組方式由編碼ActRIIB多肽之對應誘變核酸產生之經修飾之多肽之文庫獲得。變異體可經產生且測試以鑑定可充當ActRIIB蛋白或藉由活化素

介導之信號傳導之拮抗劑(抑制劑)之彼等者。在某些實施例中，ActRIIB多肽之功能性變異體包含與選自SEQ ID NO:17、18、23、26、27、29、30、31、32、33、36、37、42及43之胺基酸序列具有至少75%一致性之胺基酸序列。在某些實施例中，功能性變異體具有與選自SEQ ID NO:17、18、23、26、27、29、30、31、32、33、36、37、42及43之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性之胺基酸序列。

功能性變異體可例如藉由出於諸如增強治療功效或穩定性(例如離體存放期及活體內對蛋白水解降解之耐受性)的目的修飾ActRIIB多肽之結構產生。當經選擇以保留活化素結合時將此類經修飾之ActRIIB多肽認為天然存在之ActRIIB多肽之功能等效物。經修飾之ActRIIB多肽亦可例如藉由胺基酸取代、缺失或添加產生。舉例而言，期望用異白胺酸或纈胺酸獨立置換白胺酸，用麩胺酸鹽置換天冬胺酸鹽、用絲胺酸置換蘇胺酸或用結構上相關胺基酸類似置換胺基酸(例如保守性突變)將不對所得分子之生物活性具有主要影響為合理的。保守性置換為在其側鏈中相關之胺基酸家族內進行的彼等置換。ActRIIB多肽之胺基酸序列變化是否產生功能同源物可容易地藉由評估變異ActRIIB多肽以類似於野生型ActRIIB多肽之方式在細胞中產生反應之能力確定。

本文中提供產生突變體，尤其ActRIIB多肽之組合突變體集合以及截短突變體之方法；組合突變體之池尤其適用於鑑定功能變異體序列。篩選此等組合庫之目的可為產生例如可充當促效劑或拮抗劑，或替代地一起具有新穎活性之ActRIIB多肽變異體。

已展現 ActRIIB 之配位體結合袋藉由 SEQ ID NO:16 或 SEQ ID NO:28 之殘基 Y31、N33、N35、L38 至 T41、E47、E50、Q53 至 K55、L57、H58、Y60、S62、K74、W78 至 N83、Y85、R87、A92 及 E94 至 F101 限定。在此等位置處，吾人預期保守性突變將耐受，儘管 K74A 突變充分耐受，如同在位置 L79 處之 R40A、K55A、F82A 及突變。R40 為爪蟾屬 (*Xenopus*) 中之 K，指示此位置處之鹼性胺基酸將耐受。Q53 為牛 ActRIIB 中之 R 及非洲爪蟾屬 ActRIIB 中之 K，且因此包括 R、K、Q、N 及 H 之胺基酸將在此位置處耐受。因此，用於本文所描述之方法及組合物中之 ActRIIB 多肽之通式為包含 SEQ ID NO:16 或 SEQ ID NO:28 之胺基酸 29-109，但視情況在 SEQ ID NO:16 或 SEQ ID NO:28 之 20-24 或 22-25 範圍內之胺基酸位置處開始且在 SEQ ID NO:16 或 SEQ ID NO:28 之 129-134 範圍內之胺基酸位置處結束，且在配位體結合袋中包含不超過 1、2、5 或 15 個保守性胺基酸變化及在配位體結合袋中在 SEQ ID NO:16 或 SEQ ID NO:28 之胺基酸位置 40、53、55、74、79 及/或 82 處包含零、一或多個非保守性變化之通式。此類 ActRIIB 多肽可保留與 SEQ ID NO:16 或 SEQ ID NO:28 之胺基酸 29-109 之序列的大於 80%、90%、95% 或 99% 序列一致性或序列同源性。變異性可尤其充分耐受之在結合袋外之位點包括 ActRIIB 之細胞外域之胺基及羧基端及位置 42-46 及 65-73。在 SEQ ID NO:16 或 SEQ ID NO:28 之位置 65 處之天冬醯胺至丙胺酸改變 (N65A) 實際上改善在 A64 背景中之配位體結合，且因此預期對 R64 背景中之配位體結合不具有有害影響。此變化可能消除在 A64 背景中在 N65 處之糖基化，因此展現可能耐受此區域中之顯著變化。雖然 R64A 變化經不佳地耐受，R64K 經充分耐受，且

因此另一鹼性殘基，諸如H可能在位置64處耐受。

作為在配位體結合域中具有突變之ActRIIB多肽之一特定實例，ActRIIB之配位體結合域之帶正電荷胺基酸殘基Asp (D80)可突變成不同胺基酸殘基以使得變異ActRIIB多肽優先結合於GDF8而非活化素。在一特定實施例中，使D80殘基變為選自由以下組成之群的胺基酸殘基：不帶電胺基酸殘基、負性胺基酸殘基及疏水性胺基酸殘基。作為另一特定實例，疏水性殘基L79可變為酸性胺基酸天冬胺酸或麩胺酸以極大地減少活化素結合同時保留GDF11結合。如熟習此項技術者將認識到，大多數所描述之突變、變異或修飾可在核酸層級下或在一些情況下，藉由轉譯後修飾或化學合成進行。此類技術為此項技術中熟知。

在特定實施例中，本文中所描述之組合物及方法中使用之ActRIIB信號傳導抑制劑包含結合物/融合蛋白質，其包含連接至抗體之Fc部分之ActRIIB受體之細胞外域(例如活化素結合域)。此類結合物/融合蛋白質可包含本文中所揭示之ActRIIB多肽中之任一者(例如SEQ ID NO:17、18、23、26、27、29、30、31、32、33、36、37、42或43中之任一者)、此項技術中已知之任何ActRIIB多肽或使用此項技術中已知及/或本文中提供之方法產生之任何ActRIIB多肽。

在某些實施例中，細胞外域經由連接子，例如肽連接子連接至抗體之Fc部分。例示性連接子包括短多肽序列，諸如2-10、2-5、2-4、2-3個胺基酸殘基(例如甘胺酸殘基)，諸如Gly-Gly-Gly連接子。在一特定實施例中，連接子包含胺基酸序列Gly-Gly-Gly (GGG)。在另一特定實施例中，連接子包含胺基酸序列Thr-Gly-Gly-Gly (TGGG)。

視情況，Fc域在殘基處具有一或多種突變，諸如Asp-265、離胺酸322及Asn-434。在某些情況下，具有此等突變(例如天冬胺酸-265突變)中之一或多者之突變型Fc域與野生型Fc域相比具有降低之結合於Fc γ 受體之能力。在其他情況下，具有此等突變(例如Asn-434突變)中之一或多者之突變型Fc域與野生型Fc域相比具有增加之結合於I類MHC相關之Fc受體(FcRN)之能力。包含與Fc域融合之ActRIIB之可溶細胞外域的例示性融合蛋白闡述於SEQ ID NO:20、21、24、25、34、35、38、39、40、41、44、46及47中。

在一特定實施例中，用於本文所描述之組合物及方法中之ActRIIB信號傳導抑制劑包含連接至抗體之Fc部分的ActRIIB之細胞外域或其部分，其中該ActRIIB信號傳導抑制劑包含與選自SEQ ID NO:20、21、24、25、34、35、38、39、40、41、44、46及47之胺基酸序列具有至少75%一致性的胺基酸序列。在另一特定實施例中，用於本文所描述之組合物及方法中之ActRIIB信號傳導抑制劑包含連接至抗體之Fc部分的ActRIIB之細胞外域或其部分，其中該ActRIIB信號傳導抑制劑包含與選自SEQ ID NO:20、21、24、25、34、35、38、39、40、41、44、46及47之胺基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致性的胺基酸序列。

在一特定實施例中，欲用於本文所描述之組合物及方法中之ActRIIB信號傳導抑制劑為人類ActRIIB受體之細胞外域與IgG1之Fc部分之間的融合蛋白質。在另一特定實施例中，欲用於本文所描述之組合物及方法中之ActRIIB信號傳導抑制劑為人類ActRIIB受體之截短細胞外域與IgG1之Fc部分之間的融合蛋白質。在另一特定實施例中，欲

用於本文所描述之組合物及方法中之ActRIIB信號傳導抑制劑為人類ActRIIB受體之截短細胞外域與IgG1之Fc部分之間的融合蛋白質，其中人類ActRIIB受體之截短細胞外域擁有在對應於SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸79之胺基酸位置處的胺基酸取代。在一個實施例中，在對應於SEQ ID NO:16或SEQ ID NO:28之胺基酸79之胺基酸位置處的胺基酸取代為用白胺酸取代天冬胺酸(亦即L79D突變)。

在一個特定實施例中，欲用於本文所描述之組合物及方法中之ActRIIB信號傳導抑制劑為SEQ ID NO:24或25，其表示人類ActRIIB受體之細胞外域與IgG1之Fc部分之間的融合蛋白質，其中該ActRIIB細胞外域包含具有L79D突變之SEQ ID NO:28之胺基酸25-131。編碼SEQ ID NO:24之ActRIIB-Fc融合蛋白之核酸序列呈現在SEQ ID NO:45中。

在另一特定實施例中，欲用於本文所描述之組合物及方法中之ActRIIB信號傳導抑制劑為SEQ ID NO:34或35，其表示人類ActRIIB受體之細胞外域與IgG1之Fc部分之間的融合蛋白，其中該ActRIIB細胞外域包含具有L79D突變之SEQ ID NO:16之胺基酸25-131。

天冬醯胺連接之糖基化識別位點一般包含藉由合適細胞糖基化酶特異性識別之三肽序列，天冬醯胺-X-蘇胺酸(或天冬醯胺-X-絲胺酸)(其中「X」為任何胺基酸)。改變亦可藉由添加一或多個絲胺酸或蘇胺酸殘基或藉由一或多個絲胺酸或蘇胺酸殘基取代至野生型ActRIIB多肽之序列(對於O連接之糖基化位點)進行。在糖基化識別位點之第一或第三胺基酸位置中之一者或兩者處的多種胺基酸取代或缺失(及/或在第二位置處之胺基酸缺失)引起在經修飾之三肽序列處之非

糖基化。增加ActRIIB多肽上碳水化合物部分之數目的另一方式為藉由醣苷與ActRIIB多肽之化學或酶促偶合。取決於所使用之偶合模式，糖可連接至(a)精胺酸及組胺酸；(b)游離羧基；(c)游離硫氫基，諸如半胱胺酸之游離硫氫基；(d)游離羥基，諸如絲胺酸、蘇胺酸或羥脯胺酸之游離羥基；(e)芳族殘基，諸如苯丙胺酸、酪胺酸或色胺酸之芳族殘基；或(f)麩醯胺酸之醯胺基。此等方法描述於1987年9月11日公開之國際專利申請案第WO 87/05330號及Aplin及Wriston (1981) *CRC Crit. Rev. Biochem.*, 第259-306頁中，其以引用之方式併入本文中。存在於ActRIIB多肽上之一或多個碳水化合物部分之移除可以化學方式及/或以酶促方式實現。化學去糖基化可涉及例如使ActRIIB多肽暴露於化合物三氟甲磺酸或等效化合物。此處理使得除連接糖(N-乙醯基葡萄糖胺糖或N-乙醯基半乳胺糖)外之大多數或所有糖裂解，而保持胺基酸序列完整。化學去糖基化由Hakimuddin等人, (1987) *Arch. Biochem. Biophys.* 259:52及由Edge等人, (1981) *Anal. Biochem.* 118:131進一步描述。ActRIIB多肽上碳水化合物部分之酶促裂解可藉由使用如由Thotakura等人(1987) *Meth. Enzymol.* 138:350所描述之各種內醣苷酶及外醣苷酶來達成。ActRIIB多肽之序列可按需要視使用之表現系統類型而調整，因為哺乳動物、酵母、昆蟲及植物細胞可均引入可受肽之胺基酸序列影響之不同糖基化模式。通常，用於人類之ActRIIB蛋白將在提供適當糖基化之哺乳動物細胞株，諸如HEK293或CHO細胞株中表現，儘管其他表現系統，諸如其他哺乳動物表現細胞株、具有工程改造糖基化酶之酵母細胞株及昆蟲細胞預期同樣適用。

在特定實施例中，本文中涵蓋突變型 ActRIIB 多肽，其包含與 ActRIIB (R64)-Fc 形式相比添加另一個增加 ActRIIB-Fc 融合蛋白質之血清半衰期的 N-連接之糖基化位點(N-X-S/T)。在一特定實施例中，在 SEQ ID NO:16 或 SEQ ID NO:28 之位置 24 處引入天冬醯胺(A24N)使得產生賦予較長半衰期之 NXT 序列。其他 NX(T/S) 序列可在 42-44 (NQS) 及 65-67 (NSS) 處發現，儘管後者可能用位置 64 處之 R (亦即在 R64 多肽中) 不有效地糖基化。N-X-S/T 序列可一般在以上詳述之 ActRIIB 之配位體結合袋外的位置處引入。用於引入非內源 N-X-S/T 序列之尤其適合之位點包括 SEQ ID NO:16 或 SEQ ID NO:28 之胺基酸 20-29、20-24、22-25、109-134、120-134 或 129-134。N-X-S/T 序列亦可引入 ActRIIB 序列與 Fc 或其他融合物組分之間的連接子中。此類位點可以最少努力藉由在相對於預先存在之 S 或 T 之正確位置中引入 N 或藉由在對應於預先存在之 N 之位置處引入 S 或 T 引入。因此，將產生 N 連接之糖基化位點之所需變化為 A24N、R64N、S67N (可能與 N65A 變化組合)、E106N、R112N、G120N、E123N、P129N、A132N、R112S 及 R112T (其中所有胺基酸位置對應於可在 SEQ ID NO:16 或 SEQ ID NO:28 中發現其之位置)。由於糖基化提供之保護，預期經糖基化之任何 S 可在不產生免疫原性位點之情況下改變成 T。同樣地，預期待糖基化之任何 T 可改變成 S。因此，本文中涵蓋變化 S67T 及 S44T。同樣地，在 A24N 變異體中，可使用 S26T 變化。因此，ActRIIB 多肽可包括一或多個額外、非內源 N-連接之糖基化共同序列。

本文中提供多種篩選分析，且此類分析可用於評估 ActRIIB 多肽變異體。舉例而言，可針對結合至 ActRIIB 配位體、防止 ActRIIB 配位

體與ActRIIB多肽之結合或干擾由ActRIIB配位體所引起之信號傳導之能力篩選ActRIIB多肽變異體。ActRIIB多肽或其變異體之活性亦可在基於細胞之分析或活體內分析中測試。

可產生相對於天然存在之ActRIIB多肽，具有選擇性或一般增加之效能的組合衍生變異體。同樣地，突變誘發可產生具有與對應野生型ActRIIB多肽顯著不同之細胞內半衰期之變異體。舉例而言，可使改變之蛋白質對蛋白水解降解或導致天然ActRIIB多肽之破壞或者失活之其他細胞過程較穩定或較不穩定。此等變異體及編碼其之基因可用於藉由調節ActRIIB多肽之半衰期改變ActRIIB多肽含量。舉例而言，短半衰期可產生更短暫生物影響且可允許較緊密控制個體內之重組ActRIIB多肽含量。在Fc融合蛋白質中，突變可在連接子(若存在)及/或Fc部分中進行以改變蛋白質之半衰期。

組合庫可藉助於編碼各包括至少一部分潛在ActRIIB多肽序列之多肽庫之基因之簡併庫產生。舉例而言，可將合成寡核苷酸之混合物以酶促方式接合至基因序列中使得簡併組之潛在ActRIIB多肽核苷酸序列可作為個別多肽，或替代地作為一組較大融合蛋白質(例如用於噬菌體呈現)表現。

存在許多可由簡併寡核苷酸序列產生潛在同源物庫之方式。簡併基因序列之化學合成可在自動DNA合成器中進行，且合成基因隨後接合至合適載體中以便表現。簡併寡核苷酸之合成在此項技術中眾所周知(參見例如Narang, S A (1983) *Tetrahedron* 39:3; Itakura等人, (1981) *Recombinant DNA, Proc. 3rd Cleveland Sympos. Macromolecules*, AG Walton編, Amsterdam: Elsevier 第273-289頁；

Itakura等人, (1984) *Annu. Rev. Biochem.* 53:323 ; Itakura等人, (1984) *Science* 198:1056 ; Ike等人, (1983) *Nucleic Acid Res.* 11:477)。此類技術已用於其他蛋白質之定向進化(參見例如Scott等人, (1990) *Science* 249:386-390 ; Roberts等人, (1992) *PNAS USA* 89:2429-2433 ; Devlin等人, (1990) *Science* 249: 404-406 ; Cwirla等人, (1990) *PNAS USA* 87: 6378-6382 ; 以及美國專利第 5,223,409 號、第 5,198,346 號及第 5,096,815 號)。

或者，可利用其他形式之突變誘發產生組合庫。舉例而言，ActRIIB多肽變異體可藉由使用例如丙胺酸掃描突變誘發及其類似技術篩選(Ruf等人, (1994) *Biochemistry* 33:1565-1572 ; Wang等人, (1994) *J. Biol. Chem.* 269:3095-3099 ; Balint等人, (1993) *Gene* 137:109-118 ; Grodberg等人, (1993) *Eur. J. Biochem.* 218:597-601 ; Nagashima等人, (1993) *J. Biol. Chem.* 268:2888-2892 ; Lowman等人, (1991) *Biochemistry* 30:10832-10838 ; 及Cunningham等人, (1989) *Science* 244:1081-1085)、藉由連接子掃描突變誘發(Gustin等人, (1993) *Virology* 193:653-660 ; Brown等人, (1992) *Mol. Cell Biol.* 12:2644-2652 ; McKnight等人, (1982) *Science* 232:316)、藉由飽和突變誘發(Meyers等人, (1986) *Science* 232:613)、藉由PCR突變誘發(Leung等人, (1989) *Method Cell Mol Biol* 1:11-19)或藉由隨機突變誘發，包括化學突變誘發等(Miller等人, (1992) *A Short Course in Bacterial Genetics*, CSHL Press, Cold Spring Harbor, N.Y. ; 及Greener等人, (1994) *Strategies in Mol Biol* 7:32-34)產生及自庫分離。連接子掃描突變誘發(尤其在組合設置中)為鑑定截短(生物活性)形式之

ActRIIB多肽之有吸引力的方法。

此項技術中已知各種用於篩選藉由點突變及截短製造之組合庫之基因產物，且就此而言用於針對具有某一特性之基因產物篩選cDNA庫的技術。此類技術將一般適合於快速篩選藉由ActRIIB多肽之組合突變誘發產生之基因庫。篩選大型基因庫之最廣泛使用之技術通常包含將基因庫選殖至可複製表現載體中，用所得載體庫轉型合適細胞，且在所需活性之偵測促進編碼產物經偵測之基因之載體之相對容易分離的條件下表現組合基因。較佳分析包括活化素結合分析及活化素介導之細胞信號傳導分析。

在某些實施例中，ActRIIB多肽可進一步包含除任何天然存在於ActRIIB多肽中之修飾以外的轉譯後修飾。此類修飾包括(但不限於)乙醯化、羧化、糖基化、磷酸化、脂質化及醯化。因此，經修飾之ActRIIB多肽可含有非胺基酸要素，諸如聚乙二醇、脂質、多醣或單醣及磷酸鹽。此等非胺基酸要素對ActRIIB多肽之功能性之影響可藉由熟習此項技術者已知之任何方法測試。當ActRIIB多肽在細胞中藉由裂解新生形式之ActRIIB多肽產生時，轉譯後處理亦可對於蛋白質之適當摺疊及/或功能重要。不同細胞(諸如CHO、HeLa、MDCK、293、W138、NIH-3T3或HEK293)對於此等轉譯後活性具有特定細胞機制及特徵機制且可經選擇以確保ActRIIB多肽之正確修飾及處理。

在某些態樣中，ActRIIB多肽之功能變異體或經修飾之形式包括具有至少一部分ActRIIB多肽及一或多個融合域之融合蛋白。此等融合域之熟知實例包括(但不限於)聚組胺酸、Glu-Glu、麩胱甘肽S轉移酶(GST)、硫氧還原蛋白、蛋白質A、蛋白質G、免疫球蛋白重鏈恆定

區(Fc)、麥芽糖結合蛋白(MBP)或人類血清白蛋白。融合域可經選擇以便賦予所需特性。舉例而言，一些融合域特別適用於藉由親和性層析法分離融合蛋白質。出於親和純化之目的，使用用於親和性層析法之相關基質，諸如麩胱甘肽、澱粉酵素及鎳或鈷結合樹脂。許多此等基質可以「套組」形式獲得，諸如對(HIS6)融合搭配物適用之Pharmacia GST純化系統及QIAexpress™系統(Qiagen)。作為另一實例，融合域可經選擇以便促進ActRIIB多肽之偵測。此等偵測域之實例包括各種螢光蛋白質(例如GFP)以及「抗原決定基標籤」，其通常為特異性抗體可用之短肽序列。特異性單株抗體容易可用之熟知抗原決定基標籤包括FLAG、流感病毒血球凝集素(HA)及c-myc標籤。在一些情況下，融合域具有蛋白酶裂解位點(諸如用於因子Xa或凝血酶)，其允許相關蛋白酶部分消化融合蛋白且藉此自其釋放重組型蛋白質。釋放之蛋白質可隨後藉由隨後層析分離自融合域分離。在某些較佳實施例中，ActRIIB多肽與活體內穩定ActRIIB多肽之域(「穩定劑」域)融合。「穩定」意謂增加血清半衰期，不論此是否由於破壞減少、腎臟清除率降低或其他藥物動力學影響之任何者。與免疫球蛋白之Fc部分融合已知賦予各種蛋白質所需藥物動力學特性。同樣地，與人類血清白蛋白融合可賦予所需特性。可選擇之其他類型之融合域包括多聚化(例如二聚、四聚)域及功能域(賦予額外生物功能，諸如視需要進一步刺激骨骼生長或肌肉生長)。

應瞭解融合蛋白質之不同要素可以符合所需功能性之任何方式配置。舉例而言，ActRIIB多肽可針對異源域經置放C端，或替代地異源域可針對ActRIIB多肽經置放C端。ActRIIB多肽域及異源域在融合

蛋白中無需相鄰，且額外域或胺基酸序列可經包括C端或N端至任一域或域之間。

在某些實施例中，ActRIIB多肽含有能夠使ActRIIB多肽穩定之一或多種修飾。舉例而言，此等修飾增強ActRIIB多肽之活體外半衰期，增強ActRIIB多肽之循環半衰期或減少ActRIIB多肽之蛋白水解降解。此等穩定修飾包括(但不限於)融合蛋白(包括例如包含ActRIIB多肽及穩定劑域之融合蛋白)、修飾糖基化位點(包括例如添加糖基化位點至ActRIIB多肽)及修飾碳水化合物部分(包括例如自ActRIIB多肽移除碳水化合物部分)。在融合蛋白質之情況下，ActRIIB多肽融合至穩定劑域，諸如IgG分子(例如Fc域)。如本文中所未使用，術語「穩定劑域」不僅指融合域(例如Fc)，如在融合蛋白質之情況下，且亦包括非蛋白性修飾，諸如碳水化合物部分，或非蛋白性聚合物，諸如聚乙二醇。

在某些實施例中，自其他蛋白質分離或者實質上不含其他蛋白質之分離及/或純化形式之ActRIIB多肽可與本文所描述之方法及組合物一起使用。ActRIIB多肽將一般藉由自重組型核酸表現產生。

在某些態樣中，本文中提供編碼ActRIIB多肽(例如可溶性ActRIIB多肽)中之任一者之經分離及/或重組型核酸，包括本文中所揭示之片段、功能性變異體及融合蛋白質。舉例而言，SEQ ID NO:19編碼天然存在之人類ActRIIB前驅體多肽。個體核酸可為單股或雙股。此類核酸可為DNA或RNA分子。此等核酸可例如用於製造ActRIIB多肽之方法中或用作直接治療劑(例如在基因治療方法中)。

在某些態樣中，應進一步理解，編碼ActRIIB多肽之核酸包括作

為SEQ ID NO:19之變異體之核酸以及編碼可溶性ActRIIB多肽之此等核酸序列(例如編碼SEQ ID NO:17、18、23、26、27、29、30、31、32、33、36、37、42及43之核酸)之變異體。變異核苷酸序列包括相差一或多個核苷酸取代、添加或缺失之序列，諸如對偶基因變異體。

在某些實施例中，可使用之經分離或重組型核酸序列與SEQ ID NO:19或編碼可溶性ActRIIB多肽之核酸序列(例如編碼SEQ ID NO:17、18、23、26、27、29、30、31、32、33、36、37、42及43之核酸)具有至少80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%或100%一致性。一般熟習此項技術者將瞭解，與SEQ ID NO:19或編碼可溶性ActRIIB多肽之此等核酸序列(例如編碼SEQ ID NO:17、18、23、26、27、29、30、31、32、33、36、37、42及43之核酸)及SEQ ID NO:19或編碼可溶性ActRIIB多肽之此等核酸序列(例如編碼SEQ ID NO:17、18、23、26、27、29、30、31、32、33、36、37、42及43之核酸)之變異體互補的核酸序列可與本文中所描述之方法及組合物一起使用。在其他實施例中，核酸序列可分離、重組及/或與異源核苷酸序列融合或在DNA庫中。

在其他實施例中，可使用之核酸亦包括在高嚴格度條件下與SEQ ID NO:19中指定之核苷酸序列或編碼可溶性ActRIIB多肽之此等核酸序列(例如編碼SEQ ID NO:17、18、23、26、27、29、30、31、32、33、36、37、42及43之核酸)、SEQ ID NO:19或編碼可溶性ActRIIB多肽之此等核酸序列(例如編碼SEQ ID NO:17、18、23、26、27、29、30、31、32、33、36、37、42及43之核酸)之補體序列雜交的核苷酸序列或其片段。如上文所論述，一般熟習此項技術者將易於理解，促

進DNA雜交之適合的嚴格度條件可變化。一般熟習此項技術者應理解可改變促進DNA雜交之合適嚴格條件。舉例而言，吾人可在約攝氏45度下在 $6.0 \times$ 氯化鈉/檸檬酸鈉(SSC)下進行雜交，接著在攝氏50度下進行 $2.0 \times$ SSC之洗滌。舉例而言，洗滌步驟中之鹽濃度可選自在攝氏50度下約 $2.0 \times$ SSC之低嚴格度至在攝氏50度下約 $0.2 \times$ SSC 之高嚴格度。此外，洗滌步驟中之溫度可自在室溫(約攝氏22度)下之低嚴格度條件增加至在約攝氏65度下之高嚴格度條件。可改變溫度及鹽兩者，或溫度或鹽濃度可保持恆定，而改變另一變數。在一個實施例中，在室溫下在 $6 \times$ SSC之低嚴格度條件下雜交，接著在室溫下在 $2 \times$ SSC下洗滌之核酸可與本文所描述之方法及組合物一起使用。

歸因於基因密碼中之簡併，亦可使用與如SEQ ID NO:19中所闡述之核酸或編碼可溶性ActRIIB多肽之此等核酸序列(例如編碼SEQ ID NO: 17、18、23、26、27、29、30、31、32、33、36、37、42及43之核酸)不同的經分離之核酸。舉例而言，藉由一種以上三重態指定多種胺基酸。指定相同胺基酸之密碼子或同義語(例如CAU及CAC為組胺酸之同義語)可引起不影響蛋白質之胺基酸序列之「靜默」突變。然而，吾人預期引起本發明蛋白質之胺基酸序列改變之DNA序列多形現象將存在於哺乳動物細胞中。熟習此項技術者將瞭解編碼特定蛋白質之核酸之一或多種核苷酸(多達約3-5%之核苷酸)之此等變異可由於天然對偶基因變異存在於給定物種之個體中。任何及所有此等核苷酸變異及所得胺基酸多形現象可與本文所描述之方法及組合物一起使用。

在某些實施例中，重組型核酸可操作地連接於表現構築體中

之一或多個調節核苷酸序列。調節核苷酸序列將一般適合於用於表現之宿主細胞。對於多種宿主細胞，此項技術中已知許多類型之合適表現載體及適合調節序列。通常該一或多個調節核苷酸序列可包括(但不限於)啟動子序列、前導或信號序列、核糖體結合位點、轉錄起始及終止序列、轉譯起始及終止序列及強化子或活化因子序列。如此項技術中已知之組成性或誘導性啟動子可與本文所描述之方法及組合物一起使用。啟動子可為天然存在之啟動子，或組合一種以上啟動子之元件之混合啟動子。表現構築體可存在於細胞中游離基因體(諸如質體)上，或表現構築體可插入染色體中。在一個較佳實施例中，表現載體含有可選擇標記基因以允許選擇經轉型宿主細胞。可選擇標記基因為此項技術中熟知且將隨使用之宿主細胞變化。

在某些態樣中，在包含編碼ActRIIB多肽且可操作地連接於至少一個調節序列之核苷酸序列之表現載體中提供本發明之核酸。調節序列為此項技術中公認的且經選擇以引導ActRIIB多肽之表現。因此，術語調節序列包括啟動子、強化子及其他表現控制元件。例示性調節序列描述於Goeddel; Gene Expression Technology: Methods in Enzymology, Academic Press, San Diego, Calif. (1990)中。舉例而言，當可操作地連接於DNA序列時控制其表現之廣泛多種表現控制序列中之任一者可在等載體中使用以表現編碼ActRIIB多肽之DNA序列。此類適用之表現控制序列包括例如SV40之早期及晚期啟動子、tet啟動子、腺病毒或細胞巨大病毒立即早期啟動子、RSV啟動子、lac系統、trp系統、TAC或TRC系統、表現藉由T7核糖核酸聚合酶引導之T7啟動子、噬菌體 λ 之主要操縱子及啟動子區域、fd鞘蛋白之控制區

域、3-磷酸甘油酸激酶或其他糖分解酶之啟動子、酸性磷酸酶之啟動子(例如Pho5)、酵母 α -交配因子之啟動子、桿狀病毒系統及已知控制原核或真核細胞或其病毒基因之表現之其他序列的多面體啟動子及其各種組合。應理解表現載體之設計可視諸如欲轉型之宿主細胞之選擇及/或需要表現之蛋白質之類型的因素而定。此外，亦應考慮載體之複本數、控制該複本數之能力及藉由載體(諸如抗生素標記)編碼之任何其他蛋白質之表現。

重組型核酸可藉由將選殖基因或其部分接合至適用於在原核細胞、真核細胞(酵母、禽類、昆蟲或哺乳動物)或兩者中表現之載體中來產生。用於產生重組型ActRIIB多肽之表現載體包括質體及其他載體。舉例而言，適合的載體包括以下類型之質體：pBR322衍生之質體、pEMBL衍生之質體、pEX衍生之質體、pBTac衍生之質體及pUC衍生之質體，其用於在原核細胞，諸如大腸桿菌中表現。

一些哺乳動物表現載體含有促進載體在細菌中繁殖之原核序列及在真核細胞中表現之一或多個真核轉錄單位兩者。pcDNA1/amp、pcDNA1/neo、pRc/CMV、pSV2gpt、pSV2neo、pSV2-dhfr、pTk2、pRSVneo、pMSG、pSVT7、pko-neo及pHyg衍生之載體為適用於轉染真核細胞之哺乳動物表現載體之實例。此等載體中之一些用來自細菌質體，諸如pBR322之序列修飾以促進在原核細胞及真核細胞中複製及抗藥性選擇。替代地，諸如牛乳頭狀瘤病毒(BPV-1)或埃-巴二氏病毒(pHEBo、pREP衍生及p205)之病毒衍生物可用於蛋白質在真核細胞中之短暫表現。其他病毒(包括反轉錄病毒)表現系統之實例可見於以下基因療法遞送系統之描述中。質體之製備及宿主生物體之轉型中使

用之各種方法在此項技術中熟知。關於原核及真核細胞之其他適合的表現系統以及一般重組程序，參見Sambrook、Fritsch及Maniatis編之Molecular Cloning A Laboratory Manual, 第3版(Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001)。在一些情況下，可能需要藉由使用桿狀病毒表現系統表現重組型多肽。此等桿狀病毒表現系統之實例包括pVL衍生之載體(諸如pVL1392、pVL1393及pVL941)、pAcUW衍生之載體(諸如pAcUW1)及pBlueBac衍生之載體(諸如含有 β -gal之pBlueBac III)。

在一個較佳實施例中，載體將經設計以在CHO細胞中產生本發明之ActRIIB多肽，諸如Pcmv-Script載體(Stratagene, La Jolla, Calif.)、pcDNA4載體(Invitrogen, Carlsbad, Calif.)及pCI-neo載體(Promega, Madison, Wis.)。如將顯而易見，本發明基因構築體可用於引起本發明ActRIIB多肽在於培養物中繁殖之細胞中表現例如以產生蛋白質，包括融合蛋白或變異蛋白，以便純化。

本發明亦係關於經重組型基因轉染之宿主細胞，該重組型基因包括個體ActRIIB多肽中之一或多者之編碼序列(例如SEQ ID NO:19或編碼可溶性ActRIIB多肽之此等核酸序列(例如編碼SEQ ID NO: 17、18、23、26、27、29、30、31、32、33、36、37、42及43之核酸))。宿主細胞可為任何原核或真核細胞。舉例而言，ActRIIB多肽可在細菌細胞(諸如大腸桿菌)、昆蟲細胞(例如使用桿狀病毒表現系統)、酵母或哺乳動物細胞中表現。其他適合之宿主細胞為熟習此項技術者已知。

因此，本文中提供產生ActRIIB多肽之方法。舉例而言，用編碼

ActRIIB多肽之表現載體轉染之宿主細胞可在合適條件下培養以允許ActRIIB多肽之表現發生。ActRIIB多肽可自含有ActRIIB多肽之細胞與培養基之混合物分泌及分離。替代地，ActRIIB多肽可以細胞質方式或在膜部分中保留且收集細胞，溶解且分離蛋白質。細胞培養物包括宿主細胞、培養基及其他副產物。用於細胞培養之適合培養基在此項技術中熟知。本發明ActRIIB多肽可使用此項技術中已知之用於純化蛋白質之技術自細胞培養基、宿主細胞或兩者分離，該等技術包括離子交換層析、凝膠過濾層析、超過濾、電泳、用對ActRIIB多肽之特定抗原決定基具有特異性之抗體免疫親和純化及用結合至與ActRIIB多肽融合之域之試劑親和純化(例如蛋白A管柱可用於純化ActRIIB-Fc融合物)。在一個較佳實施例中，ActRIIB多肽為含有促進其純化之域的融合蛋白質。在一個較佳實施例中，純化藉由一系列管柱層析步驟實現，該等步驟以任何順序包括例如以下中之三者或三者以上：蛋白質A層析、Q瓊脂糖層析、苯基瓊脂糖層析、尺寸排外層析及陽離子交換層析。純化可用病毒過濾及緩衝液更換完成。如本文中所展現，將ActRIIB-hFc蛋白質純化至如藉由尺寸排外層析所測定之>98%及如藉由SDS PAGE所測定之>95%之純度。此純度水準足以達成對小鼠中之骨骼之所需影響及在小鼠、大鼠及非人類靈長類動物中之可接受安全概況。

在另一實施例中，針對純化前導序列，諸如在重組ActRIIB多肽之所需部分之N端處的聚-(His)/腸激酶裂解位點序列編碼之融合基因可允許藉由使用Ni²⁺金屬樹脂之親和性層析純化表現之融合蛋白質。純化前導序列可隨後藉由用腸激酶處理來隨後移除以提供純化

ActRIIB 多肽 (例如參見 Hochuli 等人, (1987) *J. Chromatography* 411:177; 及 Janknecht 等人, *PNAS USA* 88:8972)。

製造融合基因之技術已為吾人所熟知。實質上, 針對不同多肽序列編碼之各種DNA片段之接合根據習知技術進行, 其使用用於連接之鈍端或交錯末端、提供合適末端之限制酶消化、按需要黏端之填充、避免非所需接合之鹼性磷酸酶處理及酶促連接。在另一實施例中, 融合基因可藉由包括自動DNA合成器之習知技術合成。替代地, 基因片段之PCR擴增可使用錨定引子進行, 該等錨定引子在可隨後黏接以產生嵌合基因序列之兩個連續基因片段之間產生互補突出物(參見例如 *Current Protocols in Molecular Biology*, Ausubel 等人編, John Wiley & Sons: 1992)。

ActRIIB-Fc 融合蛋白可在來自 pAID4 載體 (SV40 ori/強化子, CMV 啟動子) 之穩定轉染之 CHO-DUKX B1 1 細胞中使用 SEQ ID NO: 8 之組織纖維蛋白溶酶原前導序列表現。Fc 部分可包含人類 IgG1 Fc 序列, 如 SEQ ID NO: 7 中所示。在某些實施例中, 在表現後, 含有之蛋白質平均具有每分子 ActRIIB-Fc 融合蛋白質, 在約 1.5 與 2.5 莫耳之間的唾液酸。

在某些實施例中, ActRIIB-Fc 融合物之長血清半衰期可為在人類個體中 25-32 天。另外, CHO 細胞表現物質可具有比針對在人類 293 細胞中表現之 ActRIIB-hFc 融合蛋白報導之親和力高的對活化素 B 配位體之親和力 (del Re 等人, *J Biol Chem.* 2004 Dec 17; 279(51):53126-35)。另外, 不希望受理論約束, 使用 TPA 前導序列提供比其他前導序列大之產量, 且不同於用天然前導序列表現之 ActRIIB-Fc, 可提供高純度

之N端序列。使用天然前導序列可產生ActRIIB-Fc之各具有不同N端序列之兩個主要物種。

7.9.3 其他ACTRII受體信號傳導抑制劑

在某些實施例中，本文中所描述之組合物及方法中使用之ActRII受體之信號傳導抑制劑為核酸化合物。

抑制ActRII受體之核酸化合物之類別之實例包括反義核酸、siRNA或RNAi構築體及催化核酸構築體。核酸化合物可為單股或雙股。雙股化合物亦可包括突出物或非互補之區域，其中股中之一者或另一者為單股。單股化合物可包括自互補之區域，意謂化合物可形成具有雙螺旋結構區域之所謂「髮夾」或「莖-環」結構。

在某些實施例中，抑制ActRII受體之核酸化合物可包含與由不超過全長ActRII受體核酸序列或活化素核酸序列(例如活化素A或活化素B子單位，亦稱為 β A或 β B之核酸序列)之1000個、不超過500個、不超過250個、不超過100個或不超過50個、35個、30個、25個、22個、20個或18個核苷酸組成之區域互補的核苷酸序列。在特定實施例中，互補區將為至少8個核苷酸，且視情況至少10個或至少15個核苷酸，且視情況15與25個核苷酸之間。互補區可屬於標靶轉錄物之內含子、編碼序列或非編碼序列，諸如編碼序列部分。一般而言，抑制ActRII受體之核酸化合物之長度將為約8至約500個核苷酸或鹼基對，且視情況長度將為約14至約50個核苷酸。抑制ActRII受體之核酸化合物可為DNA(尤其用作反義)、RNA或RNA:DNA雜交物。任一股可包括DNA與RNA之混合物以及不能容易地分類為DNA或RNA之修飾形式。同樣地，雙股核酸化合物可為DNA:DNA、DNA:RNA或RNA:RNA，且

任一股亦可包括DNA與RNA之混合物，以及不能容易地分類為DNA或RNA之修飾形式。

抑制ActRII受體之核酸化合物可包括多種修飾中之任一者，包括對主鏈(天然核酸中之糖-磷酸酯部分，包括核苷酸間鍵)或鹼基部分(天然核酸之嘌呤或嘧啶部分)之一種或修飾。在某些實施例中，反義核酸化合物之長度將為約15至約30個核苷酸且將通常含有一或多種修飾以改善某些特徵，諸如在血清中之穩定性、在細胞中之穩定性或在其中可能遞送化合物之位置(諸如在經口遞送化合物之情況下為胃及對於吸入化合物為肺)中之穩定性。在RNAi構築體之情況下，與標靶轉錄物互補之股將一般為RNA或其修飾。另一股可為RNA、DNA或任何其他變體。雙股或單股「髮夾」RNAi構築體之雙螺旋部分之長度為可在某些實施例中為18至40個核苷酸且視情況長度為約21至23個核苷酸，只要其充當Dicer基質。催化或酶促核酸可為核糖核酸酶或DNA酶且亦可含有經修飾之形式。在某些實施例中，抑制ActRII受體之核酸化合物在生理條件下及在其中無義或有義控制具有極少影響或無影響之濃度下可將其目標之表現抑制約50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或99%以上。測試核酸化合物之效果之濃度包括1、5、10微莫耳或10微莫耳以上。

在其他實施例中，用於本文所描述之組合物及方法中之ActRII受體之信號傳導抑制劑為抗體。此等抗體包括結合至活化素(尤其活化素A或B子單位，亦稱為 β A或 β B)且破壞ActRII受體結合之抗體；及結合至ActRII受體多肽(例如可溶ActRIIA或可溶ActRIIB多肽)且破壞活化素結合之抗體。

藉由使用衍生自ActRII受體多肽或活化素多肽之免疫原，抗蛋白質/抗肽免疫血清或單株抗體可藉由標準方案製造(參見例如Harlow及Lane編之Antibodies: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Press: 1988))。諸如小鼠、倉鼠或兔之哺乳動物可用免疫原性形式之ActRII受體多肽、能夠引發抗體反應之抗原片段或融合蛋白質免疫。賦予蛋白質或肽免疫原性之技術包括與載體結合或此項技術中熟知之其他技術。ActRII受體或活化素多肽之免疫原性部分可在佐劑存在下投與。免疫接種之進程可藉由偵測血漿或血清中之抗體效價監測。標準ELISA或其他免疫分析可與作為抗原之免疫原一起使用以評估抗體含量。

在用ActRII受體多肽之抗原製劑將動物免疫接種之後，可獲得免疫血清且若需要可自血清分離多株抗體。為了產生單株抗體，可自免疫動物收集產生抗體之細胞(淋巴細胞)且藉由標準體細胞融合程序用諸如骨髓瘤細胞之永生化細胞融合以產生融合瘤細胞。此類技術在此項技術中熟知，且包括例如融合瘤技術(最初由Kohler及Milstein, (1975) Nature, 256: 495-497發展)、人類B細胞融合瘤技術(Kozbar等人, (1983) Immunology Today, 4: 72)及產生人類單株抗體之EBV融合瘤技術(科爾等人, (1985) Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc. 第77-96頁)。融合瘤細胞可以免疫化學方式篩選以便產生與ActRII受體多肽特異性反應之抗體及自包含此等融合瘤細胞之培養物分離之單株抗體。

如本文所用之術語「抗體」意欲包括亦與本發明多肽特異性反應之其片段。可使用習知技術將抗體分成片段，且以與上文針對整個

抗體所描述相同之方式對片段進行效用篩選。舉例而言，F(ab)₂片段可藉由用胃蛋白酶處理抗體而產生。可對所得F(ab)₂片段進行處理以還原二硫橋鍵，產生Fab片段。抗體進一步意欲包括具有由抗體之至少一個CDR區賦予之對ActRII受體或活化素多肽之親和力的雙特異性、單鏈、嵌合、人類化及完全人類分子。抗體可進一步包含連接至其且能夠經偵測之標籤(例如標籤可為放射性同位素、螢光化合物、酶或酶輔因子)。

在某些實施例中，抗體為重組抗體，該術語包涵部分藉由分子生物學技術產生之任何抗體，包括CDR移植或嵌合抗體、自庫選擇之抗體域組裝的人類或其他抗體、單鏈抗體及單域抗體(例如人類VH蛋白或駱駝VHH蛋白質)。在某些實施例中，抗體可為單株抗體，且在某些實施例中。舉例而言，用於產生特異性結合於ActRII受體多肽或活化素多肽之單株抗體之方法可包含投與小鼠一定量的包含可有效地刺激可偵測之免疫反應之抗原多肽的免疫原性組合物，自小鼠獲得抗體產生細胞(例如來自脾之細胞)及使抗體產生細胞與骨髓瘤細胞融合以獲得抗體產生融合瘤，及測試該抗體產生融合瘤以鑑別產生特異性結合於抗原之單株抗體之融合瘤。在獲得後，融合瘤可在細胞培養物中視情況在其中融合瘤衍生細胞產生特異性結合至抗原之單株抗體的培養條件中繁殖。可自細胞培養物純化單株抗體。

如關於抗體使用之形容詞「對.....具有特異性反應性」係如此項技術中一般所理解，意指抗體在相關抗原(例如ActRII受體多肽)與其他不相關抗原之間具有充分選擇性，以使該抗體至少適用於偵測特定類型之生物樣品中該相關抗原之存在。在使用抗體之某些方法(諸如

治療應用)中，可能需要較高程度之結合特異性。單株抗體(與多株抗體相比)一般比較容易有效區分所需抗原與交叉反應多肽。影響抗體：抗原相互作用之特異性之一個特徵為抗體對抗原之親和力。儘管可在不同親和力範圍內達成所需特異性，一般而言較佳抗體之親和力(解離常數)將為約 10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8} 、 10^{-9} 或 10^{-9} 以下。若活化素與ActRII受體之間的結合非常緊密，則可預期中和抗活化素或抗ActRII受體抗體之解離常數一般將為 10^{-10} 或 10^{-10} 以下。

此外，用於篩選抗體以便鑑定所需抗體之技術可能影響所得抗體之特性。舉例而言，若抗體用於在溶液中結合抗原，則可能需要測試溶液結合性。有多種不同技術可用於測試抗體與用於判別特定所需抗體之抗原之間的相互作用。此等技術包括ELISA、表面電漿子共振結合分析(例如Biacore.TM.結合分析, Biacore AB, Uppsala, Sweden)、夾心分析(例如IGEN International, Inc., Gaithersburg, Md.之順磁珠粒系統)、西方墨點、免疫沈澱分析及免疫組織化學。

在某些實施例中，欲用於本文所描述之組合物及方法中之ActRII信號傳導抑制劑包括活化素之替代形式，尤其具有I型受體結合域中之變化之彼等可結合於II型受體且未能形成活性三元複合物。在某些實施例中，抑制活化素A、B、C或E或尤其ActRII受體表現之核酸(諸如反義分子、siRNA或核糖核酸酶)可用於本文所描述之組合物及方法中。在某些實施例中，欲用於本文所描述之組合物及方法中之ActRII受體信號傳導抑制劑相對於TGF- β 家族之其他成員，尤其相對於GDF8及活化素，展示對抑制GDF11介導之信號傳導之選擇性。

在其他實施例中，用於本文所描述之組合物及方法中之ActRII受

體之信號傳導抑制劑為具有ActRII受體拮抗劑活性之非抗體蛋白，包括抑制素(亦即抑制素 α 子單位)、卵泡抑素(例如卵泡抑素-288及卵泡抑素-315)、賽貝魯斯(Cerberus)、卵泡抑素相關蛋白(「FSRP」)、內皮因子、活化素C、 $\alpha(2)$ -巨球蛋白及M108A(在位置108處甲硫胺酸至丙胺酸變化)突變活化素A。

在一特定實施例中，欲用於本文所描述之組合物及方法中之ActRII受體信號傳導抑制劑為拮抗活化素生物活性及/或結合至活化素之卵泡抑素多肽。術語「卵泡抑素多肽」包括包含卵泡抑素之任何天然存在之多肽以及保留適用活性之其任何變異體(包括突變體、片段、融合物及肽模擬物形式)之多肽，且進一步包括卵泡抑素之任何功能單體或多聚物。保留活化素結合特性之卵泡抑素多肽之變異體可基於涉及卵泡抑素及活化素相互作用之先前研究鑑定。舉例而言，以全文引用之方式包括在本文中之WO2008/030367揭示顯示對於活化素結合重要之特異性卵泡抑素域(「FSD」)。卵泡抑素多肽包括衍生自具有與卵泡抑素多肽之序列具有至少約80%一致，且視情況至少85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或99%以上一致性之序列的任何已知卵泡抑素之序列的多肽。卵泡抑素多肽之實例包括如例如以全文引用之方式包括在本文中之WO2005/025601中所描述之成熟卵泡抑素多肽或人類卵泡抑素前驅體多肽之較短同功異型物或其他變異體。

在一特定實施例中，欲用於本文所描述之組合物及方法中之ActRII受體信號傳導抑制劑為拮抗活化素生物活性及/或結合至活化素之卵泡抑素樣相關基因(FLRG)。術語「FLRG多肽」包括包含FLRG

之任何天然存在之多肽以及保留適用活性之其任何變異體(包括突變體、片段、融合物及肽模擬物形式)的多肽。保留活化素結合特性之FLRG多肽之變異體可使用FLRG及活化素相互作用之常規方法鑑定。參見例如美國專利第6,537,966號，其以全文引用的方式包括於本文中。FLRG多肽包括衍生自具有與FLRG多肽序列至少約80%一致，且視情況至少85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或99%以上一致性之序列的任何已知FLRG序列之多肽。

在某些實施例中，卵泡抑素多肽及FLRG多肽之功能變異體或經修飾之形式包括具有至少一部分卵泡抑素多肽或FLRG多肽及一或多個融合域，諸如促進多肽之分離、偵測、穩定化或多聚合之域的融合蛋白質。適合之融合域以上參考ActRIIA及ActRIIB多肽詳細地論述。在一個實施例中，ActRII信號傳導抑制劑為包含融合至Fc域之卵泡抑素多肽之活化素結合部分的融合蛋白質。在另一實施例中，ActRII受體信號傳導抑制劑為包含融合至Fc域之FLRG多肽之活化素結合部分的融合蛋白質。

7.10 分析

可測試各種ActRII多肽變異體或可溶ActRII多肽變異體之抑制ActRII之能力。此外，可測試化合物抑制ActRII之能力。在確認ActRII活性之信號傳導抑制劑後，此等化合物可與本發明之方法一起使用。ActRII可為ActRIIA或ActRIIB。以下分析針對ActRIIA所描述但可類似地針對ActRIIB進行。此等分析可用於(i)鑑別個體中之貧血、需要RBC輸注之貧血、MDS及/或至增生性CMML個體子群；(ii)診斷個體中之貧血、需要RBC輸注之貧血、MDS及/或非增生性

CMML個體；(iii)監測個體中之貧血、需要RBC輸注之貧血、MDS及/或非增生性CMML疾病接續及/或進程；(iv)監測個體中之本文所提供之用於治療個體中之貧血、需要RBC輸注之貧血、MDS及/或非增生性CMML之方法的功效；及/或(v)監測本文中所描述之ActRII信號傳導抑制劑在個體中之功效。

7.10.1 參考群體

在某些實施例中，參考群體之尺寸可為約1、5、10、25、50、75、100、200、250、300、400、500或1000個個體。在某些實施例中，參考群體由隨機志願者組成。在某些實施例中，參考群體由健康人類組成。在某些實施例中，參考群體由年齡、體重及/或性別與如章節7.8中所描述之患者群體相同之人類組成。在某些實施例中，參考群體由無血液相關病症之人類組成。在某些實施例中，參考群體由患有血液相關病症之人類組成，其中參考群體中之人類不具有環形含鐵胚血球。在某些實施例中，參考群體由患有血液相關病症之人類組成，其中該人類中小於15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或1%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，參考群體由患有血液相關病症之人類組成，其中該人類中小於15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球。在某些實施例中，血液相關病症為如章節7.8中所描述之血液相關病症。在某些實施例中，參考群體由無貧血之人類組成。在某些實施例中，參考群體由無需要RBC輸注之貧血的人類組成。在某些實施例中，參考群體由無MDS之人類組成。在某些實施例中，參考群體由無非增生性CMML之人類組成。

7.10.2 環形含鐵胚血球

環形含鐵胚血球為異常紅血球母細胞。此外，某些與MDS相關之體細胞突變引起環型含鐵胚血球形成及無效的紅血球生成。編接因子3B1 (SF3B1)中之主要突變與環形含鐵胚血球之形成相關。如本文中所示，「RS+」係指其中個體中至少15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球之個體。在某些實施例中，環形含鐵胚血球之百分比為成為環形含鐵胚血球之紅血球母細胞之百分比。在某些實施例中，環形含鐵胚血球之百分比為成為環形含鐵胚血球之紅細胞前驅體之百分比。環形含鐵胚血球為紅血球母細胞，其中存在覆蓋細胞核之至少三分之一周邊的最少五個含鐵(鐵質沉著性)顆粒。關於樣品中環形含鐵胚血球之鑑別之說明，參見Mufti等人, 2008, *Haematologica*, 93(11):1712-7。在環形含鐵胚血球中，當用普魯士藍染色時，以藍色顆粒之核周環形式觀測鐵負載之粒線體。可在末梢血液及/或骨髓穿刺塗片中偵測到環形含鐵胚血球。在本文所提供之方法之特定態樣中，環形含鐵胚血球在骨髓抽出物中。

7.10.3 篩檢分析

可測試各種ActRII多肽變異體或可溶ActRII多肽變異體之抑制ActRII之能力。此外，可測試化合物抑制ActRII之能力。在確認ActRII活性之信號傳導抑制劑後，此等化合物可與本文所提供之方法一起使用。ActRII可為ActRIIA或ActRIIB。以下分析針對ActRIIA所描述但可類似地針對ActRIIB進行。

舉例而言，可評估ActRIIA多肽變異體對參與骨骼產生或骨骼破壞之基因之表現的影響。視需要，此可在一或多種重組型ActRIIA配

位體蛋白質(例如活化素)存在下進行，且細胞可經轉染以產生 ActRIIA 多肽及/或其變異體及視情況存在之 ActRIIA 配位體。同樣地，可向小鼠或其他動物投與 ActRIIA 多肽，且可評估一或多種骨骼特性，諸如密度或體積。亦可評估骨折之癒合速率。雙能量 x 射線吸光測定法(DEXA)為評估動物中之骨密度的公認非侵襲性定量技術。在人類中，可使用中心 DEXA 系統評估脊椎及骨盆中之骨密度。此等為整體骨密度之最佳預測因子。可使用外周 DEXA 系統評估外周骨(包括例如手、手腕、踝及腳之骨骼)中之骨密度。可使用包括 CAT 掃描之傳統 x 射線成像系統評估骨骼生長及骨折癒合。此外，可使用定量電腦斷層攝影術(qCT)量測骨密度。亦可評估骨骼之機械強度。

在某些態樣中，本文中提供 ActRIIA 多肽(例如可溶性 ActRIIA 多肽)及活化素多肽之用途，其係用於鑑別作為活化素-ActRIIA 信號傳導路徑之促效劑或拮抗劑的化合物(試劑)。經由此篩選鑑定之化合物可經測試以評估其活體外調節骨骼生長或礦化之能力。視情況，此等化合物可進一步在動物模型中測試以評估其活體內調節組織生長之能力。

存在許多篩選用於藉由靶向活化素及 ActRIIA 多肽調節組織生長之治療劑的方法。在某些實施例中，可進行化合物之高通量篩選以鑑定干擾活化素或 ActRIIA 介導之對骨骼之影響的試劑。在某些實施例中，進行分析以篩選及鑑定特異性抑制或減少 ActRIIA 多肽與活化素之結合的化合物。替代地，分析可用於鑑定增強 ActRIIA 多肽與活化素之結合之化合物。在另一實施例中，化合物可藉由其與活化素或 ActRIIA 多肽相互作用之能力鑑定。

多種分析形式將滿足且鑒於本發明，本文未明確描述之彼等將仍然為一般熟習此項技術者理解。如本文所描述，本文所用之測試化合物(試劑)可藉由任何組合化學方法產生。替代地，本發明化合物可為活體內或活體外合成之天然存在之生物分子。待測試其充當組織生長調節劑之能力之化合物(試劑)可例如藉由細菌、酵母、植物或其他有機體(例如天然產品)產生，以化學方式產生(例如小分子，包括肽模擬物)或以重組方式產生。本文中涵蓋之測試化合物包括非肽基有機分子、肽、多肽、肽模擬物、糖、激素及核酸分子。在一特定實施例中，測試試劑為分子量小於約2,000道爾頓之小型有機分子。

測試化合物可以單一、離散實體形式提供或以具有較大複雜性之文庫(諸如藉由組合化學方法產生)提供。此等庫可包含例如醇、烷基鹵化物、胺、醯胺、酯、醛、醚及其他類別之有機化合物。測試化合物至測試系統之呈遞可呈分離形式或以化合物之混合物形式，尤其在初始篩選步驟中。視情況，化合物可用其他化合物衍生且具有促進化合物分離之衍生基團。衍生基團之非限制性實例包括生物素、螢光素、洋地黃毒苷、綠色螢光蛋白、同位素、聚組胺酸、磁性珠粒、麩胱甘肽S轉移酶(GST)、光可活化交聯劑或其任何組合。

在測試化合物及天然提取物庫之許多藥物篩選程序中，高通量分析為所需的以便使在給定時間期內調查之化合物數目最大化。在無細胞系統(諸如可用純化或半純化蛋白質衍生)中進行之分析通常作為「初步」篩選較佳，因為其可經產生以准許快速發展及相對容易偵測分子標靶中藉由測試化合物介導之變化。此外，測試化合物之細胞毒性或生物可用性之影響可一般在活體外系統中忽略，分析替代地主要

集中於藥物對分子標靶之影響，如可在ActRIIA多肽與活化素之間的結合親和力變化中顯現。

僅為了說明，在例示性篩選分析中，使相關化合物與通常能夠結合至活化素之分離及純化ActRIIA多肽接觸。隨後向化合物與ActRIIA多肽之混合物中添加含有ActRIIA配位體之組合物。ActRIIA/活化素複合物之偵測及定量提供用於測定化合物在抑制(或增強)ActRIIA多肽與活化素之間的複合物形成方面之功效的方式。化合物之功效可藉由自使用各種濃度之測試化合物獲得之資料產生劑量反應曲線評估。此外，亦可進行對照分析以提供用於比較之基線。舉例而言，在對照分析中，將分離及純化活化素添加至含有ActRIIA多肽之組合物中，且在不存在測試化合物之情況下將ActRIIA/活化素複合物之形成定量。應瞭解通常，反應物可摻合之次序可變化，且可同時摻合。此外，代替純化蛋白質，可使用細胞提取物及溶解物呈現適合之無細胞分析系統。

ActRIIA多肽與活化素之間的複合物形成可藉由多種技術偵測。舉例而言，複合物形成之調節可使用例如可偵測地標記之蛋白質，諸如放射性標記(例如 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{14}C 或 ^3H)、螢光標記(例如FITC)或以酶促方式標記之ActRIIA多肽或活化素，藉由免疫分析或藉由層析偵測定量。

在某些實施例中，本文中涵蓋螢光偏振分析及螢光共振能量轉移(FRET)分析在直接或間接量測ActRIIA多肽與結合蛋白之間的相互作用程度中之用途。此外，其他偵測模式，諸如基於光波導(PCT公開案 WO 96/26432 及美國專利第 5,677,196 號)、表面電漿子共振

(SPR)、表面電荷感測器及表面力感測器之偵測模式與本文中所描述之多種實施例相容。

此外，亦稱為「雙雜交分析」之相互作用捕捉分析可用於鑑定破壞或增強ActRIIA多肽與其結合蛋白之間的相互作用之試劑。參見例如美國專利第5,283,317號；Zervos等人(1993) *Cell* 72:223-232；Madura等人(1993) *J Biol Chem* 268:12046-12054；Bartel等人(1993) *Biotechniques* 14:920-924；及Iwabuchi等人(1993) *Oncogene* 8:1693-1696)。在一個特定實施例中，本文中涵蓋逆向雙雜交系統用於鑑定分解ActRIIA多肽與其結合蛋白質之間的相互作用之化合物(例如小分子或肽)之用途。參見例如Vidal及Legrain, (1999) *Nucleic Acids Res* 27:919-29；Vidal及Legrain, (1999) *Trends Biotechnol* 17:374-81；及美國專利第5,525,490號；第5,955,280號；及第5,965,368號。

在某些實施例中，本發明化合物藉由其與ActRIIA或活化素多肽相互作用之能力鑑定。化合物與ActRIIA或活化素多肽之間的相互作用可為共價或非共價。舉例而言，此類相互作用可在蛋白質層級下使用活體外生物化學方法，包括光交聯、放射性標記之配位體結合及親和性層析法(Jakoby W B等人, 1974, *Methods in Enzymology* 46: 1)鑑定。在某些情況下，化合物可在基於分析(諸如偵測結合於活化素或ActRIIA多肽之化合物之分析)的機制中篩選。此可包括固相或流體相結合作用。替代地，編碼活化素或ActRIIA多肽之基因可用報導子系統(例如 β -半乳糖苷酶、螢光素酶或綠色螢光蛋白)轉染至細胞中且較佳藉由高通量篩選或用庫之個別成員對庫進行篩選。可使用其他基於機制之結合分析，例如偵測自由能變化之結合分析。結合分析可用固

定至孔、珠粒或晶片或藉由固定抗體捕獲或藉由毛細電泳法解析之目標進行。結合化合物可通常使用比色或螢光或表面電漿子共振偵測。

在某些態樣中，本文中提供調節(刺激或抑制)骨骼形成及增加骨質量之方法及試劑。因此，任何鑑定之化合物可在整個細胞或組織中，活體外或活體內測試以確認其調節骨骼生長或礦化之能力。出於此目的，可利用此項技術中已知之各種方法。特定言之，可測試化合物增加骨骼轉換之能力。

舉例而言，ActRIIA或活化素多肽或測試化合物對骨骼或軟骨生長之影響可藉由在基於細胞之分析中量測Msx2之誘導或骨原細胞至骨母細胞之分化測定(參見例如 Daluiski 等人, *Nat Genet.* 2001, 27(1):84-8; Hino 等人, *Front Biosci.* 2004, 9:1520-9)。基於細胞之分析之另一實例包括分析本發明ActRIIA或活化素多肽之成骨活性且在間葉細胞祖細胞及骨母細胞中測試化合物。為了說明，可構築表現活化素或ActRIIA多肽之重組型腺病毒以感染多能間葉細胞祖細胞C3H10T1/2細胞、骨母細胞前體C2C12細胞及骨母細胞TE-85細胞。成骨活性隨後藉由量測鹼性磷酸酶、骨鈣化素及基質礦化之誘導測定(參見例如Cheng等人, *J bone Joint Surg Am.* 2003, 85-A(8): 1544-52)。

本文亦提供量測骨骼或軟骨生長之活體內分析。舉例而言，Namkung-Matthai等人, *Bone*, 28:80-86 (2001)揭示在骨折之後的早期時段期間骨修復經研究之大鼠骨質疏鬆模型。Kubo等人, *Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 68:197-202 (1999)亦揭示在骨折之後的後期期間骨修復經研究之大鼠骨質疏鬆模型。Andersson等人, *J. Endocrinol.* 170:529-537描述小鼠骨質疏鬆模型，其中小鼠經切除卵

巢，此使得小鼠失去實質上骨礦物質含量及骨礦物質密度，小樑骨損失大約50%骨礦物質密度。骨骼密度可藉由投與諸如副甲狀腺激素之因子在切除卵巢的小鼠中增加。在某些態樣中，可使用此項技術中已知之骨折癒合分析。此等分析包括骨折技術、組織學分析及生物力學分析，其描述於例如美國專利第6,521,750號中，該美國專利為了其用於引起以及量測骨折程度之實驗方案及修復方法之揭示以全文引用的方式併入本文中。

7.11 醫藥組合物

在某些實施例中，活化素-ActRII拮抗劑(例如ActRII多肽)用與本文所提供之方法一起使用之藥學上可接受的載劑調配。舉例而言，ActRII多肽可單獨或作為醫藥調配物(治療組合物)之組分投與。本發明化合物可以用於人類或獸醫學之任何便利方式調配以便投與。ActRII可為ActRIIA或ActRIIB。

在某些實施例中，本發明之治療方法包括以植入物或裝置方式全身性或局部投與組合物。當投與時，本發明中使用之治療組合物當然呈無熱原質、生理學可接受形式。除ActRII拮抗劑外之亦可視情況包括於如上文所描述之組合物中之治療適用試劑可與本發明化合物(例如ActRII多肽，諸如ActRIIA及/或ActRIIB多肽(參見章節7.9))同時或依序投與。

通常ActRII拮抗劑將非經腸投與。適用於非經腸投與之醫藥組合物可包含一或多種ActRII多肽以及一或多種醫藥學上可接受之無菌等張水性或非水性溶液、分散液、懸浮液或乳液，或可在即將使用之前復原成無菌可注射溶液或分散液之無菌粉末，其可含有抗氧化劑、緩

衝劑、抑菌劑、溶質(其使調配物與預期接受者之血液等張)或懸浮劑或增稠劑。可用於本發明之醫藥組合物之適合的水性及非水性載劑之實例包括水、乙醇、多元醇(諸如甘油、丙二醇、聚乙二醇及其類似物)及其適合的混合物、植物油(諸如橄欖油)及可注射有機酯(諸如油酸乙酯)。可例如藉由使用包衣材料(諸如卵磷脂)、維持所需粒度(在分散液之情況下)及使用界面活性劑來維持適當流動性。

此外，組合物可以用於遞送至目標組織位點(例如骨骼)之形式囊封或注射。在某些實施例中，本文中提供之組合物可包括能夠將一或多種治療化合物(例如ActRIIA多肽)遞送至目標組織位點(例如骨)之基質，從而提供用於產生組織且最佳能夠吸收入體內之結構。舉例而言，基質可提供ActRIIA多肽之緩慢釋放。此等基質可由目前用於其他植入醫學應用中之材料形成。

基質材料之選擇係基於生物相容性、可生物降解性、機械特性、裝飾性外觀及界面特性。本發明組合物之特定應用將限定合適調配物。用於組合物之潛在基質可為可生物降解及化學限定之硫酸鈣、磷酸三鈣、羥磷灰石、聚乳酸及聚酸酐。其他潛在材料為可生物降解的且生物學上充分限定，諸如骨骼或皮膚膠原蛋白。其他基質由純蛋白質或細胞外基質組分構成。其他潛在基質為不可生物降解的且以化學方式限定，諸如燒結羥基磷灰石、生物玻璃、鋁酸鹽或其他陶瓷。基質可由上述類型之材料(諸如聚乳酸及羥磷灰石或膠原蛋白及磷酸三鈣)中之任一者之組合構成。生物陶瓷可在組合物中，諸如在鈣-鋁酸鹽-磷酸鹽及處理中改變以改變微孔尺寸、粒徑、粒子形狀及可生物降解性。

在某些實施例中，本發明之方法可經口投與，例如呈膠囊、扁囊劑、丸劑、錠劑、口含錠(使用調味基質，通常為蔗糖及阿拉伯膠或黃耆膠)、散劑、顆粒之形式，或水性或非水性液體中之溶液或懸浮液形式，或水包油或油包水之液體乳液形式，或酏劑或糖漿形式，或片劑(使用惰性基質，諸如明膠及丙三醇，或蔗糖及阿拉伯膠)及/或漱口劑形式及其類似形式，各含有預定量之試劑作為活性成分。試劑亦可以藥團、舐劑或糊劑形式投與。

在用於經口投與之固體劑型(膠囊、錠劑、丸劑、糖衣藥丸、散劑、顆粒及其類似物)中，本文提供之一或多種治療化合物可與一或多種醫藥學上可接受之載劑(諸如檸檬酸鈉或磷酸二鈣)及/或以下中之任一者混合：(1)填充劑或增量劑，諸如澱粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露糖醇及/或矽酸；(2)黏合劑，諸如羧甲基纖維素、褐藻酸鹽、明膠、聚乙烯吡咯啉酮、蔗糖及/或阿拉伯膠；(3)保濕劑，諸如甘油；(4)崩解劑，諸如瓊脂-瓊脂、碳酸鈣、馬鈴薯或木薯澱粉、褐藻酸、某些矽酸鹽及碳酸鈉；(5)溶液延遲劑，諸如石蠟；(6)吸收加速劑，諸如第四銨化合物；(7)濕潤劑，諸如鯨蠟醇及甘油單硬脂酸酯；(8)吸附劑，諸如高嶺土及膨潤土；(9)潤滑劑，諸如滑石、硬脂酸鈣、硬脂酸鎂、固體聚乙二醇、月桂基硫酸鈉及其混合物；及(10)著色劑。在膠囊、錠劑及丸劑之情況下，醫藥組合物亦可包含緩衝劑。亦可採用諸如乳糖(lactose/milk sugar)以及高分子量聚乙二醇及其類似物之賦形劑將類似類型之固體組合物用作軟填充明膠膠囊及硬填充明膠膠囊中之填充劑。

用於口服投與之液體劑型包括醫藥學上可接受之乳液、微乳

液、溶液、懸浮液、糖漿及醃劑。除活性成分之外，液體劑型可含有常用於此項技術中之惰性稀釋劑(諸如水或其他溶劑)、增溶劑及乳化劑，諸如乙醇、異丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苯甲酯、丙二醇、1,3-丁二醇、油(尤其為棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄欖油、蓖麻油及芝麻油)、甘油、四氫呋喃醇、聚乙二醇及脫水山梨糖醇之脂肪酸酯及其混合物。除惰性稀釋劑外，口服組合物亦可包括佐劑，諸如濕潤劑、乳化劑及懸浮劑、甜味劑、調味劑、著色劑、芳香劑及防腐劑。

除活性化合物之外，懸浮液亦可含有懸浮劑，例如乙氧基化異硬脂醇、聚氧化乙烯山梨糖醇及脫水山梨糖醇酯、微晶纖維素、偏氫氧化鋁、膨潤土、瓊脂-瓊脂及黃蓍及其混合物。

本發明之組合物亦可含有佐劑，諸如防腐劑、濕潤劑、乳化劑及分散劑。可藉由包括各種抗菌及抗真菌劑，例如對羥基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚山梨酸及類似物來預防微生物作用。亦可能需要在組合物中包括等張劑，諸如糖、氯化鈉及其類似物。此外，可注射醫藥形式之延長吸收可藉由包括延遲吸收劑(諸如單硬脂酸鋁及明膠)來達成。

應瞭解給藥方案將由主治醫師考慮改變本發明之標的化合物(例如ActRII多肽，諸如ActRIIA及/或ActRIIB多肽(參見章節7.9))之作用的各種因素確定。各種因素包括(但不限於)需要形成之骨骼重量之量、骨密度損失程度、骨骼破壞位點、損傷骨骼之狀況、個體之年齡、性別及飲食、可促成骨質流失之任何疾病之嚴重性、投與時間及其他臨床因素。視情況，劑量可隨用於復原之基質類型及組合物中之

化合物類型變化。其他已知生長因子至最終組合物中之添加亦可影響劑量。可藉由骨骼生長及/或修復之週期評估，例如X射線(包括DEXA)、組織形態學測定及四環素標記監測進程。

在某些實施例中，本文中提供用於活體內產生ActRII多肽之基因療法。此類療法將藉由引入ActRII多核苷酸序列至細胞或具有如上文所列之病症之組織中來實現其治療效果。ActRII多核苷酸序列之遞送可使用重組型表現載體(諸如嵌合病毒)或膠體分散系統實現。對於ActRII多核苷酸序列之治療遞送較佳為使用靶向脂質體。ActRII多肽可為ActRIIA及/或ActRIIB多肽(參見章節7.9)。

可用於如本文中教示之基因療法之各種病毒載體包括腺病毒、疱疹病毒、牛痘，或較佳地RNA病毒，諸如反轉錄病毒。較佳地，反轉錄病毒載體為鼠或禽類反轉錄病毒之衍生物。其中可插入單一異體基因之反轉錄病毒載體之實例包括(但不限於)：莫洛尼鼠白血病毒(Moloney murine leukemia virus, MoMuLV)、哈威鼠肉瘤病毒(Harvey murine sarcoma virus, HaMuSV)、鼠乳腺腫瘤病毒(MuMTV)及勞斯肉瘤病毒(Rous Sarcoma Virus, RSV)。多種額外反轉錄病毒載體可併入有多種基因。所有此等載體可轉移或併入針對可選擇標記之基因以使得可鑑定及產生轉導細胞。反轉錄病毒載體可藉由連接例如糖、糖脂或蛋白質製成目標特異性。較佳靶向藉由使用抗體實現。熟習此項技術者將認識到特異性多核苷酸序列可插入反轉錄病毒基因組中或連接至病毒包膜以允許含有ActRII多核苷酸之反轉錄病毒載體之標靶特異性遞送。在一個較佳實施例中，載體靶向骨骼或軟骨。

替代地，組織培養細胞可藉由習知磷酸鈣轉染，直接用編碼反

轉錄病毒結構基因 gag、pol 及 env 之質體轉染。此等細胞隨後用含有相關基因之載體質體轉染。所得細胞將反轉錄病毒載體釋放至培養基中。

ActRII 多核苷酸之另一靶向遞送系統為膠體分散系統。膠體分散系統包括大分子複合物、奈米囊劑、微球、珠粒及包括水包油乳化液、微胞、混合微胞及脂質體之基於脂質之系統。本發明之較佳膠態系統為脂質體。脂質體為適用作活體外及活體內遞送媒劑之人造膜囊泡。RNA、DNA 及完整病毒粒子可囊封在水性內部內且以生物學上活性形式遞送至細胞(參見例如 Fraley 等人, Trends Biochem. Sci., 6:77, 1981)。使用脂質體媒劑有效基因轉移之方法在此項技術中已知, 參見例如 Mannino 等人, Biotechniques, 6:682, 1988。脂質體之組成通常為磷脂之組合, 通常與類固醇, 尤其膽固醇組合。亦可使用其他磷脂或其他脂質。脂質體之物理特徵視 pH 值、離子強度及二價陽離子之存在而定。

適用於脂質體產生之脂質之實例包括磷脂醯基化合物, 諸如磷脂醯甘油、磷脂醯膽鹼、磷脂醯絲胺酸、磷脂醯乙醇胺、鞘脂、腦苷脂及神經節苷脂。說明性磷脂包括卵磷脂醯膽鹼、二軟脂醯基磷脂醯膽鹼及二硬脂醯基磷脂醯膽鹼。基於例如器官特異性、細胞特異性及細胞器特異性, 脂質體之靶向亦為可能的且在此項技術中已知。

在某些實施例中, ActRII 信號傳導抑制劑在醫藥組合物中為實質上純。特定言之, 醫藥組合物中之至多 20%、10%、5%、2.5%、1%、0.1% 或至多 0.05% 化合物為除 ActRII 信號傳導抑制劑及醫藥學上可接受之載體外的化合物。

在一個較佳實施例中，醫藥組合物經調配用於皮下投藥。

8. 實例

8.1 實例1

8.1.1 ActRIIA-Fc融合蛋白質

提供具有與人類或小鼠Fc域融合之人類ActRIIA之細胞外域及其間之最小連接子的可溶性ActRIIA融合蛋白質。構築體分別稱為ActRIIA-hFc及ActRIIA-mFc。以SEQ ID NO:7形式提供ActRIIA-hFc。

ActRIIA-hFc及ActRIIA-mFc蛋白質表現於CHO細胞株中。考慮三種不同前導序列：

- (i) 蜜蜂蜂毒肽(HBML)：SEQ ID NO:8
- (ii) 組織纖維蛋白溶酶原活化因子(TPA)：SEQ ID NO:9
- (iii) 原生ActRIIA：SEQ ID NO:10

所選擇之形式使用TPA前導子且具有以下SEQ ID NO:13中所闡述之未經處理之胺基酸序列。此多肽由SEQ ID NO:14編碼。

8.1.2 ActRIIB-Fc融合蛋白質

與人類Fc域及活化素融合之人類ActRIIB之細胞外域之晶體結構未展示任何對配位體結合中細胞外域之最後(C端)15個胺基酸(本文中稱為「尾端」)之作用。此序列未能在晶體結構解析，表明此等殘基存在於晶體中未均勻封裝之可撓性環中。Thompson等人 EMBO J. 2003年4月1日; 22(7):1555-66。此序列亦在ActRIIB與ActRIIA之間具有弱保守性。因此，在鹼性或背景、ActRIIB-Fc融合構築體中省略此等殘基。此外，背景形式中之位置64由丙胺酸佔據，儘管天然產生A64R對偶基因，但其通常視為「野生型」形式。因此，背景

ActRIIB-Fc融合物具有如SEQ ID NO:21揭示之序列。

意外的是，發現C端尾端增強活化素及GDF-11結合，因此ActRIIB-Fc之較佳版本具有序列SEQ ID NO:20。

可根據本文所描述之方法使用之多種ActRIIB變異體描述於國際專利申請公開案WO2006/012627 (參見例如第59-60頁)中，其以全文引用之方式併入本文中。

8.2 實例2：具有低或中等-1 (Int -1)-風險型MDS或非增生性CMML及需要RBC輸注之貧血之個體中ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)之開放標記、2期、劑量發現研究

8.2.1 說明

貧血(MDS之標誌)對治療(尤其在紅血球生成刺激劑(ESA)失敗之後)具有挑戰性。ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7；「索塔西普」)為IIA型活化素受體融合蛋白質，其對晚期紅血球生成起作用以增加釋放至循環中之成熟紅血球(Carrancio等人 Br J Haematol 2014;165:870-82)。用ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)治療個體可刺激紅血球生成且顯著增加健康個體中之血紅蛋白(Hb)含量(Sherman等人 J Clin Pharmacol 2013;53:1121-30)，支持其用於治療具有較低風險型MDS之個體中之貧血的臨床研究。

8.2.2 材料及方法

此實例之主要目標為測定在患有貧血及IPSS定義之低或Int-1-風險型MDS或非增生性CMML(白血球 $<13,000$ 個/ μL)之個體引起紅血球血液學改善(HI-E；經改善之IWG 2006準則)之ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)之安全、可耐受及有效劑量。第二目標包括大於或等於8週之

RBC輸注非依賴性(RBC-TI)之比率。符合條件的個體患有貧血(在登記Hb小於或等於9.0 g/dL之前，在12週內具有大於或等於2個RBC單位輸注需求)且對ESA不起反應、具有反應缺失或低反應機率(血清紅血球生成素[EPO]大於500 mIU/mL)。關於此實例中所研究之個體之說明，參見表1。個體每3週一次以0.1、0.3、0.5或1.0 mg/kg之劑量皮下接收ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)。關於研究設計之概述，參見圖1。

8.2.3 結果

研究總共54名MDS個體：ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)0.1、0.3、0.5及1.0 mg/kg劑量組分別具有7、6、21及20名。中值年齡為71歲(範圍56-86歲)且距診斷之中值時間為4年(範圍0-31年)；大部分個體為男性(70%)。個體在治療開始之前，在8週內接收平均6個RBC單位(範圍0-18)。四十五名個體(83%)在治療開始之前，在8週內接收大於或等於4個RBC單位(高輸注負擔；HTB)，且9名個體(17%)在治療開始之前，8週內接收小於個4單位(低輸注負擔；LTB)。十九名個體(35%)具有IPSS Low且34名個體(63%)具有IPSS Int-1-風險型MDS；1名患者之IPSS風險資料缺失。五十一名個體(94%)先前已用ESA治療，30名(56%)用低甲基化劑治療，26名(48%)用來那度胺治療且26名(48%)經歷其他MDS治療；15名個體(28%)之血清EPO>500 mIU/mL。

在可評估功效之53名個體中，在總共21名個體(40%)中觀測HI-E：ActRIIA-hFc (SEQ ID NO: 7)0.1、0.3、0.5及1.0 mg/kg劑量組中分別有0、4 (67%)、8 (40%)及9 (45%)名個體。44名HTB個體中之十九名以大於或等於4個RBC單位/8週輸注負擔降低形式回應；輸注反應之持續時間似乎為劑量依賴性。關於在用ActRIIA-hFc治療之後獲得

大於56第天之RBC-TI的例示性HTB個體，參見圖3。參見圖4，其說明在用ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)治療後，HTB反應者中輸注負擔反應之最大持續時間。五名HTB個體實現RBC-TI大於或等於8週，其中RBC-TI持續時間在59-345+天範圍內。參見圖5，其說明在用ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)治療後，實現至少56天之RBC-TI之HTB個體中RBC-TI反應之最大持續時間。亦參見表2。

實現RBC-TI大於或等於8週之HTB個體之子集具有增加之紅血球母細胞百分比，該等紅血球母細胞在用ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)治療之前為環形含鐵胚血球。

9名LTB個體中之八名展示Hb增加，不受輸注影響，在1.3-3.8 g/dL範圍內。其中，2名個體具有大於或等於1.5 g/dL之Hb增加持續大於或等於8週。具有大於11.0 g/dL之Hb之個體根據方案經歷給藥延遲，其可影響Hb增加持續性。在6名LTB個體中實現大於或等於8週之RBC-TI。參見圖6，說明在用ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)治療後，實現至少56天之RBC-TI及至少1.5 g/dL之平均Hb增加之LTB個體之比例。參見圖7，說明在用ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)治療後，實現至少56天之RBC-TI及至少1.5 g/dL之平均Hb增加之LTB中RBC-TI反應之最大持續時間。分別在具有基線血小板減少之個體及具有基線嗜中性白細胞減少症之個體中發現血小板及嗜中性白血球含量之增加。

ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)通常良好耐受。二十個名個體(37%)報導大於或等於1例疑似治療相關不良事件(AE)；疲乏(11%)、頭痛(9.3%)、食慾降低(7.4%)及噁心(7.4%)為最常見的。

在停止治療之35名個體(65%)中，28名由於治療作用不足且4名

由於AE而停止。在此等引起停止之AE中，3例懷疑為治療相關：在ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7) 0.3、0.5及1.0 mg/kg劑量組中分別存在1名患者具有2級溶血性貧血，1名患者具有3級高血壓且1名患者具有2級肌肉衰弱。其他停止原因為同意戒斷(n=2；4%)及患者決策(n=1；2%)。

8.2.4 結論

ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)在較低風險型MDS個體中在測試劑量下良好耐受，有希望存在證據表明ESA難治性、貧血、較低風險型MDS個體之此大部分HTB群組中之臨床活性。此外，此等資料表明用ActRII抑制劑(例如ActRIIA-hFc(SEQ ID NO:7))治療之前個體中存在環形含鐵胚血球可為長期治療、RBC輸注非依賴性及血紅蛋白含量長期增加之指示。

表1. 個體基線特徵.

特徵	ActRIIA抑制劑(SEQ ID NO:7)劑量組				總數 (N = 54)
	0.1 mg/kg (n = 7)	0.3 mg/kg (n = 6)	0.5 mg/kg (n = 21)	1.0 mg/kg (n = 20)	
年齡，中值(範圍)，週歲	65 (58-79)	73 (66-86)	69 (56-82)	74 (60-84)	71 (56-86)
女性，n (%)	3 (42.9)	0	4 (19.0)	9 (45.0)	16 (29.6)
距初始診斷之時間，中值(範圍)，年	4 (1-6)	7 (4-8)	6 (0-31) ^a	3 (0-20) ^a	4 (0-31) ^a
RBC輸注負擔，中值(範圍)單位/8週	9 (4-10)	8 (6-11)	6 (2-18)	6 (0-14)	6 (0-18)
RBC輸注狀況，n (%)					
HTB ^b	7 (100)	6 (100)	18 (85.7)	14 (70.0)	45 (83.3)
LTB ^c	0	0	3 (14.3)	6 (30.0)	9 (16.7)
IPSS風險，n (%)					
低	3 (42.9)	4 (66.7)	5 (23.8)	8 (40.0)	20 (37.0)
Int-1	4 (57.1)	2 (33.3)	16 (76.2)	12 (60.0)	34 (63.0)
血清EPO含量，n (%)					
≤ 500 mIU/mL	4 (57.2)	5 (83.4)	7 (33.4)	13 (65.0)	29 (53.7)
> 500 mIU/mL	3 (42.9)	1 (16.7)	6 (28.6)	5 (25.0)	15 (27.8)
缺失	0	0	8 (38.1)	2 (10.0)	10 (18.5)
先前使用ESA，n (%)	6 (85.7)	6 (100.0)	20 (95.2)	19 (95.0)	51 (94.4)

先前使用低甲基化劑，n (%)	6 (85.7)	6 (100.0)	13 (61.9)	5 (25.0)	30 (55.6)
先前使用來那度胺，n (%)	5 (71.4)	5 (83.3)	10 (47.6)	6 (30.0)	26 (48.1)
先前使用其他MDS治療，n (%) ^d	6 (85.7)	5 (83.3)	9 (42.9)	6 (30.0)	26 (48.1)

^a0年指示距初始診斷<1年；^bRBC輸注負擔≥4個單位/8週之個體；^cRBC輸注負擔<4個單位/8週之個體；^dMDS之非ESA、非低甲基化及非來那度胺治療；EPO，紅血球生成素；ESA，紅血球生成刺激劑；Hb，血紅蛋白；HTB，高輸注負擔；Int，中間物；IPSS，國際預後評分系統；LTB，低輸注負擔；MDS，骨髓發育不良症候群；RBC，紅血球。

表2. HTB個體(n=44)中之輸注反應

特徵	ActRIIA抑制劑(SEQ ID NO:7)劑量組				總數 (N = 54)
	0.1 mg/kg (n = 7)	0.3 mg/kg (n = 6)	0.5 mg/kg (n = 17)	1.0 mg/kg (n = 14)	
輸注負擔降低 ≥4個RBC單位 /8週，n (%)	0	4 (66.7)	7 (41.2)	8 (57.1)	19 (43.2)
最長反應之持續時間，中值 (範圍)(天)	N/A	67.5 (62-144)	150 (83-345)	87.5 (62-154)	106.0 (62-345+)
RBC-TI ≥ 56 天，n (%)	0	1 (16.7)	2 (11.8)	2 (14.3)	5 (11.1)

8.3 實例3：ActRIIB-hFc在低或中等-1風險型MDS之個體中增加血紅蛋白及降低輸注負擔：來自2期研究之初步結果

8.3.1 說明

ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25；亦稱為盧帕西普)，一種重組型含有經修飾之IIB及IgG Fc型活化素受體之融合蛋白質用於治療由於無效紅血球生成，諸如MDS引起之貧血。MDS個體通常具有升高之紅血球生成素(EPO)含量且可能對紅血球生成刺激劑(ESA)不起反應或具有難治性。MDS個體亦展示在骨髓中具有增加之血清GDF11含量

(Suragani R等人, Nature Medicine 2014)及增加之Smad 2/3信號傳導 (Zhou L等人, Blood 2008)。ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)結合於TGF- β 超家族中之配位體，包括GDF11，抑制Smad 2/3信號傳導且經由不同於ESA之機制促進晚期紅細胞分化。在MDS之小鼠模型中，mActRIIB-Fc (ActRIIB-hFc之鼠類版本(SEQ ID NO:25))降低Smad 2信號傳導、增加血紅蛋白(Hb)含量及降低骨髓紅細胞增生(Suragani R等人, Nature Medicine 2014)。在健康志願者研究中，ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)良好耐受且增加Hb含量(Attie K等人, Am J Hematol 2014)。

8.3.2 材料及方法

此實例呈現劑量發現資料以評估ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)對患有低或Int-1風險型MDS之個體(參見表3及表4)(具有高輸注負擔(HTB，定義為在基線之前大於或等於4個單位RBC/8週)或低輸注負擔(LTB，定義為在基線之前小於4個單位RBC/8週))中之貧血。結果包括紅細胞反應(LTB個體中Hb增加或HTB個體中降低之輸注負擔)、安全性、耐受性、PK及PD生物標記。

包涵準則包括低或Int-1風險MDS，年齡至少18週歲，貧血(定義為HTB個體或LTB個體中之基線Hb小於10.0 g/dL)，EPO大於500 U/L或對ESA不起反應/難治性，先前未使用阿紮胞苷或地西他濱，且當前未用ESA、G-CSF、GM-CSF或來那度胺治療。在劑量遞增階段中，在7個依序群組(n=3-6)中每3週每一以0.125、0.25、0.5、0.75、1.0、1.33及1.75 mg/kg之劑量藉由皮下(SC)注射投與ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)在隨後3個月內保持至多5個劑量。規劃擴展群組(n=30)，且所有完成此研究之個體可參與12個月擴展研究。關於實驗

設計及給藥方案之說明，參見圖8。

8.3.3 結果

可獲得26名個體(7名LTB/19名HTB)之資料。中值年齡為71週歲(範圍：27-88週歲)，50%為雌性，54%先前使用EPO療法及15%先前使用來那度胺。69%為WHO次型RCMD，且其餘個體為del(5q)、RARS或RAEB-1。LTB個體(n=7)之平均(SD)基線Hb為9.1 (0.4)g/dL。LTB個體在治療之前8週輸注之平均(SD)單位RBC為0.9 (1.1)個單位且HTB個體為6.3 (2.4)個單位。參見表3及4。

與基線相比，7名LTB個體中之兩名在8週內具有平均Hb增加 ≥ 1.5 g/dL。在0.125 (n=1)、0.25 (n=1)、0.75 (n=3)及1.75 (n=2)mg/kg劑量組，LTB個體中之平均最大Hb增加分別為0.8、1.0、2.2及2.7 g/dL。參見圖9，說明在用ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)治療後，LTB個體中之最大血紅蛋白增加。投與ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)之LTB個體呈現增加之網狀紅血球及血紅蛋白含量。參見圖10-12及表5。在研究期間，7名LTB個體中之六名在 ≥ 8 週內獲得RBC輸注非依賴性(RBC-TI)。

與治療之前8週相比，在治療週期期間，19名HTB個體中之六名在8週區間內具有 ≥ 4 個單位或輸注之RBC單位 $\geq 50\%$ 降低；此等6名個體中之五名在研究期間(範圍71-152天)獲得RBC-TI ≥ 8 週。在投與ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)之HTB個體中觀測到血紅蛋白含量增加。參見例如圖13。觀測一些個體中在研究藥物投藥之後嗜中性白血球計數之增加。實現RBC-TI大於或等於8週之個體之子集具有增加之紅血球母細胞之百分比，該等紅血球母細胞在用ActRIIB-hFc (SEQ ID

NO:25)治療個體之前為環形含鐵胚血球。參見表7。

ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)通常良好耐受。與因果關係無關，最常見不良事件為：腹瀉(n=4，1/2級)、骨痛、疲乏、肌肉痙攣、肌痛及鼻咽炎(各n=3，1/2級別)。

表3. 基線特徵

參數	N=26
年齡(週歲)，中值(範圍)	71 (27-88)
性別，男性(%)	13 (50%)
先前ESA治療，n (%)	14 (54%)
先前來那度胺治療，n (%)	5 (19%)
低輸注負擔(LTB)	N = 7 (27%)
血紅蛋白，g/dL，中值(範圍)	9.1 (8.3-9.7)
單位RBC/8週，中值(範圍)	0 (0-2)
高輸注負擔(HTB)	N = 19 (73%)
單位RBC/8週，中值(範圍)	6 (4-13)

表4. 用所指示劑量之ActRIIB (SEQ ID NO:25)治療之個體中HI-E反應率之功效概述

個體子群	0.125-0.5 mg/kg (N=9) n (%)	0.75-1.75 mg/kg (N=17) n (%)
LTB個體(N=7)	0/2 (0%)	2/5 (40%)
HTB個體(N=19)	2/7 (29%)	5/12 (42%)
所有個體(N=26)	2/9 (22%)	7/17 (41%)

表5. LTB個體中之血紅蛋白反應

反應準則	0.125-0.5 mg/kg (N=2) n (%)	0.75-1.75 mg/kg (N=5) n (%)
LTB個體(N=7)	0	4 (80%)
HTB個體(N=19)	0	2 (40%)

表6. 用所指示劑量之ActRIIB (SEQ ID NO:25)治療之HTB個體中之輸注反應

反應準則 (8週)，n (%)	0.125-0.5 mg/kg (N=7) n (%)	0.75-1.75 mg/kg (N=12) n (%)
LTB個體(N=7)	3 (43%)	5 (42%)
HTB個體(N=19)	2 (29%)	5 (42%)
RBC-TI	1 (14%)	3 (25%)

表7. 藉由環形含鐵胚血球(RS)形態及突變分析獲得之IWG反應率

反應+比率(IWG)	群組4-7 ^a , n=17; 0.75-1.75 mg/kg; n (%)
所有個體	7/17 (41%)
環形含鐵胚血球大於或等於15%	
環形含鐵胚血球陽性	7/13 (54%)
環形含鐵胚血球陰性	0/4 (0%)
突變分析	
SF3B1+	6/9 (67%) ^b
SF3B1-	1/8 (13%)

^a 群組4：0.75 mg/kg (n=3)；群組5：1.0 mg/kg (n=3)；群組6：1.33 mg/kg(n=6)；群組7：1.75 mg/kg (n=2)；^b包括3名變成輸注非依賴性之個體。

8.3.4 結論

基於低或Int-1 MDS個體中之基本資料，每3週皮下投與之ActRIIB-hFc(SEQ ID NO:25)(保持至多5個劑量)在有利安全概況下增加Hb含量或降低輸注需求。此等資料有力支持患有具有ActRIIB-hFc(SEQ ID NO:25)之MDS之個體之更長期治療之進一步評估。

8.4 實例4：ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)增加低或中等-1風險型MDS之個體中之血紅蛋白且降低輸注負擔：來自2期PACE-MDS研究之初步結果

8.4.1 說明

ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)為融合蛋白質(經修飾之活化素受體IIB/IgG Fc)，當前研究具有無效紅血球生成之貧血之治療。MDS個體在骨髓中具有增加之GDF11含量(Suragani, Nat Med 2014)及異常Smad2、3信號傳導。ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)結合TGF- β 超家族配位體，包括GDF11、活化素B及BMP6，抑制Smad2、3信號傳導及促進晚期紅細胞分化，與ESA不同。在健康志願者研究中，ActRIIB-

hFc (SEQ ID NO:25)良好耐受且增加Hb含量(Attie K等人, Am J Hematol 2014)。

8.4.2 目標

此實例中呈現之資料來自正在進行中的2期、多中心、開放標記、劑量發現研究，其用於評估ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)對具有輸注依賴性(TD)或非輸注依賴性(NTD)低或int-1風險型MDS之個體中貧血之作用。研究結果包括紅細胞反應、安全性、耐受性、藥物動力學生物標記及藥效學生物標記。在低輸注負擔(LTB)個體中，紅細胞反應定義為血紅蛋白濃度之增加。在高輸注負擔(HTB)個體中，紅細胞反應定義為降低之輸注負擔。

8.4.3 方法

包涵準則包括低或int-1風險型MDS，年齡 ≥ 18 週歲，貧血定義為Hb < 10.0 g/dL (LTB，定義為基線之前 < 4 個單位RBC/8週)或基線之前 ≥ 4 個單位RBC/8週(HTB)，EPO > 500 U/L或對ESA不起反應/具有難治性，先前未使用阿紮胞苷或地西他濱，且當前未用ESA、G-CSF、GM-CSF或來那度胺治療。在隨後3個月內，在時序群組(各n=3-6)中每3週一次以0.125至1.75 mg/kg之劑量範圍藉由皮下(SC)注射投與ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)保持至多5個劑量。擴展群組(n=30)正在進行中，其中個別個體劑量滴定以允許反應。完成此研究之個體可參與12個月擴展研究。

8.4.4 結果

此實例提供58名參與II期研究之個體中44名個體(19名女性，25名男性；15名LTB個體，29名HTB個體)之初步安全性及功效資料。個

體之中值年齡為71週歲。61%個體有先前EPO療法。21%個體有先前來那度胺療法。73%個體具有RARS或RCMD-RS。80%個體在骨髓中具有大於15%環形含鐵胚血球。

用0.75 mg/kg與1.75 mg/kg之間的ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)治療之LTB個體(n=13)對主要終點具有77%反應率(Hb增加 ≥ 1.5 g/dL保持 ≥ 2 週)及62% IWG HI-E (國際工作組紅血球血液學改善)反應率(Hb增加 ≥ 1.5 g/dL保持 ≥ 8 週)。血紅蛋白之平均(標準偏差)最大變化在較高劑量組中為2.7 (標準偏差：1.1) g/dL，與此相比，在較低劑量組中為0.9 (標準偏差：0.1) g/dL。

用0.75 mg/kg與1.75 mg/kg之間的ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)治療之HTB個體(n=13)具有50% HI-E反應率(≥ 4 個RBC單位/8週降低)。對具有 $\geq 15\%$ 環形含鐵胚血球之個體(n=30)，HI-E反應率為63%，且對於具有SF3B1突變之個體(n=10)，HI-E反應率為80%。ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)通常耐受良好。不論因果關係，最常見不良事件為腹瀉、鼻咽炎、肌痛、骨痛、支氣管炎、頭痛及肌肉痙攣。

8.4.5 結論

基於低/Int-1 MDS個體中之初步資料，以治療劑量ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)治療3個月引起HI-E反應，54%個體中Hb含量增加及/或輸注需求降低，於有利安全概況。在具有環形含鐵胚血球及SF3B1突變之個體中觀測到較高反應率。此等資料強力支持使用環形含鐵胚血球含量及SF3B1突變盛行率作為患有MDS個體使用ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)有效治療之生物標記。

8.5 實例5：具有低或中等-1 (Int-1)-風險型MDS或非增生性CMML及

需要RBC輸注之貧血之個體中ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)之開放標記、2期、劑量發現研究

8.5.1 說明

參見實例2(章節8.2)之說明(章節8.2.1)以及材料及方法(章節8.2.2)。此實例呈現來自實例2(章節8.2)之其他資料，在2期研究中之稍後日期獲得。

8.5.2 結果

總共59名MDS個體用0.1 mg/kg、0.3 mg/kg、0.5 mg/kg、1.0 mg/kg或2.0 mg/kg之ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)治療。表8提供各治療組之個體之基線特徵。

在可評估功效之53名個體中，在總共23名個體(43%)中觀測HI-E：ActRIIA-hFc (SEQ ID NO: 7)0.1、0.3、0.5及1.0 mg/kg劑量組中分別有0、4 (67%)、9 (45%)及10 (50%)名個體。此外，用少至0.3 mg/kg之ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)治療HTB個體產生大於或等於4個RBC單位/8週輸注負擔降低(參見表9)。輸注反應之持續時間似乎為劑量依賴性。此外，在45名可評估HTB個體中，6名(13)獲得RBC-TI保持至少8週(參見表9)。關於在用1.0 mg/kg之劑量之ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)治療起始之後獲得RBC-TI保持至少337天之例示性HTB個體，參見圖13。

表8. 個體基線特徵

特徵	ActRIIA信號傳導抑制劑(SEQ ID NO:7)劑量組					總數 (N = 59)
	0.1 mg/kg (n = 7)	0.3 mg/kg (n = 6)	0.5 mg/kg (n = 21)	1.0 mg/kg (n = 20)	2.0 mg/kg (n = 5)	
年齡，中值(範圍)，週歲	65 (58-79)	73 (66-86)	69 (56-82)	74 (60-84)	73 (47-81)	71 (47-86)
女性，n (%)	3 (42.9)	0	4 (19.0)	9 (45.0)	4 (80)	20 (34)

距初始診斷之時間，中值(範圍)，年	4 (1-6)	8 (4-10)	6 (0-31) ^a	3 (0-20) ^a	2 (0-5)	4 (0-31) ^a
RBC輸注負擔，中值(範圍)單位/8週	9 (4-10)	8 (6-11)	6 (2-16)	6 (0-10)	4(3-8)	6 (0-16)
RBC輸注狀況，n (%)						
HTB ^b	7 (100)	6 (100)	18 (86)	15 (75)	4 (80)	50 (85)
LTB ^c	0	0	3 (14)	5 (25)	1 (2)	9 (15)
IPSS風險，n (%)						
低	4 (57)	4 (67)	5 (24)	7 (35)	0	20 (34)
Int-1	3 (43)	2 (33)	16 (76)	13 (65)	5 (100)	39 *66)
血清EPO含量，n (%)						
≤ 500 mIU/mL	4 (57)	5 (83)	11 (52)	13 (65)	2 (40)	35 (59)
> 500 mIU/mL	3 (43)	1 (17)	8 (38)	6 (30)	1 (20)	19 (32)
缺失	0	0	2 (10)	1 (5)	2 (40)	5 (9)
先前使用ESA，n (%)						
先前使用低甲基化劑，n (%)	6 (86)	6 (100)	13 (62)	6 (30)	0	31 (53)
先前使用來那度胺，n (%)	5 (71)	5 (83)	10 (48)	6 (30)	1 (20)	27 (46)
先前使用其他MDS治療，n (%)	6 (86)	5 (83)	8 (38)	7 (35)	0	26 (44)

^a0年指示距初始診斷<1年；^b RBC輸注負擔≥4個單位/8週之個體；^c RBC輸注負擔<4個單位/8週之個體；^d MDS之非ESA、非低甲基化及非來那度胺治療；EPO，紅血球生成素；ESA，紅血球生成刺激劑；Hb，血紅蛋白；HTB，高輸注負擔；Int，中間物；IPSS，國際預後評分系統；LTB，低輸注負擔；MDS，骨髓發育不良症候群；RBC，紅血球。

表9. HTB個體(n=45)中之輸注反應

特徵	ActRIIA信號傳導抑制劑(SEQ ID NO:7)劑量組				總數 (N = 45)
	0.1 mg/kg (n = 7)	0.3 mg/kg (n = 6)	0.5 mg/kg (n = 17)	1.0 mg/kg (n = 15)	
輸注負擔降低 ≥4個RBC單位 /8週，n (%)	0	4 (67)	8 (47)	6 (40)	18 (40)
最長反應之持續時間，中值 (範圍)(天)	NA	68 (62-173)	109 (83-345+)	123 (62-353+)	99 (62-345+)

RBC-TI ≥ 56 天，n (%)	0	1 (17)	2 (12)	3 (20)	6 (13)
RBC-TI之持續時間≥8週，中值(範圍)，天	NA	124 (124-124)	347 (154-540)	78 (59-353)	139 (59-540)

此外，在8名用ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)治療之LTB個體中，5名(63%)獲得RBC-TI，其中在任何8週無輸注週期內平均Hb增加至少1.5 g/dL。特定言之，33%用0.5 mg/kg之ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)治療之LTB個體及80%用1.0 mg/kg之ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)治療之LTB獲得RBC-TI，其中在任何8週無輸注週期內平均Hb增加至少1.5 g/dL。用ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)治療之經治療之LTB個體中之最大平均Hb增加介於1.45 g/dL與4.44 g/dL之間。用ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)治療之LTB個體中RBC-TI之持續時間在76至472天範圍內。Hb含量大於11.0 g/dL之LTB個體經歷給藥延遲，其可對Hb含量增加之持續時間之評估具有影響。關於在用1.0 mg/kg之劑量之ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)治療起始之後獲得RBC-TI及血紅蛋白含量持續增加保持至少358天之例示性LTB個體，參見圖14。

此外，評估基線處治療功效與存在環形含鐵胚血球(RS)之間的關聯性(參見表10)。在50%RS陽性個體中實現HI-E。相比之下，在僅10%RS陰性個體中實現HI-E。

表10. 用ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)治療之個體中環形含鐵胚血球之狀況

RS狀況 ^a	基線處之平均EPO含量 (mIU/mL)	基線處之平均輸注負擔(RBC單位/8週，第一次給藥之前)	ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)劑量組及RS狀況 n/N (%)之HI-E				
			0.1 mg/kg	0.3 mg/kg	0.5 mg/kg	1.0 mg/kg	總數
RS陽性 ^b	346.53	7.04	0/6 (0)	4/4 (100)	5/9 (56)	5/9 (56)	14/28 (50)
RS陰性 ^c	1447.40	6.40	0/1 (0)	0/3 (0)	0/2 (0)	1/5 (20)	1/10 (10)

^a RS狀況來自可使用之基線及以其他方式來自後基線；16名個體

第 163 頁(發明說明書)

之RS狀況未知；^b > 15% RS；^c ≤ 15% RS

ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)通常良好耐受。參見表11。四名個體由於疑似治療相關不良事件而停止治療：個體A (0.3 mg/kg劑量組)，2級溶血性貧血；個體B (0.5 mg/kg劑量組)，3級高血壓；個體C (1.0 mg/kg劑量組)，2級肌肉衰弱；個體D (2.0 mg/kg劑量組)及伴有2級腹瀉之2級血壓升高。

8.5.3 結論

ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)在較低風險型MDS個體中在測試劑量下良好耐受，有希望存在證據表明ESA難治性、貧血、較低風險型MDS個體之此大部分HTB群組中之臨床活性。此外，此等資料表明用ActRII信號傳導抑制劑(例如ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7))治療之前個體中存在環形含鐵胚血球可為長期治療RBC輸注非依賴性、血紅蛋白含量長期增加及治療之增強之功效之指示。

表11. 用所指示之劑量之ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)治療之個體中之不良事件

	ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)劑量組					總數 (N = 59)
	0.1 mg/kg (n = 7)	0.3 mg/kg (n = 6)	0.5 mg/kg (n = 21)	1.0 mg/kg (n = 20)	2.0 mg/kg (n = 5)	
具有≥1 TEAE之個體	6 (86)	3 (50)	20 (95)	19 (95)	4 (80)	52 (88)
TEAE≥10%之個體						
疲乏/乏力 ^a	0	1 (17)	10 (48)	12 (60)	1 (20)	24 (41)
周邊水腫	2 (29)	2 (33)	4 (19)	4 (20)	0	12 (20)
腹瀉	0	3 (50)	11 (52)	8 (40)	2 (40)	12 (20)
噁心	0	1 (17)	4 (19)	4 (20)	1 (20)	10 (17)
便秘	0	1 (17)	6 (29)	2 (10)	0	9 (15)
嘔吐	0	1 (17)	2 (10)	3 (15)	1 (20)	6 (10)
食慾降低	0	0	3 (14)	3 (15)	0	6 (10)
肢端疼痛	0	1 (17)	2 (10)	3 (15)	1 (20)	6 (10)
頭痛	3 (43)	1 (17)	2 (10)	2 (10)	1 (20)	9 (15)

眩暈	1 (14)	1 (17)	5 (24)	6 (30)	0	6 (10)
咳嗽	1 (14)	1 (17)	2 (10)	5 (25)	0	9 (15)
呼吸困難	0	1 (17)	4 (19)	2 (10)	0	7 (12)
3-4級TEAE	1 (14)	1 (17)	9 (43)	5 (25)	2 (40)	18 (31)

8.6 實例6：ActRIIB-hFc在低或中等-1風險型MDS之個體中增加血紅蛋白及降低輸注負擔：來自2期研究之初步結果

8.6.1 說明

參見實例3 (章節8.3)之說明(章節8.3.1)以及材料及方法(章節8.3.2)。此實例呈現來自實例3 (章節8.3)之其他資料，在2期研究中之稍後日期獲得。

8.6.2 結果

可獲得44名個體(15名LTB/29名HTB)之資料。表12提供此實例中研究之個體之基線特徵。

評估用ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)治療之個體中之紅細胞反應。對於LTB個體，主要終點為血紅蛋白增加至少1.5 g/dL保持至少2週。對於HTB個體，主要終點為在8週內RBC輸注之至少4個單位或至少50%降低。33%(3/9)投與較低劑量(0.125-0.5 mg/kg之ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25))之個體獲得主要終點，而63% (22/35)投與較高劑量(0.75-1.75 mg/kg之ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25))之個體獲得主要終點。

此外，評估IWG HI-E。對於LTB個體，IWG HI-E為血紅蛋白增加至少1.5 g/dL保持至少8週。對於HTB個體，IWG HI-E為在8週內RBC輸注降低至少4個單位。22% (2/9)投與較低劑量(0.125-0.5 mg/kg之ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25))之個體獲得IWG HI-E，而54% (19/35)投與較高劑量(0.75-1.75 mg/kg之ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25))之個體

獲得IWG HI-E。

環形含鐵胚血球為異常紅血球母細胞。此外，某些與MDS相關之體細胞突變引起環型含鐵胚血球形成及無效的紅血球生成。編接因子3B1 (SF3B1)中之主要突變與環形含鐵胚血球之形成相關。如本文中所示，「RS+」係指至少15%環形含鐵胚血球。因此，在用較高劑量(0.75 mg/kg-1.75 mg/kg)之ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)治療之個體中評估存在環形含鐵胚血球、體細胞突變及無效紅血球生成與紅細胞反應及輸注非依賴性之間的關聯性(參見表13及表14)。用ActRIIB-hFc治療之個體獲得IWG HI-E及輸注非依賴性(參見表13、表14及圖16)。此等資料指示當個體為RS+及/或具有SF3B1突變時，用ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)治療之個體中存在增加之紅細胞反應。

表12. 用ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)治療之個體之基線特徵

參數	N=44
年齡(週歲)，中值(範圍)	71 (27-88)
性別，男性(%)	25 (57%)
先前ESA治療，n (%)	27 (61%)
先前來那度胺治療，n (%)	9 (21%)
低輸注負擔(LTB)	N = 15 (34%)
血紅蛋白，g/dL，中值(範圍)	9.0 (6.8-10.1)
單位RBC/8週，中值(範圍)	2 (所有個體)
高輸注負擔(HTB)	N = 19 (73%)
單位RBC/8週，中值(範圍)	6 (4-14)
IPSS	N = 44; n (%)
低	22 (50%)
Int-1	20 (46%)
Int-2	2 (4%)
IPSS-R	N = 44; n (%)
極低	2 (4.5%)
低	25 (57%)
中等	14 (32%)
高	3 (7%)
環形含鐵胚血球(RS)	N = 44; n (%)
RS+	35 (80%)
RS-	8 (18%)

RS不可評估	1 (2%)
編接突變(SF3B1)	N = 44; n (%)
SF3B1+ (存在突變)	25 (57%)
SF3B1- (不存在突變)	18 (41%)
SF3B1不可評估	1 (2%)

表 13. RS+及SF3B1突變陽性個體中之紅細胞反應。對於LTB個體，IWG HI-E為血紅蛋白增加至少1.5 g/dL保持至少8週。對於HTB個體，IWG HI-E為在8週內RBC輸注降低至少4個單位。

患者群體	IWG HI-E
所有患者(N=35)	19/35 (54%)
RS+患者(N=30)	19/30 (63%)
RS-患者(N=5)	0/5 (0%)
SF3B1+患者(N=22)	16/22 (73%)
SF3B1-患者(N=13)	3/13 (23%)

表 14. RS+及SF3B1突變陽性個體中之輸注非依賴性。輸注非依賴性係指在治療後在至少8週內無RBC輸注。

患者群體	輸注非依賴性
所有患者(N=28)	10/28 36%
RS+患者(N=23)	9/23 (39%)
RS-患者(N=4)	1/4 (25%)
SF3B1+患者(N=17)	7/17 (41%)
SF3B1-患者(N=11)	3/11 (27%)

8.6.3 結論

每三週皮下投與MDS個體ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)通常為安全及良好耐受的。在54%以至少0.75 mg/kg之劑量之ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)治療之個體中獲得紅細胞反應(IWG HI-E)。此外，在具有環形含鐵胚血球或SF3B1中之突變的個體中發現較高比率之紅細胞反應。此外，在36%用至少0.75 mg/kg之劑量之ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)治療之個體中獲得輸注非依賴性。

8.7 實例 7：具有較低風險型 MDS 及需要輸注之貧血之患者中 ActRIIA-hFC (SEQ ID NO:7)之2期、劑量發現研究

參見實例 2(章節 8.2)之說明(章節 8.2.1)以及材料及方法(章節 8.2.2)。此實例呈現來自實例 2 (章節 8.2)之其他資料，在 2 期研究中之稍後日期獲得。

此外，進一步評估基線處治療功效與存在環形含鐵胚血球(RS)之間的關聯性(參見表 15)。

在任何 8 週週期內實現 RBC-TI (對於 LTB 患者，平均 Hb 增加 ≥ 1.5 g/dL)展示於圖 17 中。

表 15. 紅細胞反應：用 ActRIIA-hFC 融合物 (SEQ ID NO:7) 治療之個體中鐵粒幼細胞性對比非鐵粒幼細胞性 MDS。在索塔西普 1.0 mg/kg 劑量組中，在 64% 鐵粒幼細胞性及 20% 非鐵粒幼細胞性患者中獲得 HI-E (卡方測驗 (Chi-square test) $P=0.11$)。

環形含鐵胚血球 ^a	索塔西普劑量組及 RS 狀況之 HI-E，n/N (%)				
	0.1 mg/kg	0.3 mg/kg	0.5 mg/kg	1.0 mg/kg	2.0 mg/kg
$\geq 15\%$	0/6	4/4 (100)	7/13 (54)	7/11 (64)	2/3 (67)
$< 15\%$	0/1	0/2	2/6 (33)	1/5 (20)	0/2

^a來自可用基線之 RS 狀況；6 名患者之 RS 狀況未知。

8.8 實例 8：ActRIIB-hFc 在低或中等-1 風險型 MDS 之個體中增加血紅蛋白及降低輸注負擔：來自 2 期研究之初步結果(續)

8.8.1 說明

參見實例 3 (章節 8.3)之說明(章節 8.3.1)以及材料及方法(章節 8.3.2)。此實例呈現來自實例 3 (章節 8.3)之其他資料，在 2 期研究中之稍後日期獲得。

8.8.2 結果

總共研究 49 名 MDS 個體。49 名 MDS 個體中之 27 名參與 3 個月 ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25) 劑量遞增研究 (0.125 mg/kg-1.75 mg/kg)，且 22 名個體參與後續擴展研究，如表 16 中所示。表 17 提供此

實例中研究之個體之基線特徵。

3個月劑量遞增研究

評估用 ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25) 治療之個體中之紅細胞反應。參見表 18。對於 LTB 個體，主要終點為血紅蛋白增加至少 1.5 g/dL 保持至少 2 週。對於 HTB 個體，主要終點為在 8 週內 RBC 輸注之至少 4 個單位或至少 50% 降低。33% (3/9) 投與較低劑量 (0.125-0.5 mg/kg 之 ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)) 之個體獲得主要終點，而 58% (23/40) 投與較高劑量 (0.75-1.75 mg/kg 之 ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)) 之個體獲得主要終點。

此外，評估 IWG HI-E。參見表 18。對於 LTB 個體，IWG HI-E 為血紅蛋白增加至少 1.5 g/dL 保持至少 8 週。對於 HTB 個體，IWG HI-E 為在 8 週內 RBC 輸注降低至少 4 個單位。22% (2/9) 投與較低劑量 (0.125-0.5 mg/kg 之 ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)) 之個體獲得 IWG HI-E，而 48% (19/40) 投與較高劑量 (0.75-1.75 mg/kg 之 ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)) 之個體獲得 IWG HI-E。

此外，評估輸注非依賴性。參見表 18。對於在 ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25) 療法之前接收至少兩個 RBC 單位之個體，輸注非依賴性定義為在接收 ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25) 治療時實現至少 8 週無輸注。14% (1/7) 投與較低劑量 (0.125-0.5 mg/kg 之 ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)) 之個體獲得輸注非依賴性，而 37% (11/30) 投與較高劑量 (0.75-1.75 mg/kg 之 ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)) 之個體獲得輸注非依賴性。4/6 LTB 個體及 7/24 HTB 個體獲得輸注非依賴性。11 名輸注非依賴性患者中之 10 名在 ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25) 治療之第一個 6 週內

發作。

評估用較高劑量(0.75 mg/kg-1.75 mg/kg)之ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)治療之個體中存在環形含鐵胚血球、體細胞突變及無效紅血球生成與紅細胞反應及輸注非依賴性之間的關聯性。參見表19。較高劑量組中所有個體中之19/40(48%)獲得IWG HI-E。19/35 (54%)環形含鐵胚血球(RS)陽性個體(定義為在其骨髓中具有至少15%紅細胞前驅體)獲得IWG HI-E且0/4 (0%)RS陰性個體獲得IWG HI-E。EPO含量低於200 mU/mL之14/23(61%)RS陽性個體獲得IWG HI-E且EPO含量低於200 mU/mL之5/12 (42%)RS陽性個體獲得IWG HI-E。16/26 (62%)具有SF3B1突變之個體及3/13 (23%)不具有SF3B1突變之個體獲得IWG HI-E。

總而言之，此實例中呈現之結果表明ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)治療引起穩固紅細胞反應及輸注非依賴性，尤其在較高劑量組中之個體中。此外，在RS+陽性及SF3B1突變陽性個體中發現富集之紅細胞反應。

ActRIIA-hFc (SEQ ID NO:7)通常良好耐受。參見表20。大部分不良事件(AE)為1或2級。觀測到兩個可能相關嚴重不良事件(SAE)：3級肌肉疼痛(第90天發作)及3級一般病狀惡化(第44天發作，第66天復發，不相關)。觀測到胚細胞計數之一個可能相關非嚴重3級AE。

表16. 用ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)治療之個體之給藥時程

劑量程度(mg/kg)	劑量遞增							擴增
	0.125	0.25	0.5	0.75	1.0	1.33	1.75	1.0 ^a
個體數目	3	3	3	6	3	6	3	22

^a 起始劑量程度；劑量程度在8名個體中增加至1.33 mg/kg且在2名個體中增加至1.75 mg/kg。

表17. 用ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)治療之個體之基線特徵

參數	N=44
年齡(週歲)，中值(範圍)	71 (27-88)
性別，男性(%)	27 (55%)
先前ESA治療，n (%)	30 (61%)
先前來那度胺治療，n (%)	9 (18%)
距診斷之時間，年，中值(範圍)	2.8 (0.2-13.6)
低輸注負擔(LTB)	N = 17 (35%)
血紅蛋白，g/dL，中值(範圍)	8.7 (6.8-10.1)
單位RBC/8週，中值(範圍)	2 (2-2) (n=6)
高輸注負擔(HTB)	N = 32 (65%)
單位RBC/8週，中值(範圍)	6 (4-14) (n=32)
IPSS	N = 49 ; n (%)
低	27 (55%)
Int-1	20 (41%)
Int-2	2 (4%)
IPSS-R	N = 44; n (%)
極低	2 (4.5%)
低	30 (61%)
中等	14 (29%)
高	3 (6%)
環形含鐵胚血球(RS)	N = 48 ; n (%)
RS+	40 (83%)
SF3B1+ (存在突變)	29 (73%)
SF3B1- (不存在突變)	11 (27%)
RS-	8 (17%)

表18. 用ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)治療之個體中之紅細胞反應及輸注非依賴性

反應準則	較低劑量組 0.125-0.5 mg/kg N=9 n%	較高劑量組 0.75-0.175 mg/kg N=40 n (%)
主要功效終點	3 (33%)	23 (58%)
IWG HI-E	2 (22%)	19 (48%)
輸注非依賴性	1/7 (14%)	11/30 (37%)*
		LTB HTB
		4/6 7/24

* 11名輸注非依賴性患者中之10名在ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)治療之第一個6週內發作。

表19. 用ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)治療之個體中之紅細胞反應及

輸注非依賴性

患者群體	IWG HI-E
所有患者	19/40 (48%)
RS陽性	19/35 (54%)
EPO < 200	14/23 (61%)
EPO ≥ 200	5/12 (42%)
存在SF3B1突變	16/26 (62%)
存在SF3B1突變	3/13 (23%)

表 20. 在≥4個用ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)治療之個體中報導之不良事件(所有等級)，與因果關係無關：

較佳術語 N (%)	較低劑量組 0.125-0.5 mg/kg N=9 n%	較高劑量組 0.75-0.175 mg/kg N=40 n (%)	總數 N=49
肌痛	2 (22)	5 (13)	7 (14)
腹瀉	2 (22)	4 (10)	6 (12)
鼻咽炎	1 (11)	5 (13)	6 (12)
頭痛	0	5 (13)	5 (10)
上腹痛	1 (11)	3 (8)	4 (8)
骨痛	1 (11)	3 (8)	4 (8)
支氣管炎	0	4 (10)	4 (8)
疲乏	0	4 (10)	4 (8)
高血壓	0	4 (10)	4 (8)
肌肉痙攣	2 (22)	2 (5)	4 (8)

擴展研究

完成3個月劑量遞增研究之個體符合參與後續12個月擴展研究之條件。對於治療中斷超過3個月之個體，ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)之起始劑量為1.0 mg/kg。對於ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)治療未間斷之個體，以與其3個月治療方案中之最後劑量相同之劑量程度繼續其治療。

總共58名個體參與3個月治療研究。其中，22名個體參與12個月擴展研究，9名低輸注負擔患者及13名高輸注負擔患者。在擴展研究中，17/22名個體繼續其未間斷的ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)治療且

5/22名個體在中斷>3個月之後進入。

對於9名低輸注負擔患者，一個月之平均血紅蛋白增加為約2 g/dL，增加至2.5與3.0 g/dL之間且保持6個月週期以便可獲得其資料。

對於13名高輸注負擔患者，43%獲得輸注非依賴性，其中若干患者保持此輸注非依賴性超過6個月，其中最長的進行中輸注非依賴性患者為幾乎8個月。所有此等患者保持研究。

圖18展示例示性個體之結果。RS陽性HTB個體在初始3個月治療研究中用0.75 mg/kg ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)之劑量治療且在11個月ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)治療中斷之後參與12個月擴展研究，在擴展研究期間個體接收EPO。

在LTB個體中觀測到持久的血紅蛋白反應。8/9個體獲得IWG HI-E。圖19展示例示性個體之血紅蛋白反應。

12個月擴展研究中之個體展示持久的輸注非依賴性反應。圖20說明6名個體之結果。5名個體在接收1.0 mg/kg (4名個體)及1.75 mg/kg (1名個體)之劑量之ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)治療時，在2-7個月之後展示持續輸注非依賴性反應。一名個體(圖20中最後一列)接收1.0 mg/kg至1.33 mg/kg及1.75 mg/kg之兩種劑量滴定。此後一個體間歇地經歷輸注非依賴性保持約2個月且持續實現IWG HI-E反應。

總之，此實例中呈現之結果表明用ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)治療之較低風險RS-陽性MDS個體顯示穩固血液學改善，尤其在以 ≥ 0.75 mg/kg之劑量治療時。ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)治療通常良好耐受。用ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)進行之更長期治療顯示血紅

蛋白含量之持續增加及保持性輸注非依賴性。

8.9 實例9：用於治療由IPSS-R極低、低或中等風險MDS引起之貧血之ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)之III期研究

此實例提供3期、雙盲、安慰劑對照、多中心、隨機研究之概述，該研究測定用於治療需要RBC輸注之具有環形含鐵胚血球(至少15%紅血球母細胞為環形含鐵胚血球)之個體中由IPSS-R極低、低或中等風險型MDS引起之貧血之ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)的功效及安全性。

貧血視為骨髓發育不良症候群患者中最流行的血球減少症之一，其為用於描述與紅血球、白血球及/或血小板之無效製備相關之病症的涵蓋性術語。嚴重度等級自輕度(無徵狀)至重度，貧血可引起患者需要RBC輸注，其可引起由鐵過載引起之其他併發症。此研究之目標為評估具有環形含鐵胚血球存在且需要恆定RBC輸注之分類為IPSS-R極低、低或中等風險型MDS之貧血患者中ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)對比安慰劑之安全性及功效。研究之設計將允許將患者初始隨機化為ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)或安慰劑組之週期，接著為雙盲治療週期且接著進行MDS疾病評估訪問。對於此等確定經歷臨床權利之患者(如由研究研究者藉由此疾病評估訪問判定)，其將允許進入研究之雙盲擴展階段。一旦患者停止研究治療，其將進入治療後之後續週期。

8.9.1 研究設計

每三週一次皮下投與個體1.0 mg/kg之初始劑量之ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)。每三週一次皮下投與對照個體安慰劑。

(a) 包涵準則

參與此研究之個體之包涵準則包括：(1)個體在簽署知情同意書時之年齡 ≥ 18 週歲；(2)個體具有符合極低、低或中等風險疾病之經修改之國際預後評分系統(IPSS-R)分類之MDS診斷且具有：(a)骨髓中大於15%紅細胞前驅體為環形含鐵胚血球及(b)骨髓中少於5%母細胞；(3)個體在8週週期內需要紅血球輸注 > 2 個單位；(4)東部腫瘤協作組(Eastern Cooperative Oncology Group；ECOG)評分為0、1或2；(5)個體對先前ESA治療具有難治性/不耐受/不合格；對先前ESA治療之難治性需要不起反應或不再保持對先前含有ESA之療程(呈單一藥劑或組合(例如與G-CSF)形式)之反應的文檔；ESA療程必須為(a)大於40,000 IU/週之重組型人類紅血球生成素保持至少8個劑量或等效物，或(b)每三週一次大於500 μg 之達貝泊汀 α 保持至少4個劑量或等效物；對先前ESA治療不耐受需要在引入之後的任何時間由與不耐受性或不良事件而停止先前含有ESA之療程(呈單一藥劑或組合(例如與G-CSF)形式)的文檔；對於先前未用ESA治療之個體，ESA不合格需要基於大於200 U/L之內源性血清紅血球生成素含量之對ESA之反應之低機率。

(b) 排除標準

存在以下中之任一者將禁止個體參與研究：(1)使用用於潛在MDS疾病改善劑(例如免疫調節藥物、低甲基化劑或免疫抑止療法)或實驗藥劑之先前療法；(2)與del 5q細胞遺傳學異常相關之MDS；(3)二級MDS，亦即已知由於化學損傷或使用用於其他疾病之化學療法及/或輻射進行之治療而出現MDS；(4)由鐵、維生素B12或葉酸不足引起

之已知臨床顯著貧血，或自體免疫性或遺傳性溶血性貧血，或胃腸道出血；藉由針對用於鐵之骨髓抽吸染色、所計算之運鐵蛋白飽和度(鐵/總鐵結合能力) $\leq 20\%$ 或血清鐵蛋白 $\leq 15 \mu\text{g/L}$ 測定鐵不足；(6)先前同種異體或自體幹細胞移植；(7)已知急性骨髓白血病(AML)之診斷史；(8)在隨機化之前5週內使用以下中之任一者：抗癌細胞毒性化學治療劑或治療、皮質類固醇(除用於除MDS以外的醫學病況之在隨機化之前 ≥ 1 週之穩定或遞減劑量之個體以外)、鐵螯合劑(除在隨機化之前至少8週之穩定或遞減劑量之個體以外)、其他RBC造血生長因子(例如介白素-3)；(9)先前惡性病史，除MDS以外，除非個體已在 ≥ 5 年時間內無疾病；允許具有以下病史/並行病狀之個體：皮膚之基底或鱗狀細胞癌、原位子宮頸癌瘤、原位乳房癌瘤、前列腺癌之偶然組織學表現(使用腫瘤、結節、轉移臨床分級系統之T1a或T1b)；或(10)在隨機化之前8週內進行重大手術；個體在隨機化之前必須自任何先前手術完全恢復。

(c) 結果量測結果

此研究之主要量測結果為測定在任何連續的56天週期內成為RBC輸注非依賴性(亦即無需RBC輸注)之投與ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)之個體之比例。

第二量測結果包括測定在ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)投藥之後，在任何連續84天週期內具有RBC輸注非依賴性(亦即無需RBC輸注)之投與ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)之個體的比例。亦測定在ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)投藥之後，在16週週期內具有輸注之RBC單位之數目降低之投與ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)之個體的比

例。此外，亦測定投與ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)之個體中RBC輸注非依賴性之最大持續時間。最終，亦測定投與ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)之個體實現RBC輸注非依賴性所需之時間；實現RBC輸注非依賴性之時間定義為隨機化與第一次觀測到輸注非依賴性之日期(例如56天無任何RBC輸注中之第1天)之間的時間。

亦測定在ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)投藥之後，在連續56天週期內實現經改善之紅血球血液學改善之投與ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)之個體之比例。在某些態樣中，紅血球血液學改善由IWG定義。在某些態樣中，紅血球血液學改善如由經修改之2006 IWG所定義。在某些態樣中，低輸注負擔患者之紅血球血液學改善為患者中之血紅蛋白濃度增加至少1.5 g/dL保持至少8週。在某些態樣中，高輸注負擔患者之紅血球血液學改善為RBC輸注降低至少4個單位保持8週。

將測定在不存在RBC輸注之情況下，投與ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)且在任何連續56天週期內實現血紅蛋白增加至少1.0 g/dL(與投與個體ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)之前個體中之血紅蛋白濃度相比)之個體之比例。

將測定投與ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)之個體中之血清鐵蛋白含量與ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)投藥之前之血清鐵蛋白含量相比之平均降低。將使用共變分析(ANCOVA)比較各組之間的治療差異，其中層別因子及基線(預先ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)投藥)血清鐵蛋白值作為共變量。

將測定投與ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)之個體中之使用鐵螯合療法與ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)投藥之前使用之螯合療法相比之

平均降低。各個體之每日鐵螯合療法劑量之變化計算為基線後平均日劑量與基線平均日劑量之差。使用共變分析(ANCOVA)比較各組之間的治療差異，其中使用層別因子及基線鐵螯合療法值及共變量。

亦測定在ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)投藥之後，在任何連續56天週期內實現嗜中性白血球血液學改善之投與ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)之個體之比例。在某些態樣中，嗜中性白血球血液學改善由IWG定義。在某些態樣中，嗜中性白血球血液學改善為在投與個體ActRIIB-hFc (SEQ ID NO:25)之後，個體在56個連續日週期內嗜中性白血球增加至少100%且大於500個/微升。

亦測定經歷急性骨髓白血病之個體之比例。

亦使用及評估癌症研究及治療組織之生活質量調查表(European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality of Life Questionnaire)。

亦評估不良事件、總存活率、群體藥物動力學及不良事件。

9. 序列說明

表21. 序列資訊

SEQ ID NO	說明	序列
1	人類ActRIIA前驅體多肽	MGAAAKLAFVFLISCSGAILGRSETQECLFFNANWEKD RTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWL DDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPE MEVTQPTSNPVTPKPPYYNILLSLVLMLIAGIVICAFWV YRHHKMAYPVLPVPTQDPGPPPSPLLGLKPLQLLEVkar GRFGCVWKAQLLNEYVAVKIFPIQDKQSWQNEYEVYSLP GMKHENILQFIGAEKRGTSVDVDLWLITAFHEKGSLSDFL KANVVSWNELCHIAETMARGLAYLHEDIPGLKDGHKPAIS HRDIKSKNVLLKNNLTACIADFGLALKFEAGKSAGDTHGQ VGTRRYMAPEVLEGAINFQRDAFLRIDMYAMGLVLWELA SRCTAADGPVDEYMLPFEEEIGQHPSLEDMQEVVVHKKK RPVLRDYWQKHAGMAMLCETIEECWDHDAEARLSAGCV GERITQMQLTNIITTEDIVTVVTMVTNVDFPPKESL
2	人類ActRIIA可溶	ILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRH

SEQ ID NO	說明	序列
	(細胞外)，經處理之多肽序列	CFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRITDCVEKKDSPE VYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTSNPVTPKPP
3	C端15個胺基酸 缺失之人類 ActRIIA可溶(細胞外)、經處理多肽序列	ILGRSETQECLFFNANWEKDRITNQTGVEPCYGDKDKRRH CFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRITDCVEKKDSPE VYFCCCEGNMCNEKFSYFPEM
4	編碼人類ActRIIA 前驅蛋白之核酸 序列	ATGGGAGCTGCTGCAAAGTTGGCGTTTGCCGTCTTTCTT ATCTCCTGTTCTTCAGGTGCTATACTTGGTAGATCAGAA ACTCAGGAGTGTCTTTTCTTTAATGCTAATTGGGAAAAA GACAGAACCAATCAAACCTGGTGTGTAACCGTGTATGG TGACAAAGATAAACGGCGGCATTGTTTTGCTACCTGGA AGAATATTTCTGGTTCATTGAAATAGTGAAACAAGGTT GTTGGCTGGATGATATCAACTGCTATGACAGGACTGATT GTGTAGAAAAAAGACAGCCCTGAAGTATATTTTTGT TGCTGTGAGGGCAATATGTGTAATGAAAAGTTTTCTTAT TTCCAGAGATGGAAGTCACACAGCCCACTTCAAATCC AGTTACACCTAAGCCACCCTATTACAACATCCTGCTCTA TTCCTTGGTGCCACTTATGTTAATTGCGGGGATTGTCAT TTGTGCATTTTGGGTGTACAGGCATCACAAGATGGCCTA CCCTCCTGTACTTGTTCAACTCAAGACCCAGGACCACC CCCACCTTCTCCATTACTAGGGTTGAAACCACTGCAGTT ATTAGAAGTGAAAGCAAGGGGAAGATTTGGTTGTGTCT GGAAAGCCCAGTTGCTTAACGAATATGTGGCTGTCAA ATATTTCCAATACAGGACAAACAGTCATGGCAAATGA ATACGAAGTCTACAGTTTGCCTGGAATGAAGCATGAGA ACATATTACAGTTCATTGGTGCAGAAAAACGAGGCACC AGTGTGATGTGGATCTTTGGCTGATCACAGCATTTCAT GAAAAGGGTTCACTATCAGACTTTCTTAAGGCTAATGTG GTCTCTTGGAATGAACTGTGTCATATTGCAGAAACCATG GCTAGAGGATTGGCATAATTTACATGAGGATATACCTGG CCTAAAAGATGGCCACAAACCTGCCATATCTCACAGGG ACATCAAAGTAAAAATGTGCTGTTGAAAAACAACCTG ACAGCTTGCATTGCTGACTTTGGGTGGCCTTAAAATTT GAGGCTGGCAAGTCTGCAGGCGATACCCATGGACAGGT TGGTACCCGGAGGTACATGGCTCCAGAGGTATTAGAGG GTGCTATAAACTTCGAAAGGGATGCATTTTTGAGGATA GATATGTATGCCATGGGATTAGTCCTATGGGAACTGGCT TCTCGCTGTACTGCTGCAGATGGACCTGTAGATGAATAC ATGTTGCCATTTGAGGAGGAAATTGGCCAGCATCCATCT CTTGAAGACATGCAGGAAGTTGTTGTGCATAAAAAAAA GAGGCCTGTTTTAAGAGATTATTGGCAGAAACATGCTG GAATGGCAATGCTCTGTGAAACCATTGAAGAATGTTGG GATCACGACGCAGAAGCCAGGTTATCAGCTGGATGTGT AGGTGAAAGAATTACCCAGATGCAGAGACTAACAAATA TTATTACCACAGAGGACATTGTAACAGTGGTCACAATG GTGACAAATGTTGACTTTCCTCCCAAAGAATCTAGTCTA TGA

SEQ ID NO	說明	序列
5	編碼人類ActRIIA可溶(細胞外)多肽之核酸序列	ATACTTGGTAGATCAGAACTCAGGAGTGTCTTTTCTTT AATGCTAATTGGGAAAAAGACAGAACCAATCAAACCTGG TGTTGAACCGTGTTATGGTGACAAAGATAAACGGCGGC ATTGTTTTGCTACCTGGAAGAATATTTCTGGTTCCATTG AAATAGTGAAACAAGGTTGTTGGCTGGATGATATCAAC TGCTATGACAGGACTGATTGTGTAGAAAAAAAAGACAG CCCTGAAGTATATTTTTGTTGCTGTGAGGGCAATATGTG TAATGAAAAGTTTTCTTATTTTTCCAGAGATGGAAGTCAC ACAGCCCACTCAAATCCAGTTACACCTAAGCCACCC
6	包含融合至Fc域之ActRIIA之可溶細胞外域的融合蛋白質	THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV D(A)VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK(A)VSNKALPVPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGPFPLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHN(A)HYTQKLSLSLSPGK*
7	融合至人類Fc域之人類ActRIIA之細胞外域	ILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRH CFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRDTCVEKKDSPE VYFCCCEGNMCNEKFSYFPMEVTQPTSNPVTPKPPTGGG THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPVPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTPPVLDSDGPFPLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK
8	蜜蜂蜂毒肽(HBML)之前導序列	MKFLVNVALVFMVVYISYIYA
9	組織纖維蛋白溶酶原活化因子(TPA)之前導序列	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSP
10	原生ActRIIA	MGAAAKLAFVFLISCSGA
11	ActRIIA-hFc 及 ActRIIA-mFc N端序列	ILGRSETQE
12	ActRIIA之細胞外域之C端15個胺基酸缺失之ActRIIA-Fc蛋白質	ILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRH CFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRDTCVEKKDSPE VYFCCCEGNMCNEKFSYFPMTGGGTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPVPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSGPFPLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKLSLSLSPGK
13	具有TPA前導序列之未經處理之ActRIIA-hFc	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPGAAILGRSETQECLFFNA NWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIV KQGCWLDDINCYDRDTCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNE KFSYFPMEVTQPTSNPVTPKPPTGGGTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN

SEQ ID NO	說明	序列
		WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPVPPIEKTKAKKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSDSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHN HYTQKLSLSLSPGK
14	編碼具有TPA前導序列之未經處理之ActRIIA-hFc的核酸序列	ATGGATGCAATGAAGAGAGGGCTCTGCTGTGTGCTGCT GCTGTGTGGAGCAGTCTTCGTTTCGCCCGGCGCCGCTAT ACTTGGTAGATCAGAACTCAGGAGTGTCTTTTTTTAAT GCTAATTGGGAAAAAGACAGAACCAATCAAACCTGGTGT TGAACCGTGTATGGTGACAAAGATAAACGGCGGCATT GTTTTGCTACCTGGAAGAATATTTCTGGTTCCATTGAAT AGTGAACAAGGTTGTTGGCTGGATGATATCAACTGCT ATGACAGGACTGATTGTGTAGAAAAAAGACAGCCCT GAAGTATATTTCTGTTGCTGTGAGGGCAATATGTGTAAT GAAAAGTTTTCTTATTTCCGGAGATGGAAGTCACACAG CCACTTCAAATCCAGTTACACCTAAGCCACCCACCGGT GGTGGAACTCACACATGCCACCGTGCCACGACCTGA ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAA ACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGG TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCT GAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGT GCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTAC AACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCTG CACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAA GGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGTCCCCATCGAGAAAA CCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAA GAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCT ATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG CAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCT GGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCAC CGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCT CATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTAC ACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGAGA ATTC
15	EC域之N端6個胺基酸缺失且EC域之C端4個胺基酸缺失 (SEQ ID NO:28 之胺基酸 25-130) 且具有L79D突變之人類ActRIIB可溶(細胞外)、經處理之多肽序列	ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASW RNSSGTIELVKKGCWDDDFNCYDRQECVATEENPQVYFC CCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPP
16	人類ActRIIB前驅蛋白序列(A64)	MTAPWVALALLWGSLWPGSGRGEAETRECIYYNANWEL ERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWANSSGTIELVKKGC WLDDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHL

SEQ ID NO	說明	序列
		PEAGGPEVTYEPPTAPTLLTVLAYSLPIGGLSLIVLLAFW MYRHRKPPYGHVDIHEDPGPPPSPLVGLKPLQLLEIKARG RFGCVWKAQLMNDFVAVKIFPLQDKQSWQSEREIFSTPG MKHENLLQFIAAEKRGSNLEVELWLITAFHDKGSLTDYLK GNIITWNELCHVAETMSRGLSYLHEDVPWCRGEGHKPSIA HRDFKSKNVLLKSDLTAVLADFGLA VRFEPGKPPGDTHG QVGTRRYMAPEVLEGAINFQRDAFLRIDMYAMGLVLWEL VSRCKAADGPVDEYMLPFEEEIGQHPSLEELQEVVVHKK MRPTIKDHWLKHPLAQLCVTIEECWDHDAEARLSAGCV EERVSLIRRSVNGTTSDCLVSLVTSVTNVDLPPKESSI
17	人類ActRIIB可溶(細胞外)、經處理之多肽序列(SEQ ID NO:16之胺基酸19-134)	SGRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRL HCYASWANSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEEN PQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT
18	C端15個胺基酸缺失之人類ActRIIB可溶(細胞外)、經處理之多肽序列(SEQ ID NO:16之胺基酸19-119)	SGRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRL HCYASWANSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEEN PQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEA
19	編碼人類ActRIIB(A64)前驅蛋白之核酸序列	ATGACGGCGCCCTGGGTGGCCCTCGCCCTCCTCTGGGG ATCGCTGTGGCCCGGCTCTGGGCGTGGGGAGGCTGAGA CACGGGAGTGCATCTACTACAACGCCAACTGGGAGCTG GAGCGCACCAACCAGAGCGGCCTGGAGCGCTGCGAAG GCGAGCAGGACAAGCGGCTGCACTGCTACGCCTCCTGG GCCAACAGCTCTGGCACCATCGAGCTCGTGAAGAAGGG CTGCTGGCTAGATGACTTCAACTGCTACGATAGGCAGG AGTGTGTGGCCACTGAGGAGAACCCCAAGGTGTACTTC TGCTGCTGTGAAGGCAACTTCTGCAACGAGCGCTTCACT CATTTGCCAGAGGCTGGGGGCCCCGGAAGTCACGTACGA GCCACCCCGACAGCCCCACCCTGCTCACGGTGCTGG CCTACTCACTGCTGCCCATCGGGGGCCTTTCCCTCATCG TCCTGCTGGCCTTTTGGATGTACCGGCATCGAAGCCCC CCTACGGTCACTGTGGACATCCATGAGGACCCTGGGCCT CCACCACCATCCCCTCTGGTGGGCCTGAAGCCACTGCA GCTGCTGGAGATCAAGGCTCGGGGGCGCTTTGGCTGTG TCTGGAAGGCCAGCTCATGAATGACTTTGTAGCTGTCA AGATCTTCCCACTCCAGGACAAGCAGTCGTGGCAGAGT GAACGGGAGATCTTCAGCACACCTGGCATGAAGCACGA GAACCTGCTACAGTTCATTGCTGCCGAGAAGCGAGGCT CCAACCTCGAAGTAGAGCTGTGGCTCATCACGGCCTTCC ATGACAAGGGCTCCCTCACGGATTACCTCAAGGGGAAC ATCATCACATGGAACGAACTGTGTCATGTAGCAGAGAC GATGTCACGAGGCCTTCATACCTGCATGAGGATGTGC CCTGGTGCCGTGGCGAGGGCCACAAGCCGTCTATTGCC CACAGGGACTTTAAAAGTAAGAATGTATTGCTGAAGAG

SEQ ID NO	說明	序列
		CGACCTCACAGCCGTGCTGGCTGACTTTGGCTTGGCTGT TCGATTTGAGCCAGGGAAACCTCCAGGGGACACCCACG GACAGGTAGGCACGAGACGGTACATGGCTCCTGAGGTG CTCGAGGGAGCCATCAACTTCCAGAGAGATGCCTTCTT GCGCATTGACATGTATGCCATGGGGTTGGTGTGCTGTGGG AGCTTGTGTCTCGCTGCAAGGCTGCAGACGGACCCGTG GATGAGTACATGCTGCCCTTTGAGGAAGAGATTGGCCA GCACCCTTCGTTGGAGGAGCTGCAGGAGGTGGTGGTGC ACAAGAAGATGAGGCCACCATTAAAGATCACTGGTTG AAACACCCGGGCCTGGCCCAGCTTTGTGTGACCATCGA GGAGTGCTGGGACCATGATGCAGAGGCTCGCTTGTCCG CGGGCTGTGTGGAGGAGCGGGTGTCCCTGATTCGGAGG TCGGTCAACGGCACTACCTCGGACTGTCTCGTTTCCCTG GTGACCTCTGTCACCAATGTGGACCTGCCCCCTAAAGA GTCAAGCATCTAA
20	包含融合至Fc域之 ActRIIB (A64 ; SEQ ID NO:17)之可溶細胞外域的融合蛋白質	SGRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRL HCYASWANSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEEN PQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVITYEPPPTA TGGTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPVPPIEKTKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
21	包含融合至Fc域，C端15個胺基酸缺失(SEQ ID NO:18)之ActRIIB (A64)之可溶細胞外域的融合蛋白質	SGRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRL HCYASWANSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEEN PQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGGTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPVPPIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK
22	EC域之N端6個胺基酸缺失且EC域之C端5個胺基酸缺失 (SEQ ID NO:28 之胺基酸 25-129) 且具有 L79D突變之人類 ActRIIB 可溶(細胞外)、經處理之多肽序列	ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASW RNSSGTIELVKKGCWDDDFNCYDRQECVATEENPQVYFC CCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVITYEPP
23	EC域之N端6個胺基酸缺失且EC域之C端3個胺基酸缺失 (SEQ ID	ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASW RNSSGTIELVKKGCWDDDFNCYDRQECVATEENPQVYFC CCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVITYEPPPT

SEQ ID NO	說明	序列
	NO:28 之胺基酸 25-131) 且具有 L79D突變之人類 ActRIIB 可溶(細胞外)、經處理之多肽序列	
24	EC域之N端6個胺基酸缺失且EC域之C端3個胺基酸缺失 (SEQ ID NO:28 之胺基酸 25-131) 且具有 L79D突變且具有 TPA 前導序列之未經處理之 ActRIIB-Fc 融合蛋白質	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPGAAETRECIYYNANWEL ERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGC WDDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHL PEAGGPEVTYEPPTGGGTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK
25	EC域之N端6個胺基酸缺失且EC域之C端3個胺基酸缺失 (SEQ ID NO:28 之胺基酸 25-131) 且具有 L79D突變之經處理之 ActRIIB-Fc 融合蛋白質	ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASW RNSSGTIELVKKGCWDDDFNCYDRQECVATEENPQVYFC CCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTGGGTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
26	人類ActRIIB可溶(細胞外)、經處理之多肽序列 (SEQ ID NO:16之胺基酸20-134)	GRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLH CYASWANSSGTIELVKKGCWLDDDFNCYDRQECVATEENP QVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT
27	C端15個胺基酸缺失之人類 ActRIIB 可溶(細胞外)、經處理之多肽序列(SEQ ID NO:16 之胺基酸 20-119)	GRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLH CYASWANSSGTIELVKKGCWLDDDFNCYDRQECVATEENP QVYFCCCEGNFCNERFTHLPEA
28	人類ActRIIB前驅蛋白序列(R64)	MTAPWVALALLWGSLWPGSGRGEAETRECIYYNANWEL ERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGC WLDDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHL PEAGGPEVTYEPPTAPTLTFLVLA YSLLPIGGLSLIVLLAFW MYRHRKPPYGHVDIHEDPGPPPSPLVGLKPLQLLEIKARG RFGCVWKAQLMNDFVAVKIFPLQDKQSWQSEREIFSTPG

SEQ ID NO	說明	序列
		MKHENLLQFIAAEKRGSNLEVELWLITAFHDKGSLTDYLK GNIITWNELCHVAETMSRGLSYLHEDVPWCRGEGHKPSIA HRDFKSKNVLLKSDLTAVLADFGLA VRFEPGKPPGDTHG QVGTRRYMAPEVLEGAINFQRDAFLRIDMYAMGLVLWEL VSRCKAADGPVDEYMLPFEEEEIGQHPSLEELQE VVVHKK MRPTIKDHWLKHPLAQLCVTIEECWDHDAEARLSAGCV EERVSLIRRSVNGTTS DCLVSLVTSVTNVDLPPKESSI
29	人類ActRIIB可溶(細胞外)、經處理之多肽序列(SEQ ID NO:28之胺基酸19-134)	SGRGEAETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRL HCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEEN PQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT
30	C端15個胺基酸缺失之人類ActRIIB可溶(細胞外)、經處理之多肽序列(SEQ ID NO:28之胺基酸19-119)	SGRGEAETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRL HCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEEN PQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEA
31	人類ActRIIB可溶(細胞外)、經處理之多肽序列(SEQ ID NO:28之胺基酸20-134)	GRGEAETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLH CYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENP QVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT
32	C端15個胺基酸缺失之人類ActRIIB可溶(細胞外)、經處理之多肽序列(SEQ ID NO:28之胺基酸20-119)	GRGEAETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLH CYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENP QVYFCCCEGNFCNERFTHLPEA
33	EC域之N端6個胺基酸缺失且EC域之C端3個胺基酸缺失(SEQ ID NO:16之胺基酸25-131)且具有L79D突變之人類ActRIIB可溶(細胞外)、經處理之多肽序列	ETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASW ANSSGTIELVKKGCWDDDFNCYDRQECVATEENPQVYFC CCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPT
34	EC域之N端6個胺基酸缺失且EC域之C端3個胺基酸	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPGAAETRECIYYNANWEL ERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWANSSGTIELVKKGC WDDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHL PEAGGPEVTYEPPPTGGGTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPK

SEQ ID NO	說明	序列
	缺失 (SEQ ID NO:16 之胺基酸 25-131) 且具有 L79D 突變且具有 TPA 前導序列之未經處理之 ActRIIB-Fc 融合蛋白質	PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK
35	EC 域之 N 端 6 個胺基酸缺失且 EC 域之 C 端 3 個胺基酸缺失 (SEQ ID NO:16 之胺基酸 25-131) 且具有 L79D 突變之經處理之 ActRIIB-Fc 融合蛋白質	ETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASW ANSSGTIELVKKGCWDDDFNCYDRQECVATEENPQVYFC CCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTGGGTHCPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
36	具有 L79D 突變之人類 ActRIIB 可溶 (細胞外)、經處理之多肽序列 (SEQ ID NO:28 之胺基酸 20-134)	GRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLH CYASWRNSSGTIELVKKGCWDDDFNCYDRQECVATEENP QVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT
37	具有 L79D 突變之人類 ActRIIB 可溶 (細胞外)、經處理之多肽序列 (SEQ ID NO:16 之胺基酸 20-134)	GRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLH CYASWANSSGTIELVKKGCWDDDFNCYDRQECVATEENP QVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT
38	具有融合至具有 GGG 連接子之 Fc 域的 L79D 突變之人類 ActRIIB 可溶 (細胞外)、經處理之多肽序列 (SEQ ID NO:28 之胺基酸 20-134)	GRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLH CYASWRNSSGTIELVKKGCWDDDFNCYDRQECVATEENP QVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPTGGG THCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
39	具有融合至 Fc 域的 L79D 突變之人類 ActRIIB 可溶 (細胞外)、經處理之多肽序列 (SEQ ID NO:16 之	GRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLH CYASWANSSGTIELVKKGCWDDDFNCYDRQECVATEENP QVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPTGGG THCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE

SEQ ID NO	說明	序列
	胺基酸20-134)	ESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
40	具有融合至Fc域的L79D突變且具有TPA前導序列之人類ActRIIB可溶(細胞外)、經處理之多肽序列 (SEQ ID NO:28之胺基酸20-134)	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPGASGRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWDDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPTGGGTHTCPPCPAPPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
41	具有融合至Fc域的L79D突變且具有TPA前導序列之人類ActRIIB可溶(細胞外)、經處理之多肽序列 (SEQ ID NO:16之胺基酸20-134)	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSPGASGRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWANSSGTIELVKKGCWDDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPTGGGTHTCPPCPAPPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
42	具有變異C端序列 (揭示於 WO2007/053775 中) 之人類 ActRIIB 可溶(細胞外)、經處理之多肽序列	GRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWDDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEGPWASTTIPSGGPEA TAAAGDQGGALWLCLEGAHE
43	具有變異C端序列 (揭示於 WO2007/053775 中) , 具有L79D突變之人類 ActRIIB 可溶(細胞外)、經處理之多肽序列	GRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWDDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEGPWASTTIPSGGPEA TAAAGDQGGALWLCLEGAHE
44	具有變異C端序列 (揭示於 WO2007/053775 中) , 具有融合至具有 TGGG 連接子之Fc域的L79D突變之人類 ActRIIB 可溶(細胞外)、經處理之	GRGEAETRECIYYNANWELERTNQSLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWDDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEGPWASTTIPSGGPEA TAAAGDQGGALWLCLEGAHETGGGTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO	說明	序列
	多肽序列	
45	編碼 SEQ ID NO:24 之核酸序列	<p>ATGGATGCAATGAAGAGAGGGCTCTGCTGTGTGCTGCT GCTGTGTGGAGCAGTCTTCGTTTTCGCCCGGCGCCGCCGA AACCCGCGAATGTATTTATTACAATGCTAATTGGGA ACTCGAACGGACGAACCAATCCGGGCTCGAACGGTGTGAGG GGGAACAGGATAAACGCCTCCATTGCTATGCGTCGTGG AGGAACTCCTCCGGGACGATTGAACTGGTCAAGAAAGG GTGCTGGGACGACGATTTCAATTGTTATGACCGCCAGG AATGTGTGCGGACCGAAGAGAATCCGCAGGTCTATTTT TGTTGTTGCGAGGGGAATTTCTGTAATGAACGGTTTACC CACCTCCCCGAAGCCGGCGGGCCCCGAGGTGACCTATGA ACCCCGCCCCACCGGTGGTGGAACTCACACATGCCAC CGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTC TTCCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGT GAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACG TGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCG CGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACG CGTCTCACCGTCTTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCA AGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCA GCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCA GCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCC GGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGC CTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGA GTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTC CTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCA GCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGG CTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGT CCCCGGGTAAATGA</p>
46	包含融合至Fc域之ActRIIB(R64；SEQ ID NO:29)之可溶細胞外域的融合蛋白質	<p>SGRGEAETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRL HCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEEN PQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPVYEPPTAPTGG GTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPVPPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
47	包含融合至Fc域，C端15個胺基酸缺失(SEQ ID NO:30)之ActRIIB(R64)之可溶細胞外域的融合蛋白質	<p>SGRGEAETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRL HCYASWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEEN PQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGGTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPVPPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK</p>

10. 等效物

儘管本發明參考其特定實施例詳細描述，應瞭解功能上等效之變化在本發明之範疇內。當然，除本文中所現實及描述之彼等外，對熟習此項技術者而言，本發明之各種修改將自先前描述及隨附圖式而變得顯而易見。此類修飾意欲屬於隨附申請專利範圍之範疇內。熟習此項技術者頂多使用常規實驗即可識別或能夠確定本文中所述之本發明的特定實施例的許多等效物。此類等效物欲由隨附申請專利範圍所涵蓋。

本說明書中所提及之所有公開案、專利及專利申請案在本文中以引用之方式併入本說明書中，程度如同各個別公開案、專利或專利申請案專門且單獨地指示為以全文引用之方式併入本文中一般。

【序列表】

<110> 美商西建公司 (Celgene Corporation Corporation)
美商艾瑟勒朗法瑪公司 (Accelaron Pharma, Inc. Inc.)

<120> 活化素-ACTRII拮抗劑及治療貧血之用途

<140> N/A

<141> 2015-12-03

<150> 62/086,977

<151> 2014-12-03

<150> 62/088,478

<151> 2014-12-05

<150> 62/153,872

<151> 2015-04-28

<150> 62/173,782

<151> 2015-06-10

<150> 62/218,728

<151> 2015-09-15

<160> 47

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 513

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 人類ActRIIA前驅體多肽

<400> 1

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

	85		90		95
Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu					
	100		105		110
Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn					
	115		120		125
Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro Tyr Tyr Asn Ile Leu Leu Tyr Ser Leu					
	130		135		140
Val Pro Leu Met Leu Ile Ala Gly Ile Val Ile Cys Ala Phe Trp Val					
	145		150		155
Tyr Arg His His Lys Met Ala Tyr Pro Pro Val Leu Val Pro Thr Gln					
	165		170		175
Asp Pro Gly Pro Pro Pro Pro Ser Pro Leu Leu Gly Leu Lys Pro Leu					
	180		185		190
Gln Leu Leu Glu Val Lys Ala Arg Gly Arg Phe Gly Cys Val Trp Lys					
	195		200		205
Ala Gln Leu Leu Asn Glu Tyr Val Ala Val Lys Ile Phe Pro Ile Gln					
	210		215		220
Asp Lys Gln Ser Trp Gln Asn Glu Tyr Glu Val Tyr Ser Leu Pro Gly					
	225		230		235
Met Lys His Glu Asn Ile Leu Gln Phe Ile Gly Ala Glu Lys Arg Gly					
	245		250		255
Thr Ser Val Asp Val Asp Leu Trp Leu Ile Thr Ala Phe His Glu Lys					
	260		265		270
Gly Ser Leu Ser Asp Phe Leu Lys Ala Asn Val Val Ser Trp Asn Glu					
	275		280		285
Leu Cys His Ile Ala Glu Thr Met Ala Arg Gly Leu Ala Tyr Leu His					
	290		295		300
Glu Asp Ile Pro Gly Leu Lys Asp Gly His Lys Pro Ala Ile Ser His					
	305		310		315
Arg Asp Ile Lys Ser Lys Asn Val Leu Leu Lys Asn Asn Leu Thr Ala					
	325		330		335
Cys Ile Ala Asp Phe Gly Leu Ala Leu Lys Phe Glu Ala Gly Lys Ser					
	340		345		350
Ala Gly Asp Thr His Gly Gln Val Gly Thr Arg Arg Tyr Met Ala Pro					
	355		360		365
Glu Val Leu Glu Gly Ala Ile Asn Phe Gln Arg Asp Ala Phe Leu Arg					
	370		375		380
Ile Asp Met Tyr Ala Met Gly Leu Val Leu Trp Glu Leu Ala Ser Arg					
	385		390		395
Cys Thr Ala Ala Asp Gly Pro Val Asp Glu Tyr Met Leu Pro Phe Glu					
	405		410		415
Glu Glu Ile Gly Gln His Pro Ser Leu Glu Asp Met Gln Glu Val Val					
	420		425		430
Val His Lys Lys Lys Arg Pro Val Leu Arg Asp Tyr Trp Gln Lys His					
	435		440		445
Ala Gly Met Ala Met Leu Cys Glu Thr Ile Glu Glu Cys Trp Asp His					
	450		455		460
Asp Ala Glu Ala Arg Leu Ser Ala Gly Cys Val Gly Glu Arg Ile Thr					
	465		470		475
Gln Met Gln Arg Leu Thr Asn Ile Ile Thr Thr Glu Asp Ile Val Thr					

485 490 495
 Val Val Thr Met Val Thr Asn Val Asp Phe Pro Pro Lys Glu Ser Ser
 500 505 510
 Leu

<210> 2
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <223> 人類ActRIIA可溶性(細胞外)、經處理之多肽序列

<400> 2
 Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn
 1 5 10 15
 Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Tyr Gly
 20 25 30
 Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser
 35 40 45
 Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn
 50 55 60
 Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val
 65 70 75 80
 Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr
 85 90 95
 Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro
 100 105 110
 Lys Pro Pro
 115

<210> 3
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 缺失C端15個胺基酸之人類ActRIIA可溶性(細胞外)經處理之多肽序列

<400> 3
 Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn
 1 5 10 15
 Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Tyr Gly
 20 25 30
 Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser
 35 40 45
 Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn

50 55 60
 Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val
 65 70 75 80
 Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr
 85 90 95
 Phe Pro Glu Met
 100

<210> 4
 <211> 1542
 <212> DNA
 <213> 智人

<220>
 <223> 編碼人類ActRIIA前驅蛋白質之核酸序列

<400> 4
 atgggagctg ctgcaaagtt ggcgtttgcc gcttttctta tctcctgttc ttcaggtgct 60
 atacttggta gatcagaaac tcaggagtgt cttttcttta atgctaattg ggaaaaagac 120
 agaaccaatc aaactgggtgt tgaaccgtgt tatggtgaca aagataaacg gcggcattgt 180
 tttgctacct ggaagaatat tcttgggtcc attgaaatag tgaacaagg ttgttggctg 240
 gatgatatca actgctatga caggactgat tgtgtagaaa aaaaagacag ccctgaagta 300
 tatttttgtt gctgtgaggg caatatgtgt aatgaaaagt tttcttattt tccagagatg 360
 gaagtcacac agcccacttc aaatccagtt acacctaacg caccctatta caacatcctg 420
 ctctattcct tgggtgccact tatgttaatt gcgggggattg tcatttgtgc attttgggtg 480
 tacaggcacc acaagatggc ctacctcct gtaactgttc caactcaaga cccaggacca 540
 cccccacctt ctccattact aggggttgaaa ccaactgcagt tattagaagt gaaagcaagg 600
 ggaagatttg gttgtgtctg gaaagcccag ttgcttaacg aatagtggc tgtcaaaata 660
 tttccaatac aggacaaaca gtcattggca aatgaatacg aagtctacag tttgcctgga 720
 atgaagcatg agaacatatt acagttcatt ggtgcagaaa aacgaggcac cagtgttgat 780
 gtggatcttt ggctgatcac agcatttcatt gaaaagggtt cactatcaga ctttcttaag 840
 gctaattgtg tctcttggaa tgaactgtgt catattgcag aaacctggc tagaggattg 900
 gcataattac atgaggatat acctggccta aaagatggcc acaaacctgc catatctcac 960
 agggacatca aaagtaaaaa tgtgctgttg aaaaacaacc tgacagcttg cattgctgac 1020
 tttgggttgg ccttaaaatt tgaggctggc aagtctgcag gcgatacca tggacaggtt 1080
 ggtaccggga ggtacatggc tccagaggta ttagagggtg ctataaactt cgaaagggat 1140
 gcatttttga ggatagatat gtatgcatg ggattagtcc tatgggaact ggcttctcgc 1200
 tgtactgctg cagatggacc tgtagatgaa tacatgttgc catttgagga ggaaattggc 1260
 cagcatccat ctcttgaaga catgcaggaa gttgttgtgc ataaaaaaaa gaggcctgtt 1320
 ttaagagatt attggcagaa acatgctgga atggcaatgc tctgtgaaac cattgaagaa 1380
 tgttgggatc acgacgcaga agccaggtta tcagctggat gtgtaggtga aagaattacc 1440
 cagatgcaga gactaactaa tattattacc acagaggaca ttgtaacagt ggtcacaatg 1500
 gtgacaaatg ttgactttcc tcccaaagaa tctagtctat ga 1542

<210> 5
 <211> 345
 <212> DNA
 <213> 智人

<220>

<223> 編碼人類ActRIIA可溶性(細胞外)多肽之核酸序列

<400> 5

atacttggta gatcagaaac tcaggagtgt cttttcttta atgctaattg ggaaaaagac 60
 agaaccaatc aaactgggtgt tgaaccgtgt tatggtgaca aagataaacg gcggcattgt 120
 tttgctacct ggaagaatat ttctggttcc attgaaatag tgaacaagg ttgttggctg 180
 gatgatatca actgctatga caggactgat tgtgtagaaa aaaaagacag ccctgaagta 240
 tatttttgtt gctgtgaggg caatatgtgt aatgaaaagt tttcttattt tccagagatg 300
 gaagtcacac agcccacttc aaatccagtt acacctaagc caccc 345

<210> 6

<211> 228

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 包含與Fc域融合之ActRIIA可溶性細胞外域之融合蛋白質

<400> 6

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 1 5 10 15
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 20 25 30
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Ala Val Ser His Glu
 35 40 45
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 50 55 60
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 65 70 75 80
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 85 90 95
 Glu Tyr Lys Cys Lys Ala Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Val Pro Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Pro Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn Ala His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 210 215 220
 Ser Pro Gly Lys
 225

<210> 7

<211> 344

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 與人類Fc域融合之ActRIIA可溶性細胞外域

<400> 7

Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn
 1 5 10 15
 Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Tyr Gly
 20 25 30
 Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser
 35 40 45
 Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn
 50 55 60
 Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val
 65 70 75 80
 Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr
 85 90 95
 Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro
 100 105 110
 Lys Pro Pro Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 115 120 125
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 130 135 140
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 145 150 155 160
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 165 170 175
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 180 185 190
 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 195 200 205
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 210 215 220
 Leu Pro Val Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 225 230 235 240
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 245 250 255
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 260 265 270
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 275 280 285
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 290 295 300
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

I773117

305 310 315 320
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 325 330 335
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 340

<210> 8
<211> 21
<212> PRT
<213> 蜜蜂

<220>
<223> 蜜蜂蜂毒肽(HBML)之前導序列

<400> 8
Met Lys Phe Leu Val Asn Val Ala Leu Val Phe Met Val Val Tyr Ile
1 5 10 15
Ser Tyr Ile Tyr Ala
 20

<210> 9
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 組織纖維蛋白溶酶原活化因子(TPA)之前導序列

<400> 9
Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
1 5 10 15
Ala Val Phe Val Ser Pro
 20

<210> 10
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 原生ActRIIA

<400> 10
Met Gly Ala Ala Ala Lys Leu Ala Phe Ala Val Phe Leu Ile Ser Cys
1 5 10 15
Ser Ser Gly Ala
 20

<210> 11
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> ActRIIA-hFc及ActRIIA-mFc N端序列

<400> 11
 Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu
 1 5

<210> 12
 <211> 329
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 缺失ActRIIA之細胞外域之C端15個胺基酸之ActRIIA-Fc蛋白質

<400> 12
 Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn
 1 5 10 15
 Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Tyr Gly
 20 25 30
 Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser
 35 40 45
 Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn
 50 55 60
 Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val
 65 70 75 80
 Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr
 85 90 95
 Phe Pro Glu Met Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 100 105 110
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 115 120 125
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 130 135 140
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 145 150 155 160
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 165 170 175
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 180 185 190
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 195 200 205

Ala Leu Pro Val Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 210 215 220
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 225 230 235 240
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 245 250 255
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 260 265 270
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 275 280 285
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 290 295 300
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 305 310 315 320
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325

<210> 13

<211> 369

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 具有TPA前導序列之未經處理之ActRIIA-hFc

<400> 13

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
 1 5 10 15
 Ala Val Phe Val Ser Pro Gly Ala Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr
 20 25 30
 Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn
 35 40 45
 Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg Arg His
 50 55 60
 Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys
 65 70 75 80
 Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys
 85 90 95
 Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly
 100 105 110
 Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr
 115 120 125
 Gln Pro Thr Ser Asn Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro Thr Gly Gly Gly
 130 135 140
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 145 150 155 160
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 165 170 175
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn
	195						200					205			
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val
	210					215					220				
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu
225					230					235				240	
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Val	Pro	Ile	Glu	Lys
			245						250					255	
Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr
	260							265					270		
Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr
	275						280					285			
Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu
	290					295					300				
Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu
305				310						315				320	
Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys
			325						330					335	
Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu
	340							345					350		
Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
	355					360						365			

Lys

<210> 14

<211> 1114

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 編碼具有TPA前導序列之未經處理之ActRIIA-hFc的核酸序列

<400> 14

```

atggatgcaa tgaagagagg gctctgctgt gtgctgctgc tgtgtggagc agtcttcggt 60
tcgcccggcg ccgctatact tggtagatca gaaactcagg agtgtctttt tttaatgcta 120
attgggaaaa agacagaacc aatcaaactg gtgttgaacc gtgttatggt gacaaagata 180
aacggcggca ttgttttgct acctggaaga atatttctgg ttccattgaa tagtgaaaca 240
agggtgttgg ctggatgata tcaactgcta tgacaggact gattgtgtag aaaaaaaga 300
cagccctgaa gtatatttct gttgctgtga gggcaatatg tgtaatgaaa agttttctta 360
ttttccggag atggaagtca cacagcccac ttcaaatcca gttacaccta agccaccac 420
cgggtgttga actcacacat gcccaccgtg cccagcacct gaactcctgg ggggaccgtc 480
agtcttctc tccccccaa aaccaagga caccctcatg atctcccga cccctgaggt 540
cacatgctgt gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagtcca actggtactg 600
ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac 660
gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta 720
caagtgcaag gtctccaaca aagccctccc agtcccctc gagaaaacca tctccaaagc 780
caaaggcgag ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatcccggg aggagatgac 840

```

caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt 900
 ggagtgaggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga 960
 ctccgacggc tctttcttcc tctatagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca 1020
 ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa 1080
 gagcctctcc ctgtctccgg gtaaatgaga attc 1114

<210> 15

<211> 106

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 經修飾人類ActRIIB可溶性(細胞外)

<400> 15

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 20 25 30
 Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
 35 40 45
 Val Lys Lys Gly Cys Trp Asp Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
 50 55 60
 Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 65 70 75 80
 Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
 85 90 95
 Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro
 100 105

<210> 16

<211> 512

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 人類ActRIIB前驅蛋白質序列(A64)

<400> 16

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

Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn
 85 90 95
 Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg
 100 105 110
 Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro
 115 120 125
 Pro Pro Thr Ala Pro Thr Leu Leu Thr Val Leu Ala Tyr Ser Leu Leu
 130 135 140
 Pro Ile Gly Gly Leu Ser Leu Ile Val Leu Leu Ala Phe Trp Met Tyr
 145 150 155 160
 Arg His Arg Lys Pro Pro Tyr Gly His Val Asp Ile His Glu Asp Pro
 165 170 175
 Gly Pro Pro Pro Ser Pro Leu Val Gly Leu Lys Pro Leu Gln Leu
 180 185 190
 Leu Glu Ile Lys Ala Arg Gly Arg Phe Gly Cys Val Trp Lys Ala Gln
 195 200 205
 Leu Met Asn Asp Phe Val Ala Val Lys Ile Phe Pro Leu Gln Asp Lys
 210 215 220
 Gln Ser Trp Gln Ser Glu Arg Glu Ile Phe Ser Thr Pro Gly Met Lys
 225 230 235 240
 His Glu Asn Leu Leu Gln Phe Ile Ala Ala Glu Lys Arg Gly Ser Asn
 245 250 255
 Leu Glu Val Glu Leu Trp Leu Ile Thr Ala Phe His Asp Lys Gly Ser
 260 265 270
 Leu Thr Asp Tyr Leu Lys Gly Asn Ile Ile Thr Trp Asn Glu Leu Cys
 275 280 285
 His Val Ala Glu Thr Met Ser Arg Gly Leu Ser Tyr Leu His Glu Asp
 290 295 300
 Val Pro Trp Cys Arg Gly Glu Gly His Lys Pro Ser Ile Ala His Arg
 305 310 315 320
 Asp Phe Lys Ser Lys Asn Val Leu Leu Lys Ser Asp Leu Thr Ala Val
 325 330 335
 Leu Ala Asp Phe Gly Leu Ala Val Arg Phe Glu Pro Gly Lys Pro Pro
 340 345 350
 Gly Asp Thr His Gly Gln Val Gly Thr Arg Arg Tyr Met Ala Pro Glu
 355 360 365
 Val Leu Glu Gly Ala Ile Asn Phe Gln Arg Asp Ala Phe Leu Arg Ile
 370 375 380
 Asp Met Tyr Ala Met Gly Leu Val Leu Trp Glu Leu Val Ser Arg Cys
 385 390 395 400
 Lys Ala Ala Asp Gly Pro Val Asp Glu Tyr Met Leu Pro Phe Glu Glu
 405 410 415
 Glu Ile Gly Gln His Pro Ser Leu Glu Glu Leu Gln Glu Val Val Val
 420 425 430
 His Lys Lys Met Arg Pro Thr Ile Lys Asp His Trp Leu Lys His Pro
 435 440 445
 Gly Leu Ala Gln Leu Cys Val Thr Ile Glu Glu Cys Trp Asp His Asp
 450 455 460
 Ala Glu Ala Arg Leu Ser Ala Gly Cys Val Glu Glu Arg Val Ser Leu
 465 470 475 480

I773117

Ile Arg Arg Ser Val Asn Gly Thr Thr Ser Asp Cys Leu Val Ser Leu
485 490 495
Val Thr Ser Val Thr Asn Val Asp Leu Pro Pro Lys Glu Ser Ser Ile
500 505 510

<210> 17

<211> 116

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 人類ActRIIB可溶性(細胞外)、經處理之多肽序列
(SEQ ID NO:16之胺基酸19-134)

<400> 17

Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala
1 5 10 15
Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu
20 25 30
Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Ala Asn Ser
35 40 45
Ser Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe
50 55 60
Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln
65 70 75 80
Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr
85 90 95
His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro
100 105 110
Thr Ala Pro Thr
115

<210> 18

<211> 101

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 缺失C端15個胺基酸之人類ActRIIB可溶性(細胞外)、經處理之多肽序列
(SEQ ID NO:16之胺基酸19-119)

<400> 18

Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala
1 5 10 15
Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu
20 25 30
Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Ala Asn Ser
35 40 45

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

<210> 19

<211> 1539

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<223> 編碼人類ActRIIB (A64) 前驅體之核酸序列

<400> 19

```

atgacggcgc cctgggtggc cctcgccctc cctctggggat cgctgtggcc cggctctggg 60
cgtggggagg ctgagacacg ggagtgcata tactacaacg ccaactggga gctggagcgc 120
accaaccaga gcggcctgga gcgctgcgaa ggcgagcagg acaagcggct gcaactgtac 180
gcctcctggg ccaacagctc tggcaccatc gagctcgtga agaagggctg ctggctagat 240
gacttcaact gctacgatag gcaggagtgt gtggccactg aggagaacc ccagggttac 300
ttctgctgct gtgaaggcaa cttctgcaac gagcgcttca ctcatttgcc agaggctggg 360
ggccccggaag tcacgtacga gccacccccg acagccccca ccctgctcac ggtgctggcc 420
tactactgc tgccatcgg gggcctttcc ctcatcgtcc tctggtcctt ttggatgtac 480
cggcatcgca agcccccta cggtcattgt gacatccatg aggaccctgg gcctccacca 540
ccatccccctc tgggtggcct gaagccactg cagctgctgg agatcaaggc tcgggggcgc 600
tttggctgtg tctggaaggc ccagctcatg aatgactttg tagctgtcaa gatcttccca 660
ctccaggaca agcagtcgtg gcagagtga cgggagatct tcagcacacc tggcatgaag 720
cacgagaacc tgctacagtt cattgctgcc gagaagcag gctccaacct cgaagtagag 780
ctgtggctca tcacggcctt ccatgacaag gctcctca cggattacct caaggggaac 840
atcatcatat ggaacgaact gtgtcatgta gcagagacga tgtcacagg cctctcatac 900
ctgcatgagg atgtgccctg gtgccgtggc gagggccaca agccgtctat tgcccacagg 960
gactttaaaa gtaagaatgt attgctgaag agcgacctca cagccgtgct ggctgacttt 1020
ggcttgctg ttcgatttga gccagggaaa cctccagggg acaccacgg acaggtaggc 1080
acgagacggt acatggctcc tgaggtgctc gagggagcca tcaactcca gagagatgcc 1140
ttctgcgca ttgacatgta tgccatgggg ttggtgctgt gggagcttgt gtctcgtgc 1200
aagctgcag acggaccctg ggatgagtac atgctgccct ttgaggaaga gattggccag 1260
cacccttcgt tggaggagct gcaggaggtg gtggtgcaca agaagatgag gccaccatt 1320
aaagatcact ggttgaacaa cccggcctg gccagcitt gtgtgacat cgaggagtgc 1380
tgggaccatg atgcagaggc tcgcttgcct gcgggctgtg tggaggagcg ggtgtccctg 1440
attcggaggi cggtaaacgg cactacctg gactgtctcg ttccctggt gacctctgtc 1500
accaatgtgg acctgcccc taaagagtca agcatctaa 1539

```

<210> 20

<211> 344

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 包含與Fc域融合之ActRIIB之可溶性細胞外域之融合蛋白質
(A64; SEQ ID NO:17)

<400> 20

Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala
1 5 10 15
Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu
 20 25 30
Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Ala Asn Ser
 35 40 45
Ser Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe
50 55 60
Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln
65 70 75 80
Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr
 85 90 95
His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro
 100 105 110
Thr Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 115 120 125
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
130 135 140
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
145 150 155 160
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 165 170 175
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 180 185 190
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 195 200 205
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
210 215 220
Leu Pro Val Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
225 230 235 240
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 245 250 255
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 260 265 270
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 275 280 285
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
290 295 300
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
305 310 315 320
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 325 330 335
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
340

<210> 21

<211> 329

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 包含與Fc域融合之缺失C端15個胺基酸之ActRIIB(A64)之可溶性細胞外域
(SEQ ID NO:18)之融合蛋白質

<400> 21

Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala
 1 5 10 15
 Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu
 20 25 30
 Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Ala Asn Ser
 35 40 45
 Ser Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe
 50 55 60
 Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln
 65 70 75 80
 Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr
 85 90 95
 His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 100 105 110
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 115 120 125
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 130 135 140
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 145 150 155 160
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 165 170 175
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 180 185 190
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 195 200 205
 Ala Leu Pro Val Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 210 215 220
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 225 230 235 240
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 245 250 255
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 260 265 270
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 275 280 285
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 290 295 300

I773117

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
305 310 315 320
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 22

<211> 105

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 經修飾人類ActRIIB可溶性(細胞外)

<400> 22

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
1 5 10 15
Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
20 25 30
Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
35 40 45
Val Lys Lys Gly Cys Trp Asp Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
50 55 60
Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
65 70 75 80
Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
85 90 95
Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro
100 105

<210> 23

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 經修飾人類ActRIIB可溶性(細胞外)

<400> 23

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

Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
 85 90 95
 Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr
 100 105

<210> 24

<211> 360

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 具有修飾之未經處理ActRIIB-Fc融合蛋白質

<400> 24

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
 1 5 10 15
 Ala Val Phe Val Ser Pro Gly Ala Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr
 20 25 30
 Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu
 35 40 45
 Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp
 50 55 60
 Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Asp
 65 70 75 80
 Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu
 85 90 95
 Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu
 100 105 110
 Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu
 115 120 125
 Pro Pro Pro Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 130 135 140
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 145 150 155 160
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 165 170 175
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 180 185 190
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 195 200 205
 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 210 215 220
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 225 230 235 240
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 245 250 255
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 260 265 270
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

I773117

275 280 285
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
290 295 300
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
305 310 315 320
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
325 330 335
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
340 345 350
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
355 360

<210> 25

<211> 335

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 具有修飾之經處理之ActRIIB-Fc融合蛋白質

<400> 25

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

<223> 缺失C端15個胺基酸之人類ActRIIB可溶性(細胞外)、經處理之多肽序列
(SEQ ID NO:16之胺基酸20-119)

<400> 27

Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn
1 5 10 15
Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly
 20 25 30
Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Ala Asn Ser Ser
 35 40 45
Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn
 50 55 60
Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val
65 70 75 80
Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His
 85 90 95
Leu Pro Glu Ala
 100

<210> 28

<211> 512

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 人類ActRIIB前驅蛋白質序列(R64)

<400> 28

Met Thr Ala Pro Trp Val Ala Leu Ala Leu Leu Trp Gly Ser Leu Trp
1 5 10 15
Pro Gly Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr
 20 25 30
Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg
 35 40 45
Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg
 50 55 60
Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp
65 70 75 80
Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn
 85 90 95
Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg
 100 105 110
Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro
 115 120 125
Pro Pro Thr Ala Pro Thr Leu Leu Thr Val Leu Ala Tyr Ser Leu Leu
 130 135 140
Pro Ile Gly Gly Leu Ser Leu Ile Val Leu Leu Ala Phe Trp Met Tyr
145 150 155 160
Arg His Arg Lys Pro Pro Tyr Gly His Val Asp Ile His Glu Asp Pro

	165		170		175										
Gly	Pro	Pro	Pro	Ser	Pro	Leu	Val	Gly	Leu	Lys	Pro	Leu	Gln	Leu	
	180		185		190										
Leu	Glu	Ile	Lys	Ala	Arg	Gly	Arg	Phe	Gly	Cys	Val	Trp	Lys	Ala	Gln
	195		200		205										
Leu	Met	Asn	Asp	Phe	Val	Ala	Val	Lys	Ile	Phe	Pro	Leu	Gln	Asp	Lys
	210		215		220										
Gln	Ser	Trp	Gln	Ser	Glu	Arg	Glu	Ile	Phe	Ser	Thr	Pro	Gly	Met	Lys
	225		230		235										
His	Glu	Asn	Leu	Leu	Gln	Phe	Ile	Ala	Ala	Glu	Lys	Arg	Gly	Ser	Asn
	245		250		255										
Leu	Glu	Val	Glu	Leu	Trp	Leu	Ile	Thr	Ala	Phe	His	Asp	Lys	Gly	Ser
	260		265		270										
Leu	Thr	Asp	Tyr	Leu	Lys	Gly	Asn	Ile	Ile	Thr	Trp	Asn	Glu	Leu	Cys
	275		280		285										
His	Val	Ala	Glu	Thr	Met	Ser	Arg	Gly	Leu	Ser	Tyr	Leu	His	Glu	Asp
	290		295		300										
Val	Pro	Trp	Cys	Arg	Gly	Glu	Gly	His	Lys	Pro	Ser	Ile	Ala	His	Arg
	305		310		315										
Asp	Phe	Lys	Ser	Lys	Asn	Val	Leu	Leu	Lys	Ser	Asp	Leu	Thr	Ala	Val
	325		330		335										
Leu	Ala	Asp	Phe	Gly	Leu	Ala	Val	Arg	Phe	Glu	Pro	Gly	Lys	Pro	Pro
	340		345		350										
Gly	Asp	Thr	His	Gly	Gln	Val	Gly	Thr	Arg	Arg	Tyr	Met	Ala	Pro	Glu
	355		360		365										
Val	Leu	Glu	Gly	Ala	Ile	Asn	Phe	Gln	Arg	Asp	Ala	Phe	Leu	Arg	Ile
	370		375		380										
Asp	Met	Tyr	Ala	Met	Gly	Leu	Val	Leu	Trp	Glu	Leu	Val	Ser	Arg	Cys
	385		390		395										
Lys	Ala	Ala	Asp	Gly	Pro	Val	Asp	Glu	Tyr	Met	Leu	Pro	Phe	Glu	Glu
	405		410		415										
Glu	Ile	Gly	Gln	His	Pro	Ser	Leu	Glu	Glu	Leu	Gln	Glu	Val	Val	Val
	420		425		430										
His	Lys	Lys	Met	Arg	Pro	Thr	Ile	Lys	Asp	His	Trp	Leu	Lys	His	Pro
	435		440		445										
Gly	Leu	Ala	Gln	Leu	Cys	Val	Thr	Ile	Glu	Glu	Cys	Trp	Asp	His	Asp
	450		455		460										
Ala	Glu	Ala	Arg	Leu	Ser	Ala	Gly	Cys	Val	Glu	Glu	Arg	Val	Ser	Leu
	465		470		475										
Ile	Arg	Arg	Ser	Val	Asn	Gly	Thr	Thr	Ser	Asp	Cys	Leu	Val	Ser	Leu
	485		490		495										
Val	Thr	Ser	Val	Thr	Asn	Val	Asp	Leu	Pro	Pro	Lys	Glu	Ser	Ser	Ile
	500		505		510										

<210> 29
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>

<223> 人類ActRIIB可溶性(細胞外)、經處理之多肽序列
(SEQ ID NO:28之胺基酸19-134)

<400> 29

```

Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala
 1             5             10             15
Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu
             20             25             30
Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser
             35             40             45
Ser Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe
 50             55             60
Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln
 65             70             75             80
Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr
             85             90             95
His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro
             100             105             110
Thr Ala Pro Thr
             115

```

<210> 30

<211> 101

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 缺失C端15個胺基酸之人類ActRIIB可溶性(細胞外)、經處理之多肽序列
(SEQ ID NO:28之胺基酸19-119)

<400> 30

```

Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala
 1             5             10             15
Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu
             20             25             30
Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser
             35             40             45
Ser Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe
 50             55             60
Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln
 65             70             75             80
Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr
             85             90             95
His Leu Pro Glu Ala
             100

```

<210> 31

<211> 115
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 人類ActRIIB可溶性(細胞外)、經處理之多肽序列
 (胺基酸20-134 of SEQ ID NO:28)

<400> 31

Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn
 1 5 10 15
 Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly
 20 25 30
 Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser
 35 40 45
 Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn
 50 55 60
 Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val
 65 70 75 80
 Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His
 85 90 95
 Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr
 100 105 110
 Ala Pro Thr
 115

<210> 32
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 缺失C端15個胺基酸之人類ActRIIB可溶性(細胞外)、經處理之多肽序列
 (胺基酸20-119 of SEQ ID NO:28)

<400> 32

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

<210> 33

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 具有修飾之人類ActRIIB可溶性(細胞外)、經處理之多肽序列

<400> 33

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 20 25 30
 Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Ala Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
 35 40 45
 Val Lys Lys Gly Cys Trp Asp Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
 50 55 60
 Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 65 70 75 80
 Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
 85 90 95
 Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr
 100 105

<210> 34

<211> 360

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 具有修飾之未經處理之ActRIIB-Fc融合蛋白質

<400> 34

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

100 105 110
 Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu
 115 120 125
 Pro Pro Pro Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 130 135 140
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 145 150 155 160
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 165 170 175
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 180 185 190
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 195 200 205
 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 210 215 220
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 225 230 235 240
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 245 250 255
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 260 265 270
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 275 280 285
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 290 295 300
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 305 310 315 320
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 325 330 335
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 340 345 350
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 355 360

<210> 35

<211> 335

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 具有修飾之經處理之ActRIIB-Fc融合蛋白質

<400> 35

Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg
 1 5 10 15
 Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg
 20 25 30
 Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Ala Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu
 35 40 45

Val Lys Lys Gly Cys Trp Asp Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln
 50 55 60
 Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys
 65 70 75 80
 Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly
 85 90 95
 Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Gly Gly Gly Thr His
 100 105 110
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 130 135 140
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 145 150 155 160
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 165 170 175
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 180 185 190
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 195 200 205
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 210 215 220
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 225 230 235 240
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 245 250 255
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 260 265 270
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 275 280 285
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 290 295 300
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 305 310 315 320
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330 335

<210> 36

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 具有L79D突變之人類ActRIIB可溶性(細胞外)、經處理之多肽序列
(SEQ ID NO:28之胺基酸20-134)

<400> 36

Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn
 1 5 10 15

Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly
 20 25 30
 Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser
 35 40 45
 Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Asp Asp Asp Phe Asn
 50 55 60
 Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val
 65 70 75 80
 Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His
 85 90 95
 Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr
 100 105 110
 Ala Pro Thr
 115

<210> 37

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 具有L79D突變之人類ActRIIB可溶性(細胞外)、經處理之多肽序列
 (SEQ ID NO:16之胺基酸20-134)

<400> 37

Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn
 1 5 10 15
 Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly
 20 25 30
 Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Ala Asn Ser Ser
 35 40 45
 Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Asp Asp Asp Phe Asn
 50 55 60
 Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val
 65 70 75 80
 Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His
 85 90 95
 Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr
 100 105 110
 Ala Pro Thr
 115

<210> 38

<211> 343

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 藉由GGG連接子與Fc域融合之具有L79D突變之人類ActRIIB可溶性(細胞外)、
經處理之多肽序列(SEQ ID NO:28之胺基酸20-134)

<400> 38

Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn
1 5 10 15
Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly
 20 25 30
Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser
 35 40 45
Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Asp Asp Asp Phe Asn
 50 55 60
Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val
65 70 75 80
Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His
 85 90 95
Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr
 100 105 110
Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 115 120 125
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 130 135 140
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
145 150 155 160
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 165 170 175
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 180 185 190
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 195 200 205
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 210 215 220
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
225 230 235 240
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
 245 250 255
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 260 265 270
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 275 280 285
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 290 295 300
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
305 310 315 320
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 325 330 335
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 340

<210> 39
 <211> 343
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 與Fc域融合之具有L79D突變之人類ActRIIB可溶性(細胞外)、經處理之多肽序列
 (SEQ ID NO:16之胺基酸20-134)

<400> 39

Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn
 1 5 10 15
 Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly
 20 25 30
 Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Ala Asn Ser Ser
 35 40 45
 Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Asp Asp Asp Phe Asn
 50 55 60
 Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val
 65 70 75 80
 Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His
 85 90 95
 Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr
 100 105 110
 Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 115 120 125
 Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 130 135 140
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 145 150 155 160
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 165 170 175
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 180 185 190
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 195 200 205
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 210 215 220
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 225 230 235 240
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
 245 250 255
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 260 265 270
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 275 280 285
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 290 295 300
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 305 310 315 320

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 325 330 335
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 340

<210> 40

<211> 368

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 與Fc域融合之具有L79D突變且具有TPA前導序列之人類ActRIIB可溶性(細胞外)、
 經處理之多肽序列(SEQ ID NO:28之胺基酸20-134)

<400> 40

Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
 1 5 10 15
 Ala Val Phe Val Ser Pro Gly Ala Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr
 20 25 30
 Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn
 35 40 45
 Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His
 50 55 60
 Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys
 65 70 75 80
 Lys Gly Cys Trp Asp Asp Asp Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys
 85 90 95
 Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly
 100 105 110
 Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro
 115 120 125
 Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr
 130 135 140
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 145 150 155 160
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 165 170 175
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 180 185 190
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 195 200 205
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 210 215 220
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 225 230 235 240
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 245 250 255
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 260 265 270

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 275 280 285
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 290 295 300
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 305 310 315 320
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 325 330 335
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 340 345 350
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 355 360 365

<210> 41

<211> 368

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 與Fc域融合之具有L79D突變且具有TPA前導序列之人類ActRIIB可溶性(細胞外)、
 經處理之多肽序列(SEQ ID NO:16之胺基酸20-134)

<400> 41

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

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 210 215 220
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 225 230 235 240
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 245 250 255
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 260 265 270
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 275 280 285
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 290 295 300
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 305 310 315 320
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 325 330 335
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 340 345 350
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 355 360 365

<210> 42

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 具有變異C端序列之人類ActRIIB可溶性(細胞外)、經處理之多肽序列
 (揭示於WO2007/053775中)

<400> 42

Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn
 1 5 10 15
 Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly
 20 25 30
 Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser
 35 40 45
 Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn
 50 55 60
 Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val
 65 70 75 80
 Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His
 85 90 95
 Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Gly Pro Trp Ala Ser Thr Thr Ile
 100 105 110
 Pro Ser Gly Gly Pro Glu Ala Thr Ala Ala Ala Gly Asp Gln Gly Ser
 115 120 125
 Gly Ala Leu Trp Leu Cys Leu Glu Gly Pro Ala His Glu
 130 135 140

<210> 43

<211> 141

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 具有變異C端序列之人類ActRIIB可溶性(細胞外)、經處理之多肽序列
(揭示於WO2007/053775中)

<400> 43

Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn
 1 5 10 15
 Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly
 20 25 30
 Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser
 35 40 45
 Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Asp Asp Asp Phe Asn
 50 55 60
 Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val
 65 70 75 80
 Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His
 85 90 95
 Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Gly Pro Trp Ala Ser Thr Thr Ile
 100 105 110
 Pro Ser Gly Gly Pro Glu Ala Thr Ala Ala Ala Gly Asp Gln Gly Ser
 115 120 125
 Gly Ala Leu Trp Leu Cys Leu Glu Gly Pro Ala His Glu
 130 135 140

<210> 44

<211> 370

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 具有變異C端序列之人類ActRIIB可溶性(細胞外)、經處理之多肽序列
(揭示於WO2007/053775中)

<400> 44

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

Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val
 65 70 75 80
 Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His
 85 90 95
 Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Gly Pro Trp Ala Ser Thr Thr Ile
 100 105 110
 Pro Ser Gly Gly Pro Glu Ala Thr Ala Ala Ala Gly Asp Gln Gly Ser
 115 120 125
 Gly Ala Leu Trp Leu Cys Leu Glu Gly Pro Ala His Glu Thr Gly Gly
 130 135 140
 Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 145 150 155 160
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 165 170 175
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 180 185 190
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 195 200 205
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 210 215 220
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 225 230 235 240
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 245 250 255
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 260 265 270
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 275 280 285
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 290 295 300
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 305 310 315 320
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 325 330 335
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 340 345 350
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 355 360 365
 Gly Lys
 370

<210> 45

<211> 1083

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 編碼SEQ ID NO:24之核酸序列

<400> 45

atggatgcaa tgaagagagg gctctgctgt gtgctgctgc tgggtggagc agtcttcgtt 60
 tcgcccggcg ccgcccgaac ccgcgaatgt atttattaca atgctaattg ggaactcgaa 120
 cggacgaacc aatccgggct cgaacgggtg gagggggaac aggataaacg cctccattgc 180
 tatgcgtcgt ggaggaactc ctccgggacg attgaactgg tcaagaaagg gtgctgggac 240
 gacgatttca attgltatga ccgccaggaa tglgtcgcga ccgaagagaa tccgcaggtc 300
 tatttctgtt gttgcgaggg gaatttctgt aatgaacggg ttaccacct ccccgaagcc 360
 ggccgggccc aggtgacct tgaacccccg cccaccgggtg gtggaactca cacatgccc 420
 ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga ccgtcagtct tctcttccc cccaaaacc 480
 aaggacaccc tcatgatctc ccggaccct gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc 540
 cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc 600
 aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtggtcag cgtctcacc 660
 gtctgcacc aggactggct gaatggcaag gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc 720
 ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag 780
 gtgtacaccc tgccccatc ccgggaggag atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc 840
 ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg 900
 gagaacaact acaagaccac gctctccgtg ctggactccg acggctctt tttctctat 960
 agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg 1020
 atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg cagaagagcc tctcctgtc cccgggtaaa 1080
 tga 1083

<210> 46

<211> 344

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 包含與Fc域融合之ActRIIB之可溶性細胞外域之融合蛋白質(R64; SEQ ID NO:29)

<400> 46

Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala
 1 5 10 15
 Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu
 20 25 30
 Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser
 35 40 45
 Ser Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe
 50 55 60
 Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln
 65 70 75 80
 Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr
 85 90 95
 His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro
 100 105 110
 Thr Ala Pro Thr Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 115 120 125
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 130 135 140
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 145 150 155 160

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 165 170 175
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 180 185 190
 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 195 200 205
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 210 215 220
 Leu Pro Val Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 225 230 235 240
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 245 250 255
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 260 265 270
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 275 280 285
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 290 295 300
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 305 310 315 320
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 325 330 335
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 340

<210> 47

<211> 329

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 包含與Fc域融合之缺失C端15個胺基酸之ActRIIB(R64)之可溶性細胞外域
(SEQ ID NO: 30)之融合蛋白質

<400> 47

Ser Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala
 1 5 10 15
 Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu
 20 25 30
 Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser
 35 40 45
 Ser Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe
 50 55 60
 Asn Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln
 65 70 75 80
 Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr
 85 90 95
 His Leu Pro Glu Ala Gly Gly Gly Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 100 105 110

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 115 120 125
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 130 135 140
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 145 150 155 160
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 165 170 175
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 180 185 190
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 195 200 205
 Ala Leu Pro Val Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 210 215 220
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 225 230 235 240
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 245 250 255
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 260 265 270
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 275 280 285
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 290 295 300
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 305 310 315 320
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種II型活化素受體(ActRII)信號傳導抑制劑之用途，其係用以製備治療個體之貧血之藥物，其中該治療包含：

(a) 測定該個體中紅血球母細胞為環形含鐵胚血球之百分比；及

(b) 若該個體中至少15%之紅血球母細胞為環形含鐵胚血球，則投與該個體介於0.1 mg/kg與2.0 mg/kg之間的醫藥學有效劑量之ActRII信號傳導抑制劑；

其中該ActRII信號傳導抑制劑為多肽，其包含選自由以下組成之群之胺基酸序列：

- (1) 與SEQ ID NO:25具有90%一致性之胺基酸序列；
- (2) 與SEQ ID NO:25具有95%一致性之胺基酸序列；
- (3) 與SEQ ID NO:25具有98%一致性之胺基酸序列；及
- (4) 具SEQ ID NO:25之胺基酸序列。

【請求項2】

如請求項1之用途，其中該治療達成：

(a) 與該個體中紅血球母細胞為環形含鐵胚血球之初始百分比相比，該個體中紅血球母細胞為環形含鐵胚血球之百分比長期降低；其中該長期降低係在該ActRII信號傳導抑制劑投藥時間期之後，紅血球母細胞之百分比降低持續至少6、12、18或24個月；及/或

(b) 與該個體之初始血紅蛋白含量相比，該個體之血紅蛋白

含量長期增加，其中該個體之該初始血紅蛋白含量為在投與該個體初始劑量之該 ActRII 信號傳導抑制劑之一段時間期前該個體之血紅蛋白含量；其中該長期增加係在該 ActRII 信號傳導抑制劑投藥時間期之後，血紅蛋白含量增加持續至少 3、4、5、6、12、18 或 24 個月。

【請求項3】

如請求項1或2之用途，其中該 ActRII 信號傳導抑制劑係於短時間期內投與，且該短時間期為1、2、3、4或5個月。

【請求項4】

如請求項1或2之用途，其中該治療進一步包含：

在一時間期之後測定該個體中紅血球母細胞為環形含鐵胚血球之第二百分比。

【請求項5】

如請求項4之用途，其中：

在1、2、3、4、5或6個月之後測定該個體中紅血球母細胞為環形含鐵胚血球之第二百分比；及/或

該治療進一步包含將經調整劑量之該 ActRII 信號傳導抑制劑投與該個體。

【請求項6】

如請求項1或2之用途，其中該治療進一步包含：

(a) 在投與該個體該 ActRII 信號傳導抑制劑之後測定該個體之血紅蛋白含量；及

(b) 若該個體之血紅蛋白含量為至少 11 g/dL，則中斷投與該個

體該 ActRII 信號傳導抑制劑。

【請求項7】

如請求項6之用途，其中該血紅蛋白含量在投與該個體該 ActRII 信號傳導抑制劑之後6、12、18及/或24個月內測定。

【請求項8】

如請求項1之用途，其中在投與該個體醫藥學有效劑量之該 ActRII 信號傳導抑制劑之1天、2天、3天、4天、5天、6天、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週、8週、3個月、4個月、5個月或6個月內測定該個體中紅血球母細胞為環形含鐵胚血球之百分比。

【請求項9】

如請求項2之用途，其中該個體中紅血球母細胞為環形含鐵胚血球之百分比之長期降低係：

在該 ActRII 信號傳導抑制劑投藥時間期之後，較該個體中紅血球母細胞為環形含鐵胚血球之初始百分比低至少1.5、2.5、5.0、7.5或10.0倍並持續至少6、12、18或24個月。

【請求項10】

如請求項2之用途，其中該個體中血紅蛋白含量之長期增加係：

在該 ActRII 信號傳導抑制劑投藥時間期之後，持續至少3、4、5、6、12、18或24個月之介於約11 g/dL與18 g/dL之間之該個體血紅蛋白含量。

【請求項11】

如請求項3之用途，其中：

(a) 在該 ActRII 信號傳導抑制劑投藥之該短時間期後，在該

短時間期內經投與該 ActRII 信號傳導抑制劑之該個體中紅血球母細胞為環形含鐵胚血球之百分比降低至小於 10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2% 或小於 1% 並持續至少 6、12、18 或 24 個月，及/或

(b) 在該 ActRII 信號傳導抑制劑投藥之該短時間期後至少 3、4、5、6、12、18 或 24 個月，在該短時間期內經投與該 ActRII 信號傳導抑制劑之該個體中血紅蛋白含量在約 11 g/dL 與 18 g/dL 之間。

【請求項12】

如請求項 1、2 及 8 至 10 中任一項之用途，其中若與個體中至多 15% 之紅血球母細胞為環形含鐵胚血球之個體相比，該個體中至少 15%、16%、17%、18%、19% 或 20% 紅血球母細胞為環形含鐵胚血球，則該個體之一或多種血液學參數恢復正常的可能性提高。

【請求項13】

如請求項 12 之用途，其中該血液學參數為血紅蛋白含量、血容比、紅血球計數或該個體中紅血球母細胞為環形含鐵胚血球之百分比。

【請求項14】

如請求項 2 之用途，其中在該 ActRII 信號傳導抑制劑投藥時間期之後至少 3、4、5、6、12、18 或 24 個月，該個體無需紅血球輸注。

【請求項15】

如請求項 1、2、8 至 10 及 14 中任一項之用途，其中該 ActRII 信號傳導抑制劑係：

(a) (i) 每三週投與一次；(ii) 每28天投與一次；或(iii)每42天投與一次；及/或

(b) 經注射投與，其中該注射為皮下注射。

【請求項16】

如請求項1、2、8至10及14中任一項之用途，其中該 ActRII 信號傳導抑制劑為多肽，其包含：

(a) ActRIIB 之細胞外域之片段，其中該片段由 SEQ ID NO:23 之胺基酸序列組成；

(b) 連接子；及

(c) IgG 之 Fc。

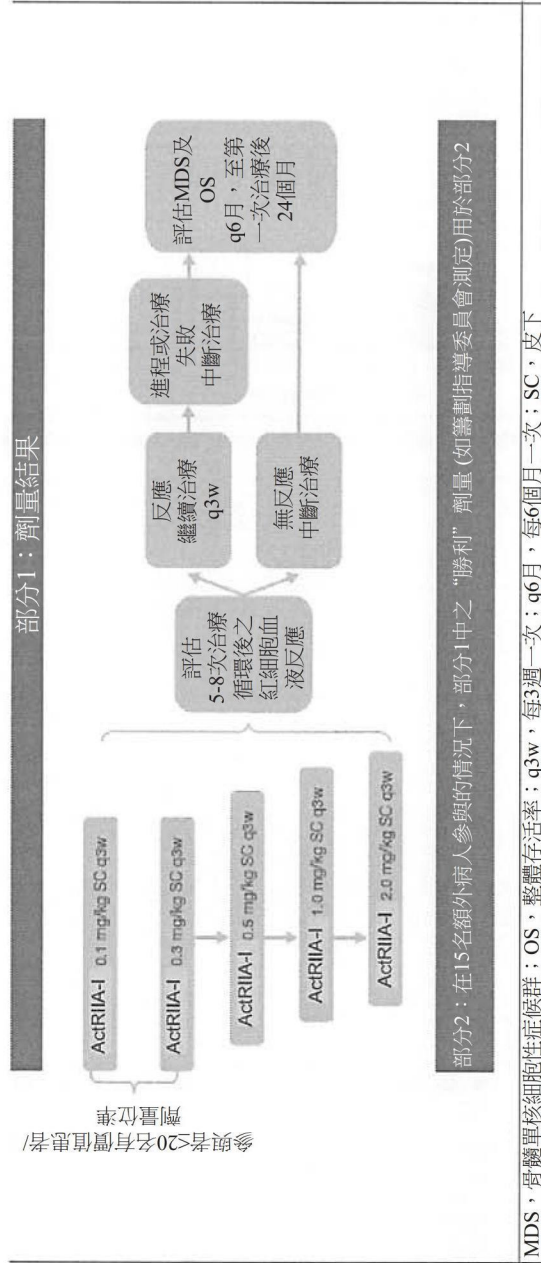
【請求項17】

如請求項1、2、8至10及14中任一項之用途，其中該 ActRII 信號傳導抑制劑為包含 SEQ ID NO:25 之胺基酸序列之多肽。

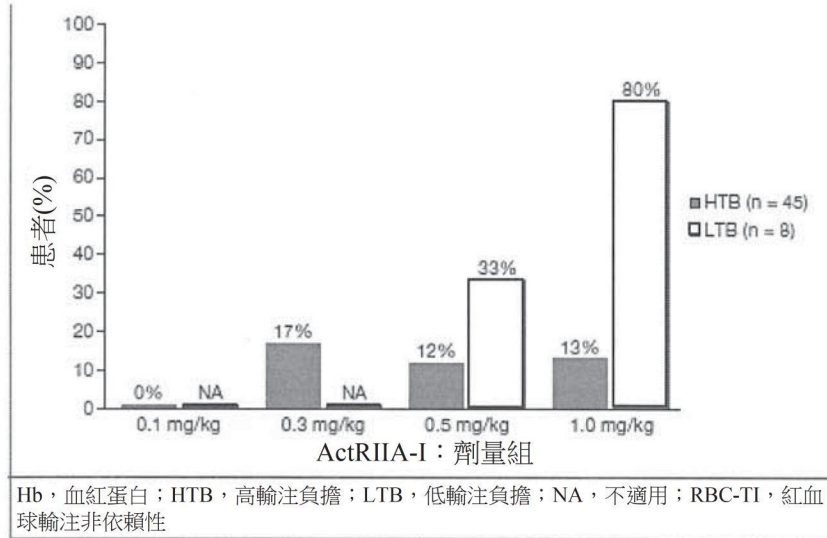
【請求項18】

如請求項1、2、8至10及14中任一項之用途，其中該個體為人類。

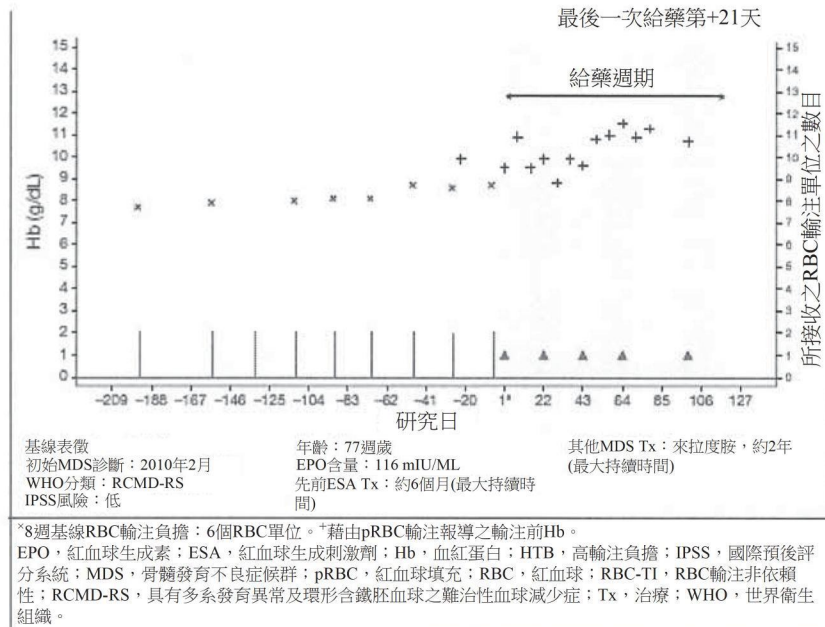
【發明圖式】



【圖1】



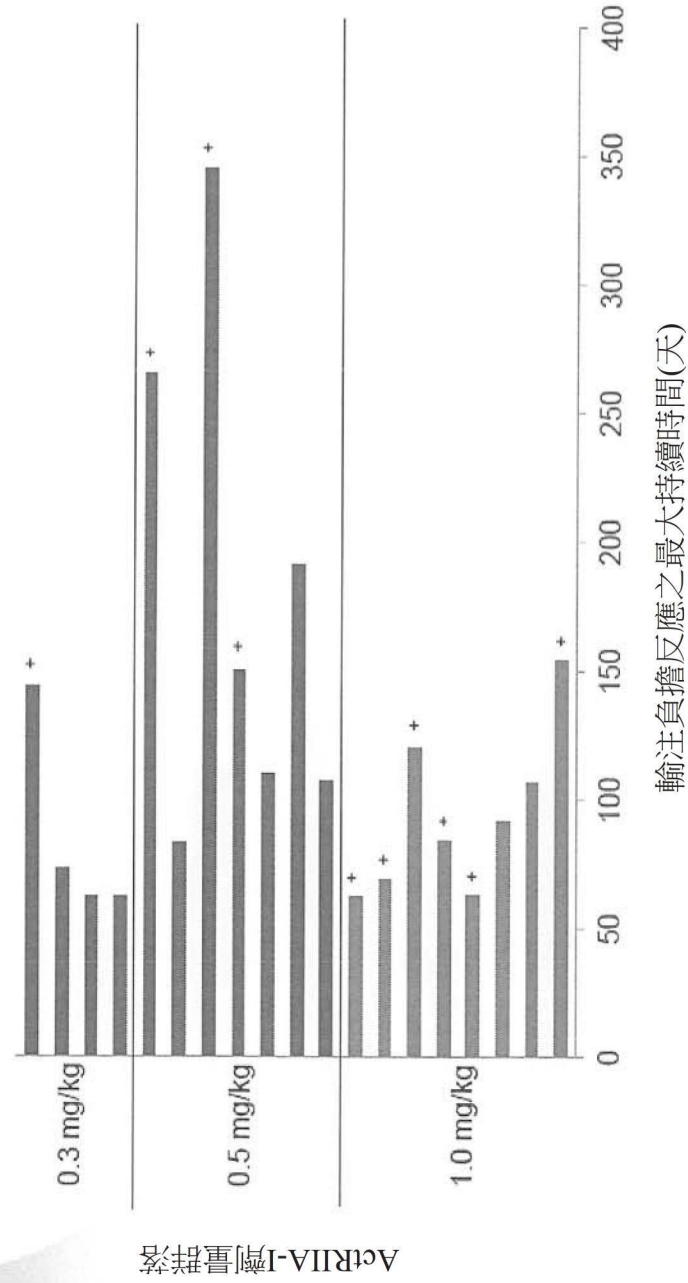
【圖2】



【圖3】

結果

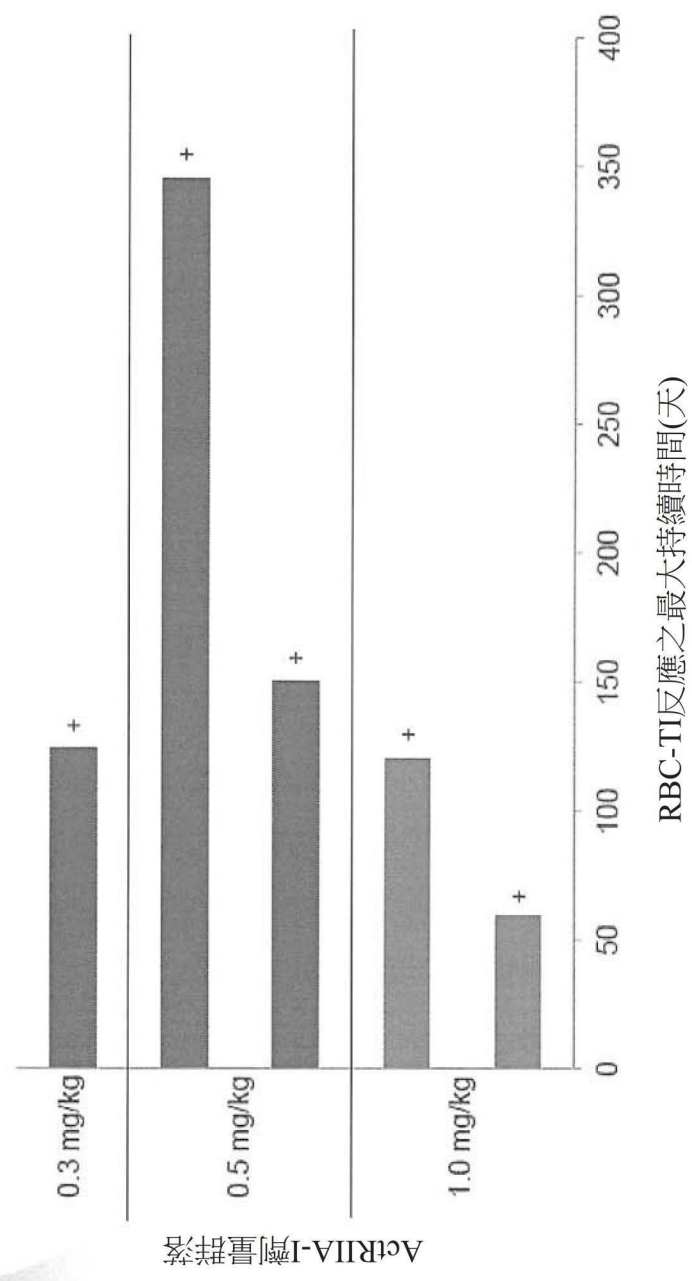
HTB反應者(N=19)中輸注負擔反應之最大持續時間



【圖4】

結果

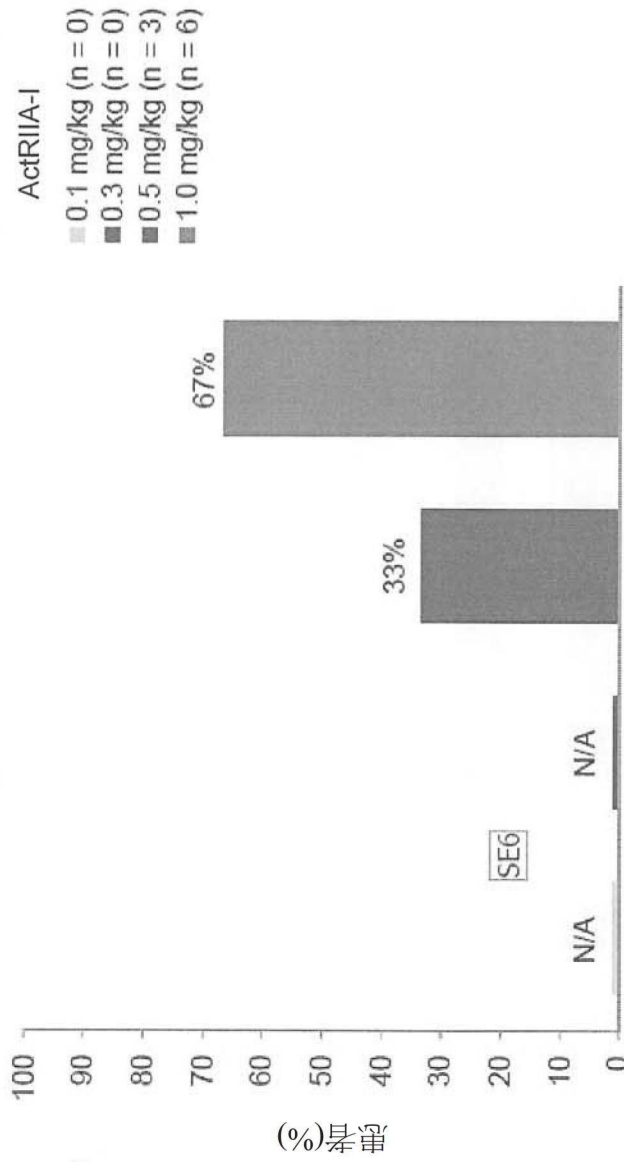
實現RBC-TI \geq 56天之HTB患者(N=5)中RBC-TI反應之最大持續時間



【圖5】

結果

實現RBC-TI \geq 56天且平均Hb增加 \geq 1.5 g/dL之LTB患者(N=9)之比例



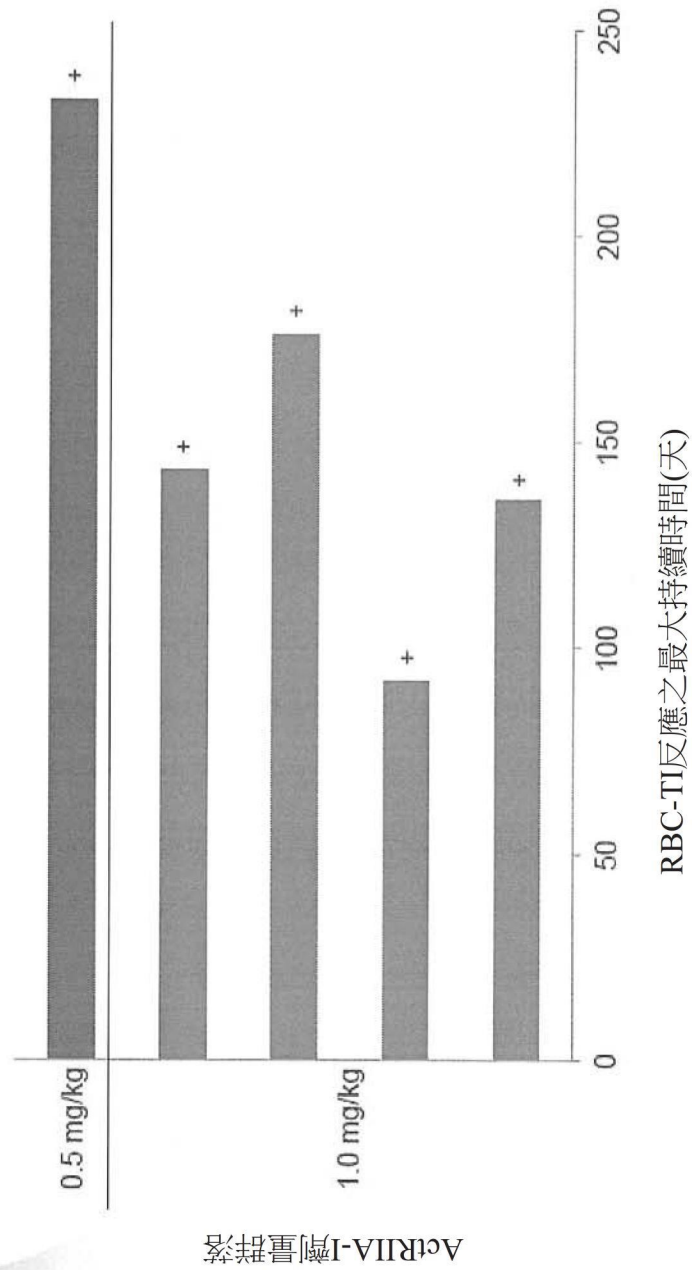
ActRIIA-I劑量群落

Hb, 血紅蛋白; LTB, 低輸注負擔; RBC-TI, 紅血球輸注非依賴性。

【圖6】

結果

實現RBC-TI ≥ 56天且平均Hb增加 ≥ 1.5 g/dL之LTB患者(N=5)中RBC-TI反應之最大持續時間

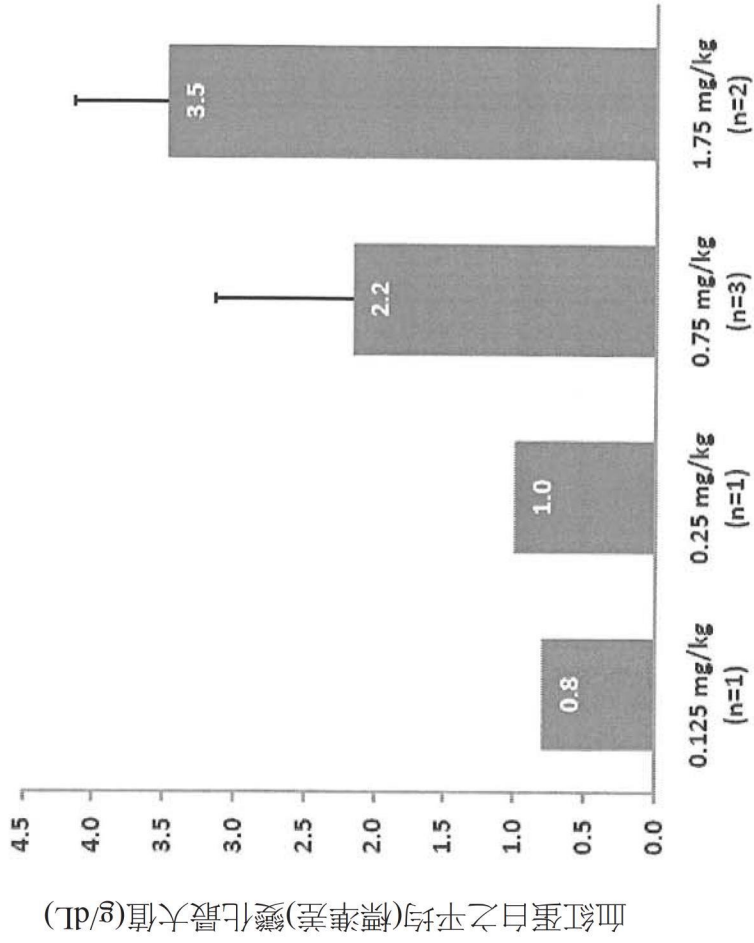


【圖7】



【圖8】

LTB患者中之最大血紅蛋白增加



LTB，低輸注負擔

【圖9】

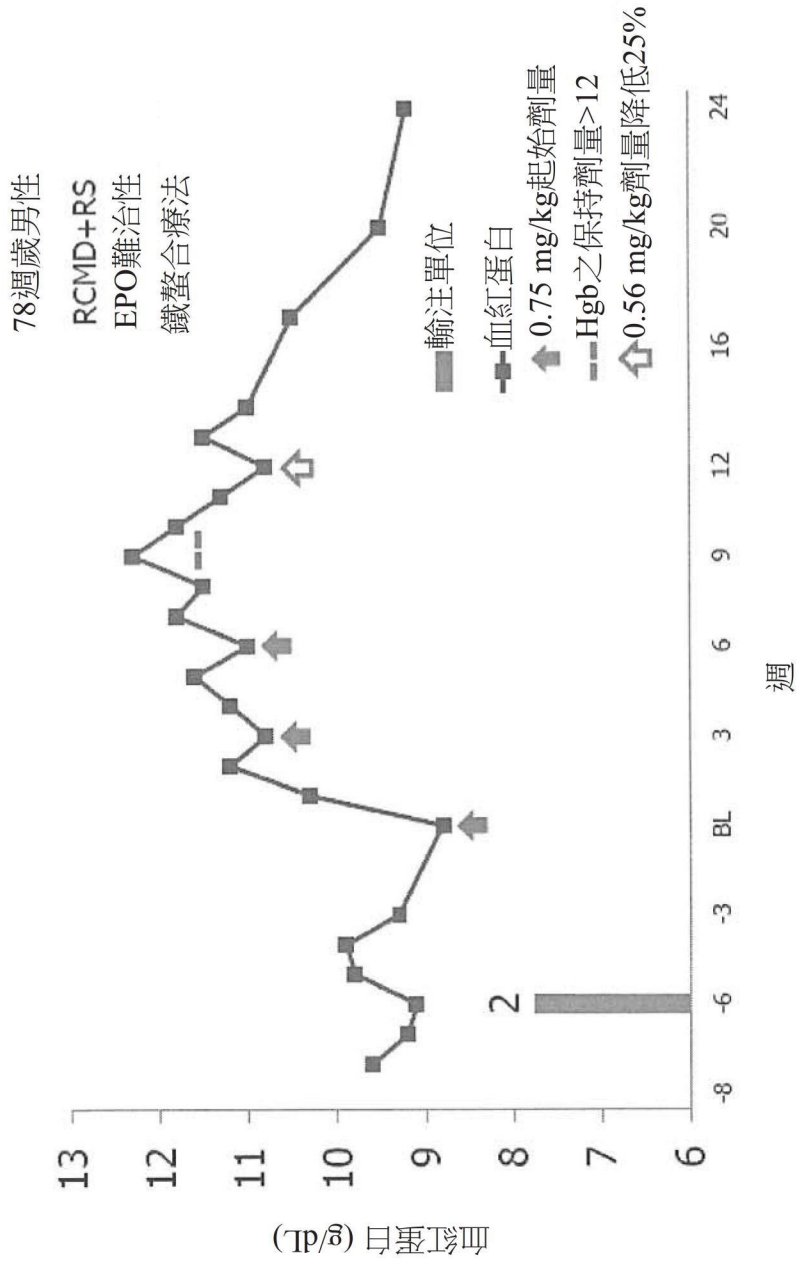
LTB患者中之網狀紅血球增加



LTB，低輸注負擔

【圖10】

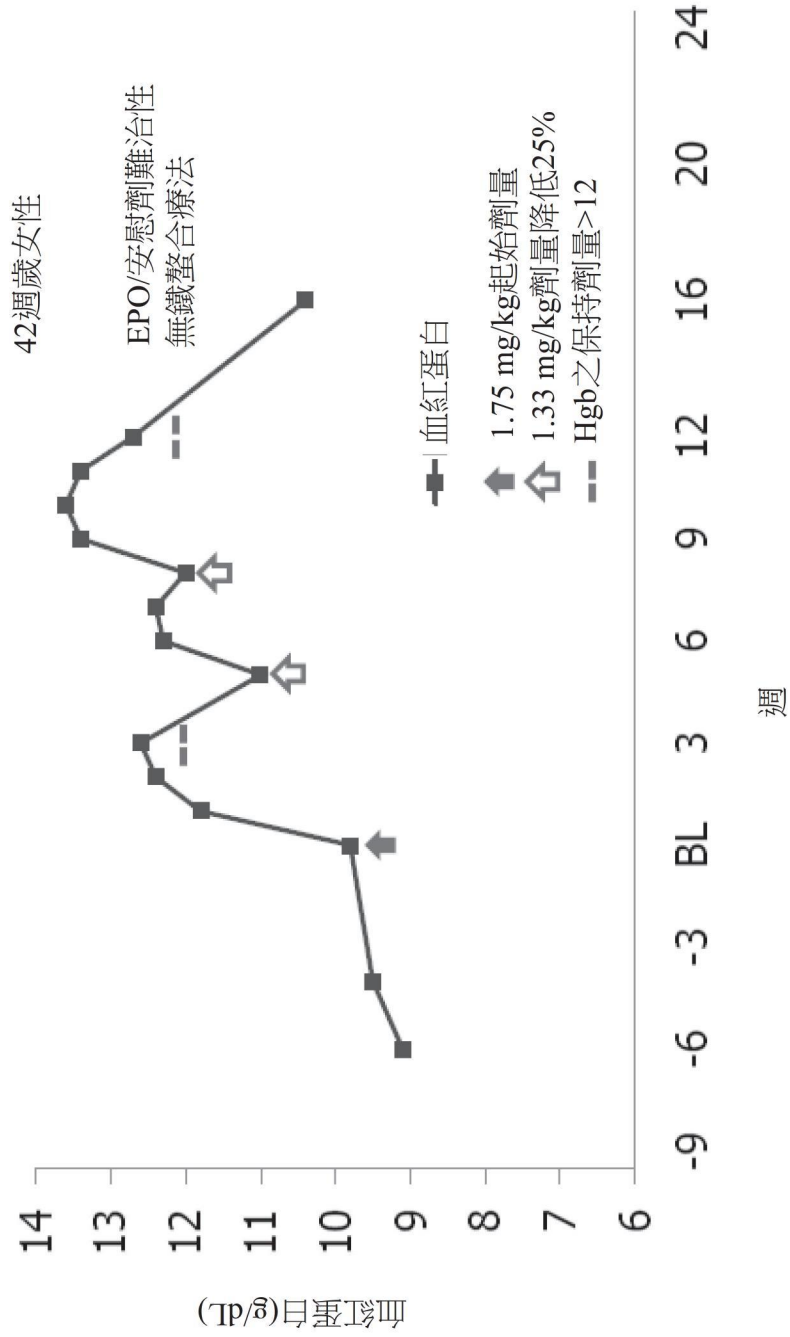
LTB反應者(IWG)



LTB, 低輸注負擔

【圖11】

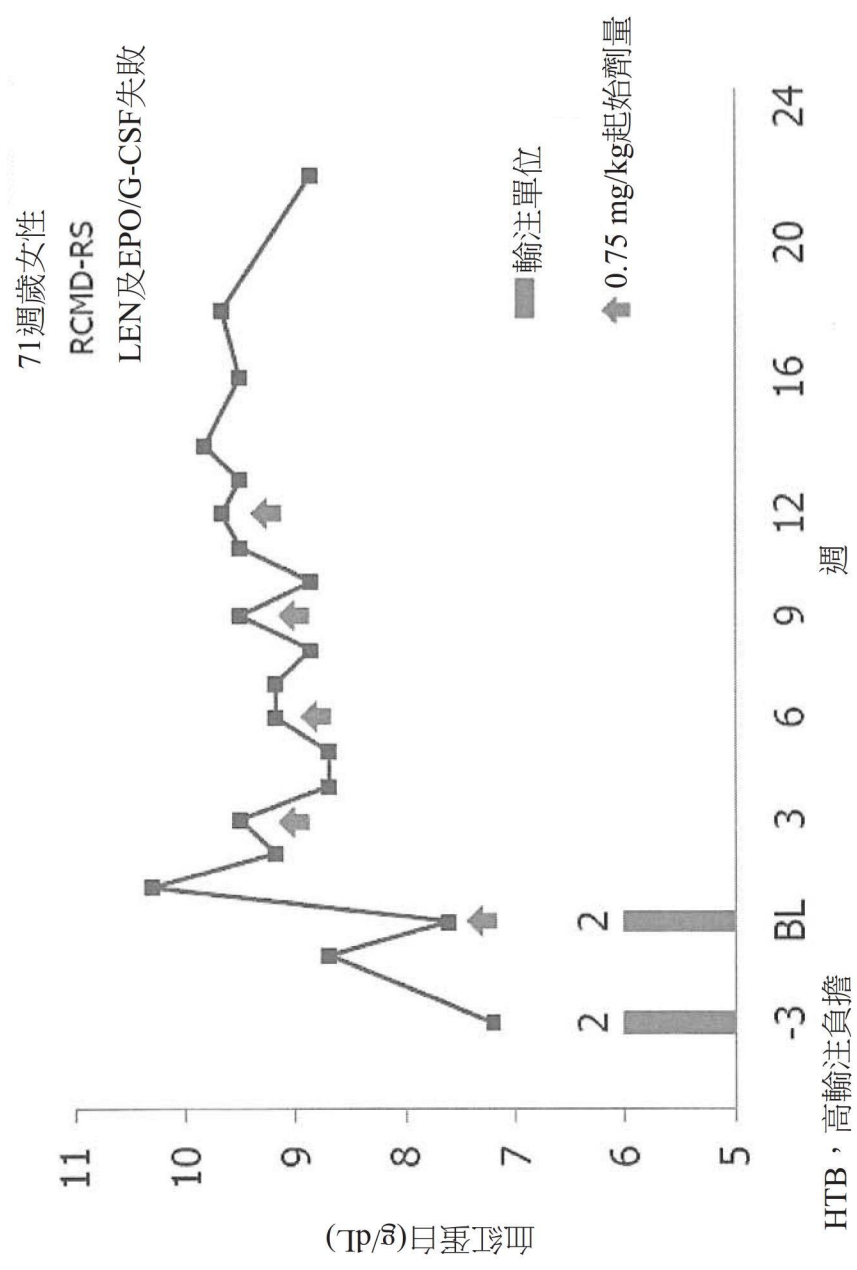
LTB反應者(IWG)



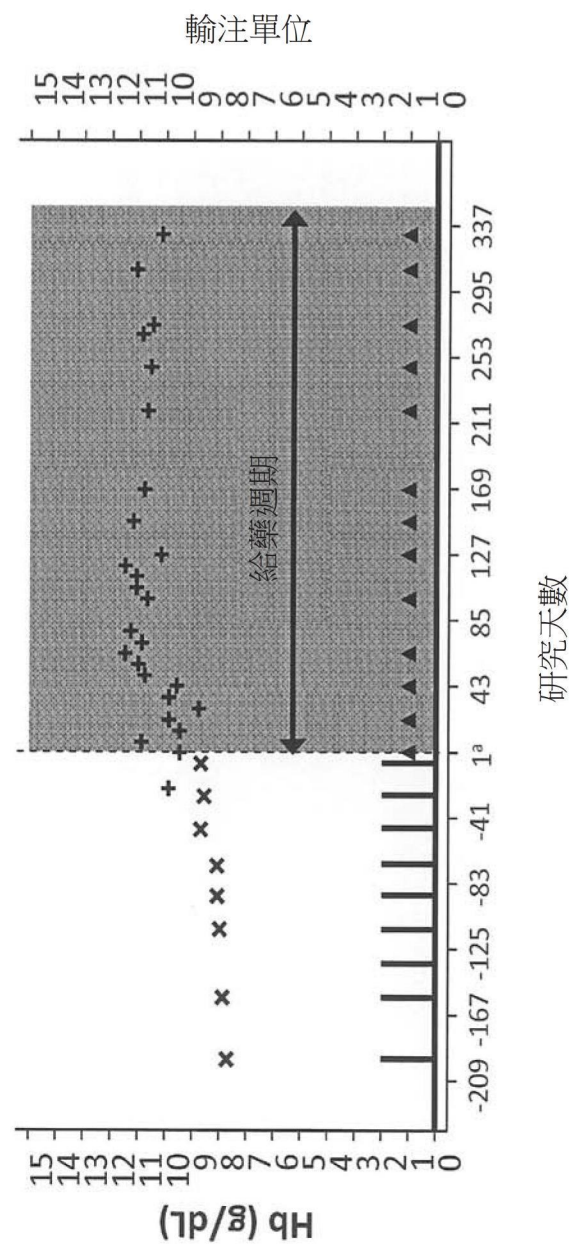
LTB，低輸注負擔

【圖12】

患者0401：HTB反應者(IWG)

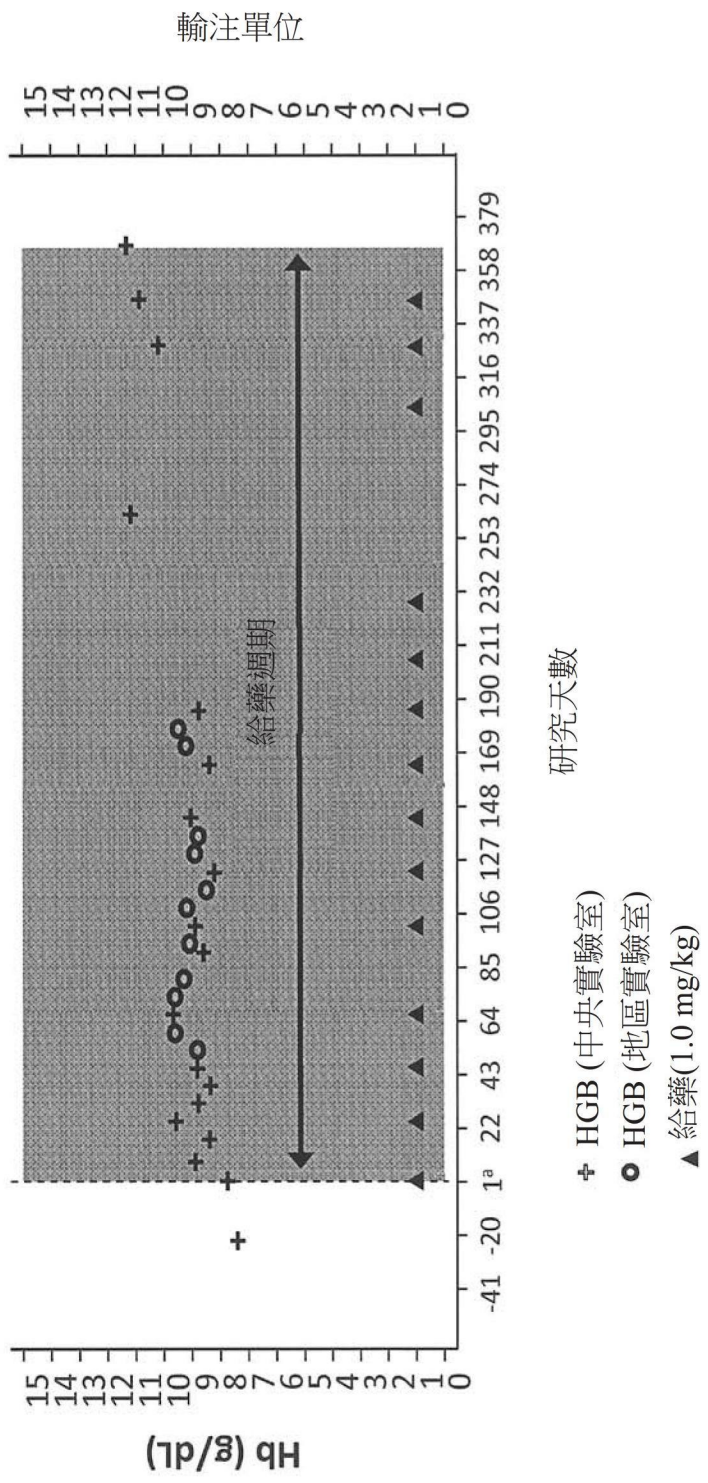


【圖13】

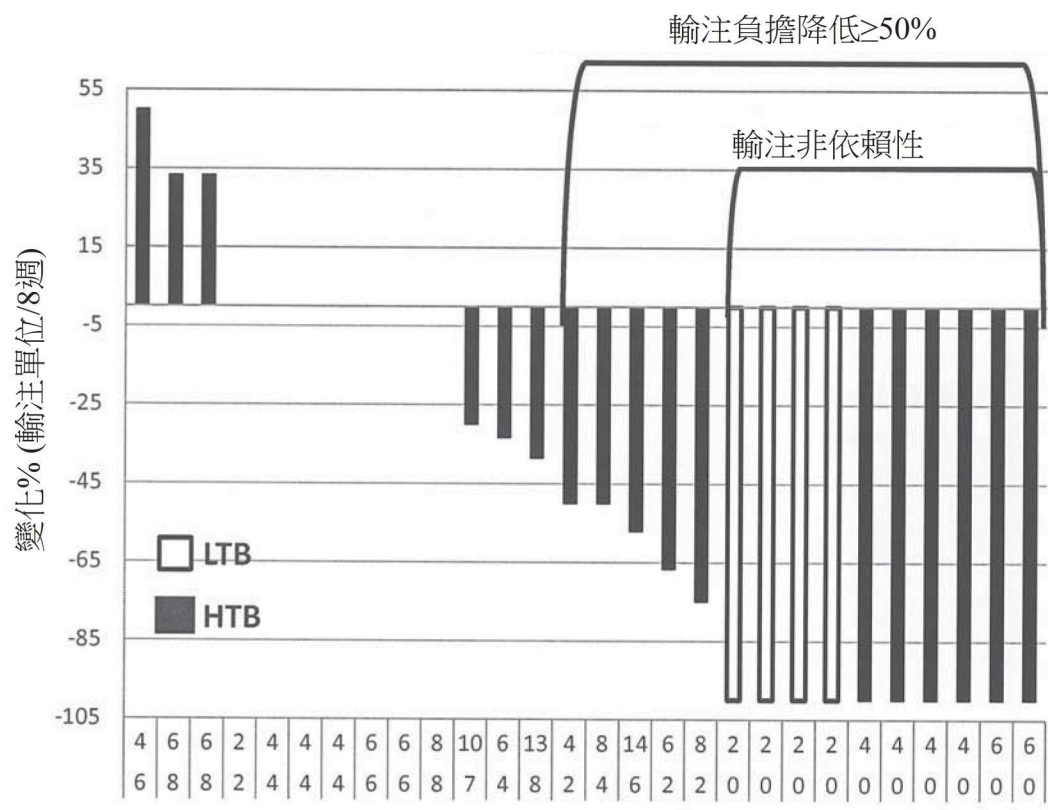


- × HGB (輸註記錄)
- + HGB (中央實驗室)
- 輸注之RBC單位數日
- ▲ 給藥(1.0 mg/kg)

【圖14】

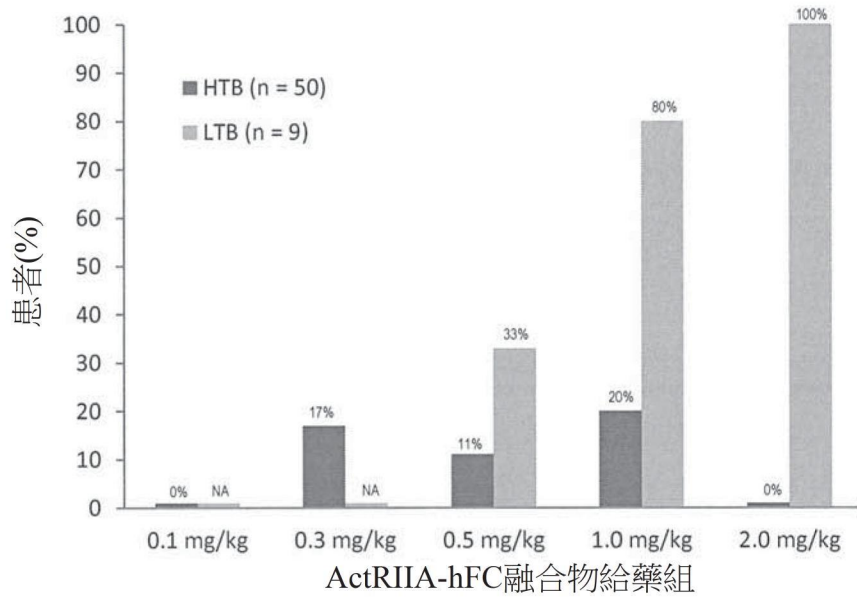


【圖15】



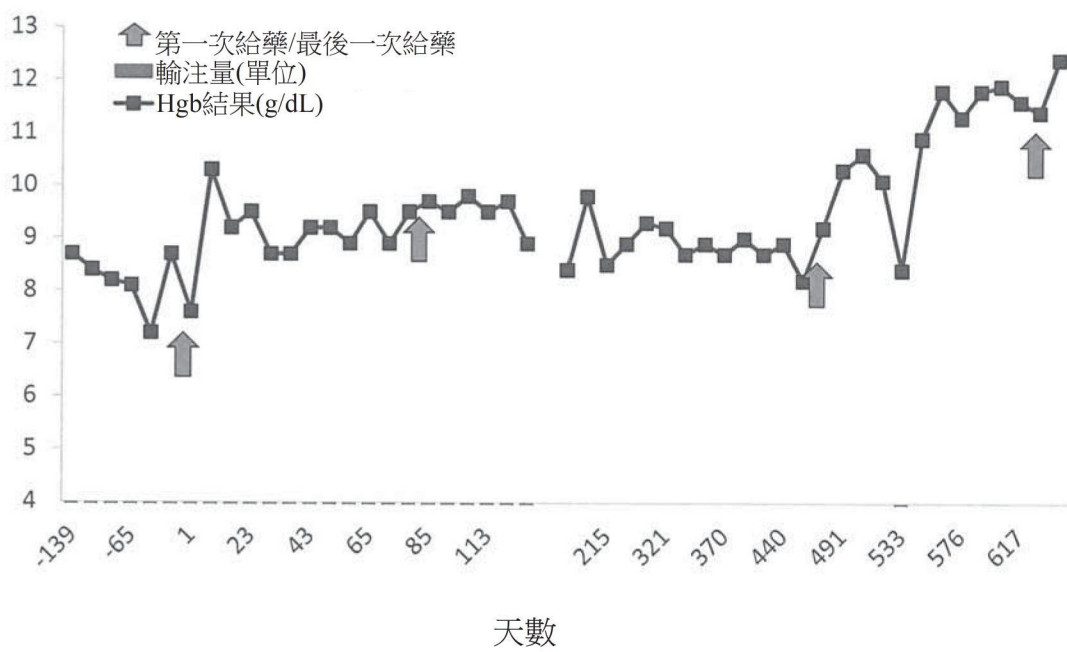
【圖16】

任何8週週期內實現RBC-TI (對於LTB患者，平均Hb增加 ≥ 1.5 g/dL)

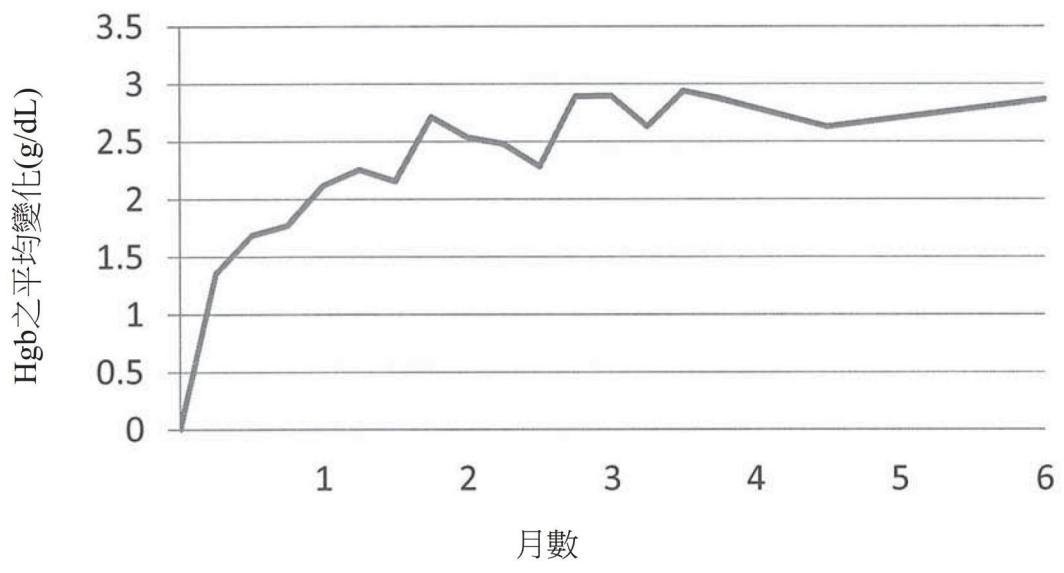


NA，不適用

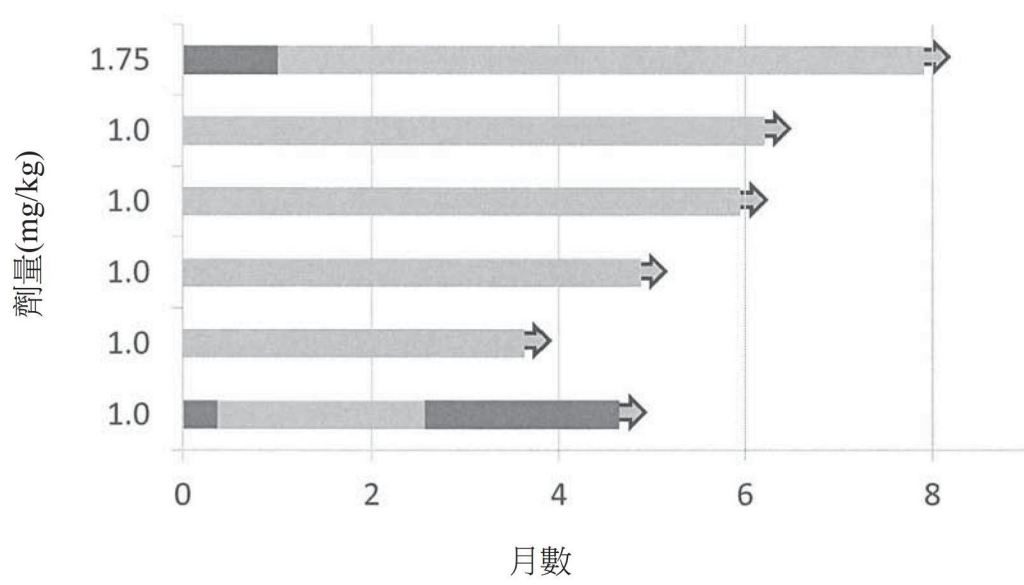
【圖17】



【圖18】



【圖19】



【圖20】