

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 739 605**

51 Int. Cl.:

C07K 16/22 (2006.01)

A61K 38/17 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

A61P 19/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.09.2015** **PCT/US2015/000100**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.03.2016** **WO16039796**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.09.2015** **E 15775835 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.07.2019** **EP 3191512**

54 Título: **Tratamiento de fibrodisplasia osificante progresiva**

30 Prioridad:

12.09.2014 US 201462049869 P

01.04.2015 US 201562141775 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

03.02.2020

73 Titular/es:

REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.

(100.0%)

**777 Old Saw Mill River Road
Tarrytown, NY 10591, US**

72 Inventor/es:

**HATSELL, SARAH, J.;
ECONOMIDES, ARIS, N. y
IDONE, VINCENT, J.**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 739 605 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Tratamiento de fibrodisplasia osificante progresiva

5 Antecedentes

La fibrodisplasia osificante progresiva (FOP) es un trastorno dominante autosómico caracterizado por un inicio temprano, osificación episódica y progresiva del músculo esquelético y del tejido conectivo relacionado. La FOP es conducida por mutaciones en el dominio intracelular de ACVR1 (ALK2), donde la gran mayoría altera la arginina 206 en histidina (R206H) (Pignolo, R.J. et al. 2011, Orphanet J. Rare Dis. 6:80). El ACVR1 es un receptor de tipo I para las proteínas morfogénicas óseas (BMP, por sus siglas en inglés). La mutación R206H, entre otras, se cree que aumenta la sensibilidad del receptor a la activación y lo vuelve más resistente al silenciamiento. No se conoce ninguna terapia médica eficaz para la FOP.

En el documento WO 2009/114180 A1 y en Mohedas et al. (ACS Chem. Biol. 8 (6): 1291-1302 (2013)) se comenta el uso de inhibidores de molécula pequeña de señalización de BMP para tratar la FOP. El documento US 2013/041017 A1 se refiere a composiciones y métodos para la regulación basada en ARNip de la expresión del ACVR1 mutado en el tratamiento de afecciones que incluyen FOP. El documento WO 2013/063536 A1 se refiere a anticuerpos neutralizantes y partes de los mismos que se unen a ActRIIB y se utilizan para tratar afecciones que incluyen FOP. En el documento WO 2008/097541 A2 se comenta el uso de antagonistas de ActRIIB para tratar afecciones que incluyen FOP. Kaplan et al. (Exp. Opin. Orphan Drugs 1 (8): 637-649 (2013)) comentan el bloqueo de la actividad del receptor ACVR/ALK2 mutante para tratar la FOP.

Sumario de la invención reivindicada

La invención proporciona un anticuerpo contra la activina A para su uso en un método para tratar la fibrodisplasia osificante progresiva (FOP), comprendiendo el método, administrar a un sujeto que tiene FOP, un régimen eficaz del anticuerpo contra la activina A. Opcionalmente, el anticuerpo compite por la unión con el anticuerpo que comprende las regiones variables de cadena pesada y ligera del anticuerpo denominado H4H10446P, H4H10430P o A1. Opcionalmente, el anticuerpo comprende las regiones variables de cadena pesada y ligera del anticuerpo denominado H4H10446P, H4H10430P o A1. Opcionalmente, el anticuerpo es un anticuerpo quimérico, recubierto, humanizado o humano. Opcionalmente, el anticuerpo es un anticuerpo intacto. Opcionalmente, el anticuerpo es un anticuerpo IgG1 kappa humano.

Breve descripción de las figuras

La **Figura 1** muestra datos microCT de ratones que muestran una formación de hueso ectópico a 6 semanas luego del inicio de la administración con tamoxifeno con y sin el tratamiento con ACVR2A-Fc/ACVR2B-Fc. Nueve de diez ratones de control tratados con mFc (números 1 a 9) mostraron formación de hueso ectópico a 6 semanas luego de la administración con tamoxifeno. Las ubicaciones más comunes son las patas traseras, región del cuello y esternón. Dos de once ratones tratados con ACVR2A-Fc/ACVR2B-Fc (números 12 y 14) mostraron formación de hueso ectópico a 6 semanas luego de la administración con tamoxifeno. Las lesiones en el hueso ectópico en estos dos ratones fueron de pequeño tamaño en comparación con aquellas vistas en el grupo tratado con mFc y ambas estaban ubicadas en el esternón.

La **Figura 2** muestra datos microCT de ratones que muestran una formación de hueso ectópico 4 semanas luego del inicio de la administración con tamoxifeno con o sin el tratamiento con LDN212854. Los números 1 a 8 corresponden a ratones tratados con tamoxifeno + vehículo. Se formaron nódulos de hueso ectópico en los ratones enumerados 1, 2, 3, 4, 5 y 7, y se formaron nódulos de hueso ectópico pequeños en los ratones enumerados 6 y 8. Los números 9-16 corresponden a ratones tratados con tamoxifeno + LDN212854. Se formaron nódulos de hueso ectópico pequeños en los ratones enumerados 9, 12 y 13. No se pudieron detectar nódulos de hueso ectópico en los ratones enumerados 10, 11, 14, 15 o 16.

La **Figura 3** muestra datos microCT para ratones ubicados en la formación de hueso ectópico tratados con un anticuerpo contra la activina A, un anticuerpo de control emparejado por isotipo irrelevante y ACVR2A-Fc. El anticuerpo contra la activina A inhibió la formación de los nódulos de hueso ectópico más eficazmente.

La **Figura 4** muestra datos microCT para ratones ubicados en la formación de hueso ectópico tratados con un anticuerpo contra la activina A, un anticuerpo de control emparejado por isotipo irrelevante y un anticuerpo contra Acvr2a/Acvr2b. El anticuerpo contra la activina A y el anticuerpo contra Acvr2a/Acvr2b inhibieron la formación de los nódulos de hueso ectópico.

La **Figura 5** muestra datos microCT para ratones ubicados en la formación de hueso ectópico tratados con dosis variables de un anticuerpo contra la activina A comparado con un isotipo emparejado por anticuerpo de control irrelevante. Dosis de entre 1 mg/kg y 25 mg/kg demostraron efectividad y 10 mg/kg fue la dosis testeada más efectiva.

DEFINICIONES

Los antagonistas se proporcionan típicamente en forma aislada. Esto significa que un antagonista está típicamente al menos 50 % p/p puro de proteínas que interfieren y otros contaminantes que surgen de su producción o purificación, pero no se excluye la posibilidad de que el antagonista esté combinado con un exceso de portador o portadores farmacéuticamente aceptables u otros vehículos que se pretende que faciliten su uso. A veces los antagonistas son al menos 60, 70, 80, 90, 95 o 99 % p/p puros de contaminantes y proteínas que interfieren con la producción o purificación.

Con el fin de clasificar las sustituciones de aminoácidos como conservadoras o no conservadoras, los aminoácidos se agrupan de la siguiente manera: Grupo I (cadenas laterales hidrofóbicas): met, ala, val, leu, ile; Grupo II (cadenas laterales hidrofílicas neutras): cys, ser, thr; Grupo III (cadenas laterales ácidas): asp, glu; Grupo IV (cadenas laterales básicas): asn, gln, his, lys, arg; Grupo V (residuos que influyen en la orientación de la cadena): gly, pro; y Grupo VI (cadenas laterales aromáticas): trp, tyr, phe. Las sustituciones conservadoras incluyen sustituciones entre aminoácidos de la misma clase. Las sustituciones no conservadoras constituyen un intercambio de un miembro de una de estas clases por un miembro de otra.

El porcentaje de identidades de secuencia se determina con las secuencias de anticuerpos alineadas de manera máxima mediante la convención numérica de Kabat para una región variable o la numeración EU para una región constante. Para otras proteínas, la identidad de secuencia se puede determinar al alinear secuencias utilizando algoritmos, tales como BESTFIT, FASTA, y TFASTA en el paquete de software de Wisconsin Genetics Release 7.0, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI), utilizando parámetros gap por defecto, o mediante inspección, y el mejor alineamiento. Después del alineamiento, si una región de anticuerpo de la invención (por ejemplo, la totalidad de la región variable madura de una cadena pesada o ligera) se compara con la misma región de un anticuerpo de referencia, el porcentaje de identidad de secuencia entre las regiones del anticuerpo de referencia y de la invención es la cantidad de posiciones ocupadas por el mismo aminoácido tanto la región del anticuerpo de referencia como de la invención, dividida por la cantidad total de posiciones alineadas de las dos regiones, donde no se cuentan los huecos, multiplicada por 100 para convertirlo en porcentaje.

Las composiciones o método que “comprenden” uno o más elementos mencionados pueden incluir otros elementos no mencionados específicamente. Por ejemplo, una composición que comprende un anticuerpo puede contener el anticuerpo solo o en combinación con otros ingredientes.

Un anticuerpo humanizado es un anticuerpo modificado genéticamente en el que las CDR de un anticuerpo “donante” no humano se injertan en secuencias de anticuerpo “aceptor” humano (véase, por ejemplo, Queen, US 5,530,101 y 5,585,089; Winter, US 5,225,539; Carter, US 6,407,213; Adair, US 5,859,205 y 6,881,557; Foote, US 6,881,557). Las secuencias del anticuerpo aceptor pueden ser, por ejemplo, una secuencia de anticuerpo humano maduro, una combinación de dichas secuencias, una secuencia de consenso de secuencias de anticuerpo humano o una secuencia de región de línea germinal. Por lo tanto, un anticuerpo humanizado es un anticuerpo que tiene algunas o todas las CDR completa o sustancialmente de un anticuerpo donante, y secuencias de marco de región variable y regiones constantes, si las hay, completa o sustancialmente de secuencias de anticuerpo humano. De manera similar, una cadena pesada humanizada tiene al menos una, dos y usualmente las tres CDR completa o sustancialmente de una cadena pesada de anticuerpo donante, y una secuencia de marco de región variable de cadena pesada y una región constante de cadena pesada, si las hay, sustancialmente de un marco de región variable de cadena pesada humana y secuencias de región constante. De manera similar, una cadena ligera humanizada tiene al menos una, dos y usualmente las tres CDR completa o sustancialmente de una cadena ligera de anticuerpo donante, y una secuencia de marco de región variable de cadena ligera y una región constante de cadena ligera, si las hay, sustancialmente de un marco de región variable de cadena ligera humana y secuencias de región constante. Además de los nanocuerpos y dAb, un anticuerpo humanizado comprende una cadena pesada humanizada y una cadena ligera humanizada. Una CDR de un anticuerpo humanizado surge sustancialmente de una CDR correspondiente en un anticuerpo no humano cuando al menos 85 %, 90 %, 95 % o 100 % de los residuos correspondientes (según lo definido por Kabat) son idénticos entre las CDR respectivas. Las secuencias de marco de región variable de una cadena de anticuerpo o la región constante de una cadena de anticuerpo surgen sustancialmente de una secuencia de marco de región variable humana o región constante humana, respectivamente, cuando al menos 85, 90, 95 o 100 % de los residuos correspondientes, definidos por Kabat, son idénticos.

Aunque los anticuerpos humanizados a menudo incorporan las seis CDR (preferentemente según la definición de Kabat) de un anticuerpo de ratón, también pueden hacerse con menos que todas las CDR (por ejemplo al menos 3, 4 o 5 CDR de un anticuerpo de ratón) (por ejemplo, Pascalis et al., J. Immunol. 169:3076, 2002; Vajdos et al., Journal of Molecular Biology, 320: 415-428, 2002; Iwahashi et al., Mol. Immunol. 36:1079-1091, 1999; Tamura et al., Journal of Immunology, 164:1432-1441, 2000).

Un anticuerpo quimérico es un anticuerpo en el cual las regiones variables maduras de cadena ligera y pesada de un anticuerpo no humano (por ejemplo, un ratón) se combinan con regiones constantes de cadena ligera y pesada humana. Dichos anticuerpos conservan de manera sustancial o total la especificidad de unión del anticuerpo de

ratón y tienen aproximadamente dos tercios de secuencia humana.

Un anticuerpo recubierto es un tipo de anticuerpo humanizado que retiene algunas y usualmente todas las CDR y algunos residuos de marco no humano de región variable de un anticuerpo no humano pero reemplaza otros residuos de marco de región variable que pueden contribuir a los epítomos de linfocitos T o B, por ejemplo, residuos expuestos (Padlan, Mol. Immunol. 28:489, 1991) con residuos de las posiciones correspondientes de una secuencia de anticuerpos humanos. El resultado es un anticuerpo en el cual las CDR son completa o sustancialmente de un anticuerpo no humano y los marcos de región variable del anticuerpo no humano se hacen más similares a los humanos mediante las sustituciones.

Un anticuerpo humano se puede aislar de un humano, o de otra manera ser resultado de la expresión de genes de inmunoglobulina humanos (por ejemplo, en un ratón transgénico, in vitro o mediante expresión en fagos). Los métodos para producir anticuerpos humanos incluyen el método de trioma de Oestberg et al., Cys muoma 2:361-367 (1983); Oestberg, la patente estadounidense n.º 4,634,664; y Engleman et al., la patente estadounidense 4,634,666. Los anticuerpos monoclonales también pueden ser producidos a partir de ratones transgénicos que portan genes del sistema inmunitario humanos, tales como el ratón Veloclmmune® de Regeneron Pharmaceuticals, Inc. (Murphy, PNAS 111 n.º 14, 5153-5158 (2014), Xenomouse, Jakobovits, Nature Biotechnology 25, 1134-1143 (2007) o el ratón HuMAb de Medarex, Inc. (Lonberg, Handbook Exp. Pharmacol. 181, 69-97 (2008); Lonberg et al., WO93/12227 (1993); US 5,877,397, US 5,874,299, US 5,814,318, US 5,789,650, US 5,770,429, US 5,661,016, US 5,633,425, US 5,625,126, US 5,569,825, US 5,545,806, Nature 148, 1547-1553 (1994), Nature Biotechnology 14, 826 (1996), Kucheralapati, WO 91/10741 (1991). También se pueden producir anticuerpos humanos mediante métodos de expresión en fagos (véase, por ejemplo, Dower et al., WO 91/17271 y McCafferty et al., WO 92/01047, US 5,877,218, US 5,871,907, US 5,858,657, US 5,837,242, US 5,733,743 y US 5,565,332).

Cuando se dice que un antagonista retiene una propiedad de un anticuerpo original del cual derivó, la retención puede ser completa o parcial. La retención completa de una actividad significa que la actividad del antagonista es la misma dentro del error experimental o mayor que aquella de la molécula de la cual deriva. La retención parcial de la actividad significa una actividad considerablemente sobre el nivel de fondo de un control negativo (es decir, más allá del error experimental) y preferentemente al menos 50 % de la actividad correspondiente de la molécula de la cual deriva.

Dos anticuerpos tienen el mismo epítipo si todas las mutaciones de aminoácidos en el antígeno que reducen o eliminan la unión de un anticuerpo reducen o eliminan la unión del otro. Dos anticuerpos tienen epítipos superpuestos si algunas mutaciones de aminoácidos que reducen o eliminan la unión de un anticuerpo reducen o eliminan la unión del otro.

La competencia entre anticuerpos se determina por un ensayo en el que un anticuerpo que se está analizando inhibe la unión específica de un anticuerpo de referencia a un antígeno común, (véase, por ejemplo, Junghans et al., Cancer Res. 50:1495, 1990). Un anticuerpo de prueba compite con un anticuerpo de referencia si un exceso de un anticuerpo de prueba, (por ejemplo, al menos 2x, 5x, 10x, 20x o 100x) inhibe la unión del anticuerpo de referencia en al menos 50 %, pero preferentemente 75 %, 90 % o 99 %, tal como se midió en un ensayo de unión competitivo. Los anticuerpos identificados por el ensayo de competencia (anticuerpos que compiten) incluyen anticuerpos que se unen al mismo epítipo que el anticuerpo de referencia y anticuerpos que se unen a un epítipo adyacente lo suficientemente cercano al epítipo unido por el anticuerpo de referencia para que ocurra el impedimento estérico.

Descripción detallada

I. Información general

Se proporcionan anticuerpos contra activina A para su uso en un método para tratar la fibrodisplasia osificante progresiva (FOP). Tales métodos implican la administración, a un sujeto que tiene FOP, de un régimen eficaz de anticuerpo de activina A. En el presente documento se describen antagonistas de anticuerpos de activina A.

II. ACVR1, ACVR2A, ACVR2B y activina A

La superfamilia de ligandos del factor de transformación del crecimiento β (TGF- β) incluye, por ejemplo, proteínas morfogénicas óseas (BMP, por sus siglas en inglés) y los factores de crecimiento y diferenciación (GDF, por sus siglas en inglés). Los receptores para estos ligandos son complejos de receptores heteroméricos elaborados a partir de receptores transmembrana de serina/treonina cinasa de tipo I y tipo II. Los ejemplos de los receptores tipo I incluyen el receptor de la activina tipo IA (ACTRIA, ACVR1 o ALK2), el receptor BMP tipo IA y el receptor BMP tipo IB. Los ejemplos de receptores tipo II incluyen receptores de activina tipo IIA y IIB (ACTRIIA o ACVR2A y ACTRIIB o ACVR2B) y el receptor BMP tipo II. Cada ligando de la superfamilia TGF β tiene afinidades diferentes para los receptores de tipo I y tipo II diferentes.

Ambos receptores de tipo I y tipo II tiene un dominio de unión de ligando extracelular (ECD) y un dominio intracelular de serina/treonina cinasa. Además, los receptores tipo I tienen una región rica en glicina/serina (caja GS) antes del

dominio cinasa y un bucle L45 dentro del dominio cinasa. Ambos receptores trabajan juntos para que los ligandos activen las vías de señalización posteriores, tales como las vías de señalización Smad y no Smad. La activación implica la unión de ligandos, la oligomerización de ligando-receptor y la transfosforilación de la caja GS del receptor de tipo I por el receptor de cinasa de tipo II. El receptor de cinasa de tipo II se encuentra activo de forma constitutiva y tiene un rol en la unión de los ligandos y la activación del receptor de tipo I.

El ACVR1, también conocido como receptor de la activina de tipo I, ACVR1A, ACVRLK2, o ALK2, es un receptor de tipo I para la superfamilia de ligandos TGF β . El ACVR1 tiene actividad de serina/treonina cinasa y proteínas de fosforilatos Smad y activa las vías de señalización posteriores. El ACVR1 se encuentra en muchos tejidos del cuerpo que incluyen el músculo esquelético y el cartílago y ayuda a controlar el crecimiento y el desarrollo de los huesos y los músculos. Tal como se describe en otra parte del presente documento, determinadas mutaciones en el gen ACVR1 provocan la FOP. Ejemplos de la actividad de ACVR1 incluyen la capacidad de unirse a ligandos, la capacidad de formar un complejo con un receptor de tipo II, o la capacidad de activar vías de señalización posteriores, tales como la vía de Smad.

El ACVR2, también conocido como receptor de la activina de tipo II, es un receptor de tipo II para la superfamilia de ligandos TGF β . Hay al menos dos receptores de ACVR2, por ejemplo, el receptor de la activina tipo IIA (ACVR2A o ACTRIIA) y el receptor de la activina tipo IIB (ACVR2B o ACTRIIB). La referencia a ACVR2 incluye cualquiera o ambos de ACVR2A y ACVR2B. Los ACVR2A y ACVR2B se pueden expresar en múltiples tejidos, que incluyen el músculo esquelético, estómago, corazón, endometrio, testículos, próstata, ovarios y tejidos neurales.

En la unión de los ligandos, un receptor de ACVR2 forma un complejo con un receptor de tipo I, tal como ACVR1, y fosforila la caja GS del receptor de tipo I, aumentando de este modo la actividad cinasa del receptor de tipo I. Ejemplos de la actividad de ACVR2A y ACVR2B incluyen la capacidad de unirse a ligandos, la capacidad de formar un complejo con un receptor de tipo I, o la capacidad de fosforilar un receptor de tipo I.

Una forma ejemplar de ACVR2A humano tiene el número de registro Swiss Prot P27037. Los residuos 1-19 son un péptido señal, los residuos 20-135 son un dominio extracelular, los residuos 59-116 son un dominio del receptor tipos I y II de la activina, los residuos 136-161 son un dominio transmembrana y los residuos 162-513 son un dominio citoplásmico. Una forma ejemplar de ACVR2B humano tiene asignado el número Swiss Prot Q13705. Los residuos 1-18 son una secuencia señal, los residuos 19-137 son un dominio extracelular, los residuos 27-117 son un dominio del receptor tipos I y II de la activina, los residuos 138-158 son un dominio transmembrana y los residuos 159-512 son un dominio citoplásmico. Una forma ejemplar de ACVR1 humano tiene el número de registro Swiss Prot Q04771. Los residuos 1-20 son una secuencia señal, los residuos 21-123 son dominio extracelular, los residuos 33-104 son un dominio del receptor tipos I y II de la activina, los residuos 124-146 son un dominio transmembrana y los residuos 147-509 son un dominio citoplásmico. Referencia a cualquiera de ACVR1, ACVR2A y ACVR2B incluye aquellas formas ejemplares, isoformas conocidas y polimorfismos de estos, tales como aquellos enumerados en la base de datos Swiss Prot, formas cognadas de otras especies, y otras variantes que tienen al menos 90, 95, 96, 97, 98 o 99 % de identidad de secuencia con una forma ejemplificada.

Los residuos de las formas ACVR2A, ACVR2B y ACVR1 diferentes de las secuencias ejemplificadas definidas anteriormente están enumeradas por una alineación máxima con las secuencias ejemplificadas correspondientes para que a los residuos alineados se les asigne el mismo número. Las sustituciones de secuencias ejemplificadas pueden ser sustituciones conservativas o no conservativas. Referencia a ACVR1, ACVR2A o ACVR2B también incluye los dominios extracelulares intactos (por ejemplo, los residuos 20-135, 19-137 o 21-123 de ACVR2A, ACVR2B y ACVR1, respectivamente) o una parte de estos libre o sustancialmente libre de la parte transmembrana y citoplásmica. Las partes de un dominio extracelular retienen suficientes residuos del dominio extracelular intacto para unir al menos un ligando o contrarreceptor que se une al dominio extracelular intacto y por lo tanto antagoniza el receptor relevante (por ejemplo, los residuos 59-116, 27-117 o 33-104 de ACVR2A, ACVR2B y ACVR1, respectivamente).

La activina A en humanos puede existir como una proteína homodimérica o heterodimérica. La proteína homodimérica contiene un par de la subunidad beta A homodimérica. La proteína heterodimérica contiene una subunidad beta y una subunidad beta B, beta C o beta E (es decir, beta A beta B, beta A beta C, o beta A beta E). Cada una de las subunidades están expresadas como polipéptidos precursores que incluyen un péptido señal, propéptido y polipéptido maduro. Una forma de ejemplo del precursor de la subunidad beta A humana es un polipéptido de 426 aminoácidos de longitud denominados Swiss Prot P08476 de los cuales los residuos 1-20 son un péptido señal, los residuos 21-310 son un propéptido y los residuos 311-426 son el polipéptido maduro. Una forma de ejemplo de un precursor de la subunidad beta B es denominada Swiss Prot P09529 de la cual los residuos 1-28 son un péptido señal, los residuos 29-292 son un propéptido y los residuos 293-407 son un polipéptido maduro. Una forma de ejemplo de una subunidad beta C es denominada Swiss Prot P55103, de la cual los residuos 1-18 son un péptido señal, los residuos 19-236 son un propéptido y los residuos 237-352 son un polipéptido maduro. Una forma de ejemplo de un precursor de la subunidad beta E es denominada Swiss Prot P58166, de la cual los residuos 1-19 son un péptido señal, los residuos 20-236 son un propéptido y los residuos 237-350 son un polipéptido maduro. Varias variantes de estas secuencias se conocen tal como se describen en la base de datos Swiss Prot. Referencia a la activina A incluye cualquiera de los homodímeros beta A, las formas heterodímeros beta A beta B, beta A beta C

y beta A beta E, así como sus subunidades, así como sus precursores en los cuales las subunidades están unidas al propéptido y/o al péptido señal definido por las secuencias Swiss Prot de ejemplo proporcionadas u otras formas humanas de origen natural de estas secuencias. La activina A se señaliza a través de la unión a ACVR2A o ACVR2B, pero no se conoce como un ligando para ACVR1.

5

III. Antagonistas de ACVR1, ACVR2A, ACVR2B

En el presente documento se describen antagonistas de las proteínas del receptor de ACVR1 de tipo I y del receptor de ACVR2 de tipo II (por ejemplo, ACVR2A y/o ACVR2B) para tratar la FOP. Tales antagonistas pueden antagonizar los receptores directamente al unirse al receptor (como para un anticuerpo respecto a ACVR1, ACVR2A o ACVR2B) o indirectamente al unirse a un ligando o contrarreceptor e inhibir que el ligando o contrarreceptor se una a ACVR1, ACVR2A o ACVR2B (como para una proteína de fusión de ACVR1, ACVR2A o ACVR2B) entre otros mecanismos. Los antagonistas de ACVR2A y ACVR2B también pueden unirse a la activina A.

Un antagonista de ACVR1, ACVR2A o ACVR2B descrito en el presente documento puede inhibir o reducir la actividad de ACVR1, ACVR2A y/o ACVR2B en al menos 1 %, 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 99 % o más respecto a una célula de control o modelo animal que no recibió el antagonista.

El antagonista puede comprender, por ejemplo, un polipéptido ACVR1, ACVR2A o ACVR2B, tal como un dominio extracelular, un anticuerpo antagonista, o un inhibidor de moléculas pequeñas.

A. Dominios extracelulares de polipéptidos ACVR1, ACVR2A y ACVR2B

Los antagonistas incluyen las proteínas ACVR1, ACVR2A y ACVR2B y los fragmentos de estas eficaces para inhibir al menos una actividad de ACVR1, ACVR2A y ACVR2B, respectivamente. Tales antagonistas típicamente incluyen el dominio extracelular de ACVR1, ACVR2A o ACVR2B o una parte de estos. Preferentemente, tales dominios extracelulares están total o sustancialmente libres de las regiones transmembrana y citoplásmica (es decir, cualquier residuo restante de estas regiones no tiene ningún efecto considerable en la función del dominio extracelular). En otras palabras, el componente ACVR2A, ACVR2B o ACVR1 de tales antagonistas consiste en o consiste esencialmente del dominio extracelular total de ACVR2A, ACVR2B o ACVR1 o una parte de estos tal como se define a continuación. Tales antagonistas pueden o no incluir otros componentes distintos de ACVR2A, ACVR2B o ACVR1 tal como se describe adicionalmente más adelante. Tales dominios extracelulares libres o sustancialmente libres de dominios transmembrana y citoplásmicos son solubles. Tales dominios extracelulares pueden funcionar como un antagonista al unirse a un ligando soluble o contrarreceptor, compitiendo de forma eficaz con la unión del ligando o contrarreceptor al receptor de superficie celular ACVR1, ACVR2A o ACVR2B, modulando de esta forma (reduciendo) la disponibilidad del ligando o contrarreceptor in vivo.

Los dominios extracelulares solubles se pueden expresar inicialmente con una secuencia señal, que se escinde en el curso de la expresión. La secuencia señal puede ser una secuencia señal natural de un ACVR1, ACVR2A o ACVR2B, tales como aquellos descritos en la patente estadounidense n.º 7,709,605, o puede ser una secuencia señal de una proteína diferente tal como melitina de abeja (HBM, por sus siglas en inglés) o activador del tejido plasminógeno (TPA, por sus siglas en inglés). De manera alternativa, los polipéptidos ACVR1, ACVR2A o ACVR2B extracelulares solubles se pueden sintetizar o expresar sin una secuencia señal.

Los ECD o dominios de unión a ligandos de ACVR1, ACVR2A y ACVR2B están extremadamente conservados entre especies que incluyen los ratones y el ser humano. Los ECD contienen una región rica en cisteína y una región trasera de extremo C. Los ECD de ACVR1, ACVR2A y ACVR2B se unen a un grupo diverso de ligandos de la familia de TGFβ, que incluyen, por ejemplo, activina A, miostatina (GDF-8), GDF-11 y BMP. Véase por ejemplo, Souza et al. (2008) *Molecular Endocrinology* 22(12):2689–2702.

Los ejemplos de los polipéptidos ACVR2A y ACVR2B y los polipéptidos ACVR2A y ACVR2B solubles incluyen aquellos descritos en la patente estadounidense n.º 7,842,633; la patente estadounidense n.º 7,960,343; y la patente estadounidense n.º 7,709,605.

El ECD de un polipéptido de ACVR1, ACVR2A o ACVR2B se puede mutar de modo que el polipéptido variante ha alterado las propiedades de unión al ligando (por ejemplo especificidad o afinidad de unión). Algunos polipéptidos ACVR1, ACVR2A o ACVR2B variantes tienen afinidad de unión alterada (por ejemplo, elevada o reducida) para un ligando específico. Las variantes tienen al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % de identidad de secuencia respecto a las secuencias ACVR1, ACVR2A o ACVR2B de origen natural, y retienen la actividad biológica y por lo tanto tienen una actividad ACVR1, ACVR2A o ACVR2B tal como se describe en otra parte del presente documento. Las variantes activas y fragmentos de ACVR2A y ACVR2B se describen, por ejemplo, en la patente estadounidense n.º 7,842,633; la patente estadounidense n.º 7,960,343; y la patente estadounidense n.º 7,709,605.

Los ensayos para medir la actividad de ACVR1, ACVR2A o ACVR2B se describen, por ejemplo, en la patente estadounidense n.º 7,842,633; la patente estadounidense n.º 7,960,343; y la patente estadounidense n.º 7,709,605.

Por ejemplo, se puede analizar una variante de polipéptido ACVR1, ACVR2A o ACVR2B para determinar su capacidad de unión a un ligando o para determinar su capacidad para prevenir la unión de un ligando a una proteína receptora ACVR1, ACVR2A o ACVR2B.

5 B. Proteínas de fusión

Los polipéptidos ACVR1, ACVR2A y ACVR2B descritos anteriormente se pueden expresar como proteínas de fusión que tienen al menos una parte de un polipéptido ACVR1, ACVR2A y/o ACVR2B y uno o más dominios de fusión.

10 Los dominios de fusión incluyen una región constante de cadena pesada de inmunoglobulina (Fc), albúmina de suero humano (HSA, por sus siglas en inglés), glutatión S transferasa (GST, por sus siglas en inglés), proteína A, proteína G, o cualquier dominio de fusión que puede ser útil para estabilizar, solubilizar, aislar o multimerizar una proteína de fusión.

15 Un dominio Fc de una cadena pesada de inmunoglobulina es un dominio preferido para las proteínas de fusión. Las fusiones con la parte Fc de una inmunoglobulina confieren propiedades farmacocinéticas deseables en un amplio rango de proteínas (por ejemplo, aumenta la estabilidad y/o semivida del suero de la proteína). Por lo tanto, en el presente documento se describen proteínas de fusión que comprenden al menos un ECD de un ACVR1, ACVR2A y/o ACVR2B fusionado a un dominio Fc de una inmunoglobulina.

20 El dominio Fc puede ser de cualquier inmunoglobulina. Se puede utilizar cualquiera de las varias clases de inmunoglobulina, que incluyen IgG, IgA, IgM, IgD e IgE. Dentro de la clase de IgG hay diferentes subclases o isotipos, que incluyen, por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. En un caso, la proteína de fusión Fc comprende el dominio Fc de una molécula de IgG. En un caso adicional, el dominio Fc es de una molécula IgG1. La molécula de
25 inmunoglobulina puede ser de cualquier tipo animal, que incluye, por ejemplo, un mamífero, un roedor, un ser humano, un ratón, una rata, un hámster o un conejo. En un caso, el dominio Fc de inmunoglobulina es de un mamífero. En otro caso, el dominio Fc es de un ser humano. En otro caso más, el dominio Fc es de un roedor, tal como un ratón o rata. En un caso específico, el dominio Fc de la proteína de fusión es de IgG1 humano.

30 Las proteínas de fusión Fc descritas en el presente documento se pueden producir mediante cualquier método conocido en la técnica. Las proteínas de fusión Fc pueden incluir al menos las regiones CH2 y CH3, y típicamente al menos una parte de una región bisagra. Aunque la región CH1 puede estar presente, típicamente se omite en las proteínas de fusión.

35 La fusión se puede realizar en cualquier sitio dentro de la parte Fc de un dominio constante de inmunoglobulina. Las fusiones se pueden realizar en el extremo C de la parte Fc de un dominio constante, o inmediatamente en el extremo N de la región CH1 de la cadena pesada. Se pueden seleccionar sitios particulares para optimizar las características de la actividad biológica, secreción o unión de la proteína de fusión Fc.

40 En algunos casos, un ácido nucleico que codifica el ECD de ACVR1, ACVR2A y/o ACVR2B se fusiona en el extremo C a un ácido nucleico que codifica el extremo N de una secuencia de dominio constante de inmunoglobulina. En otros casos, las fusiones del extremo N también son posibles. También es posible fusionar un ECD de ACVR1, ACVR2A y/o ACVR2B a ambos extremos N y C de una secuencia de dominio constante de inmunoglobulina.

45 Para la producción de fusiones de inmunoglobulina, véase también la patente estadounidense n.º 5,428,130, la patente estadounidense n.º 5,843,725, la patente estadounidense n.º 6,018,026 y el documento WO2005/070966.

Una proteína de fusión se puede producir, por ejemplo, mediante expresión recombinante de un ácido nucleico que codifica la proteína de fusión. Por ejemplo, la proteína de fusión se puede producir al fusionar un ácido nucleico que
50 codifica un ECD de ACVR1, ACVR2A y/o ACVR2B a un ácido nucleico que codifica un dominio Fc. El ácido nucleico de ECD ACVR1, ACVR2A y/o ACVR2B se puede fusionar a un extremo N de un ácido nucleico que codifica un dominio Fc o se puede fusionar al extremo C de un gen que codifica un dominio Fc. De manera alternativa, el ECD se puede fusionar en cualquier posición en el dominio Fc.

55 Las proteínas de fusión ECD también pueden incluir un enlazador. En el caso de una proteína de fusión Fc, el enlazador se puede ubicar entre el ECD de ACVR1, ACVR2A o ACVR2B y el dominio Fc, opcionalmente reemplazando parte o toda la región bisagra. El enlazador puede tener 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 50 o más aminoácidos que se encuentran relativamente libres de una estructura secundaria. Un enlazador puede ser rico en residuos de glicina y prolina y puede, por ejemplo, contener secuencias de repetición de treonina/serina y glicina
60 (por ejemplo, repeticiones TG4 o SG4).

Se pueden unir dos o más proteínas de fusión ECD-Fc entre sí mediante un enlazador. En tales casos, el enlazador puede estar ubicado entre los ECD o el enlazador puede estar ubicado entre los dominios Fc para unir las proteínas de fusión entre sí. Por ejemplo, se pueden unir 1, 2, 3, 4 o más proteínas de fusión Fc ACVR1, ACVR2A y/o
65 ACVR2B entre sí.

Los ejemplos de las proteínas de fusión ECD ACVR2A y/o ACVR2B se han descrito, tales como aquellas descritas en la patente estadounidense n.º 7,842,633; la patente estadounidense n.º 7,960,343; y la patente estadounidense n.º 7,709,605.

- 5 Un ejemplo de un antagonista ACVR2A se conoce como Sotatercept (también llamado ACE-011). El sotatercept contiene el ECD de ACVR2A fusionado a un dominio Fc de IgG1 humano y se describe en detalle en Carrancio et al., (2014) *British J Haematology*. 165(6):870-872.

- 10 Un ejemplo de un antagonista ACVR2B se conoce como ACE-031. El ACE-031 contiene el ECD de ACVR2B fusionado a un dominio Fc de IgG1 humano y se describe en detalle en Sakoet al., (2010) *J. Biol. Chem.* 285(27):21037-21048.

Se conocen ejemplos de proteínas de fusión ECD de ACVR1, tales como aquellos descritos en Berasi, et al., (2011) *Growth Factors*, 29(4):128-139.

15

C. Proteínas de fusión de ECD híbridas

- 20 En el presente documento también se describen antagonistas de proteínas de fusión de ECD multiespecíficas o híbridas. Las proteínas de fusión de ECD híbridas pueden comprender una combinación de dos o más ECD ACVR1, ACVR2A y/o ACVR2B. Por ejemplo, las proteínas de fusión pueden comprender 1, 2, 3, 4 o más moléculas de un ECD ACVR1, ACVR2A y/o ACVR2B. En un caso, el antagonista comprende un ECD ACVR2A unido a un ECD ACVR2B. En un caso adicional, el antagonista comprende además un dominio Fc.

- 25 En un caso, una proteína de fusión puede comprender una o más moléculas de un ECD ACVR2A y una o más moléculas de ECD ACVR2B. En otro caso, una proteína de fusión puede comprender una o más moléculas de un ECD ACVR1 y una o más moléculas de ECD ACVR2A. En otro caso, una proteína de fusión puede comprender una o más moléculas de un ECD ACVR1 y una o más moléculas de ECD ACVR2B.

- 30 En un caso, una proteína de fusión comprende una o más proteínas de fusión Fc de ECD ACVR2A y una o más proteínas de fusión Fc de ECD ACVR2B ligadas entre sí. En otro caso, una proteína de fusión comprende una o más proteínas de fusión Fc de ECD ACVR1 y una o más proteínas de fusión Fc de ECD ACVR2A ligadas entre sí. En otro caso, una proteína de fusión comprende una o más proteínas de fusión Fc de ECD ACVR1 y una o más proteínas de fusión Fc de ECD ACVR2B ligadas entre sí. En tales casos, las proteínas de fusión se pueden unir juntas a través de sus dominios Fc, por ejemplo, en al menos un enlace de disulfuro o mediante una secuencia enlazadora. De manera alternativa, las partes ECD de las proteínas de fusión se pueden ligar entre sí mediante una secuencia enlazadora.

- 35 En un caso, el antagonista comprende un ECD ACVR2A fusionado a un primer dominio Fc y un ECD ACVR2B fusionado a un segundo dominio Fc. En tales casos, los dominios Fc se pueden ligar entre sí. En otro caso, el antagonista comprende un enlazador entre los ECD ACVR2A y ACVR2B, cada uno fusionado a un dominio Fc.

- 45 Las proteínas de fusión se pueden construir para generar antagonistas ACVR1, ACVR2A y/o ACVR2B en un formato en tándem. En un caso, una proteína de fusión comprende dos o más ECD de ACVR1, ACVR2A y/o ACVR2B en tándem seguido por un dominio Fc. En algunos casos los ECD dispuestos en tándem se separan con una secuencia enlazadora. Dicha proteína de fusión en tándem puede comprender 1, 2, 3, 4 o más ECD ACVR1, ACVR2A y/o ACVR2B.

D. Antagonistas de anticuerpos

- 50 Un antagonista de ACVR1, ACVR2A o ACVR2B incluye anticuerpos contra (en otras palabras se une específicamente a) cualquiera de estos receptores, preferentemente anticuerpos que tienen un epítipo dentro del dominio extracelular. La unión específica de un anticuerpo o proteína de fusión a su antígeno objetivo significa una afinidad de al menos 10⁶, 10⁷, 10⁸, 10⁹ o 10¹⁰ M⁻¹. Se detectó que la magnitud de unión específica era mayor y distinguible de la unión no específica a al menos un sitio no relacionado. En la técnica se conocen métodos para preparar anticuerpos. Véase por ejemplo, Kohler & Milstein (1975) *Nature* 256:495-497; y Harlow & Lane (1988) *Antibodies: a Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Lab., Cold Spring Harbor, NY.

- 60 Se puede utilizar cualquier anticuerpo que inhibe o reduce la actividad de ACVR1, ACVR2A y/o ACVR2B (por ejemplo, un anticuerpo antagonista). Tales anticuerpos ACVR2A y ACVR2B incluyen, por ejemplo, aquellos anticuerpos descritos en la patente estadounidense n.º 8,486,403, la patente estadounidense n.º 8,128,933, WO2009/137075, y Lach-Trifileff, et al. (2014) *Mol. Cell Biol.* 34(4):606-618. Las formas humanizadas, quiméricas y recubiertas de cualquiera de estos anticuerpos están incluidas como anticuerpos que compiten para unirse allí.

- 65 En un caso, el anticuerpo es un anticuerpo anti-ACVR2A. En otro caso, el anticuerpo es un anticuerpo anti-ACVR2B. En otro caso, el anticuerpo puede ser un anticuerpo biespecífico contra ambos ACVR2A y ACVR2B. En otro caso, el anticuerpo es un anticuerpo anti-ACVR1. En otro caso, el anticuerpo puede ser un anticuerpo biespecífico contra

ambos ACVR1 y ACVR2A o contra ambos ACVR1 y ACVR2B.

El término “anticuerpo” cubre los anticuerpos intactos con dos pares de cadenas pesadas y ligeras, fragmentos de anticuerpo que pueden unir el antígeno (por ejemplo, Fab, F(ab')₂, Fv, anticuerpos de cadena simple, diacuerpos, quimeras de anticuerpos, anticuerpos híbridos, anticuerpos biespecíficos, anticuerpos humanizados y similares), y péptidos recombinantes que comprenden los anteriores.

Los “fragmentos de anticuerpo” comprenden una parte de un anticuerpo intacto, preferentemente, la región variable o de unión al antígeno del anticuerpo intacto. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen fragmentos Fab, F(ab')₂, y fragmentos Fv; diacuerpos; anticuerpos lineales (Zapata et al. (1995) Protein Eng. 10:1057-1062); moléculas de anticuerpo de cadena simple; y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo.

El anticuerpo puede ser monoclonal o policlonal. Un “anticuerpo monoclonal” es un anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos con la excepción de posibles mutaciones de origen natural que pueden estar presentes en cantidades mínimas. Los anticuerpos monoclonales son generalmente muy específicos, y se dirigen contra un único sitio antigénico. Adicionalmente, a diferencia de las preparaciones de anticuerpos (policlonales) convencionales, que incluyen típicamente diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epítomos), cada anticuerpo monoclonal se dirige típicamente contra un único determinante en el antígeno. El modificador “monoclonal” indica el carácter del anticuerpo obtenido a partir de una población de anticuerpos sustancialmente homogénea, tal como aquellas producidas por una población clonal de linfocitos B, y que no requiera la producción del anticuerpo a través de ningún método particular.

Para el uso de los anticuerpos monoclonales proporcionados en el presente documento, estos se pueden producir por el método de hibridoma descrito primero por Kohler et al. (1975) Nature 256:495, o una modificación de este. Típicamente, un animal, tal como un ratón se inmuniza con una solución que contiene un antígeno (por ejemplo, un polipéptido ACVR1, ACVR2A y/o ACVR2B, o activina A particularmente el dominio extracelular (en receptores) o una parte de este).

La inmunización se puede realizar al mezclar o emulsionar la solución que contiene el antígeno en solución salina, preferentemente en un adyuvante tal como el adyuvante completo de Freund, y se inyecta la mezcla o emulsión de forma parenteral. Luego de la inmunización del animal, el bazo (y opcionalmente, varios ganglios linfáticos grandes) se quitan y se disocian en células solas. Las células del bazo se pueden analizar al aplicar una suspensión celular a una placa o pocillo recubierto con el antígeno de interés. Los linfocitos B que expresaban la membrana unieron inmunoglobulina específica para el antígeno unido a la placa y no se enjuagaron. Luego, los linfocitos B resultantes, o todas las células de bazo disociadas, se inducen para fusionarse con células de mieloma para formar hibridomas, y se cultivan en un medio selectivo. Las células resultantes se colocan en placas mediante dilución serial y se someten a ensayo para la producción de anticuerpos que se unen específicamente al antígeno de interés (y que no se une a los antígenos no relacionados). Los hibridomas que secretan anticuerpos monoclonales (mAb) seleccionados luego se cultivan ya sea in vitro (por ejemplo, en botellas de cultivo de tejido o en reactores de fibra huecos), o in vivo (como ascitis en ratones).

De manera alternativa, los anticuerpos monoclonales se pueden producir mediante métodos de ADN recombinante (véase, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 4,816,567). Los anticuerpos monoclonales también se pueden aislar de las bibliotecas de anticuerpos y fagos utilizando las técnicas descritas, por ejemplo, en Clackson et al. (1991) Nature 352:624-628; Marks et al. (1991) J. Mol. Biol. 222:581-597; y en la patente estadounidense n.º 5,514,548.

Los “anticuerpos” incluyen anticuerpos monoclonales quiméricos, recubiertos, humanizados y humanos contra cualquiera de ACVR1, ACVR2A, ACVR2B y activina A tal como se define anteriormente.

Dependiendo de la secuencia de aminoácidos del dominio constante de sus cadenas pesadas, se pueden asignar las inmunoglobulinas a diferentes clases. Existen cinco clases principales de inmunoglobulinas: IgA, IgD, IgE, IgG, e IgM, y varios de estos se pueden dividir adicionalmente en subclases (isotipos), por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2. Los dominios constantes de cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de inmunoglobulina se llaman alfa, delta, épsilon, gamma, y mu, respectivamente. Las estructuras de subunidad y configuraciones tridimensionales de diferentes clases de inmunoglobulinas son muy conocidas.

Los anticuerpos monoclonales del presente documento o las proteínas de fusión Fc pueden ser cualquiera de las varias clases de anticuerpos. En una modalidad, el anticuerpo monoclonal es un anticuerpo de la clase de IgG. En otras modalidades, el anticuerpo monoclonal puede ser de la clase IgM, IgE, IgD o IgA. En modalidades específicas, el anticuerpo es un isotipo de IgG, tal como, IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4, particularmente IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 humano.

Uno o varios aminoácidos en los extremos amino o carboxi de la cadena pesada y/o ligera, tal como una lisina del extremo C de la cadena pesada, pueden estar ausentes o pueden derivarse en una proporción o en todas las

moléculas. Las sustituciones pueden hacerse en las regiones constantes para reducir o aumentar la función efectora, tal como la citotoxicidad mediada por el complemento o ADCC (véase por ejemplo, Winter et al., patente estadounidense n.º 5,624,821; Tso et al., patente estadounidense n.º 5,834,597; y Lazar et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:4005, 2006), o para prolongar la semivida en seres humanos (véase por ejemplo, Hinton et al., J. Biol. Chem. 279:6213, 2004). Los ejemplos de sustituciones incluyen una Gln en la posición 250 y/o una Leu en la posición 428 (numeración EU) para aumentar la semivida de un anticuerpo. La sustitución en cualquiera de las posiciones 234, 235, 236 y/o 237 reduce la afinidad de receptores Fcγ, particularmente el receptor FcγRI (véase por ejemplo, US 6,624,821). Opcionalmente, las posiciones 234, 236 y/o 237 en IgG2 humana se sustituyen con alanina y la posición 235 con glutamina. (Véase por ejemplo, US 5,624,821). Las funciones efectoras también pueden estar reducidas por sustitución de EFLG en las posiciones 232-236 con PVA (ver WO14/121087). Opcionalmente, se puede reemplazar la S en la posición 428 por P, particularmente en la IgG4 humana para reducir el intercambio entre las inmunoglobulinas endógenas y exógenas. Otras variaciones pueden agregar o quitar sitios de modificación postraduccion, tal como la glicosilación enlazada a N en los motivos N-X-S/T. Las variaciones también pueden incluir la introducción de botones (es decir, reemplazo de uno o más aminoácidos con aminoácidos más grandes) u ojalos (es decir, reemplazo de uno o más aminoácidos con aminoácidos más pequeños) para promover la formación de heterodímeros entre las diferentes cadenas pesadas para la producción de anticuerpos biespecíficos. Las sustituciones de ejemplo para formar un par de botón y ojal son T336Y y Y407T, respectivamente (Ridgeway et al., Protein Engineering vol. 9 n.º 7 págs. 617-621, 1996). Las variaciones también pueden incluir mutaciones que reducen la interacción de la proteína A (por ejemplo, H435R y Y436F) en el sistema de numeración de EU. Los anticuerpos biespecíficos en los que una cadena pesada tiene tal variación y otra no la tiene, se pueden separar de sus anticuerpos originales por cromatografía por afinidad de la proteína A.

En el presente documento se describen anticuerpos que se unen específicamente a la activina A. Tales anticuerpos se pueden unir específicamente a cualquiera o todas las formas beta A beta A, beta A beta B, beta A beta C y beta A beta E de la activina A. Algunos anticuerpos se unen específicamente a una sola de estas formas (es decir, beta A beta A, beta A beta B, beta A beta C o beta A beta E). La especificidad para las formas beta A beta B, beta A beta C y beta A beta E puede ser conferida por un epítipo dentro de la subunidad beta B, beta C o beta E, respectivamente, o para un epítipo al que ambos componentes del heterodímero contribuyen. La especificidad para beta A beta puede ser conferida por un epítipo contribuido por ambas moléculas dentro del homodímero (por ejemplo, en la interfaz de las subunidades). Algunos anticuerpos se unen específicamente a todas estas formas de la activina A, en cuyo caso el epítipo se encuentra típicamente en la subunidad beta A. Los anticuerpos típicamente tienen epítopos dentro del componente del polipéptido maduro de las proteínas precursoras. Algunos anticuerpos se unen específicamente a cualquiera o a todas las formas de la activina A sin unirse a la inhibina humana, que existe en la forma de heterodímeros alfa (Swiss Prot P05111) beta A o alfa beta B. Algunos anticuerpos se unen específicamente a cualquiera o a todas las formas de la activina A y se unen a cualquiera o a ambas formas de la inhibina humana. Aunque se cree que tales anticuerpos inhiben la transducción de la señal de la activina A a través de uno o más de sus contrarreceptores, ACVR2A y/o ACVR2B y/o BMPR2, no se requiere un entendimiento del mecanismo para utilizar tales anticuerpos en métodos para tratar la FOP.

Se ha informado una cantidad considerable de anticuerpos contra la activina A. Por ejemplo, la US2015/00373339 describe los anticuerpos humanos denominados H4H10423P, H4H10424P, H4H10426P, H4H10429P, H4H10430P, H4H10432P2, H4H10433P2, H4H10436P2, H4H10437P2, H4H10438P2, H4H10440P2, H4H10442P2, H4H10445P2, H4H10446P2, H4H10447P2, H4H10447P2, H4H10448P2, H4H10452P2. La US 8,309,082 describe los anticuerpos humanos A1-A14. Los anticuerpos de ratón contra la activina A se encuentran disponibles de varios proveedores comerciales, tales como MAB3381 de R&D Systems o 9H16 de Novus Biologicals o MM0074-7L18 (ab89307) AbCam.

Los anticuerpos preferidos tienen una afinidad por la activina A (medida a 25 °C como en el Ejemplo 3 de US2015/00373339) de al menos 108 M-1, 109 M-1, 1010 M-1, 1011 M-1, 1012 M-1, o 1013 M-1. Algunos anticuerpos tienen una afinidad dentro de un rango de 109-1012 M-1. Los anticuerpos preferidos inhiben la transducción de la señal de la activina A con un IC50 de menos de 4 nM, y preferentemente de menos de 400 pM o 40 pM. Algunos anticuerpos inhiben la transducción de la señal con un IC50 en un intervalo de 4 nM a 10 pM o 3.5 nM a 35 pM.

La inhibición de la transducción de la señal se puede medir como en el Ejemplo 6 de US20150037339, que se resume de la siguiente manera. Una línea celular de rhabdomyosarcoma A204 humana se transfecta con un plásmido reportero de 2/3-luciferasa Smad para producir la línea celular A204/CAGAx12-Luc. Las células A204/CAGAx12-Luc se mantuvieron en medio McCoy's 5A complementado con suero fetal bovino al 10 %, penicilina/estreptomicina/glutamina y 250 µg/ml de G418. Para el bioensayo, se cosecharon células A204/CAGAx12-Luc en placas de ensayo de 96 pocillos a 10,000 células/pocillo en medio con bajo suero, FBS al 0.5 % y OPTIMEM, y luego se incubaron a 37 °C en CO2 al 5 % durante la noche. La activina A se diluyó en serie a 1:3 de 100 a 0.002 nM y se agregó a células que comenzaron junto con un control que no contenía activina. Los anticuerpos se diluyeron en serie a 1:3 comenzando de 100 a 0.002 nM, 1000 a 0.02 nM, o 300 a 0.005 nM e incluyen las muestras de control que contienen ya sea un anticuerpo de control de isotipo o ningún anticuerpo y se agregaron a células con una concentración constante de activina A 100 pM.

Algunos anticuerpos inhiben la unión de la activina A a ACVR2A y/o ACVR2B y/o BMPR2 en al menos 1 %, 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 99 %, tal como se mide cuando el receptor se expresa a partir de una célula o el dominio extracelular se fusiona con un dominio Fc como una proteína de fusión, y la proteína de fusión se inmoviliza para servir de apoyo (por ejemplo, un chip sensor de Biacore). En algunas mediciones, el anticuerpo y la activina A deberían estar presentes en cantidades equimolares y el receptor o el dominio extracelular en exceso.

Algunos anticuerpos se unen a un epítipo dentro de los residuos 321-343 o 391-421 de la activina A de longitud completa, que corresponde a C11-S33 y C81-E111 de la proteína madura.

Un anticuerpo de ejemplo utilizado en los ejemplos del presente documento se denomina H4H10446P en US20150373339. Su región variable de cadena pesada y la CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena pesada que tiene las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 162, 164, 166 y 168, respectivamente, de US2015/00373339 (SEQ ID NO: 1-4 del presente documento, respectivamente). Su región variable de cadena ligera y las CDR, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 de cadena ligera que tienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 146, 148, 150 y 152, respectivamente, de US2015/00373339 (SEQ ID NO: 5-8 del presente documento, respectivamente). H4H10446P inhibe la señalización mediada por la activina A a través de ACVR2A y/o ACVR2B, pero no inhibe firmemente, si es que lo hace en absoluto, la unión de la activina A a ACR2A o ACVR2B. Otros anticuerpos que compiten con H4H10446P por la unión a la activina A humana o la unión al mismo epítipo en la activina A humana como H4H10446P están incluidos y la compartición de su inhibición de la señalización también está incluida.

Otro anticuerpo de ejemplo se denomina H4H10430P en US20150373339. Su región variable de cadena pesada y las CDR, CDRH1, CDRH2 y CDRH3 de cadena pesada que tiene las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 66, 68, 70 y 72, respectivamente, en US2015/00373339 (SEQ ID NO: 9-12 del presente documento, respectivamente). Su región variable de cadena ligera y las CDR, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 de cadena ligera que tienen las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 74, 76, 78 y 80, respectivamente, en US2015/00373339 (SEQ ID NO: 13-16 del presente documento, respectivamente). Este anticuerpo inhibe la unión de la activina A a ACVR2A y/o ACVR2B e inhibe la transducción de la señal a través de uno o ambos de estos receptores. Otros anticuerpos que compiten con H4H10430P por la unión a la activina A o la unión al mismo epítipo en la activina A como H4H10430P y que comparten su propiedad de inhibir la unión de la activina A a y la transducción de la señal a través de ACVR2A y ACVR2B también están incluidos.

Otro anticuerpo de ejemplo es el anticuerpo denominado A1 en US 8,309,082, que se caracteriza por tener regiones variables de cadena ligera y pesada que tienen las secuencias de las SEQ ID NO: 9 y 10 en US 8,309,082 (SEQ ID NO: 17 y 18 del presente documento, respectivamente). Sus CDR, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 de cadena ligera tienen las secuencias de las SEQ ID NO: 11, 12 y 13, respectivamente, en US 8,309,082 (SEQ ID NO: 19-21 del presente documento, respectivamente), y sus CDR, CDRH1, CDRH2 y CDRH3 de cadena pesada tienen las secuencias de las SEQ ID NO: 62, 63 y 64, respectivamente, en US 8,309,082 (SEQ ID NO: 22-24 del presente documento, respectivamente). Otros anticuerpos que compiten con H4H10430P para la unión a la activina A o la unión al mismo epítipo en la activina A como H4H10430P y que comparten su propiedad de inhibir la unión de la activina A a y transducir una señal a través de ACVR2A y/o ACVR2B también están incluidos.

Se pueden obtener otros anticuerpos mediante mutagénesis del ADNc que codifica las cadenas pesada y ligera de cualquiera de los anticuerpos antes mencionados. Los anticuerpos monoclonales que son al menos 90 %, 95 % o 99 % idénticos a cualquiera de los anticuerpos antes mencionados en la secuencia de aminoácidos de las regiones variables de cadena ligera y/o pesada maduras y que mantienen sus propiedades funcionales, y/o que difieren del anticuerpo respectivo por una cantidad pequeña de sustituciones de aminoácidos funcionalmente intrascendentes (por ejemplo, sustituciones conservativas), eliminaciones o inserciones, también están incluidos en la invención. Los anticuerpos monoclonales que tienen al menos 1, 2, 3, 4, 5 y preferentemente todos los seis CDR que son 90 %, 95 %, 99 % o 100 % idénticos a las CDR correspondientes de cualquiera de los anticuerpos ejemplificados también están incluidos. Las CDR son preferentemente según la definición de Kabat, pero se pueden definir por cualquier definición alternativa convencional, tal como Chothia, compuesto Kabat-Chothia, la definición de contacto o la definición de AbM (véase www.bioinf.org.uk/abs).

E. Antagonistas de moléculas pequeñas

Los antagonistas de ACVR1, ACVR2A y ACVR2B también pueden ser antagonistas de molécula pequeña. Tales antagonistas de molécula pequeña pueden inhibir una actividad de ACVR1, ACVR2A, ACVR2B o activina A. Los antagonistas de molécula pequeña de ACVR1 incluyen, por ejemplo, LDN-212854 descrito en Mohedas et al., (2013) ACS Chem. Biol. 8:1291-1302.

IV. Ensayos de análisis

La actividad de los varios antagonistas ACVR1, ACVR2A y/o ACVR2B y las variantes o fragmentos de estos descritos en el presente documento se puede analizar en una variedad de ensayos. Por ejemplo, los antagonistas ACVR1, ACVR2A y/o ACVR2B y sus variantes se pueden analizar para determinar su capacidad para unirse a

ligandos o unirse a receptores ACVR1, ACVR2A o ACVR2B, para determinar su capacidad de inhibir la unión de un ligando a un polipéptido ACVR1 y/o ACVR2, y/o para determinar su capacidad de inhibir la actividad de los receptores ACVR1 o ACVR2.

5 La actividad de un antagonista ACVR1 o un ACVR2 o sus variantes o fragmentos se pueden someter a prueba in vitro o en ensayos celulares. Los ensayos de unión in vitro y los ensayos para medir la inhibición de la actividad del receptor son bien conocidos. Varios ensayos para medir la actividad de un antagonista ACVR1, ACVR2A o ACVR2B se describen en detalle, por ejemplo, en la patente estadounidense n.º 7,842,663.

10 La capacidad del antagonista de modular la formación del complejo entre el polipéptido ACVR1 y ACVR2 y su proteína de unión se puede detectar mediante una variedad de técnicas. Por ejemplo, la modulación de la formación de complejos se puede cuantificar utilizando, por ejemplo, proteínas etiquetadas de forma detectable tal como ratioetiquetadas (por ejemplo, 32P, 35S, 14C o 3H), etiquetadas de forma fluorescente (por ejemplo, FITC), o polipéptidos ACVR1 o ACVR2 etiquetados de forma enzimática o su proteína de unión, mediante inmunoensayo, o
15 mediante detección cromatográfico.

Se puede monitorear la capacidad del antagonista ACVR1 o ACVR2 para inhibir la señalización mediada por el receptor ACVR1 o ACVR2. Por ejemplo, los efectos de la señalización posterior tal como la activación de Smad se puede monitorear utilizando un gen reportero que responde al Smad.

20 Los antagonistas ACVR1 y/o ACVR2 y sus variantes o fragmentos también se pueden analizar para determinar la actividad en un ensayo in vivo. Por ejemplo, los antagonistas ACVR1 o ACVR2 o sus variantes se pueden analizar para determinar su capacidad para tratar la FOP en un modelo de ratón de FOP (por ejemplo, capacidad de disminuir la formación de hueso ectópico). Los ratones knock-in (con mutaciones dirigidas en la secuencia de un gen determinado) transgénicos se han desarrollado para llevar un alelo condicional que codifica a Acvr1[R206H]. Estos
25 ratones Acvr1[R206H]COIN/+ se describen en US 14/207,320 y PCT/US2014/026582. Este alelo expresa la variante R206H solo luego de la activación mediante Cre recombinasa. Esto permite la activación Cre dependiente de la expresión de Acvr1[R206H] en tejidos específicos y en un momento específico al utilizar diferentes tipos de líneas impulsoras de Cre. De esta manera los ratones resultantes también eluden la mortalidad perinatal que se ha observado con un alelo knock-in no regulado de Acvr1[R206H]. La activación de la expresión de Acvr1[R206H] en
30 ratones jóvenes o adultos tiene como resultado la formación de hueso ectópico. Por ejemplo, los ratones con Acvr1[R206H]COIN/+; Gt(ROSA26)SorCreERT2/+ (donde CreERT2 es una recombinasa regulable con tamoxifeno (ver Feil et al. (1997) Biochem Biophys Res Commun. 237(3):752-7) que se ha introducido en el locus Gt(ROSA26)Sor, y por lo tanto se expresa de forma constitutiva y global) desarrollan FOP luego de la exposición al tamoxifeno. Brevemente, en ausencia del tamoxifeno, el CreERT2 está inactivo. El tamoxifeno activa la expresión de Cre que luego actúa sobre el Acvr1[R206H]COIN/+ para convertirlo en Acvr1[R206H]/+, lo que, de este modo, convierte el genotipo de los ratones para reflejar el genotipo de los pacientes con FOP que tienen ACVR1[R206H]. El alelo Acvr1[R206H] expresa Acvr1[R206H], y eso es adecuado para gestionar el desarrollo de FOP en los ratones con Acvr1[R206H]/+; Gt(ROSA26)SorCreERT2/+. Esto evade la mortalidad embrionaria experimentada con los
40 ratones knock-in Acvr1[R206H] convencionales, Acvr1tm1Emsh (<http://www.informatics.jax.org/allele/key/828153>). Luego del tratamiento con tamoxifeno, se pueden administrar los antagonistas ACVR1, ACVR2A y/o ACVR2B o un control a los ratones con Acvr1[R206H]COIN/+; Gt(ROSA26)SorCreERT2/+ y los animales se monitorean para determinar si hay formación de hueso ectópico. Ver Chakkalakal SA, et al. (20120, Un ratón knock-in Acvr1 R206H tiene fibrodysplasia osificante progresiva. J Bone Miner Res. 27(8):1746-56. Este ensayo se describe con más detalle
45 en los Ejemplos a continuación.

V. Fibrodysplasia osificante progresiva (FOP)

La FOP es un trastorno hereditario poco común en el que la osificación heterotópica forma hueso histológica y biomecánicamente "normal" en sitios extraesqueléticos, tales como el tejido conectivo. Este trastorno, aunque es
50 episódico, es acumulativo, y tiene como resultado incapacidad permanente de gravedad en aumento.

La prevalencia de la FOP en todo el mundo es de aproximadamente 1/2,000,000. No hay una predilección étnica, racial, de género o geográfica para la FOP. No solo es una enfermedad extremadamente incapacitante sino también
55 es una afección que acorta considerablemente la esperanza de vida.

Las características de la FOP incluyen, por ejemplo, malformaciones congénitas del dedo gordo del pie, brotes caracterizados por inflamación dolorosa del tejido blando en la cabeza, cuello y/o espalda con inflamación y formación progresiva de hueso heterotópico mediante osificación endocondral.

60 La FOP se puede sospechar clínicamente por la presencia de malformaciones del dedo gordo. Las pruebas diagnósticas, tales como los rayos x o gammagrafía ósea pueden sustanciar las anomalías del dedo gordo del pie y confirmar la presencia de osificación heterotópica. Un diagnóstico de FOP también se puede confirmar mediante estudios genéticos, por ejemplo, al detectar la mutación 617 G-a-A (R206H) en el gen ACVR1.

65 Es común que se diagnostique de forma equivocada la FOP como otros varios trastornos, que incluyen otras

afecciones de osificación heterotópica. La FOP se debería distinguir mediante un diagnóstico diferencial de trastornos que incluyen, por ejemplo, malformaciones congénitas aisladas, linfedema, sarcoma de tejido blando, tumores desmoides, fibromatosis juvenil agresiva, juanete juvenil, braquidactilia aislada, heteroplasia ósea progresiva y osificación heterotópica. La presencia de malformaciones congénitas del dedo gordo del pie y los brotes de tejido blando dolorosos se pueden utilizar para diferenciar la FOP de otros trastornos.

Los pacientes con FOP tienen malformaciones congénitas del dedo gordo del pie pero de otro modo parecen normales al nacer. Los brotes asociados con el inicio de la FOP comienzan durante la primera década de la vida. Los brotes pueden ser desencadenados por, por ejemplo, daño al tejido blando, caídas, fatiga, infecciones virales o inyecciones intramusculares. El resultado de los brotes es una transformación del tejido blando, tal como los ligamentos, músculo esquelético o tendones en hueso heterotópico.

No había tratamiento terapéutico previo para la FOP. La FOP se manejó mediante medidas de prevención, tales como seguridad mejorada y estrategias para minimizar los daños, evitando las inyecciones intramusculares y teniendo cuidado mientras se recibe atención dental. Los tratamientos de corticosteroides de dosis altas que comiencen dentro de las primeras 24 horas de un brote pueden ayudar a reducir la inflamación y el edema asociado con los brotes. No se recomiendan las estrategias quirúrgicas para eliminar el hueso heterotópico ya que es contraproducente y causa nuevas osificaciones heterotópicas inducidas por el trauma.

La FOP es causada por mutaciones en ACVR1 (también conocido como ALK2) que parece desestabilizar la interacción del dominio GS con una molécula inhibidora, FKBP12 (Groppe, J., et al. 2011, Cells Tissues Organs, 194:291-295). El FKBP12 es modulador negativo de ACVR1 y funciona para estabilizar el receptor en una conformación inactiva (Huse, M., et al. 1999, Cell, 96:425-436). Ver Kaplan, F.S., et al. 2012, Disease Models & Mechanisms, 5:756-762).

Un ejemplo de una mutación en ACVR1 que está asociado con la FOP es una mutación de la arginina 206 en histidina (R206H) en el dominio intracelular.

Un sujeto en riesgo de desarrollar FOP incluye cualquier sujeto con la mutación R206H de ACVR1 u otra mutación asociada con FOP, un sujeto que nació con malformaciones en el dedo gordo del pie, o un sujeto que tiene un historial familiar de FOP pero aún no ha desarrollado síntomas de FOP suficientes para un diagnóstico de FOP que sea elaborado mediante criterios reconocidos por la técnica.

VI. Métodos de tratamiento

En el presente documento se proporciona un anticuerpo para su uso en un método para tratar la FOP, que comprende administrar, a un sujeto que tiene FOP, un régimen eficaz del anticuerpo contra la activina A.

“Tratar” a un sujeto con FOP, significa la administración de un régimen eficaz del anticuerpo contra la activina A, a un sujeto que tiene FOP, donde el fin es curar, sanar, aliviar, calmar, alterar, remediar, mejorar, corregir o afectar la afección de uno o más síntomas de la FOP.

Un “sujeto” es cualquier animal (es decir, mamíferos) tales como, humanos, primates, roedores, tales como ratones y ratas, animales agrarios y domesticados tales como perros, gatos, ganado, caballos, cerdos, ovejas y similares, en los que uno desea tratar la FOP. En cualquiera de los métodos del presente documento, el sujeto puede ser un mamífero y preferentemente un ser humano.

Un régimen eficaz de un anticuerpo contra la activina A significa una combinación de dosis, frecuencia y vía de administración de un antagonista que trae una respuesta positiva en al menos un signo o síntoma de la FOP. Una respuesta positiva puede incluir reducir, eliminar, mejorar, inhibir el empeoramiento, o demorar al menos un signo o síntoma de la FOP. Los signos o síntomas de la FOP que pueden ser motivo de una respuesta positiva incluyen, por ejemplo, la formación de hueso ectópico o heterotópico, brotes de FOP o dolor e inflamación asociada con brotes. El régimen se puede evaluar en un solo paciente al comparar los signos y síntomas antes y luego del tratamiento. Un régimen se considera eficaz si al menos un signo o síntoma da una respuesta positiva luego del tratamiento. Un régimen se puede evaluar de forma alternativa o adicional al comparar los signos y síntomas de la población de sujetos tratados con un antagonista o antagonistas con una población de control de sujetos que no reciben el tratamiento. Los sujetos para tal comparación pueden ser un modelo animal, o sujetos humanos en un ensayo clínico (por ejemplo, fase I, fase II, Ila, IIb, o III). Se considera que un régimen es eficaz si hay una respuesta positiva estadísticamente significativa entre las poblaciones en al menos un signo o síntoma.

En algunos métodos para tratar la FOP, el sujeto no tiene y no está en riesgo de otras afecciones tratables con antagonistas contra ACVR1, ACVR2A, y/o ACVR2B, o un anticuerpo contra la activina A. Por ejemplo, el sujeto puede estar libre de cualquiera o de todas las siguientes: diabetes tipo II, distrofia muscular, esclerosis lateral amiotrófica (ALS) y osteoporosis.

A. Métodos de administración

Generalmente un anticuerpo contra la activina A se administra de forma directa pero también se puede administrar como ácidos nucleicos que codifican tal anticuerpo. Tales anticuerpos, para su uso como se proporciona en el presente documento, se pueden administrar mediante varios métodos, tal como transfección celular, terapia génica, administración directa con un vehículo de administración o portador farmacéuticamente aceptable, administración indirecta al proporcionar células recombinantes que comprenden un ácido nucleico que codifica un anticuerpo contra la activina A.

Para su uso como se proporciona en el presente documento, se pueden utilizar varios sistemas de administración para administrar el anticuerpo contra la activina A, por ejemplo, encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas, células recombinantes capaces de expresar el compuesto, endocitosis mediada por receptores (véase, por ejemplo, Wu y Wu, 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432), construcción de un ácido nucleico como parte de un retroviral u otro vector, etc.

Los métodos de administración pueden ser por vía enteral o parenteral e incluyen la vía intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, pulmonar, intranasal, intraocular, epidural y oral. Los compuestos se pueden administrar por cualquier vía conveniente, por ejemplo, mediante infusión o inyección en bolo, mediante absorción a través de revestimientos epiteliales o mucocutáneos (por ejemplo, mucosa oral, rectal e intestinal, etc.) y se pueden administrar junto con otros agentes biológicamente activos. La administración puede ser sistémica o local. Además, puede ser deseable introducir las composiciones farmacéuticas en el sistema nervioso central mediante cualquier vía adecuada, lo que incluye inyecciones intraventriculares e intratecales; las inyecciones intraventriculares pueden facilitarse mediante un catéter intraventricular, por ejemplo, unido a un depósito, tal como un depósito de Ommaya. La administración pulmonar también se puede emplear, por ejemplo, al utilizar un inhalador o nebulizador, y la formulación con un agente de aerosolización.

Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar de forma local al área que necesita tratamiento; esto se puede lograr, por ejemplo, mediante infusión local durante la cirugía, aplicación tópica, por ejemplo, mediante inyección, por medio de un catéter, o por medio de un implante, donde dicho implante es de un material poroso, no poroso, o gelatinoso, que incluye membranas, tales como membranas sialásticas, fibras o sustitutos de piel comerciales.

En otra modalidad, el agente activo se puede administrar en una vesícula, en particular un liposoma (véase Langer (1990) Science 249:1527-1533). En otra modalidad, el agente activo se puede administrar en un sistema de liberación controlada. En una modalidad, se puede utilizar una bomba (véase Langer (1990) supra). En otra modalidad, se pueden utilizar materiales poliméricos (véase Howard et al. (1989) J. Neurosurg. 71:105). En otra modalidad donde el agente activo es un ácido nucleico que codifica una proteína, el ácido nucleico se puede administrar in vivo para promover la expresión de su proteína codificada, al construirlo como parte de un vector de expresión de ácido nucleico y administrarlo para que se vuelva intracelular, por ejemplo, mediante el uso de un vector retroviral (véase, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 4,980,286), o mediante inyección directa, o mediante el uso de bombardeo de micropartículas, o al recubrir con lípidos o receptores de superficie celular o al transfectar agentes, o al administrarlo junto con un péptido similar a la homeobox que es conocido por entrar al núcleo (véase, por ejemplo, Joliot et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:1864-1868), etc. De manera alternativa, un ácido nucleico se puede introducir de forma intracelular e incorporar dentro de ADN de célula hospedadora para la expresión, mediante recombinación homóloga.

B. Terapias de combinación

Para su uso como se proporciona en el presente documento, el anticuerpo contra la Activina A se puede administrar combinado con otros tratamientos, incluyendo los antagonistas ACVR1, ACVR2A y ACVR2B descritos en el presente documento. Los antagonistas de ACVR1, ACVR2A y/o ACVR2B, o un anticuerpo contra la Activina A, ya sea solos o en combinación, se pueden administrar junto con uno o más compuestos terapéuticos adicionales. La terapia de combinación puede abarcar la administración simultánea o alternante. Además, la combinación puede abarcar la administración aguda o crónica.

C. Composiciones farmacéuticas

La presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas para su uso en un método de tratamiento de la FOP, donde la composición farmacéutica comprende un anticuerpo contra la Activina A y un portador farmacéuticamente aceptable. El término "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o enumerado en la Farmacopea de Estados Unidos u otra farmacopea reconocida en general para usar en animales, y más particularmente en seres humanos. El término "portador" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el cual se administra el agente terapéutico. Dichos portadores farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, tales como agua y aceites, que incluyen los de origen de petróleo, animal, vegetal o sintético, tales como aceite de maní, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. Los excipientes farmacéuticos aceptables incluyen almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, tiza, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro de sodio, leche

descremada deshidratada, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol y similares. La composición, si se desea, también puede contener cantidades menores de agentes humectantes o emulsionantes, o agentes amortiguadores del pH.

Estas composiciones pueden tomar la forma de soluciones, suspensiones, emulsiones, comprimidos, píldoras, cápsulas, polvos, formulaciones de liberación sostenida y similares. La composición se puede formular como un supositorio, con aglutinantes y portadores tradicionales tales como los triglicéridos. La formulación oral puede incluir portadores estándar tales como grados farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina de sodio, celulosa, carbonato de magnesio, etc. Los ejemplos de portadores farmacéuticos adecuados se describen en "Remington's Pharmaceutical Sciences" por E. W. Martin.

En una modalidad, la composición se formula de acuerdo con procedimientos de rutina como una composición farmacéutica adaptada para la administración intravenosa a seres humanos. Cuando es necesario, la composición también puede incluir un agente solubilizante y un anestésico local tal como lignocaína para aliviar el dolor en el sitio de inyección. Cuando la composición se debe administrar por infusión, se puede dosificar con un frasco de infusión que contiene agua de grado farmacéutico estéril o solución salina. Cuando la composición se administra por inyección, se puede proporcionar una ampolla de agua estéril para inyección o solución salina de modo que los ingredientes se puedan mezclar antes de la administración.

Para su uso como se proporciona en el presente documento, el anticuerpo contra la activina A se puede formular como formas neutrales o de sal. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las que están formadas con grupos amino libres tales como los que derivan de ácidos clorhídrico, fosfórico, acético, oxálico, tartárico, y similares, y los formados con grupos carboxilo libres tales como los que derivan de sodio, potasio, amonio, calcio, hidróxidos férricos, isopropilamina, trietilamina, 2-etilamino etanol, histidina, procaína, y similares.

Se puede determinar la cantidad y frecuencia del anticuerpo contra la activina A, administrada por una vía especificada eficaz en el tratamiento de la FOP (por ejemplo, régimen eficaz) mediante técnicas clínicas estándar basadas en la presente descripción. Además, se pueden emplear ensayos in vitro para ayudar a identificar intervalos de dosificación óptimos. La dosis exacta a emplear en la formulación también depende de la vía de administración y de la gravedad de la afección, y se deberá decidir de acuerdo con el juicio del practicante y las circunstancias de cada sujeto. Sin embargo, los intervalos de dosificación adecuados para la administración parenteral, preferiblemente intravenosa o subcutánea, son generalmente alrededor de 20-50,000 microgramos de compuesto activo por kilogramo de peso corporal. Para anticuerpos contra la activina A los intervalos de dosificación adecuados incluyen 1-25 mg/kg, 2-20 mg/kg, 5-15 mg/kg, 8-12 mg/kg y 10 mg/kg.

Los intervalos de dosificación adecuados para la administración intranasal son generalmente de alrededor de 0.01 pg/kg de peso corporal a 1 mg/kg por peso corporal. Las dosis eficaces se pueden extrapolar de curvas de respuesta - dosis derivadas de sistemas de prueba in vitro o en modelos animales.

Las frecuencias de administración pueden variar también según la severidad de la condición y la semivida del agente entre otros factores, pero generalmente son entre diarias y trimestrales, e incluyen por ejemplo dos veces a la semana, semanales, quincenales, mensuales, bimensuales. Los agentes también se pueden administrar en intervalos irregulares según la respuesta de la condición del paciente o la reducción del nivel de suero del agente bajo un umbral entre otros factores.

De asociarse diferentes versiones de una secuencia con un número de registro en distintos momentos, se refiere a la versión asociada con el número de registro en la fecha efectiva de presentación de la presente solicitud. La fecha efectiva de presentación significa la primera de la fecha de presentación real o la fecha de presentación de una solicitud de prioridad, con referencia al número de registro, si corresponde. Asimismo, si se publican en diferentes momentos versiones distintas de una solicitud, sitio web o similares, se refiere a la versión publicada de manera más reciente en la fecha efectiva de presentación de la solicitud, a menos que se exprese lo contrario. Cualquier característica, etapa, elemento, modalidad o aspecto de la invención puede utilizarse en combinación con cualquier otra, a menos que se indique específicamente lo contrario.

Ejemplos

Ejemplo de referencia 1: Uso de ACVR2A-Fc/ACVR2B-Fc para suprimir la formación de hueso ectópico en un modelo de ratón de FOP.

Acvr1[R206H]COIN/+; Gt(ROSA26)SorCreERT2/+ se protegieron de la formación de hueso ectópico luego del tratamiento con tamoxifeno mediante el tratamiento con ACVR2A-Fc/ACVR2B-Fc.

Un modelo de ratón, conocido como Acvr1[R206H]COIN/+; Gt(ROSA26)SorCreERT2/+ se les dio tamoxifeno a una dosis de 1 mg/ratón i.p. durante ocho días. Once ratones fueron tratados con 10 mg/kg de ACVR2A-Fc y 10 mg/kg de ACVR2B-Fc dos veces a la semana y diez ratones fueron tratados con 10 mg/kg de mFc de control dos veces a la semana durante 6 semanas. Los ratones fueron monitoreados utilizando μ CT in vivo en el punto de referencia, 2, 4 y 6 semanas luego del inicio de la administración de tamoxifeno. Luego de 6 semanas, 9 de 10 ratones en el grupo mFc desarrollaron hueso ectópico en al menos un lugar; por el contrario solo 2 de 11 ratones en el grupo ACVR2A-

Fc y ACVR2B-Fc mostraron desarrollo de hueso ectópico y este hueso fue pequeño en tamaño. Estos resultados se muestran en la Figura 1.

Ejemplo de referencia 2: Uso de un inhibidor de molécula pequeña de ACVR1 cinasa para suprimir la formación de hueso ectópico en un modelo de ratón de FOP.

Acvr1[R206H]COIN/+; Gt(ROSA26)SorCreERT2/+ se protegieron de la formación de hueso ectópico luego del tratamiento con tamoxifeno mediante el tratamiento con el inhibidor cinasa ACVR1 LDN-212854.

16 ratones Acvr1[R206H]COIN/+; Gt(ROSA26)SorCreERT2/+ fueron tratados con tamoxifeno a una dosis de 1 mg/ratón i.p. durante ocho días. Ocho ratones fueron tratados con 3 mg/kg del inhibidor de ACVR1 cinasa LDN-212854 (Mohedas et al. (2013) ACS Chem. Biol. 8:1291-1302) dos veces al día durante 4 semanas. Ocho ratones fueron tratados con control de vehículo dos veces al día durante 4 semanas. Los ratones fueron monitoreados utilizando μ CT in vivo en el punto de referencia, 2 y 4 semanas luego del inicio de la administración de tamoxifeno. Luego de 4 semanas, 8 de 8 ratones en el grupo de control con vehículo mostraron formación de hueso ectópico, en 6 de estos ratones las lesiones de hueso ectópico fueron de gran tamaño. Por el contrario, en el grupo tratado con LDN-212854, 3 de 8 ratones mostraron formación de hueso ectópico, el tamaño de las lesiones de hueso ectópico formados en los 3 ratones fue pequeño en comparación con el grupo de control con vehículo. Estos resultados se muestran en la Figura 2.

Ejemplo 1: Uso de un anticuerpo contra la activina A para suprimir la formación de hueso ectópico en un modelo de ratón de FOP.

23 ratones Acvr1[R206H]COIN/+; Gt(ROSA26)SorSorCreERT2/+ fueron tratados con tamoxifeno a una dosis de 1 mg/ratón i.p. durante ocho días. Siete ratones fueron tratados con 25 mg/kg de anticuerpo de control con isotipo dos veces a la semana, ocho ratones fueron tratados con 25 mg/kg de anticuerpo de activina A (H4H10446P) dos veces a la semana, y ocho ratones fueron tratados con 10 mg/kg de ACVR2a-Fc dos veces a la semana durante 3 semanas. Los tratamientos con estos agentes comenzaron al mismo tiempo del inicio del tratamiento de tamoxifeno. Los ratones fueron monitoreados utilizando microtomografía computarizada (μ CT) in vivo en el punto de referencia, 2 y 3 semanas luego del inicio de la administración de tamoxifeno. La Figura 3 muestra que luego de 3 semanas, todos los ratones en el grupo de anticuerpo de control con isotipo desarrollaron hueso ectópico en al menos un lugar; por el contrario ninguno de los ratones en el grupo del anticuerpo de activina A mostró desarrollo de hueso ectópico en ese momento. Dos ratones en el grupo de ACVR2a-Fc desarrollaron hueso ectópico a las 3 semanas.

Ejemplo 2:

Acvr1[R206H]COIN/+; Gt(ROSA26)SorCreERT2/+ se protegieron de la formación de hueso ectópico luego del tratamiento con tamoxifeno mediante el tratamiento con un anticuerpo de activina A y un anticuerpo de bloqueo Acvr2a y b.

26 ratones Acvr1[R206H]COIN/+; Gt(ROSA26)SorSorCreERT2/+ fueron tratados con tamoxifeno a una dosis de 40 mg/ratón i.p. durante ocho días. Ocho ratones fueron tratados con 10 mg/kg de anticuerpo de control con isotipo (REGN1945), nueve ratones fueron tratados con 10 mg/kg de anticuerpo de activina A (H4H10446P) (REGN2477), y nueve ratones fueron tratados con 10 mg/kg de anticuerpo Acvr2a/Acvr2b dos veces a la semana durante seis semanas. Los ratones fueron monitoreados utilizando μ CT in vivo en el punto de referencia, 2, 3 y 4 semanas luego del inicio de la administración de tamoxifeno. La Figura 4 muestra que luego de 4 semanas, 7 de los 8 ratones en el grupo de anticuerpo de control con isotipo desarrollaron hueso ectópico en al menos un lugar; por el contrario solamente uno de los ratones en el grupo del anticuerpo de activina A y tres de los ratones en el grupo tratado con anticuerpo Acvr2a/Acvr2b mostraron desarrollo de hueso ectópico a las 4 semanas. El tamaño del hueso ectópico que se formó en el grupo tratado con anticuerpo era inferior al que se formó en el grupo tratado con isotipo.

Ejemplo 3:

Acvr1[R206H]COIN/+; Gt(ROSA26)SorCreERT2/+ se protegieron de la formación de hueso ectópico luego del tratamiento con tamoxifeno mediante el tratamiento con un anticuerpo de activina A y un anticuerpo de bloqueo.

35 ratones Acvr1[R206H]COIN/+; Gt(ROSA26)SorSorCreERT2/+ fueron tratados con tamoxifeno a una dosis de 40 mg/ratón i.p. durante ocho días. Ocho ratones fueron tratados con 25 mg/kg de anticuerpo de control con isotipo (REGN1945), nueve ratones fueron tratados con 25 mg/kg de anticuerpo de activina A (H4H10446P) (REGN2477), nueve ratones fueron tratados con 10 mg/kg de anticuerpo de activina A (REGN2477) y nueve ratones fueron tratados con 1 mg/kg de anticuerpo activina A (REGN2477) durante seis semanas. Los ratones fueron monitoreados utilizando microtomografía computarizada (μ CT) in vivo en el punto de referencia, 2, 3, 4 y 6.5 semanas luego del inicio de la administración de tamoxifeno. El volumen óseo ectópico en cada ratón se calculó mediante imágenes μ CT. La Figura 5 muestra que luego de 4 semanas, todos ratones en el grupo de anticuerpo de control con isotipo desarrollaron hueso ectópico en al menos un lugar; por el contrario solamente 2 de los ratones en el grupo del anticuerpo de activina A de los grupos tratados con activina. A las 6.5 semanas, el volumen promedio total del

tamaño del hueso ectópico que se formó en el grupo tratado con anticuerpo era de 65.4 mm³ en comparación con 1.87 mm³ con 25 mg/kg, 0.3 mm³ con 10 mg/kg y 7.3 mm³ con 1 mg/kg en los grupos tratados con anticuerpo de activina.

5 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Hatsell, Sarah J. Economises, Aris N.

<120> Tratamiento de la Fibrodisplasia Osificante Progresiva

<130> 057766/ACTUALIZADA

<160> 24

<170> Patentin versión 3.5

<210> 1

<211> 126

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintetizada

<400> 1

```

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

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

Phe Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35     40     45

Gly Tyr Ile Leu Tyr Thr Gly Gly Thr Ser Phe Asn Pro Ser Leu Lys
50     55     60

Ser Arg Val Ser Met Ser Val Gly Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65     70     75     80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85     90     95

Arg Ala Arg Ser Gly Ile Thr Phe Thr Gly Ile Ile Val Pro Gly Ser
100    105    110

Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115    120    125

```

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Sintetizada

<400> 2

Gly Gly Ser Phe Ser Ser His Phe
1 5

<210> 3
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintetizada

<400> 3

Ile Leu Tyr Thr Gly Gly Thr
1 5

<210> 4
<211> 20
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintetizada

<400> 4

Ala Arg Ala Arg Ser Gly Ile Thr Phe Thr Gly Ile Ile Val Pro Gly
1 5 10 15

Ser Phe Asp Ile
20

<210> 5
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintetizada

<400> 5

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

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

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

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

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

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

ES 2 739 605 T3

5	<210> 6 <211> 7 <212> PRT <213> Secuencia artificial	
10	<220> <223> Sintetizada	
	<400> 6	Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr 1 5
15	<210> 7 <211> 3 <212> PRT <213> Secuencia artificial	
20	<220> <223> Sintetizada	
	<400> 7	Gly Ala Ser 1
25	<210> 8 <211> 9 <212> PRT <213> Secuencia artificial	
30	<220> <223> Sintetizada	
	<400> 8	
35		Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr 1 5
40	<210> 9 <211> 125 <212> PRT <213> Secuencia artificial	
45	<220> <223> Sintetizada	
	<400> 9	

ES 2 739 605 T3

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

<210> 10
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintetizada

<400>10

Gly Phe Ala Phe Asp Asp Phe Ala
 1 5

<210> 11
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintetizada

<400> 11

Ile Val Trp Asn Ser Gly Asp Ile
 1 5

<210> 12
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Sintetizada

<400>12

Val Lys Asp Met Val Arg Gly Leu Met Gly Phe Asn Tyr Tyr Gly Met
1 5 10 15

Asp Val

<210> 13
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintetizada

<400> 13

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Thr Tyr
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Ile
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210>14
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintetizada

<400> 14

Gln Thr Ile Ser Thr Tyr
1 5

<210> 15
<211> 3
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintetizada

<400> 15

Asp Ala Ser
1

<210> 16
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintetizada
<400> 16

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Ile Thr
1 5

<210> 17
<211> 106
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 17

Ser Tyr Glu Val Thr Gln Ala Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30

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

Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Ala Val
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 18
<211> 122
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 18

ES 2 739 605 T3

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

<210> 19
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 19

Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala Cys
 1 5 10

<210> 20
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 20

Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser
 1 5

<210> 21
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 21

Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Ala Val
 1 5

<210> 22
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<400> 22

ES 2 739 605 T3

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly Leu Ser
1 5 10

<210> 23
<211> 17
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 23

Trp Ile Ile Pro Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Ser Ala Gln Lys Leu Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 24
<211> 13
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*
<400> 24

Asp Arg Asp Tyr Gly Val Asn Tyr Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un anticuerpo contra activina 2 para su uso en un método de tratamiento de fibrodisplasia osificante progresiva (FOP), comprendiendo el método administrar, a un sujeto que tiene FOP, un régimen eficaz del anticuerpo contra la Activina 2.
2. El anticuerpo contra activina 2 para su uso según la reivindicación 1, donde el anticuerpo compite por la unión con un anticuerpo que comprende las regiones variables de cadena pesada y ligera de las SEQ ID NO: 1 y 5.
- 10 3. El anticuerpo contra activina 2 para su uso según la reivindicación 1, donde el anticuerpo compite por la unión con un anticuerpo que comprende las regiones variables de cadena pesada y ligera de las SEQ ID NO: 9 y 13.
4. El anticuerpo contra activina 2 para su uso según la reivindicación 1, donde el anticuerpo compite por la unión con un anticuerpo que comprende las regiones variables de cadena pesada y ligera de las SEQ ID NO: 18 y 17.
- 15 5. El anticuerpo contra activina 2 para su uso según la reivindicación 1, donde el anticuerpo comprende las regiones variables de cadena pesada y ligera de las SEQ ID NO: 1 y 5.
- 20 6. El anticuerpo contra activina 2 para su uso según la reivindicación 1, donde el anticuerpo comprende las regiones variables de cadena pesada y ligera de las SEQ ID NO: 9 y 13.
7. El anticuerpo contra activina 2 para su uso según la reivindicación 1, donde el anticuerpo comprende las regiones variables de cadena pesada y ligera de las SEQ ID NO: 18 y 17.
- 25 8. El anticuerpo contra activina 2 para su uso según la reivindicación 1, donde el anticuerpo es un anticuerpo quimérico, recubierto, humanizado o humano.
9. El anticuerpo contra activina 2 para su uso según la reivindicación 1, donde el anticuerpo es un anticuerpo intacto.
- 30 10. El anticuerpo contra activina 2 para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde el anticuerpo es un anticuerpo IgG1 kappa humano.

Figura 1

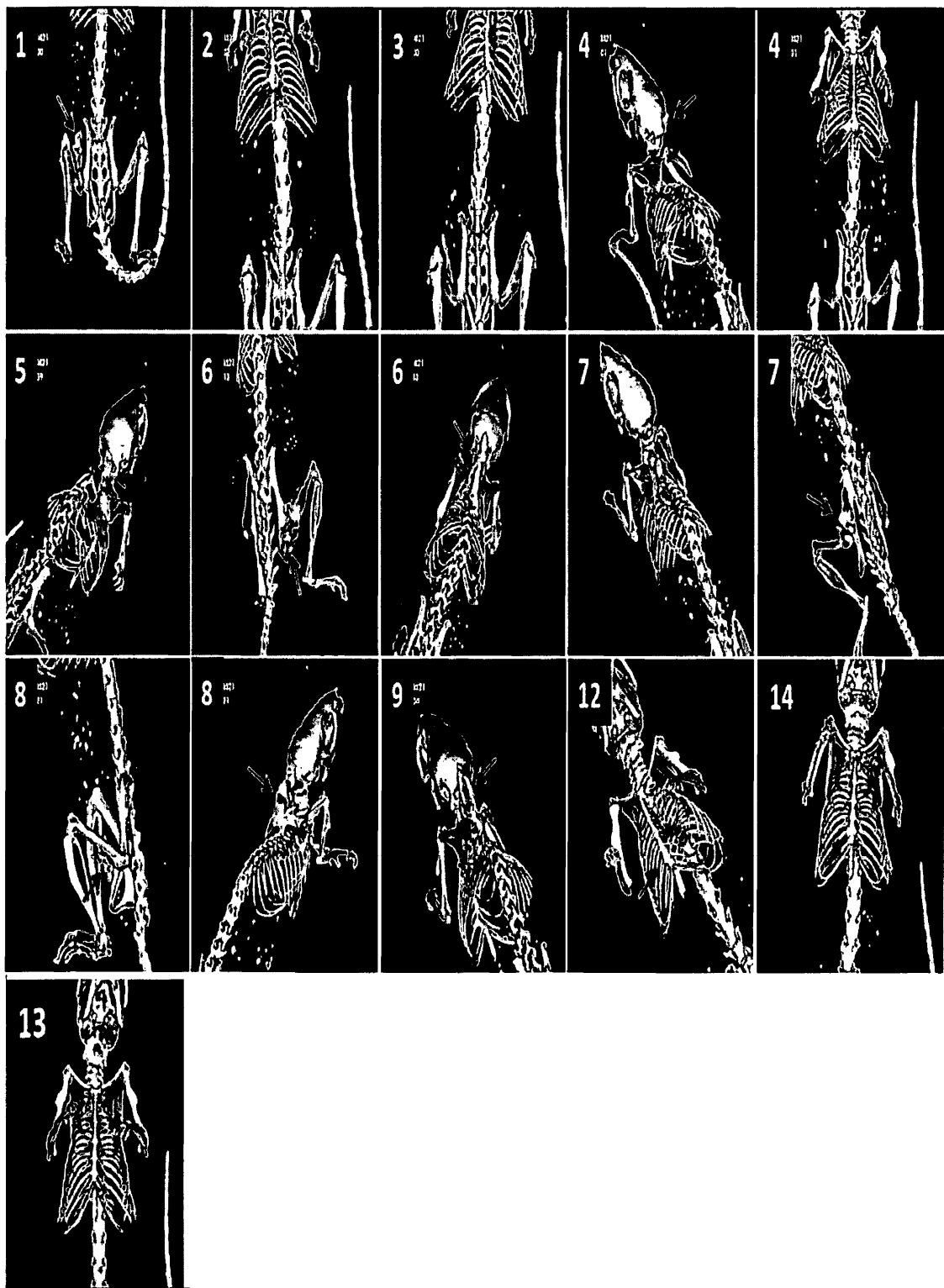
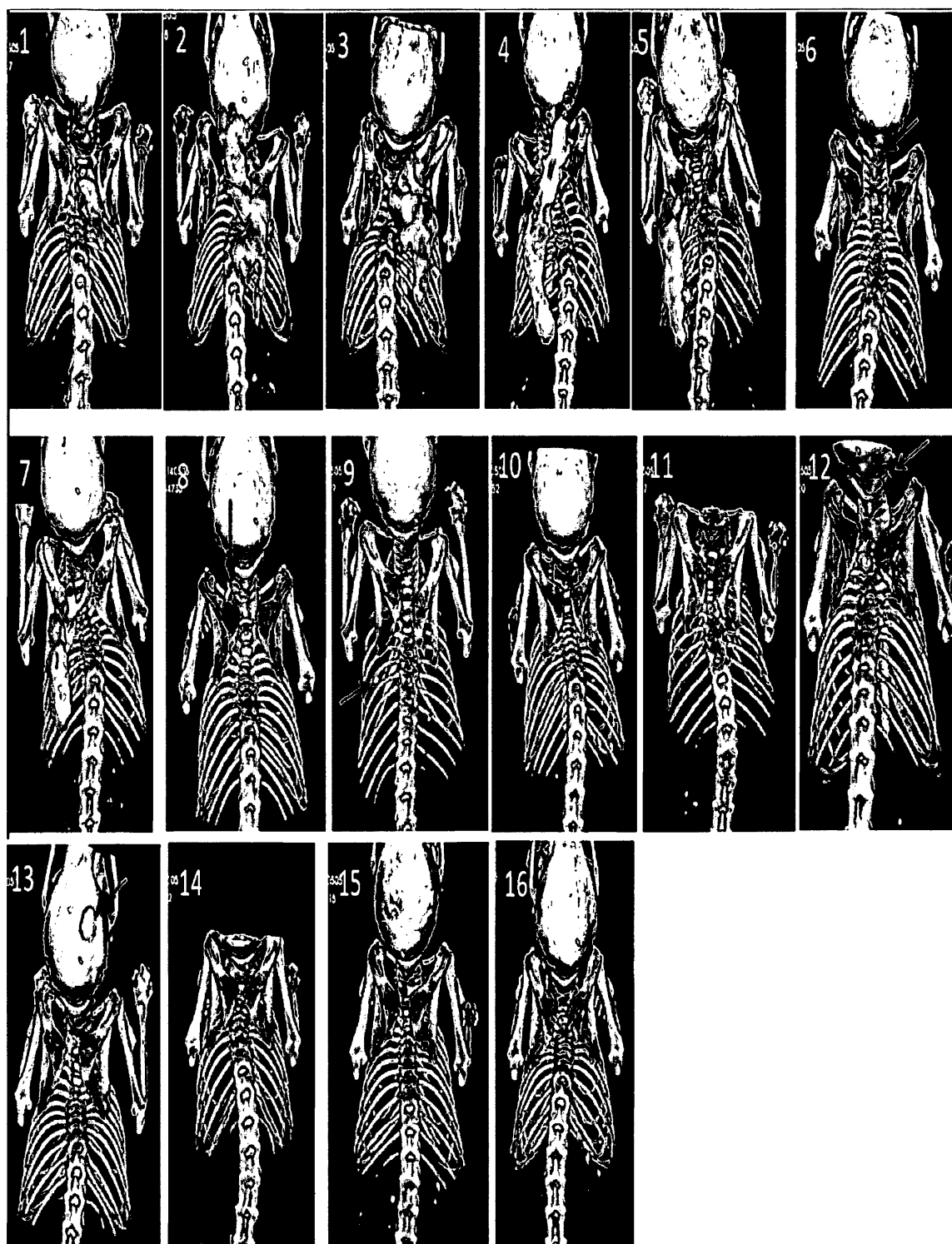
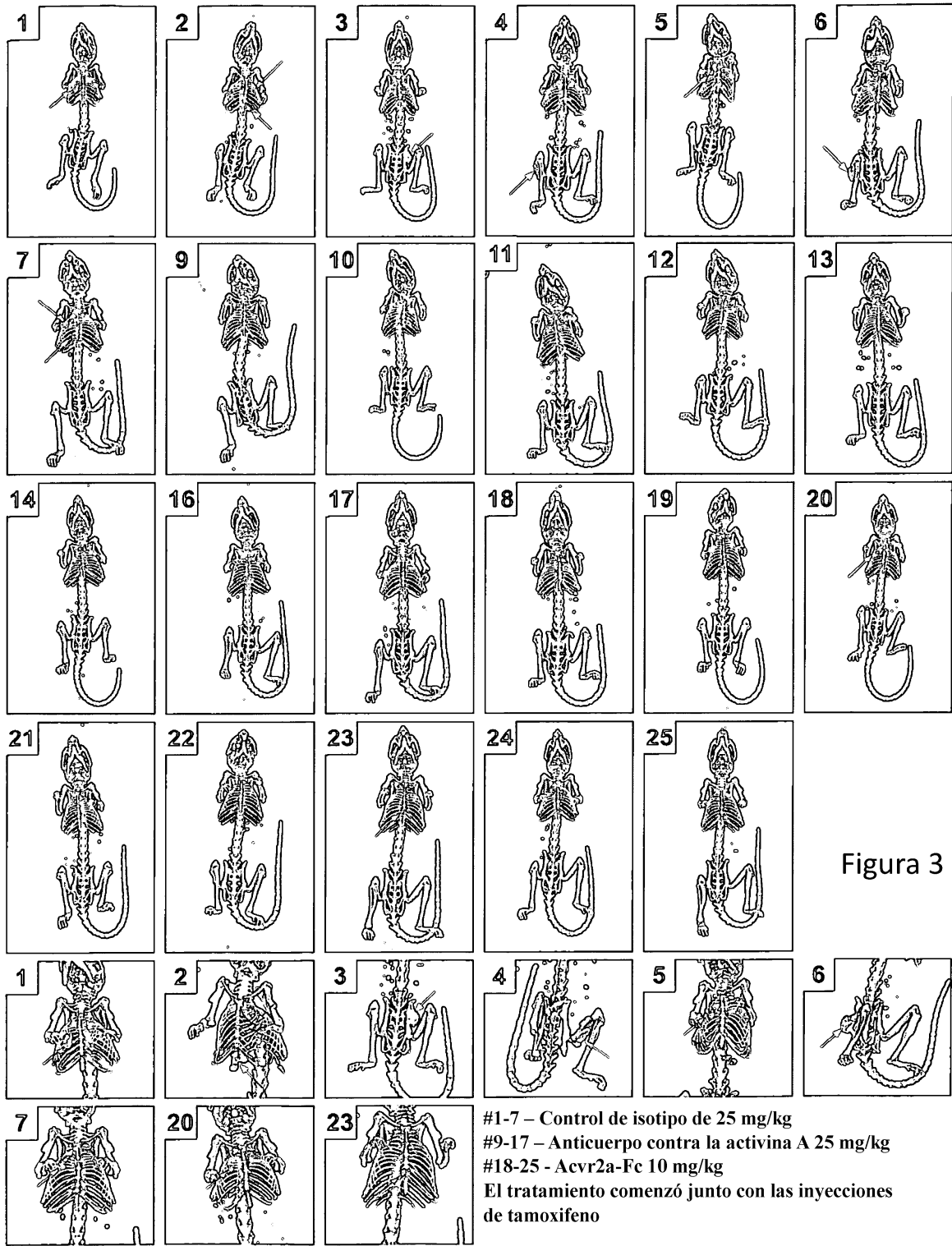


Figura 2





Control de isotipo

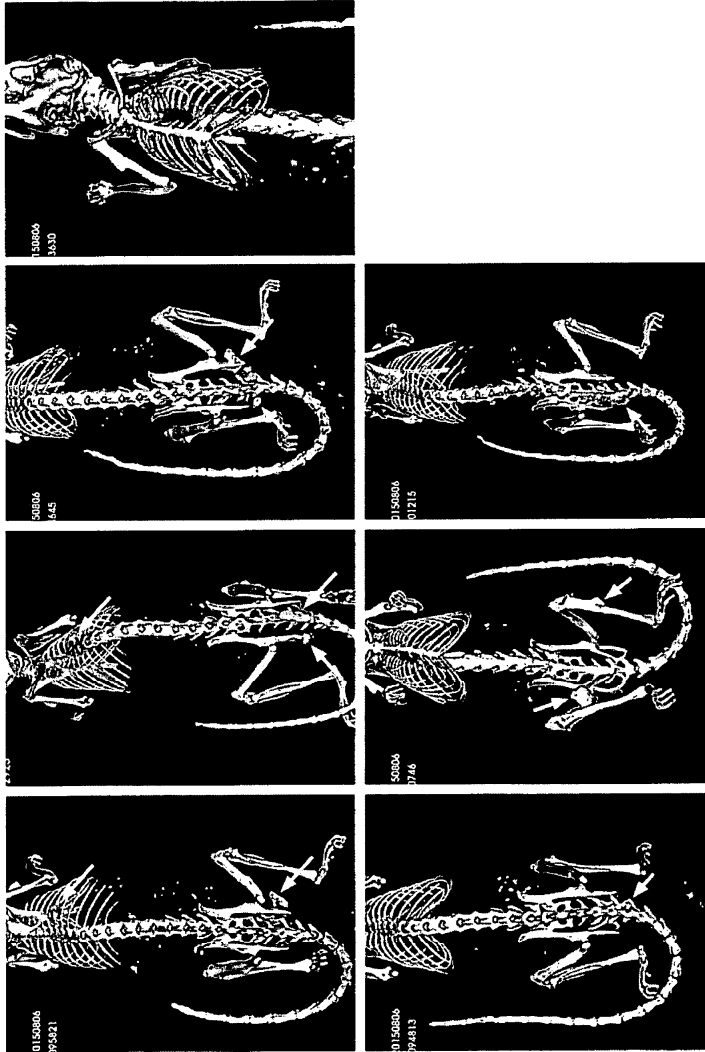
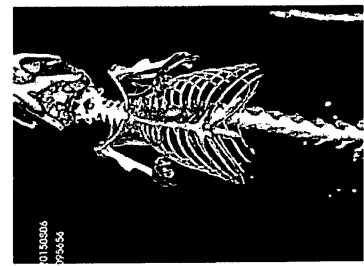


Figura 4

Anticuerpo Acvr2a/Acvr2b



Anticuerpo contra la activina A

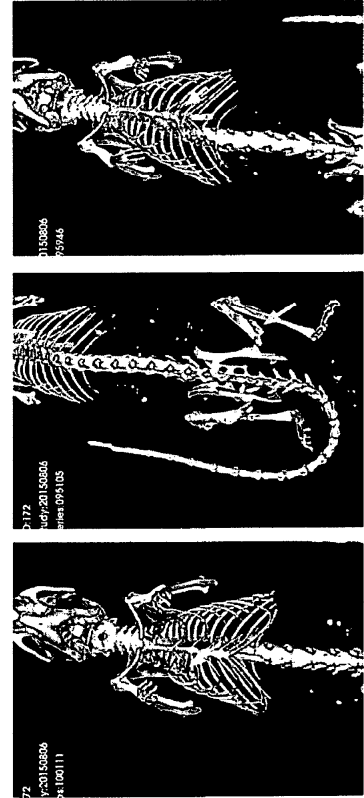


Figura 5

