



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0125249
(43) 공개일자 2022년09월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/397 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) A61P 3/06 (2006.01)
C07K 16/40 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/397 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7023394
(22) 출원일자(국제) 2020년12월10일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년07월07일
(86) 국제출원번호 PCT/US2020/064324
(87) 국제공개번호 WO 2021/119321
국제공개일자 2021년06월17일
(30) 우선권주장
62/946,268 2019년12월10일 미국(US)
62/987,148 2020년03월09일 미국(US)

(71) 출원인
리제너론 파아마슈티컬스, 인크.
미국 뉴욕 10591-6707 테리타운 올드 소오 밀 리버
로드 777
사노피 바이오테크놀로지
프랑스 에프-75008 파리 튀 라 보에티에 54
(72) 발명자
알리, 샤지아
미국 10591 뉴욕주 테리타운 올드 소오 밀 리버
로드 777 리제너론 파아마슈티컬스, 인크. 내
바카라-디네트, 마리
프랑스 75008 파리 튀 라 보에티에 54 사노피 바
이오테크놀로지 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이상영

전체 청구항 수 : 총 39 항

(54) 발명의 명칭 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증을 치료하기 위한 PCSK9 억제제의 용도

(57) 요약

본 개시내용은 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 앓는 환자에서 LDL-C 수준을 저하시키기 위한 방법을 제공하는 것으로, 이 방법은 환자에게 PCSK9 억제제를 포함하는 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 특정 실시형태에서, PCSK9 억제제는 본원에서 mAb316P로 지칭되는 예시적인 항체와 같은 항-PCSK9 항체이다.

(52) CPC특허분류

A61P 3/06 (2018.01)
C07K 16/40 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
A61K 2039/54 (2013.01)
A61K 2039/545 (2013.01)
A61K 2039/55 (2013.01)

(72) 발명자

도나휴, 스티븐

미국 10591 뉴욕주 테리타운 올드 소오 밀 리버 로
드 777 리제너론 파아마슈티컬스, 인크. 내

하노틴, 코린

프랑스 75008 파리 뤼 라 보에티에 54 사노피 바이
오테크놀로지 내

레쿱스, 기욤

프랑스 75008 파리 뤼 라 보에티에 54 사노피 바이
오테크놀로지 내

포르디, 로버트 씨.

미국 10591 매사추세츠주 테리타운 올드 소오 밀
리버 로드 777 리제너론 파아마슈티컬스, 인크. 내

명세서

청구범위

청구항 1

동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)의 치료를 필요로 하는 환자에서 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 치료하기 위한 방법으로서,

(a) 스타틴을 이용한 치료에 불응성이거나, 스타틴에 불내성이거나, 스타틴 요법에 대한 유해 반응 이력을 갖는, hoFH를 앓는 환자를 선택하는 단계; 및

(b) 상기 환자에게 PCSK9 억제제의 1회 이상의 투여량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 2

동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 앓는 환자에서 혈청 LDL-C 수준을 감소시키기 위한 방법으로서,

(a) 스타틴을 이용한 치료에 불응성이거나, 스타틴에 불내성이거나, 스타틴 요법에 대한 유해 반응 이력을 갖는 환자를 선택하는 단계; 및

(b) 상기 환자에게 PCSK9 억제제의 1회 이상의 투여량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 3

동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 앓는 환자에서 죽상 동맥 경화증을 치료하고/하거나, 이의 발병을 지연시키고/시키거나, 이의 발생 위험성을 감소시키기 위한 방법으로서,

(a) 스타틴을 이용한 치료에 불응성이거나, 스타틴에 불내성이거나, 스타틴 요법에 대한 유해 반응 이력을 갖는 환자를 선택하는 단계; 및

(b) 상기 환자에게 PCSK9 억제제의 1회 이상의 투여량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 4

동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)의 치료를 필요로 하는 환자에서 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 치료하기 위한 방법으로서,

(a) hoFH를 앓는 환자를 선택하는 단계; 및

(b) 상기 환자에게 PCSK9 억제제의 1회 이상의 투여량을 치료적 유효량으로 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 5

동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 앓는 환자에서 혈청 LDL-C 수준을 감소시키기 위한 방법으로서,

이를 필요로 하는 환자에게 PCSK9 억제제의 1회 이상의 투여량을 치료적 유효량으로 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 6

동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 앓는 환자에서 죽상 동맥 경화증을 치료하고/하거나, 이의 발병을 지연시키고/시키거나, 이의 발생 위험성을 감소시키기 위한 방법으로서,

이를 필요로 하는 환자에게 PCSK9 억제제의 1회 이상의 투여량을 치료적 유효량으로 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 유전자형 또는 임상적 기준에 기초하여 hoFH로 진단되는 것인 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 유전자형은,

- (a) 동형접합 비-영(non-null)/비-영;
- (b) 복합 이형접합 비-영-/비-영;
- (c) 복합 이형접합 비-영/영(null); 및
- (d) 동형접합 영/영으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 9

제7항에 있어서, 상기 임상적 기준은,

- (a) 500 mg/dl(12.93 mmol/l) 초과와 무처리 총 콜레스테롤 및 300 mg/dl(3.39 mmol/l) 미만의 트리글리세리드,
- (b) 양쪽 부모가 250 mg/dl(6.46 mmol/l) 초과와 총 콜레스테롤 이력을 갖는 경우, 및
- (c) 10세 이전의 피부 또는 힘줄 황색종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 LDL 성분채집술(LDL apheresis)을 경험 중인 것인 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 PCSK9 억제제의 투여 이전 또는 투여 당시에 적어도 하나의 지질 조절 요법(LMT)을 받는 중인 것인 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 적어도 하나의 LMT는 적어도 하나의 스타틴인 것인 방법.

청구항 13

제11항에 있어서, 상기 적어도 하나의 LMT는 LDL 성분채집술인 것인 방법.

청구항 14

제11항에 있어서, 상기 적어도 하나의 LMT는 에제티미브(ezetimibe)인 것인 방법.

청구항 15

제11항에 있어서, 상기 적어도 하나의 LMT는 피브레이트, 담즙산 제거제, 콜레스테롤 흡수 억제제, 니코틴산 또는 유도체, 오메가 3 지방산, 프로부콜(probuco1), 로미타피드(lomitapide) 또는 미포메르센(mipomersen)인 것인 방법.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 PCSK9 억제제의 투여 이전 또는 투여 당시에 적어도 약 100 mg/dl의 LDL-C를 갖는 것인 방법.

청구항 17

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 상기 PCSK9 억제제의 투여 이전 또는 투여 당시에 약 500 mg/dl 내지 약 1,000 mg/dl의 LDL-C를 갖는 것인 방법.

청구항 18

제16항 또는 제17항에 있어서, 상기 환자는 조기 심혈관 질병 및/또는 심혈관 이벤트에 대한 증가된 위험성을

갖는 것인 방법.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PCSK9 억제제는 PCSK9와 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편인 것인 방법.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 상기 환자에게 2주마다 1회의 빈도로 약 75 mg의 투여량으로 투여되는 것인 방법.

청구항 21

제19항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 상기 환자에게 2주마다 1회의 빈도로 약 150 mg의 투여량으로 투여되는 것인 방법.

청구항 22

제19항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 상기 환자에게 4주마다 1회의 빈도로 약 300 mg의 투여량으로 투여되는 것인 방법.

청구항 23

제19항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 상기 환자에게 피하 투여되는 것인 방법.

청구항 24

제19항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열 번호 1/서열 번호 6을 포함하는 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍의 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하는 것인 방법.

청구항 25

제12항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열 번호 2, 서열 번호 3, 서열 번호 4, 서열 번호 7, 서열 번호 8 및 서열 번호 10을 갖는 중쇄 및 경쇄 CDR 아미노산 서열을 포함하는 것인 방법.

청구항 26

제13항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열 번호 1의 아미노산 서열을 갖는 HCVR 및 서열 번호 6의 아미노산 서열을 갖는 LCVR을 포함하는 것인 방법.

청구항 27

제19항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 사전 충전형 펜 전달 장치에 채워져 있는 것인 방법.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PCSK9 억제제의 1회 이상의 투여량의 투여 후 약 12주에, 상기 환자는,

- i) 기준선으로부터의 LDL-C 수준의 약 35% 감소;
- ii) 기준선으로부터의 비-HDL-C 수준의 약 33% 감소;
- iii) 기준선으로부터의 Apo B 수준의 약 30% 감소;
- iv) 기준선으로부터의 총 콜레스테롤 수준의 약 27% 감소;
- v) 기준선으로부터의 (공복) 트리글리세리드 수준의 약 11% 감소; 및
- vi) 기준선으로부터의 Lp(a) 수준의 약 28% 감소로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 지질 파라미터

개선을 나타내는 것인 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, 상기 PCSK9 억제제의 1회 이상의 투여량의 투여 후 약 12주에, 상기 환자는 기준선으로부터의 LDL-C 수준의 약 35% 감소를 나타내는 것인 방법.

청구항 30

동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)의 치료를 필요로 하는 환자에서 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 치료하는 데 사용하기 위한 약학 조성물로서, PCSK9 억제제 및 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약학 조성물.

청구항 31

동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 앓는 환자에서 혈청 LDL-C 수준을 감소시키는 데 사용하기 위한 약학 조성물로서, PCSK9 억제제 및 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약학 조성물.

청구항 32

동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 앓는 환자에서 죽상 동맥 경화증을 치료하고/하거나, 이의 발병을 지연시키고/시키거나, 이의 발생 위험성을 감소시키는 데 사용하기 위한 약학 조성물로서, PCSK9 억제제 및 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약학 조성물.

청구항 33

제30항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, hoFH를 앓는 상기 환자는 스타틴을 이용한 치료에 불응성이거나, 스타틴에 불내성이거나, 스타틴 요법에 대한 유해 반응 이력을 갖는 것인 약학 조성물.

청구항 34

제30항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PCSK9 억제제는 PCSK9와 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편인 것인 약학 조성물.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열 번호 1/서열 번호 6을 포함하는 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍의 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하는 것인 약학 조성물.

청구항 36

제34항 또는 제35항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 상기 환자에게 2주마다 1회의 빈도로 약 75 mg의 투여량으로 투여되는 것인 약학 조성물.

청구항 37

제34항 또는 제35항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 상기 환자에게 2주마다 1회의 빈도로 약 150 mg의 투여량으로 투여되는 것인 약학 조성물.

청구항 38

제34항 또는 제35항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 상기 환자에게 4주마다 1회의 빈도로 약 300 mg의 투여량으로 투여되는 것인 약학 조성물.

청구항 39

동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 치료하기 위한 방법으로서,

hoFH로 진단되고, 스타틴을 이용한 치료에 불응성이거나, 스타틴에 불내성이거나, 스타틴 요법에 대한 유해 반응 이력을 갖는 환자에게 PCSK9 억제제의 1회 이상의 투여량을 투여하는 단계를 포함하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원

[0002] 본 출원은 2019년 12월 10일자로 출원된 미국 가출원 제62/946,268호 및 2020년 3월 9일자로 출원된 미국 가출원 제62/987,148호의 우선권을 주장하며, 이의 전문은 본원에서 그 전체가 참고로 포함된다.

[0003] 서열 목록

[0004] 본 출원은 ASCII 형식으로 전자 제출되고 본원에서 그 전체가 본원에 참조로 포함된 서열 목록을 포함하고 있다. 2020년 12월 10일자로 작성된 상기 ASCII 사본은 711599_SA9_291PC.txt로 명명되고 그 크기가 99,701 킬로바이트이다.

[0005] 기술분야

[0006] 본 개시내용은 지질 및 지질단백질의 증가된 수준과 연관이 있는 질병 및 질환의 치료적 치료 분야에 관한 것이다. 보다 상세하게는, 본 개시내용은 스타틴 치료에 불응성이거나, 스타틴에 불내성(intolerance)이거나, 스타틴 요법에 대한 유해 반응 이력을 갖는, 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 앓는 환자를 치료하기 위한 PCSK9 억제제의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0007] 가족성 고콜레스테롤혈증(FH)은 이를 앓는 사람을 조기 중증 심혈관 질병(CVD)에 취약하게 만드는 지질 대사의 유전 질환이다(문헌[Kolansky, *et al.* 2008 *Am J Cardiol* 102(11): 1438~1443]). 상염색체 우성 질병 또는 상염색체 열성 질병으로서, 저밀도 지질단백질 수용체(LDLR)에서의 돌연변이 또는 3개의 관련 유전자, 즉 프로단백질 전환효소 서브틸리신(subtilisin)/켄신 9형(PCSK9), 아포지질단백질 B(Apo B) 및 LDL 수용체 어댑터 단백질 1(LDLRAP1)에서의 돌연변이로부터 생길 수 있으며, 표현형은 유사하지만 중증도는 다양하다.

[0008] 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)은, 개체가 LDLR 대립유전자 둘 모두, ApoB 대립유전자 또는 PCSK9 대립유전자 내의 동일한 돌연변이(들)(진정한 동형접합체), 동일한 유전자의 각각의 대립유전자 내의 상이한 돌연변이(복합 이형접합체) 또는 상이한 유전자 상의 상이한 돌연변이(이중 이형접합체)를 갖는 것으로 유전적으로 정의되는 희귀한 중증 병태이다. 표현형으로, hoFH의 중증도는 잔류 LDLR 활성량에 따라 달라지며, 이는 역사적으로 피부 섬유 아세포에서의 활성량을 기준으로 수용체 음성(정상적인 LDLR 활성의 2% 미만) 또는 수용체 결함(정상적인 LDLR 활성의 2% 내지 25%) 중 하나로 분류된다. 본원에서 사용된 유전적 정의는 진정한 동형접합체, 복합 이형접합체 또는 이중 이형접합체인 것으로 간주되는 모든 개체를 포함한다. 그러나, 대립유전자 둘 모두에서 영 LDLR 돌연변이(null LDLR mutation)를 갖는 개체는 제외된다.

[0009] hoFH를 앓는 환자는 일반적으로 중증 고콜레스테롤혈증(500 mg/dL 내지 1,000 mg/dL, 12.95 mmol/L 내지 25.9 mmol/L)을 앓고 있으며, 그 결과 평생 높은 수준의 혈장 LDL-C에 노출되고, 매우 가속화된 속도로 죽상 동맥 경화증이 발병할 위험성이 증가되며, 보통 생후 20년 이내에 징후가 나타난다. 지속적으로 높은 수준의 LDL-C는 또한 피부 또는 힘줄 황색종, 판막 및 판막 상부 협착을 초래할 수 있다(문헌[Kolansky, *et al.* 2008 *Am J Cardiol* 102(11): 1438~1443]). 이러한 죽상 동맥 경화증의 가속화는 조기 심혈관 질병(CVD)을 초래하며, 심혈관(CV) 이벤트의 위험성 증가를 초래한다. hoFH 환자에 대한 최근 관찰 연구에 따르면 최초 주요 CV 이벤트에 대한 평균 연령은 20세였다(문헌[Kolansky 2008]).

[0010] FH를 앓는 성인 환자에서의 약물 요법의 초기 목표는 LDL-C의 50% 이상의 감소를 달성하는 것이다(문헌[Goldberg, *et al.* 2011 *J Clin Lipidol* 5(3 Supp): S1~S8]). 이것이 달성되면, 요법은 관상동맥 질병 또는 기타 주요 위험 인자의 부재 하에 100 mg/dL(2.59 mmol/L) 미만의 LDL-C를 달성하거나 관상동맥 질병 또는 기타 주요 위험 인자의 부재 하에 70 mg/dL 미만(1.81 mmol/L 미만)의 LDL-C를 달성할 목적으로 증가된다(문헌[Watts, *et al.* 2014 *J Clin Lipidol* 8(2): 148~172]). 그러나, hoFH를 앓는 환자에서의 증가된 LDL-C의 관리는 현재 존재하는 치료 선택안으로는 매우 어렵다. hoFH를 앓는 환자는 일반적으로 통상적인 약물 요법에 대한 반응이 부족하며, 그 결과 종종 약리학적 관리가 매우 힘든 극도로 높은 LDL-C 수준을 초래하며, 따라서 LDL 성분제집을 개시할 필요성이 요구된다.

[0011] 스타틴은 -하이드록시-3-메틸-글루타릴 조효소 환원 효소를 억제함으로써 콜레스테롤 합성을 억제하고, hoFH 환

자에서 1차 요법으로서 사용된다. hoFH를 앓는 환자는 작용 기작이 일반적으로 간 LDL 수용체의 상향 조절을 통해 LDL-C 수준을 낮추기 때문에 스타틴에 불응성인 경향이 있다. 그럼에도 불구하고, hoFH 환자에서의 기능성 LDL 수용체의 거의 완전한 상실에도 불구하고 스타틴은 여전히 잔류 수용체 활성을 최대화하기 위해 1차 요법으로서 사용된다(문헌[Raal, *et al.* 2000 *Atherosclerosis* 150(2): 421~428], 문헌[Marais, *et al.* 2008 *Atherosclerosis* 197(1): 400~406], 문헌[Raal, *et al.* 1997 *Atherosclerosis* 135(2): 249~256]).

[0012] 높은 투여량의 스타틴 및 에제티미브(ezetimibe; 콜레스테롤 흡수 억제제)의 조합으로 치료받은 많은 환자가 이들의 표적 LDL-C와는 요원하다. 보다 새로운 요법, 즉 미포메르센(mipomersen) 및 로미타피드(lomitapide)가 hoFH를 앓는 환자에서의 사용을 위해 승인되었지만, 이들은 모든 국가에서 시판되지는 않으며, 이는 간 지방 함량의 증가, 간 손상 마커의 증가, 중증 강도(미포메르센)를 나타낼 수 있는 빈번한 주사 부위 반응, 또는 내약성이 약한 위장 유해 효과(로미타피드)와 연관이 있다(문헌[Raal, *et al.* 2010 *Lancet* 375(9719): 998~1006], 문헌[Cuchel, *et al.* 2013 *Lancet* 381(9860): 40~46]).

[0013] LDL 성분채집술을 사용한 LDL-C의 기계적 제거가 하나의 선택안이지만, 환자의 삶의 질을 저하시킬 수 있고, 기타 어려움이 발생할 수 있다(문헌[Schiell, *et al.* 1995 *Int J Artif Organs* 18(12): 786~793]). 저밀도 지질단백질 성분채집술은 침습성이고 환자에 부담을 주는 고비용의 기술이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0014] 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 앓는 환자를 효과적으로 치료하는 방법이 여전히 요구되고 있다. 또한, 스타틴을 이용한 치료에도 불구하고 허용 가능한 LDL-C 수준을 달성할 수 없고/없거나, 스타틴 요법에 내약성이 없거나 이에 대한 유해 반응에 대한 경험이 없고/없거나, 치료를 위해 LDL 성분채집술에 의존해야 하는, hoFH를 앓는 환자를 효과적으로 치료하는 방법이 여전히 요구되고 있다.

과제의 해결 수단

[0015] 본 개시내용은 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 치료하기 위한 방법을 제공한다. 특히, 본 개시내용의 방법은 LDLR 대립유전자 둘 모두에서 영/영 돌연변이를 갖는 이들 환자를 제외한, hoFH를 앓는 환자를 치료하는 데 유용하다.

[0016] 하나의 양태에서, 본 개시내용은 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)의 치료를 필요로 하는 환자에서 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 치료하기 위한 방법을 제공하며, 이때 이 방법은 (a) 스타틴을 이용한 치료에 불응성이거나, 스타틴에 불내성이거나, 스타틴 요법에 대한 유해 반응 이력을 갖는, hoFH를 앓는 환자를 선택하는 단계; 및 (b) 환자에게 PCSK9 억제제의 1회 이상의 투여량을 투여하는 단계를 포함한다.

[0017] 다른 양태에서, 본 개시내용은 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 앓는 환자에서 혈청 LDL-C 수준을 감소시키기 위한 방법을 제공하며, 이때 이 방법은 (a) 스타틴을 이용한 치료에 불응성이거나, 스타틴에 불내성이거나, 스타틴 요법에 대한 유해 반응 이력을 갖는 환자를 선택하는 단계; 및 (b) 환자에게 PCSK9 억제제의 1회 이상의 투여량을 투여하는 단계를 포함한다.

[0018] 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 앓는 환자에서 죽상 동맥 경화증을 치료하고/하거나, 이의 발병을 지연시키고/시키거나, 이의 발생 위험성을 감소시키기 위한 방법을 제공하며, 이때 이 방법은 (a) 스타틴을 이용한 치료에 불응성이거나, 스타틴에 불내성이거나, 스타틴 요법에 대한 유해 반응 이력을 갖는 환자를 선택하는 단계; 및 (b) 환자에게 PCSK9 억제제의 1회 이상의 투여량을 투여하는 단계를 포함한다.

[0019] 본 개시내용에 따른 방법의 하나의 실시형태에서, 환자는 PCSK9 억제제의 투여 이전 또는 투여 당시에 적어도 약 100 mg/dl의 LDL-C를 갖는다. 본 개시내용에 따른 방법의 하나의 실시형태에서, 환자는 PCSK9 억제제의 투여 이전 또는 투여 당시에 약 250 mg/dl 내지 약 1,000 mg/dl의 LDL-C를 갖는다. 본 개시내용에 따른 방법의 다른 실시형태에서, 환자는 PCSK9 억제제의 투여 이전 또는 투여 당시에 약 500 mg/dl 내지 약 1,000 mg/dl의 LDL-C를 갖는다.

[0020] 본 개시내용에 따른 방법의 하나의 실시형태에서, 환자는 PCSK9 억제제의 투여 이전 또는 투여 당시에 적어도 하나의 지질 조절 요법(LMT)을 받는 중이다. 추가의 실시형태에서, 적어도 하나의 LMT는 적어도 하나의 스타틴이다. 또 다른 추가의 실시형태에서, 적어도 하나의 LMT는 LDL 성분채집술이다. 또 다른 추가의 실시형태에서,

적어도 하나의 LMT는 에제티미브이다.

- [0021] 본 개시내용에 따른 방법의 하나의 실시형태에서, 환자는 조기 심혈관 질병 및/또는 심혈관 이벤트에 대한 증가된 위험성을 갖는다.
- [0022] 본 개시내용에 따른 방법의 하나의 실시형태에서, PCSK9 억제제는 PCSK9와 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이다. 추가의 실시형태에서, PCSK9와 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 환자에게 2주마다 1회의 빈도로 약 150 mg의 투여량으로 투여된다. 또 다른 추가의 실시형태에서, PCSK9와 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 환자에게 피하 투여된다.
- [0023] 본 개시내용에 따른 방법의 하나의 실시형태에서, PCSK9 억제제는 서열 번호 1/서열 번호 6을 포함하는 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍의 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다. 추가의 실시형태에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열 번호 2, 서열 번호 3, 서열 번호 4, 서열 번호 7, 서열 번호 8 및 서열 번호 10을 갖는 중쇄 및 경쇄 CDR 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 추가의 실시형태에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열 번호 1의 아미노산 서열을 갖는 HCVR 및 서열 번호 6의 아미노산 서열을 갖는 LCVR을 포함한다.
- [0024] 본 개시내용에 따른 방법의 하나의 실시형태에서, PCSK9 억제제는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이며, 이때 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열 번호 2, 서열 번호 3, 서열 번호 4, 서열 번호 7, 서열 번호 8 및 서열 번호 10을 갖는 중쇄 및 경쇄 CDR 아미노산 서열을 포함하는 항체로서 PCSK9 상의 동일한 에피토프에 결합한다.
- [0025] 본 개시내용에 따른 방법의 다른 실시형태에서, PCSK9 억제제는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이며, 이때 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열 번호 2, 서열 번호 3, 서열 번호 4, 서열 번호 7, 서열 번호 8 및 서열 번호 10을 갖는 중쇄 및 경쇄 CDR 아미노산 서열을 포함하는 항체와 PCSK9에 대한 결합을 위해 경쟁한다.
- [0026] 본 개시내용에 따른 방법의 하나의 실시형태에서, PCSK9 억제제는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이며, 이때 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 사전 충전형 펜 전달 장치에 채워져 있다.
- [0027] 본 개시내용에 따른 방법의 하나의 실시형태에서, hoFH를 앓는 환자는 (a) 동형접합 비-영(non-null)/비-영; (b) 복합 이형접합 비-영-/비-영; (c) 복합 이형접합 비-영/영(null); 및 (d) 동형접합 영/영으로 이루어진 군으로부터 선택되는 LDL 수용체 유전자형을 갖는다. 다른 실시형태에서, hoFH를 앓는 환자는 (a) 동형접합 비-영/비-영; (b) 복합 이형접합 비-영-/비-영; 및 (c) 복합 이형접합 비-영/영으로 이루어진 군으로부터 선택되는 LDL 수용체 유전자형을 갖는다.
- [0028] 본 개시내용에 따른 방법의 하나의 실시형태에서, PCSK9 억제제의 1회 이상의 투여량의 투여 약 12주에, 환자는,
- [0029] i) 기준선으로부터의 LDL-C 수준의 약 35% 감소;
- [0030] ii) 기준선으로부터의 비-HDL-C 수준의 약 33% 감소;
- [0031] iii) 기준선으로부터의 Apo B 수준의 약 30% 감소;
- [0032] iv) 기준선으로부터의 총 콜레스테롤 수준의 약 27% 감소;
- [0033] v) 기준선으로부터의 (공복) 트리글리세리드 수준의 약 11% 감소; 및/또는
- [0034] vi) 기준선으로부터의 Lp(a) 수준의 약 28% 감소로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 지질 파라미터 개선을 나타낸다.
- [0035] 하나의 양태에서, 본 개시내용은 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)의 치료를 필요로 하는 환자에서 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 치료하기 위한 약학 조성물을 제공하며, 이때 이 조성물은 PCSK9 억제제 및 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함한다.
- [0036] 다른 양태에서, 본 개시내용은 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 앓는 환자에서 혈청 LDL-C 수준을 감소시키는 데 사용하기 위한 약학 조성물을 제공하며, 이때 이 조성물은 PCSK9 억제제 및 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함한다.
- [0037] 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 앓는 환자에서 죽상 동맥 경화증을 치료하고/하거나, 이의 발병을 지연시키고/시키거나, 이의 발생 위험성을 감소시키는 데 사용하기 위한 약학

조성물을 제공하며, 이때 이 조성물은 PCSK9 억제제 및 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함한다.

[0038] 본 개시내용에 따른 조성물의 하나의 실시형태에서, hoFH를 앓는 환자는 스타틴을 이용한 치료에 불응성이거나/이거나, 스타틴에 불내성이거나/이거나, 스타틴 요법에 대한 유해 반응(들) 이력을 갖는다.

[0039] 본 개시내용에 따른 조성물의 다른 실시형태에서, PCSK9 억제제는 PCSK9와 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이다. 추가의 실시형태에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열 번호 1/서열 번호 6을 포함하는 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍의 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함한다.

[0040] 본 개시내용에 따른 조성물의 하나의 실시형태에서, PCSK9 억제제는 PCSK9와 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이며, 이때 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 환자에게 2주마다 1회의 빈도로 약 150 mg의 투여량으로 투여된다.

[0041] 하나의 양태에서, 본 개시내용은 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 치료하기 위한 방법을 제공하며, 이때 이 방법은 hoFH로 진단되고, 스타틴을 이용한 치료에 불응성이거나, 스타틴에 불내성이거나, 스타틴 요법에 대한 유해 반응 이력을 갖는 환자에게 PCSK9 억제제의 1회 이상의 투여량을 투여하는 단계를 포함한다.

[0042] 또한, 본 개시내용은, 1일 치료용 스타틴 용법 도중에 시작되었거나 증가한 골격근-관련 증상을 이전에 경험했던, 중등의, 높은 또는 매우 높은 심혈관 위험성을 갖는 환자를 선택하고 환자에게 PCSK9 억제제의 1회 이상의 투여량을 투여함으로써 스타틴에 불내성이거나 스타틴 요법에 대한 유해 반응 이력을 갖는 환자에서 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 치료하기 위한 방법을 제공한다. 특정 실시형태에 따르면, 환자는 적어도 2회의 별개의 1일 치료용 스타틴 용법(예를 들어, 이때 1일 치료용 스타틴 용법의 적어도 1회는 스타틴에 대해 승인된 가장 낮은 1일 투여량임) 도중에 시작되었거나 증가한 골격근-관련 증상을 이전에 경험했던 것에 기초하여 선택된다.

[0043] 또한, 본 개시내용은 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)의 치료를 필요로 하는 환자에서 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 치료하는 데 사용하기 위한 PCSK9 억제제를 포함하는 약학 조성물을 제공하며, 이때 약학 조성물은 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 앓는 환자에서 혈청 LDL-C 수준을 감소시키는 데 사용하기 위한 PCSK9 억제제를 포함하고, 약학 조성물은 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 앓는 환자에서 죽상 동맥 경화증을 치료하고/하거나, 이의 발병을 지연시키고/시키거나, 이의 발생 위험성을 감소시키는 데 사용하기 위한 PCSK9 억제제를 포함한다. 본 개시내용의 약학 조성물의 특정 실시형태에서, 환자는 hoFH를 앓고, 스타틴을 이용한 치료에 불응성이거나, 스타틴에 불내성이거나, 스타틴 요법에 대한 유해 반응 이력을 갖는다.

[0044] 본 개시내용의 기타 실시형태는 이후 상세한 설명의 검토로부터 명백하게 될 것이다.

도면의 간단한 설명

[0045] 도 1은 본원의 실시예 2에 기술된 임상 시험을 보여주는 연구 흐름도이다.

도 2는 이중 맹검 기간 동안 기준선으로부터의 시간이 지남에 따른 LDL-C LS 평균($\pm$ SE) 변화율을 그래프로 보여준다. 최소 제곱(LS) 평균, 표준 오차(SE) 및 p-값은 MMRM(반복 측정 혼합 효과 모델) 분석으로부터 얻어진다. 이 모델에는 고정 치료 효과, IVRS에 따른 무작위화 계층, 시점, 시점별 치료 상호작용, 시점별 계층 상호작용뿐만 아니라 시점별 연속형 기준선 LDL-C 값 상호작용이 포함된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0046] 본 개시내용을 기술하기 전, 본 개시내용은 기술된 특정 방법 및 실험 조건이 변경될 수 있으므로 이 같은 방법 및 조건으로 제한되지 않는 것으로 이해되어야 한다. 또한, 본원에서 사용된 용어는 본 개시내용의 범주가 첨부된 청구범위에 의해서만 제한될 것이기 때문에 특정 실시형태만을 기술할 목적인 것이며, 제한을 위한 것으로 의도되지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[0047] 달리 한정되지 않는 경우, 본원에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 개시내용이 속하는 당해 기술분야의 통상의 지식을 가진 자에 의해 흔히 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다.

[0048] 본원에서 사용된 바와 같이, 특정의 언급된 수치값을 참고하여 사용되는 경우에 "약"이란 용어는 값이 언급된 값으로부터 1% 이하로 변경될 수 있다는 것을 의미한다. 예를 들어, 본원에서 사용된 바와 같이, "약 100"이란 표현은 99 및 101 및 그 사이의 모든 값(예를 들어, 99.1, 99.2, 99.3, 99.4 등)을 포함한다.

- [0049] 본원에 기술되어 있는 것과 유사하거나 이와 같은 임의의 방법 및 재료가 본 개시내용의 실행에서 사용될 수 있지만, 현재 바람직한 방법 및 재료가 기술되어 있다. 본원에 언급된 모든 공개물은 설명을 위해 본원에서 그 전체가 참고로 포함된다.
- [0050] **스타틴 무효능 및 불내성**
- [0051] 일부 실시형태에서, 본 개시내용은 일반적으로 스타틴을 이용한 치료에 불응성이거나 스타틴에 불내성인 환자("스타틴 불내성 환자"; 본원에서 "스타틴에 불내성인 환자"로도 지칭됨), 또는 스타틴 요법에 대한 유해 반응 이력을 갖는 환자를 치료하는 데 유용한 방법 및 조성물에 관한 것이다. 본원에서 사용된 바와 같이, 환자에게 지질 파라미터에서의 유의한 개선 없이 스타틴 요법이 적용되었다면 환자는 "스타틴에 불응성"인 것으로 간주된다. 예를 들어, 스타틴에 불응성인 환자는 안정한 스타틴 요법 도중에도 여전히 적어도 70 mg/dL의 혈청 LDL-C 수준을 갖는다.
- [0052] 본원에서 사용된 바와 같이, 환자가 1일 스타틴 치료 용법 도중에 시작되거나 증가하고 스타틴 요법이 중단되었을 때 중단되는 하나 이상의 유해 반응을 경험한 이력을 갖는다면 환자는 "스타틴 불내성" 또는 "스타틴에 불내성"인 것으로 간주된다. 특정 실시형태에서, 유해 반응은 자연에서 근육 골격성, 예를 들어 골격 근육통, 고통, 쇠약 또는 경련(예를 들어, 근육통, 근질환, 횡문근 용해 등)이다. 특정 실시형태에서, 유해 반응은 운동 또는 훈련 이후에 나타나거나 강화되는 골격 근육통 또는 고통이다. 스타틴-관련 유해 반응은 또한 스타틴 투여와 관련이 있는 간, 위장 또는 심리적 증상을 포함한다.
- [0053] 특정 실시형태에 따르면, 환자가 적어도 2개의 상이하고 별도의 1일 스타틴 치료 용법과 연관된 골격근-관련 증상 이력을 갖는다면 환자는 "스타틴 불내성" 또는 "스타틴에 불내성"인 것으로 간주된다. 특정 실시형태에 따르면, 환자가 하나 이상의 스타틴에 대해 승인된 최저 1일 투여량에 대한 하나 이상의 스타틴-관련 유해 반응(들)을 나타내면 환자는 "스타틴 불내성" 또는 "스타틴에 불내성"이다. 특정 실시형태에서, 환자가 승인된 최저 정제 크기의 7배의 누적되는 주1회 투여 스타틴에 내약성을 나타낼 수 없다면 환자는 "스타틴 불내성" 또는 "스타틴에 불내성"이다. 본 개시내용의 기타 실시형태에 따르면, 환자가 낮은 저용량 스타틴 요법에 내약성을 나타낼 수 있지만(예를 들어, 표적 LDL-C 수준을 달성하기 위해) 투여량을 증가시켰을 때 증상이 발생하면 환자는 "스타틴 불내성" 또는 "스타틴에 불내성"이다.
- [0054] 본 개시내용에 따르면, "적어도 2개의 상이하고 별도의 스타틴의 복용과 연관된 골격근-관련 증상 이력"은 스타틴 요법 동안에 시작되거나 증가하고, 스타틴 요법이 중단되었을 때 중단되는 골격근-관련 통증, 고통, 쇠약 및/또는 경련을 포함한다.
- [0055] 본 개시내용의 문맥에서, 스타틴 불내성과 연관된 예시적인 스타틴 요법은 1일 5 mg의 로수바스타틴(rosuvastatin), 1일 10 mg의 아토르바스타틴(atorvastatin), 1일 10 mg의 심바스타틴(simvastatin), 1일 20 mg의 로바스타틴(lovastatin), 1일 40 mg의 프라파스타틴(pravastatin), 1일 40 mg의 플루바스타틴(fluvastatin) 및 1일 2 mg의 피타바스타틴(pitavastatin)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1일 치료용 스타틴 용법을 포함할 수 있다.
- [0056] **동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증을 치료하고 혈청 LDL-C 수준을 감소시키기 위한 방법**
- [0057] 특정 실시형태에 따르면, 본 개시내용의 방법에 의해 치료 가능한 환자는 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 갖는다(본원에서 종종 "고콜레스테롤혈증 환자"로서 지칭됨). 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)은 지질 저하 요법을 이용한 치료에도 불구하고 높은 LDL-콜레스테롤 수준 및 즉상 동맥 경화성 심혈관 질병을 특징으로 할 수 있다.
- [0058] 일부 실시형태에서, 환자는 유전자형 또는 임상적 기준에 기초하여 hoFH로 진단된다. 일부 실시형태에서, hoFH로 진단된 환자는 LDLR, ApoB, PCSK9 또는 LDLRAP1 유전자에서의 돌연변이에 대해 진정한 동형접합체(동일한 유전자의 대립유전자 둘 모두에서의 동일한 돌연변이(들)), 복합 이형접합체(동일한 유전자의 각각의 대립유전자에서의 상이한 돌연변이) 또는 이중 이형접합체(상이한 유전자에서의 상이한 돌연변이)인 것으로 간주되는 모든 개체를 포함한다. 일부 실시형태에서, 돌연변이는 잔류 LDLR 활성량에 기초하여 "영" 또는 "비-영"인 것으로 특징된다. 일부 실시형태에서, 환자는 (a) 동형접합 비-영/비-영; (b) 복합 이형접합 비-영-/비-영; (c) 복합 이형접합 비-영/영; 또는 (d) 동형접합 영/영을 포함하는 유전자형에 기초하여 hoFH로 진단된다. 일부 실시형태에서, "영/영" 돌연변이를 갖는 환자는 2% 미만의 잔류 LDLR 활성을 갖는다. 일부 실시형태에서, 환자는 (a) 500 mg/dL(12.93 mmol/L) 초과와 무처리 총 콜레스테롤 및 300 mg/dL(3.39 mmol/L) 미만의 트리글리세리드(TG), (b) 양쪽 부모가 250 mg/dL(6.46 mmol/L) 초과와 총 콜레스테롤 이력을 갖는 경우, 및 (c) 10세 이전의 피부

또는 힘줄 황색종을 포함하지만 이에 제한되지 않는 하나 이상의 임상적 기준에 기초하여 hoFH로 진단된다. 일부 실시형태에서, hoFH를 앓는 환자는 본원에 개시된 방법 및 조성물을 이용한 치료를 위해 선택된다.

[0059] 본 개시내용은 hoFH를 앓는 환자에서 혈청 LDL-C 수준을 감소시키기 위한 방법을 포함한다. 개체는 hoFH를 앓고 있을 수 있고, 스타틴을 이용한 치료에 불응성일 수 있고/있거나, 스타틴에 불내성일 수 있고/있거나, 스타틴 요법에 대한 유해 반응 이력을 가질 수 있다. 유사하게, 본 개시내용은 골격 근육통, 불편, 쇠약 또는 경련을 유발하지 않으면서 hoFH를 앓는 환자에서 혈청 LDL-C 수준을 감소시키기 위한 방법을 포함한다. 본 문맥에서 사용된 바와 같이, "혈청 LDL-C 수준의 감소"는 환자의 혈청 LDL-C 수준을 적어도 10%(예를 들어, 적어도 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% 또는 그 이상) 감소하도록 하는 것을 의미한다. "개체" 및 "환자"란 용어는 본원에서 상호 교환 가능하게 사용된다.

[0060] **스타틴 사용을 제거 또는 감소시키기 위한 방법**

[0061] 본 개시내용은, 그 중에서도, hoFH를 앓는 환자에서 스타틴 사용을 제거 또는 감소시키는 데 유용한 방법 및 조성물을 포함한다. 일부 실시형태에서, hoFH를 앓는 환자는 스타틴에 불응성 또는 불내성이거나, 스타틴을 이용한 치료 시에 유해 이벤트를 경험한다. 본 개시내용의 본 양태에 따른 방법은 (a) 1일 치료용 스타틴 용법 도중 이거나 이를 받았으며, 스타틴 요법에 불응성이거나, 스타틴에 불내성이거나, 스타틴 요법에 대한 유해 반응 이력을 갖는 환자를 선택하는 단계; 및 (b) 환자의 1일 치료용 스타틴 용법을 중단 또는 감소시키는 단계; 및 (c) 환자에게 PCSK9 억제제의 1회 이상의 투여량을 투여하는 단계를 포함한다. 본 개시내용의 본 양태의 특정 실시형태에 따르면, 환자의 1일 치료용 스타틴 용법은 환자에게 PCSK9 억제제의 1회 이상의 투여량을 투여하는 단계를 포함하는 치료적 치료 과정을 개시할 당시 또는 그 직전에 완전히 중단될 수 있다. 기타 실시형태에서, 환자의 1일 치료용 스타틴 용법은 환자에게 PCSK9 억제제의 1회 이상의 투여량을 투여하는 단계를 포함하는 치료적 치료 과정을 개시할 당시 또는 그 직전에 점진적으로 감소될 수 있다. 본 개시내용의 본 양태의 문맥에서, 스타틴 용법의 점진적 감소는 환자에게 투여되는 스타틴의 양을 감소시키는 단계 및/또는 환자에 대한 스타틴의 투여 빈도를 감소시키는 단계를 포함할 수 있다. 본 개시내용의 본 양태에 따르면, 스타틴 용법의 점진적 감소는 환자에 의한 스타틴 사용의 완전한 제거를 초래할 수 있는 반면, 환자는 스타틴 대신에 PCSK9 억제제를 투여받는 중이다. 이와 관련하여, 환자에 대한 스타틴의 유해 효과는, 여전히 PCSK9 억제제의 투여에 의한 환자에서의 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증의 적절한 치료를 허용하면서 환자에 의한 스타틴 사용을 감소 또는 제거함으로써 감소 또는 제거될 수 있다.

[0062] **환자 선별**

[0063] 그 중에서도, 본 개시내용은 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(heFH)을 앓는 환자를 치료하는 데 유용한 방법 및 조성물을 포함하며, 이때 환자는, 예를 들어 "스타틴에 불응성"이고/있거나, "스타틴에 불내성"이고/있거나, 스타틴을 이용한 치료(본원의 다른 부분에 정의된 바와 같음) 시에 유해 반응을 경험한 환자를 포함한다. 본 개시내용의 방법에 의해 치료 가능한 환자는 또한 하나 이상의 추가적인 선택 기준을 나타낼 수 있다. 예를 들어, 환자는 중등의, 높은 또는 매우 높은 CV 위험성을 갖는 것에 기초하여 본 개시내용의 방법을 이용한 치료를 위해 선택될 수 있다. CV 위험성의 정도는, 문헌[ESC/EAS Guidelines for the Management of Dislipidaemias, European Heart Journal, 2100; 32: 1769~1818](본원에서 "ESC/EAS 2011"로도 지칭됨)에 기술된 바와 같이, 유럽 심장 학회(ESC) 및 유럽 죽상 동맥 경화 학회(EAS)의 이상 지질 혈증 관리 전담반(Task Force for the Management of Dislipidaemias)에 의해 정의된 바와 같이 계산된 10년간 치명적 심혈관 질병(CVD) 위험성 점수 값의 측면에서 평가되고 표시될 수 있으며, 이의 개시내용은 본원에 그 전체가 참고로 포함된다.

[0064] 본원에서 사용된 바와 같이, "중등 CV 위험성"은 1% 이상 및 5% 미만의 계산된 10년간 치명적 CVD 위험성 점수를 의미한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "높은 CV 위험성"은 5% 이상의 계산된 10년간 치명적 CVD 위험성 점수 및/또는 중등 신장 질병(CKD) 및/또는 표적 장기의 손상이 없는 1형 또는 2형 진성 당뇨병 및/또는 heFH를 의미한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "매우 높은 CV 위험성"은 문서로 기록된 관상동맥성 심장 질병(CHD), 허혈성 뇌졸중, 말초 동맥 질병(PAD), 일과성 허혈 발작(TIA), 복부 대동맥류, 증상이 없는 50% 초과 경동맥 폐색, 경동맥 내막절제술 또는 경동맥 스텐트 시술, 신장 동맥 협착, 신장 동맥 스텐트 시술 및/또는 표적 장기의 손상이 있는 1형 또는 2형 진성 당뇨병 이력을 의미한다.

[0065] 특정 실시형태에 따르면, 환자는 관상동맥성 심장 질병(CHD) 이력을 갖는 것에 기초하여 선택될 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, "CHD 이력"(또는 "문서로 기록된 CHD 이력")은 (i) 급성 심근경색(MI); (ii) 무증상 MI; (iii) 불안정 협심증; (iv) 관상동맥 재개 시술(예를 들어, 경피적 관상동맥 중재[PCI] 또는 관상동맥 우회 이식 수술[CABG]); 및/또는 (v) 침습적 또는 비-침습적 시험(예를 들어, 관상동맥 조영술, 트레드밀(treadmil

1)을 사용한 부하 시험, 부하 심초음파술 또는 핵 영상화)에 의해 진단된 임상적으로 유의한 CHD 중 하나 이상을 포함한다.

[0066] 특정 실시형태에 따르면, 환자는 연령(예를 들어, 40세, 45세, 50세, 55세, 60세, 65세, 70세, 75세 또는 80세 이상), 인종, 국적, 성별(남성 또는 여성), 운동 습관(예를 들어, 정기적으로 운동을 하는 사람이거나 그렇지 않은 사람), 기타 기존의 건강 상태(예를 들어, 2형 당뇨병, 고혈압 등) 및 현재 투약 상태(예를 들어, 현재 베타 차단제, 니아신, 에제티미브, 피브레이트, 오메가-3 지방산, 담즙산 수지 등의 섭취)로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 추가적인 위험 인자를 갖는 것에 기초하여 선택될 수 있다.

[0067] 그 중에서도, 본 개시내용은 hoFH를 앓고 있고, 최대 내약성 스타틴 요법을 이용한 치료를 받는 중인 환자를 치료하기 위한 방법 및 조성물을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본원에서 사용된 바와 같이, "최대 내약성 스타틴 요법" 또는 "스타틴 요법의 최대 내약성 투여량"은 환자에서 허용 불가능한 유해 부작용을 야기하지 않으면서 특정 환자에 투여될 수 있는 스타틴의 최고 투여량인 스타틴의 1일 투여량을 포함하는 치료 용법을 의미하도록 상호 교환 가능하게 사용된다. 최대 내약성 스타틴 요법은 고강도 스타틴 요법을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0068] 본원에서 사용된 바와 같이, "최대 내약성 지질 조절 요법" 또는 "최대 내약성 LMT"는 환자에서 허용 불가능한 유해 부작용을 초래하지 않으면서 특정 환자에 투여될 수 있는 지질 조절 요법(LMT)의 최고 투여량인 LMT의 1일, 매주 또는 매월 투여량을 투여하는 단계를 포함하는 치료 용법을 의미하도록 상호 교환 가능하게 사용된다. 최대 내약성 LMT는 고강도 스타틴 요법, 에제티미브, 피브레이트, 담즙산 제거제, 콜레스테롤 흡수 억제제, 니코틴산 또는 유도체, 오메가 3 지방산, 프로부콜(probuco1), 로미타피드 및 미포메르센을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0069] 본원에서 사용된 바와 같이, "조기 심혈관 질병"이란 용어는 50세의 연령 이전에 환자에서의 심혈관 질병을 지칭한다.

[0070] 치료 효능

[0071] 본 개시내용의 방법은 LDL-C, ApoB, 비-HDL-C, 총 콜레스테롤(TC), 트리글리세리드(TG), Lp(a) 및/또는 잔여 콜레스테롤로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 지질 성분의 혈청 수준의 감소를 초래한다. 예를 들어, 본 개시내용의 특정 실시형태에 따르면 hoFH를 앓는 환자에게 PCSK9 억제제를 포함하는 약학 조성물을 투여하면, 결과적으로 기준선으로부터의 혈청 저밀도 지질단백질 콜레스테롤(LDL-C)의 적어도 약 25%, 30%, 40%, 45%, 50%, 60% 또는 그 이상의 평균 감소율(%); 기준선으로부터의 ApoB의 적어도 약 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60% 또는 그 이상의 평균 감소율(%); 기준선으로부터의 비-HDL-C의 적어도 약 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60% 또는 그 이상의 평균 감소율(%); 기준선으로부터의 총 콜레스테롤의 적어도 약 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35% 또는 그 이상의 평균 감소율(%); 기준선으로부터의 트리글리세리드(예를 들어, 공복 트리글리세리드)의 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35% 또는 그 이상의 평균 감소율(%); 및/또는 기준선으로부터의 Lp(a)의 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30% 또는 그 이상의 평균 감소율(%)이 될 것이다. 상기에 기술된 바와 같이 다양한 지질 파라미터의 감소율(%)은 본원에 개시된 바와 같은 PCSK9 억제제의 투여를 포함하는 치료 용법(예를 들어, 2주마다 1회 투여되는 150 mg의 mAb316P 또는 기타 유사한 투여 용법; 예를 들어, 본원의 실시예 2 참조)의 개시 후 1주, 2주, 3주, 4주, 5주, 6주, 7주, 8주, 9주, 10주, 11주, 12주, 14주, 16주, 18주, 20주, 22주, 24주, 26주, 28주, 30주 또는 그 이상의 주에 달성될 수 있다.

[0072] 특정 구체적인 실시형태에 따르면, 본 개시내용은 hoFH를 앓는 환자에서 혈청 LDL-C 수준을 감소시키기 위한 방법을 포함한다. 일부 실시형태에서, hoFH를 앓는 환자는 스타틴에 불응성이거나, 스타틴에 불내성이거나, 스타틴 요법에 대한 유해 반응 이력을 갖는다. 추가적인 실시형태에 따르면, 본 개시내용은 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증(hoFH)을 앓는 환자에서 죽상 동맥 경화증을 치료하고/하거나, 이의 발병을 지연시키고/시키거나, 이의 발생 위험성을 감소시키기 위한 방법을 포함한다. 일부 실시형태에서, hoFH를 앓는 환자는 스타틴을 이용한 치료에 불응성이거나, 스타틴에 불내성이거나, 스타틴 요법에 대한 유해 반응 이력을 갖는다. 본 개시내용의 본 양태에 따른 방법은 (a) 스타틴에 불응성이거나, 스타틴에 불내성이거나, 스타틴 요법에 대한 유해 반응 이력을 갖는, 중등의, 높은 또는 매우 높은 심혈관 위험성을 갖는 환자를 선택하는 단계; 및 (b) 환자에게 투여 당 약 150 mg의 투여량 및 2주마다 약 1회의 투여 빈도로 항-PCSK9 항체의 1회 이상의 투여량을 투여하는 단계를 포함한다. 본원에 기술된 방법의 추가의 실시형태에서, 항-PCSK9 항체를 이용한 치료 약 12주 후, 환자는 기준선으로부터의 LDL-C 수준의 약 35% 감소, 기준선으로부터의 비-HDL-C 수준의 약 33% 감소, 기준선으로부터의 Apo B 수준의 약 30% 감소, 기준선으로부터의 총 콜레스테롤 수준의 약 27% 감소, 기준선으로부터의 (공복) 트리글리

세리드 수준의 약 11% 감소 및/또는 기준선으로부터의 Lp(a) 수준의 약 28% 감소로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 지질 파라미터 개선을 나타낸다. 본 개시내용의 본 양태에 따른 방법은 항-PCSK9 항체를 이용한 치료의 개시 이전 또는 이와 동시에 환자의 배경 스타틴 요법을 중단하는 단계를 포함할 수 있다.

[0073] **PCSK9 억제제**

[0074] 본 개시내용의 방법은 환자에게 PCSK9 억제제를 포함하는 치료용 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "PCSK9 억제제"는 인간 PCSK9와 결합하거나 상호작용하며, 시험관 내 또는 생체 내에서 PCSK9의 정상적인 생물학적 기능을 억제하는 임의의 약제이다. PCSK9 억제제 범주의 비제한적인 예로는 소분자 PCSK9 길항제, 펩타이드계 PCSK9 길항제(예를 들어, "펩티바디(peptibody)" 분자) 및 인간 PCSK9와 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체의 항원 결합 단편을 들 수 있다.

[0075] 본원에서 사용된 바와 같이, "인간 프로단백질 전환효소 서브틸리신/켁신 9형" 또는 "인간 PCSK9" 또는 "hPCSK9"란 용어는 서열 번호 197에 나타나 있는 핵산 서열에 의해 암호화되고 서열 번호 198의 아미노산 서열을 포함하는 PCSK9 또는 이의 생물학적 활성 단편을 지칭한다.

[0076] 본원에서 사용된 바와 같이, "항체"란 용어는 이화화 결합에 의해 상호 연결된 4개의 폴리펩타이드 사슬(2개의 중쇄(H) 및 2개의 경쇄(L))를 포함하는 면역글로불린 분자 및 이의 다합체(예를 들어, IgM)를 지칭하기 위한 것이다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역(본원에서 HCVR 또는 V_H 로 약칭됨) 및 중쇄 불변 영역을 포함한다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인, 즉 C_H1 , C_H2 및 C_H3 을 포함한다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역(본원에서 LCVR 또는 V_L 로 약칭됨) 및 경쇄 불변 영역을 포함한다. 경쇄 불변 영역은 하나의 도메인(C_L1)을 포함한다. V_H 및 V_L 영역은 보다 보존된 영역(골격 영역으로 지칭됨)이 혼재된 추가변성 영역(상보성 결정 영역(CDR)으로 지칭됨)으로 추가로 세분화될 수 있다. 각각의 V_H 및 V_L 은 아미노 말단에서 카르복시 말단까지 하기 순서로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 본 개시내용의 상이한 실시형태에서, 항-PCSK9 항체(또는 이의 항원 결합 부위)의 FR은 인간 생식계 서열과 동일할 수 있거나, 자연적으로 또는 인공적으로 변형될 수 있다. 아미노산 공통 서열은 2개 이상의 CDR에 대한 병렬식 분석(side-by-side analysis)에 기초하여 정의될 수 있다.

[0077] 본원에서 사용된 바와 같이, "항체"란 용어는 또한 전체 항체 분자의 항원 결합 단편을 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같이, 항체의 "항원 결합 부위", 항체의 "항원 결합 단편"이란 용어 등은 항원과 특이적으로 결합하여 복합체를 형성하는, 임의의 자연적으로 발생하거나, 효소적으로 수득 가능하거나, 합성적이거나, 유전적으로 조작된 폴리펩타이드 또는 당단백질을 포함한다. 항체의 항원 결합 단편은, 예를 들어 항체 가변 도메인 및 선택적으로 불변 도메인을 암호화하는 DNA의 조작 및 발현을 수반하는 단백질 가수분해 소화 또는 재조합 유전 공학 기법과 같은 임의의 적합한 표준 기법을 사용하여 전체 항체 분자로부터 유래할 수 있다. 이 같은 DNA는 알려져 있고/있거나, 예를 들어 상업적 공급원, DNA 라이브러리(예를 들어, 파지-항체 라이브러리를 포함함)로부터 용이하게 이용 가능하거나 합성될 수 있다. DNA는, 예를 들어 하나 이상의 가변 및/또는 불변 도메인을 적합한 구성 내로 정렬하거나, 코돈을 도입하고, 시스테인 잔기를 생성하고, 아미노산을 변형, 부가 또는 결실시키기 위해 화학적으로 또는 분자 생물학 기법을 사용함으로써 서열분석 및 조작될 수 있다.

[0078] 항원 결합 단편의 비제한적인 예로는 (i) Fab 단편; (ii) F(ab')₂ 단편; (iii) Fd 단편; (iv) Fv 단편; (v) 단쇄 Fv(scFv) 분자; (vi) dAb 단편; 및 (vii) 항체(예를 들어, CDR3 펩타이드와 같은 단리된 상보성 결정 영역(CDR)) 또는 구속성 FR3-CDR3-FR4 펩타이드의 추가변 영역을 모방하는 아미노산 잔기로 이루어져 있는 최소 인식 단위를 들 수 있다. 도메인-특이적 항체, 단일 도메인 항체, 도메인-결실된 항체, 키메라 항체, CDR-이식된 항체, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, 미니바디, 나노바디(예를 들어, 1가 나노바디, 2가 나노바디 등), 소형 모듈식 면역약제(SMIP) 및 상어 가변 IgNAR 도메인과 같은 기타 조작된 분자는 본원에서 사용된 바와 같이 "항원 결합 단편"이란 표현 내에 또한 포함된다.

[0079] 항체의 항원 결합 단편은 전형적으로 적어도 하나의 가변 도메인을 포함할 것이다. 가변 도메인은 임의의 크기 또는 아미노산 조성을 가질 수 있으며, 일반적으로 하나 이상의 골격 서열에 인접하거나 이와 같은 프레임 내에 있는 적어도 하나의 CDR을 포함할 것이다. V_L 도메인과 연관이 있는 V_H 도메인을 갖는 항원 결합 단편에서, V_H 및 V_L 도메인은 임의의 적합한 배열로 서로에 대해 위치할 수 있다. 예를 들어, 가변 영역은 이량체성일 수 있으며, V_H - V_H , V_H - V_L 또는 V_L - V_L 이량체를 함유할 수 있다. 대안적으로, 항체의 항원 결합 단편은 단량체성 V_H 또는

V_L 도메인을 함유할 수 있다.

- [0080] 특정 실시형태에서, 항체의 항원 결합 단편은 적어도 하나의 불변 도메인에 공유 결합된 적어도 하나의 가변 도메인을 함유할 수 있다. 본 개시내용의 항체의 항원 결합 단편 내에서 발견될 수 있는 가변 및 불변 도메인의 비제한적이고 예시적인 구성으로는 (i) V_H-C_H1 ; (ii) V_H-C_H2 ; (iii) V_H-C_H3 ; (iv) $V_H-C_H1-C_H2$; (v) $V_H-C_H1-C_H2-C_H3$; (vi) $V_H-C_H2-C_H3$; (vii) V_H-C_L ; (viii) V_L-C_H1 ; (ix) V_L-C_H2 ; (x) V_L-C_H3 ; (xi) $V_L-C_H1-C_H2$; (xii) $V_L-C_H1-C_H2-C_H3$; (xiii) $V_L-C_H2-C_H3$; 및 (xiv) V_L-C_L 을 들 수 있다. 상기에 나열된 예시적인 구성 중 임의의 것을 포함하는 가변 및 불변 도메인의 임의의 구성에서, 가변 및 불변 도메인은 서로 직접 연결될 수 있거나, 전체 또는 부분 힌지 또는 링커 영역에 의해 연결될 수 있다. 힌지 영역은 단일 폴리펩타이드 분자 내의 인접한 가변 및/또는 불변 도메인들 사이의 가요성 또는 반가요성 연결을 초래하는 적어도 2개(예를 들어, 5개, 10개, 15개, 20개, 40개, 60개 또는 그 이상)의 아미노산으로 이루어져 있을 수 있다. 게다가, 본 개시내용의 항체의 항원 결합 단편은 (예를 들어, 이황화 결합(들)에 의해) 서로에 대해 및/또는 하나 이상의 단량체성 V_H 또는 V_L 도메인과의 비공유 결합에서 상기에 나열된 가변 및 불변 도메인 구성 중 임의의 것의 동종 이량체 또는 이종 이량체(또는 기타 다량체)를 포함할 수 있다.
- [0081] 전체 항체 분자와 같이, 항원 결합 단편은 단일 특이적 또는 다중 특이적(예를 들어, 이종 특이적)일 수 있다. 항체의 다중 특이적 항원 결합 단편은 전형적으로 적어도 2개의 상이한 가변 도메인을 포함할 것이며, 이때 각각의 가변 도메인은 별개의 항원에 특이적으로 결합하거나 동일한 항원 상의 상이한 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있다. 본원에 개시된 예시적인 이종 특이적 항체 형식을 비롯한 임의의 다중 특이적 항체 형식은 당해 기술분야에서 이용 가능한 통상의 기법을 사용하여 본 개시내용의 항체의 항원 결합 단편의 문맥에서의 사용에 적합할 수 있다.
- [0082] 항체의 불변 영역은 보체를 고정하고 세포 의존성 세포 독성을 매개하는 항체의 능력에서 중요하다. 따라서, 항체의 동형은 항체가 세포 독성을 매개하는 것이 바람직한지의 여부에 기초하여 선택될 수 있다.
- [0083] 본원에서 사용된 바와 같이, "인간 항체"란 용어는 인간 생식계 면역글로불린 서열에서 유래하는 가변 및 불변 영역을 갖는 항체를 포함하도록 의도된다. 그럼에도 불구하고, 본 개시내용의 인간 항체는, 예를 들어 CDR 및 특히 CDR3 내에서 인간 생식계 면역글로불린 서열에 의해 암호화되지 않은 아미노산 잔기(예를 들어, 시험관 내에서 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이 유발에 의해 도입되거나, 생체 내에서 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를 포함할 수 있다. 그러나, 본원에서 사용된 바와 같이, "인간 항체"란 용어는 마우스와 같은 다른 포유동물 종의 생식계에서 유래하는 CDR 서열이 인간 골격 서열 상에 이식된 항체를 포함하도록 의도되지는 않는다.
- [0084] 본원에서 사용된 바와 같이, "재조합 인간 항체"란 용어는 숙주 세포(하기에 추가로 기술됨) 내로 형질 감염된 재조합 발현 벡터를 이용하여 발현된 항체, 재조합의 조합인간 항체 라이브러리(하기에 추가로 기술됨)로부터 단리된 항체, 인간 면역글로불린 유전자에 형질 전환된 동물(예를 들어, 마우스)로부터 단리된 항체(예를 들어, 문헌[Taylor *et al.* (1992) Nucl. Acids Res. 20: 6287-6295] 참조)와 같은 재조합 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리되는 모든 인간 항체, 또는 인간 면역글로불린 유전자 서열을 기타 DNA 서열로 스플라이싱(splicing)하는 단계를 수반하는 임의의 기타 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 항체를 포함하도록 의도된다. 이 같은 재조합 인간 항체는 인간 생식계 면역글로불린 서열에서 유래하는 가변 및 불변 영역을 갖는다. 그러나, 특정 실시형태에서 이 같은 재조합 인간 항체에는 시험관 내 돌연변이 유발(또는 인간 Ig 서열에 대해 형질 전환된 동물이 사용되는 경우에 생체 내 체세포 돌연변이 유발)이 적용되며, 따라서 재조합 항체의 V_H 및 V_L 영역의 아미노산 서열은 인간 생식계 V_H 및 V_L 서열에서 유래하고 이와 관련이 있지만 생체 내에서 인간 항체 생식계 목록 내에 자연적으로는 존재하지 않을 수 있는 서열이다.
- [0085] 인간 항체는 힌지 이종성과 연관이 있는 2개의 형태로 존재할 수 있다. 하나의 형태에서, 면역글로불린 분자는 이량체가 사슬간 중쇄 이황화 결합에 의해 함께 유지되는 대략 150 kDa 내지 160 kDa의 안정한 4개 사슬 구조체를 포함한다. 제2 형태에서, 이량체는 사슬간 이황화 결합을 통해 연결되지 않으며, 공유 결합된 경쇄 및 중쇄(반항체(half-antibody))로 구성된 약 75 kDa 내지 80 kDa의 분자가 형성된다. 이들 형태는 친화성 정제 이후에도 분리하는 것이 극도로 어렵다.
- [0086] 다양하고 온전한 IgG 동형에서의 제2 형태의 출현 빈도는 항체의 힌지 영역 동형과 연관된 구조적 차이에 기인하지만, 이에 제한되지 않는다. 인간 IgG4 힌지의 힌지 영역에서의 단일 아미노산 치환은 인간 IgG1 힌지를 사

용하여 전형적으로 관찰되는 수준까지 제2 형태의 출현을 상당히 감소시킬 수 있다(문헌[Angal *et al.* (1993) *Molecular Immunology* 30: 105]). 본 개시내용은, 예를 들어 생성 시 목적하는 항체 형태의 수율을 개선시키는 데 바람직할 수 있는 힌지, C_H2 또는 C_H3 영역에서 하나 이상의 돌연변이를 갖는 항체를 포함한다.

[0087] 본원에서 사용된 바와 같이, "단리된 항체"는 이의 천연 환경의 적어도 하나의 성분으로부터 확인되고 분리 및/또는 회수된 항체를 의미한다. 예를 들어, 항체가 자연적으로 존재하거나, 자연적으로 생산되는 유기체의 적어도 하나의 성분으로부터, 또는 조직 또는 세포로부터 분리 또는 제거된 항체는 본 개시내용의 목적을 위한 "단리된 항체"이다. 단리된 항체는 또한 재조합 세포 내의 원 위치에 항체를 포함한다. 단리된 항체는 적어도 하나의 정제 또는 단리 단계가 적용된 항체이다. 특정 실시형태에 따르면, 단리된 항체에는 기타 세포 물질 및/또는 화학물질이 실질적으로 없을 수 있다.

[0088] "특이적으로 결합하는"이란 용어 등은 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 생리적 조건 하에 비교적 안정한 항원과 복합체를 형성한다는 것을 의미한다. 항체가 항원에 특이적으로 결합하는지의 여부를 결정하기 위한 방법은 당해 기술분야에 잘 알려져 있으며, 예를 들어 평형 투석, 표면 플라즈몬 공명 등을 포함한다. 예를 들어, 본 개시내용의 문맥에서 사용된 바와 같이, PCSK9와 "특이적으로 결합하는" 항체는 표면 플라즈몬 공명 검정으로 측정할 때 약 1,000 nM 미만, 약 500 nM 미만, 약 300 nM 미만, 약 200 nM 미만, 약 100 nM 미만, 약 90 nM 미만, 약 80 nM 미만, 약 70 nM 미만, 약 60 nM 미만, 약 50 nM 미만, 약 40 nM 미만, 약 30 nM 미만, 약 20 nM 미만, 약 10 nM 미만, 약 5 nM 미만, 약 4 nM 미만, 약 3 nM 미만, 약 2 nM 미만, 약 1 nM 미만 또는 약 0.5 nM 미만의 K_D를 갖는 PCSK9 또는 이의 부분과 결합하는 항체를 포함한다. 그러나, 인간 PCSK9와 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 기타 (비인간) 종에서 유래한 PCSK9 분자와 같은 기타 항원과 교차-반응성을 갖는다.

[0089] 본 개시내용의 방법에 유용한 항-PCSK9 항체는 항체가 유래하는 상응하는 생식계 서열과 비교할 때 중쇄 및 경쇄 가변 도메인의 골격 및/또는 CDR 영역에서의 하나 이상의 아미노산의 치환, 삽입 및/또는 결실을 포함할 수 있다. 이 같은 돌연변이는 본원에 개시된 아미노산 서열을, 예를 들어 공용 항체 서열 데이터베이스로부터 입수 가능한 생식계 서열과 비교함으로써 용이하게 확인될 수 있다. 본 개시내용은 본원에 개시된 아미노산 서열 중 임의의 것으로부터 유래하는 항체 및 이의 항원 결합 단편의 사용을 수반하는 방법을 포함하며, 이때 하나 이상의 골격 및/또는 CDR 영역 내의 하나 이상의 아미노산은 항체가 유래하는 생식계 서열의 상응하는 잔기(들), 또는 다른 인간 생식계 서열의 상응하는 잔기(들), 또는 상응하는 생식계 잔기(들)의 보존적 아미노산 치환(이 같은 서열 변화는 본원에서 전체로서 "생식계 돌연변이"로 지칭됨)으로 돌연변이된다. 당업자라면 본원에 개시된 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열로 시작하여 하나 이상의 개별 생식계 돌연변이 또는 이의 조합을 포함하는 수많은 항체 및 항원 결합 단편을 용이하게 생산할 수 있다. 특정 실시형태에서, V_H 및/또는 V_L 도메인 내의 골격 및/또는 CDR 잔기 모두는 항체가 유래하는 원래의 생식계 서열에서 발견되는 잔기로 역돌연변이된다. 기타 실시형태에서는, 특정 잔기만이, 예를 들어, FR1의 처음 8개의 아미노산 또는 FR4의 마지막 8개의 아미노산 내에서 발견되는 돌연변이된 잔기만이, 또는 CDR1, CDR2 또는 CDR3 내에서 발견되는 돌연변이된 잔기만이 원래의 생식계 서열로 역돌연변이된다. 기타 실시형태에서, 골격 및/또는 CDR 잔기(들) 중 하나 이상은 상이한 생식계 서열(즉, 항체가 원래 유래하는 생식계 서열과 상이한 생식계 서열)의 상응하는 잔기(들)로 돌연변이된다. 추가로, 본 개시내용의 항체는 골격 및/또는 CDR 영역 내의 2개 이상의 생식계 돌연변이의 임의의 조합을 포함할 수 있으며, 예를 들어 이때 특정 개별 잔기는 특정 생식계 서열의 상응하는 잔기로 돌연변이되는 반면, 원래 생식계 서열과 상이한 특정 기타 잔기는 유지되거나, 상이한 생식계 서열의 상응하는 잔기로 돌연변이된다. 하나 이상의 생식계 돌연변이를 포함하는 항체 및 항원 결합 단편은 일단 수득되면 하나 이상의 목적하는 특성, 예를 들어 개선된 결합 특이성, 증가된 결합 친화성, 개선 또는 향상된 길항적 또는 작용적 생물학 특성(경우에 따라), 감소된 면역원성 등에 대해 용이하게 시험될 수 있다. 이러한 일반적 방식으로 수득되는 항체 및 항원 결합 단편의 용도는 본 개시내용에 포함된다.

[0090] 또한, 본 개시내용은 하나 이상의 보존적 치환을 갖는 본원에 개시된 HCVR, LCVR 및/또는 CDR 아미노산 서열 중 임의의 것의 변이체를 포함하는 항-PCSK9 항체의 사용을 수반하는 방법을 포함한다. 예를 들어, 본 개시내용은 본원에 개시된 HCVR, LCVR 및/또는 CDR 아미노산 서열 중 임의의 것에 비해, 예를 들어 10개 이하, 8개 이하, 6개 이하, 4개 이하 등의 보존적 아미노산 치환을 갖는 HCVR, LCVR 및/또는 CDR 아미노산 서열을 갖는 항-PCSK9 항체의 용도를 포함한다.

[0091] 본원에서 사용된 바와 같이, "표면 플라즈몬 공명"이란 용어는, 예를 들어 BIAcore™ 시스템(뉴저지주 피스카타웨이 소재의 GE 헬스케어(GE Healthcare)의 비아코어 라이프 사이언스즈(Biacore Life Sciences) 분과)을 사용하여 바이오센서 매트릭스 내 단백질 농도의 변경을 검출함으로써 실시간 상호작용의 분석을 가능케 하는 광학

현상을 지칭한다.

- [0092] 본원에서 사용된 바와 같이, "K_D"란 용어는 특정 항체-항원 상호작용의 평형 해리 상수를 지칭하도록 의도된다.
- [0093] "에피토프"란 용어는 파라토프(paratope)로서 알려져 있는 항체 분자의 가변 영역 내의 구체적인 항원 결합 부위와 상호작용하는 항원 결정기를 지칭한다. 단일의 항원은 하나 초과와 에피토프를 가질 수 있다. 따라서, 상이한 항체는 항원의 상이한 영역에 결합할 수 있고, 상이한 생물학적 효과를 가질 수 있다. 에피토프는 입체형 또는 선형 중 하나일 수 있다. 입체형 에피토프는 선형 폴리펩티드 사슬의 상이한 분절로부터 공간적으로 병치된 아미노산에 의해 생성된다. 선형 에피토프는 폴리펩티드 사슬 내의 인접한 아미노산 잔기에 의해 생성되는 것이다. 특정 상황에서, 에피토프는 항원 상의 당류, 포스포릴기 또는 설포닐기의 모이어티를 포함할 수 있다.
- [0094] 특정 실시형태에 따르면, 본 개시내용의 방법에 사용되는 항-PCSK9 항체는 pH-의존적 결합 특징을 갖는 항체이다. 본원에서 사용된 바와 같이, "pH-의존적 결합"이란 표현은 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 "중성 pH와 비교할 때 산성 pH에서의 PCSK9에 대한 감소된 결합"을 나타낸다는 것을 의미한다(본 개시내용의 목적을 위해, 이 표현 둘 모두는 상호교환 가능하게 사용될 수 있음). 예를 들어, "pH-의존적 결합 특징"을 갖는 항체는 산성 pH보다 중성 pH에서 더 큰 친화성으로 PCSK9와 결합하는 항체 및 이의 항원 결합 단편을 포함한다. 특정 실시형태에서, 본 개시내용의 항체 및 항원 결합 단편은 산성 pH보다 중성 pH에서 적어도 3배, 5배, 10배, 15배, 20배, 25배, 30배, 35배, 40배, 45배, 50배, 55배, 60배, 65배, 70배, 75배, 80배, 85배, 90배, 95배, 100배 또는 그 이상 배수의 친화성으로 PCSK9와 결합한다.
- [0095] 본 개시내용의 본 양태에 따르면, pH-의존적 결합 특징을 갖는 항-PCSK9 항체는 모체 항-PCSK9 항체에 비해 하나 이상의 아미노산 변경을 가질 수 있다. 예를 들어, pH-의존적 결합 특징을 갖는 항-PCSK9 항체는, 예를 들어 모체 항-PCSK9 항체의 하나 이상의 CDR에서 하나 이상의 히스티딘 치환 또는 삽입을 포함할 수 있다. 따라서, 본 개시내용의 특정 실시형태에 따르면, 모체 항체의 하나 이상의 CDR의 하나 이상의 아미노산이 히스티딘 잔기로 치환된 것을 제외하고, 모체 항-PCSK9 항체의 CDR 아미노산 서열과 동일한 CDR 아미노산 서열(예를 들어, 중쇄 및 경쇄 CDR)을 포함하는 항-PCSK9 항체를 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. pH-의존적 결합을 갖는 항-PCSK9 항체는 모체 항체의 단일의 CDR 내에 또는 모체 항-PCSK9 항체의 다수(예를 들어, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개)의 CDR의 도처에 분포된, 예를 들어 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개 또는 그 이상의 히스티딘 치환을 가질 수 있다. 예를 들어, 본 개시내용은 모체 항-PCSK9 항체의 HCDR1 내의 하나 이상의 히스티딘 치환, HCDR2 내의 하나 이상의 히스티딘 치환, HCDR3 내의 하나 이상의 히스티딘 치환, LCDR1 내의 하나 이상의 히스티딘 치환, LCDR2 내의 하나 이상의 히스티딘 치환 및/또는 LCDR3 내의 하나 이상의 히스티딘 치환을 포함하는, pH-의존적 결합을 갖는 항-PCSK9 항체의 용도를 포함한다.
- [0096] 본원에서 사용된 바와 같이, "산성 pH"란 표현은 pH 6.0 이하(예를 들어, 약 pH 6.0 미만, 약 pH 5.5 미만, 약 pH 5.0 미만 등)의 pH를 의미한다. "산성 pH"란 용어는 약 pH 6.0, pH 5.95, pH 5.90, pH 5.85, pH 5.8, pH 5.75, pH 5.7, pH 5.65, pH 5.6, pH 5.55, pH 5.5, pH 5.45, pH 5.4, pH 5.35, pH 5.3, pH 5.25, pH 5.2, pH 5.15, pH 5.1, pH 5.05, pH 5.0 또는 그 이하의 pH 값을 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "중성 pH"란 표현은 약 pH 7.0 내지 약 pH 7.4의 pH를 의미한다. "중성 pH"란 표현은 약 pH 7.0, pH 7.05, pH 7.1, pH 7.15, pH 7.2, pH 7.25, pH 7.3, pH 7.35 및 pH 7.4의 pH 값을 포함한다.
- [0097] 본 개시내용은 본원에 기술된 특정 예시적인 항체 중 임의의 것으로서 동일한 에피토프에 결합하는 항-PCSK9 항체를 포함한다. 마찬가지로, 본 발명은 또한 본원에 기술된 특정 예시적인 항체 중 임의의 것과 PCSK9 또는 PCSK9 단편에 대한 결합을 위해 경쟁하는 항-PCSK9 항체를 포함한다.
- [0098] 본원에는 서열 번호 2, 서열 번호 3, 서열 번호 4, 서열 번호 7, 서열 번호 8 및 서열 번호 10을 갖는 중쇄 및 경쇄 CDR 아미노산 서열을 포함하는 항체로서 PCSK9 상의 동일한 에피토프에 결합하는 항-PCSK9 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 개시되어 있다. 본원에는 또한 서열 번호 2, 서열 번호 3, 서열 번호 4, 서열 번호 7, 서열 번호 8 및 서열 번호 10을 갖는 중쇄 및 경쇄 CDR 아미노산 서열을 포함하는 항체와 PCSK9에 대한 결합을 위해 경쟁하는 항-PCSK9 항체 또는 이의 항원 결합 단편이 개시되어 있다.
- [0099] 당업자라면 항체가 당해 기술분야에 알려져 있는 통상의 방법을 사용함으로써 기준 항-PCSK9 항체로서 동일한 에피토프에 결합하는지 또는 기준 항-PCSK9 항체와의 결합을 위해 경쟁하는지 여부를 용이하게 결정할 수 있다. 예를 들어, 시험 항체가 본 발명의 기준 항-PCSK9 항체로서 동일한 에피토프에 결합하는지를 결정하기 위해, 기준 항체는 포화 조건 하에 PCSK9 단백질 또는 펩타이드에 결합하도록 한다. 이어, PCSK9 분자에 결합하는 시험 항체의 능력을 평가한다. 시험 항체가 기준 항-PCSK9 항체와의 포화 결합 이후에 PCSK9에 결합할 수 있으면, 시

험 항체는 기준 항-PCSK9 항체보다 상이한 에피토프에 결합한다는 결론을 내릴 수 있다. 반면, 시험 항체가 기준 항-PCSK9 항체와의 포화 결합 이후에 PCSK9 분자와 결합할 수 없다면, 시험 항체는 본원에 기술된 기준 항-PCSK9 항체에 의해 결합된 에피토프와 동일한 에피토프에 결합할 수 있다.

[0100] 항체가 기준 항-PCSK9 항체와 결합을 위해 경쟁하는지를 결정하기 위해, 상술한 결합 방법은 2가지 방향으로 수행된다: 제1 방향에서, 기준 항체를 포화 조건 하에 PCSK9 분자에 결합하도록 한 후, PCSK9 분자에 대한 시험 항체의 결합을 평가한다. 제2 방향에서, 시험 항체를 포화 조건 하에 PCSK9 분자에 결합하도록 한 후, PCSK9 분자에 대한 기준 항체의 결합을 평가한다. 양 방향에서, 제1 (포화) 항체만이 PCSK9 분자에 결합할 수 있으면, 시험 항체 및 기준 항체는 PCSK9에 대한 결합을 위해 경쟁한다는 결론을 내렸다. 당업자에 의해 인지되는 바와 같이, 기준 항체와 결합을 위해 경쟁하는 항체는 기준 항체와 동일한 에피토프에 반드시 결합하는 것은 아닐 수 있지만, 중첩되거나 인접한 에피토프와 결합함으로써 기준 항체의 결합을 입체적으로 방해할 수 있다.

[0101] 2개의 항체 각각이 항원에 대한 다른 항체의 결합을 경쟁적으로 억제(차단)하면 항체 둘 모두는 동일하거나 중첩된 에피토프에 결합한다. 즉, 경쟁적 결합 검정으로 측정할 때, 1배, 5배, 10배, 20배 또는 100배 과량의 하나의 항체는 다른 항체의 결합을 적어도 50% 억제하고, 바람직하게는 75%, 90% 또는 심지어 99% 억제한다(예를 들어, 문헌[Junghans *et al.*, Cancer Res, 1990:50: 1495~1502] 참조). 대안적으로, 2개의 항체는, 하나의 항체의 결합을 감소 또는 제거하는 항원에서의 본질적으로 모든 아미노산 돌연변이가 다른 항체의 결합을 감소 또는 제거하면 동일한 에피토프를 갖는다. 2개의 항체는, 하나의 항체의 결합을 감소 또는 제거하는 일부 아미노산 돌연변이가 다른 항체의 결합을 감소 또는 제거하면 중첩된 에피토프를 갖는다.

[0102] 이어서, 추가적인 통상의 실험(예를 들어, 펩타이드 돌연변이 및 결합 분석)은, 시험 항체의 관찰된 결합 부족이 사실상 기준 항체와 동일한 에피토프에 대한 결합에 기인하는지 또는 입체적 차단(또는 다른 현상)이 관찰된 결합의 부족에 관여하는지의 여부를 확인하기 위해 수행될 수 있다. 이런 종류의 실험은 당해 기술분야에서 이용 가능한 ELISA, RIA, 표면 플라즈몬 공명, 유세포 분석법 또는 임의의 기타 정량적 또는 정성적 항체 결합 검정을 사용하여 실시될 수 있다.

[0103] 본 개시내용의 문맥에서 사용될 수 있는 항-PCSK9 항체의 비제한적인 예로는, 예를 들어 알리로쿠맙(alirocumab), 보코시주맙(bococizumab) 또는 이의 항원 결합 부위를 들 수 있다.

[0104] 인간 항체의 제조

[0105] 형질 전환 마우스에서 인간 항체를 생성하기 위한 방법이 당해 기술분야에 알려져 있다. 임의의 이 같은 알려진 방법은 인간 PCSK9에 특이적으로 결합하는 인간 항체를 만들기 위해 본 개시내용의 문맥에서 사용될 수 있다.

[0106] VELOCIMUNETM 기술(예를 들어, 리제네론 파마슈티컬(Regeneron Pharmaceuticals)의 US 6,596,541 참조) 또는 단클론성 항체를 생성하기 위한 임의의 기타 알려진 방법을 이용하여 인간 가변 영역 및 마우스 불변 영역을 갖는 PCSK9에 대한 고친화성 키메라 항체를 초기에 단리한다. VELOCIMUNE[®] 기술은, 마우스가 항원성 자극에 반응하여 인간 가변 영역 및 마우스 불변 영역을 포함하는 항체를 생성하도록 내생성 마우스 불변 영역 유전자위에 작동 가능하게 연결된 인간 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 게놈을 갖는 형질 전환 마우스의 생성을 수반한다. 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 영역을 암호화하는 DNA는 단리되어 가변 영역을 암호화하는 DNA에 작동 가능하게 연결된다. 이어서, DNA는 완전 인간 항체를 발현할 수 있는 세포에서 발현된다.

[0107] 일반적으로, VELOCIMUNE[®] 마우스를 관심 항원으로 시험감염시키고, 항체를 발현하는 마우스로부터 림프 세포(예를 들어, B-세포)를 회수한다. 림프 세포를 골수종 세포주와 융합시켜 불멸의 하이브리도마 세포주를 제조할 수 있으며, 이 같은 하이브리도마 세포주를 스크리닝 및 선택하여 관심 항원에 특이적인 항체를 생성하는 하이브리도마 세포주를 확인한다. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역을 암호화하는 DNA를 단리하고, 중쇄 및 경쇄의 바람직한 동형 불변 영역에 연결할 수 있다. 이 같은 항체 단백질은 CHO 세포와 같은 세포에서 생산될 수 있다. 대안적으로, 항원-특이적 키메라 항체 또는 경쇄 및 중쇄의 가변 도메인을 암호화하는 DNA를 항원-특이적 림프구로부터 직접 단리할 수 있다.

[0108] 먼저, 인간 가변 영역 및 마우스 불변 영역을 갖는 고친화성 키메라 항체를 단리한다. 항체를 특성 분석하고, 당해 기술분야의 숙련자에게 알려져 있는 표준 절차를 사용하여 친화성, 선택성, 에피토프 등을 포함하는 바람직한 특징에 대하여 선택한다. 마우스 불변 영역을 목적하는 인간 불변 영역으로 대체하여 본 개시내용의 완전 인간 항체, 예를 들어 야생형 또는 변형된 IgG1 또는 IgG4를 생성한다. 선택된 불변 영역이 구체적인 용도에 따라 달라질 수 있지만, 고친화성 항원 결합 및 표적 특이성 특성은 가변 영역에 존재한다.

- [0109] 일반적으로, 본 개시내용의 방법에서 사용될 수 있는 항체는 고체상에 고정화되거나 용액상으로 존재하는 항원에 결합함으로써 측정할 때, 상기에 기술한 바와 같이 높은 친화성을 갖는다. 마우스 불변 영역을 목적하는 인간 불변 영역으로 대체하여 본 개시내용의 완전 인간 항체를 생성한다. 선택된 불변 영역이 구체적인 용도에 따라 달라질 수 있지만, 고친화성 항원 결합 및 표적 특이성 특성은 가변 영역에 존재한다.
- [0110] 본 개시내용의 방법의 문맥에서 사용될 수 있는, PCSK9와 특이적으로 결합하는 인간 항체 또는 항체의 항원 결합 단편의 구체적인 예로는, 서열 번호 1 및 서열 번호 11로 구성되는 군으로부터 선택되는 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 중쇄 가변 영역(HCVR) 내에 포함된 3개의 중쇄 CDR(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3)을 포함하는 임의의 항체 또는 항원 결합 단편을 들 수 있다. 대안적으로, 본 개시내용의 방법의 문맥에서 사용될 수 있는, PCSK9와 특이적으로 결합하는 인간 항체 또는 항체의 항원 결합 단편의 구체적인 예로는, 서열 번호 37, 서열 번호 45, 서열 번호 53, 서열 번호 61, 서열 번호 69, 서열 번호 77, 서열 번호 85, 서열 번호 93, 서열 번호 101, 서열 번호 109, 서열 번호 117, 서열 번호 125, 서열 번호 133, 서열 번호 141, 서열 번호 149, 서열 번호 157, 서열 번호 165, 서열 번호 173, 서열 번호 181 및 서열 번호 189로 구성되는 군으로부터 선택되는 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 중쇄 가변 영역(HCVR) 내에 포함된 3개의 중쇄 CDR(HCDR1, HCDR2 및 HCDR3)을 포함하는 임의의 항체 또는 항원 결합 단편을 들 수 있다. 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 6 및 서열 번호 15로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 경쇄 가변 영역(LCVR) 내에 포함된 3개의 경쇄 CDR(LCVR1, LCVR2, LCVR3)을 포함할 수 있다. 대안적으로, 항체 또는 항원 결합 단편은 서열 번호 41, 서열 번호 49, 서열 번호 57, 서열 번호 65, 서열 번호 73, 서열 번호 81, 서열 번호 89, 서열 번호 97, 서열 번호 105, 서열 번호 113, 서열 번호 121, 서열 번호 129, 서열 번호 137, 서열 번호 145, 서열 번호 153, 서열 번호 161, 서열 번호 169, 서열 번호 177, 서열 번호 185 및 서열 번호 193으로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 경쇄 가변 영역(LCVR) 내에 포함된 3개의 경쇄 CDR(LCVR1, LCVR2, LCVR3)을 포함할 수 있다.
- [0111] 2개의 아미노산 서열 사이의 서열 동일성은 최상의 서열 정렬을 사용하여 기준 아미노산 서열, 즉 서열 번호로 식별된 아미노산 서열의 전체 길이에 대해 결정되고/되거나, 2개의 아미노산 서열 사이의 최상의 서열 정렬 영역에 대해 결정되며, 이때 최상의 서열 정렬은 표준 환경, 바람직하게는 EMBOSS::주사바늘, 매트릭스: Blosum62, 간극 개방(Gap Open): 10.0, 간극 연장(Gap Extend): 0.5를 사용하여 당해 기술분야에 알려진 도구, 예를 들어 Align에 의해 획득될 수 있다.
- [0112] 본 개시내용의 특정 실시형태에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열 번호 1/6 및 서열 번호 11/15로 이루어진 군으로부터 선택되는 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 서열 쌍(HCVR/LCVR)으로부터의 6개의 CDR(HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함한다. 대안적으로, 본 개시내용의 특정 실시형태에서 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열 번호 37/41, 서열 번호 45/49, 서열 번호 53/57, 서열 번호 61/65, 서열 번호 69/73, 서열 번호 77/81, 서열 번호 85/89, 서열 번호 93/97, 서열 번호 101/105, 서열 번호 109/113, 서열 번호 117/121, 서열 번호 125/129, 서열 번호 133/137, 서열 번호 141/145, 서열 번호 149/153, 서열 번호 157/161, 서열 번호 165/169, 서열 번호 173/177, 서열 번호 181/185 및 서열 번호 189/193으로 이루어진 군으로부터 선택되는 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 서열 쌍(HCVR/LCVR)으로부터의 6개의 CDR(HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함한다.
- [0113] 본 개시내용의 특정 실시형태에서, 본 개시내용의 방법에 사용될 수 있는 항-PCSK9 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열 번호 2/3/4/7/8/10(mAb316P["REGN727," 또는 "알리로쿠맙"으로도 지칭됨]) 및 서열 번호 12/13/14/16/17/18(mAb300N)(미국 특허 출원 공개공보 제2010/0166768호 참조) 및 12/13/14/16/17/18로부터 선택되는 HCDR1/HCDR2/HCDR3/LCDR1/LCDR2/LCDR3 아미노산 서열을 가지며, 이때 서열 번호 16은 30번 아미노산 잔기(L30H)에서의 히스티딘의 류신으로의 치환을 포함한다.
- [0114] 본 개시내용의 특정 실시형태에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열 번호 1/6 및 서열 번호 11/15로 이루어진 군으로부터 선택되는 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다. 특정 예시적인 실시형태에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열 번호 1의 HCVR 아미노산 서열 및 서열 번호 6의 LCVR 아미노산 서열을 포함한다. 특정 예시적인 실시형태에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열 번호 11의 HCVR 아미노산 서열 및 서열 번호 15의 LCVR 아미노산 서열을 포함한다. 특정 예시적인 실시형태에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열 번호 11의 HCVR 아미노산 서열 및 30번 아미노산 잔기(L30H)에서의 히스티딘의 류신으로의 치환을 포함하는 서열

번호 15의 LCVR 아미노산 서열을 포함한다.

[0115] **약학 조성물 및 투여 방법**

[0116] 본 개시내용은 환자에게 PCSK9 억제제를 투여하는 단계를 포함하는 방법을 포함하며, 이때 PCSK9 억제제는 약학 조성물 내에 포함된다. 본 개시내용의 약학 조성물은 적절한 담체, 부형제 및 적절한 전송, 전달, 내약성 등을 제공하는 기타 약제와 함께 제형화된다. 다수의 적절한 제형은 모든 제약 화학자에게 알려져 있는 의약품집(formulary)(문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA])에서 찾아볼 수 있다. 이들 제형은, 예를 들어 분말, 페이스트, 연고, 젤리, 왁스, 오일, 지질, 지질(양이온성 또는 음이온성) 함유 소포(예를 들어, LIPOFECTIN™), DNA 접합체, 무수 흡착 페이스트, 수중유 및 유중수 유화제, 유화제 카르보왁스(다양한 분자량의 폴리에틸렌 글리콜), 반고체 겔 및 카르보왁스를 함유하는 반고체 혼합물을 포함한다. 또한, 문헌[Powell *et al.* "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52: 238~311]을 참고한다.

[0117] 다양한 전달 시스템, 예를 들어, 리포솜 내 캡슐화, 마이크로입자, 마이크로캡슐, 돌연변이 바이러스를 발현시킬 수 있는 재조합 세포, 수용체-매개 세포내섭취가 알려져 있으며, 본 개시내용의 약학 조성물을 투여하기 위해 사용될 수 있다(예를 들어, 문헌[Wu *et al.*, 1987, J. Biol. Chem. 262: 4429~4432] 참조). 투여 방법은 피부 내, 근육 내, 복강 내, 정맥 내, 피하, 비강 내, 경막 외 및 경구 경로를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 조성물은 임의의 편리한 경로, 예를 들어 주입 또는 볼루스 주사에 의해, 상피 또는 점막피부 라이닝(예를 들어, 경구 점막, 직장 및 장 점막 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있고, 기타 생물학적 활성제와 함께 투여될 수 있다.

[0118] 본 개시내용의 약학 조성물은 표준 주사바늘 및 주사기를 사용하여 피하 또는 정맥 내 전달될 수 있다. 또한, 피하 전달과 관련하여, 펜 전달 장치가 본 개시내용의 약학 조성물을 전달하는 데 용이하게 응용된다. 이 같은 펜 전달 장치는 재사용 가능하거나, 일회용일 수 있다. 이 같은 펜 전달 장치는 사전 충전될 수 있다. 재사용 가능한 펜 전달 장치는 일반적으로 약학 조성물을 함유하는 교체 가능한 카트리지를 이용한다. 일단 카트리지 내의 약학 조성물 모두가 투여되고 카트리지가 비워지면, 빈 카트리지는 용이하게 폐기될 수 있으며, 약학 조성물을 함유하는 새로운 카트리지로 교체될 수 있다. 이어서, 펜 전달 장치가 재사용될 수 있다. 일회용 펜 전달 장치에서, 교체 가능한 카트리지는 없다. 오히려, 일회용 펜 전달 장치는 장치 내의 저장소에 보유된 약학 조성물로 사전 충전된다. 일단 저장소에서 약학 조성물이 비워지면, 장치 전체가 폐기된다.

[0119] 수많은 재사용 가능한 펜 전달 장치 및 자기 주사기(autoinjector) 전달 장치가 본 개시내용의 약학 조성물의 피하 전달에 응용된다. 몇 가지만 예로 들자면, 예로는 AUTOPEN™(영국 우드스톡 소재의 오웬 머포드 인코포레이티드(Owen Mumford, Inc.)), DISETRONIC™ 펜(스위스 베르크도르프 소재의 디세트로닉 메디칼 시스템즈(Disetronic Medical Systems)), HUMALOG MIX 75/25™ 펜, HUMALOG™ 펜, HUMALIN 70/30™ 펜(인디애나주 인디애나폴리스 소재의 일라이 릴리 앤드 캄파니(Eli Lilly 및 Co.)), NOVOPEN™ I, II 및 III(덴마크 코펜하겐 소재의 노보 노르디스크(Novo Nordisk)), NOVOPEN JUNIOR™(덴마크 코펜하겐 소재의 노보 노르디스크), BD™ 펜(뉴저지주 프랭클린 레이크스 소재의 벡톤 딕킨슨(Becton Dickinson)), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ 및 OPTICLIK™(독일 프랑크푸르트 소재의 사노피-아벤티스(Sanofi-Aventis))을 들 수 있지만, 이에 한정되지 않는다. 몇 가지만 예로 들자면, 본 개시내용의 약학 조성물의 피하 전달에 응용되는 일회용 펜 전달 장치의 예로는 SOLOSTAR™ 펜(사노피-아벤티스), FLEXPEN™(노보 노르디스크) 및 KWIKPEN™(일라이 릴리), SURECLICK™ Autoinjector(캘리포니아주 사우전드 오크스 소재의 암젠(Amgen)), PENLET™(독일 슈투트가르트소재의 하셀마이어(Haselmeier)), EPIPEN(Dey, L.P.) 및 HUMIRA™ 펜(일리노이주 애보트 파크 소재의 애보트 랩스(Abbott Labs))을 들 수 있지만, 이에 한정되지 않는다.

[0120] 특정 상황에서, 약학 조성물은 제어 방출 시스템으로 전달될 수 있다. 하나의 실시형태에서, 펌프가 사용될 수 있다(상기의 Langer 문헌; 문헌[Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201] 참조). 다른 실시형태에서, 중합체성 물질이 사용될 수 있다(문헌[Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Florida] 참조). 또 다른 실시형태에서, 제어 방출 시스템은 조성물의 표적에 인접하게 배치되며, 따라서 전신 투여량의 일부만을 필요로 할 수 있다(예를 들어, 문헌[Goodson, 1984,

in Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp. 115~138] 참조). 일부 실시형태에서, 약학 조성물은 미세주입기(microinfusor) 내에 포함될 수 있다. 기타 제어 방출 시스템은 문헌[Langer, 1990, Science 249: 1527~1533]의 검토에 논의되어 있다.

[0121] 주사 가능한 제제는 정맥 내, 피하, 피부 내 및 근육 내 주사, 점적 주입 등을 위한 투여 형태를 포함할 수 있다. 이들 주사 가능한 제제는 알려져 있는 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 주사 가능한 제제는, 예를 들어 상술한 항체 또는 이의 염을 흔히 주사용으로 사용되는 멸균 수성 매질 또는 유성 매질에 용해, 현탁 또는 유화시킴으로써 제조될 수 있다. 주사용 수성 매질로서, 예를 들어 생리 식염수, 글루코오스를 함유하는 등장성 용액 및 기타 보조제 등이 존재하며, 이들은 알코올(예를 들어, 에탄올), 폴리알코올(예를 들어, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜), 비이온성 계면활성제[예를 들어, 폴리소르베이트 80, HCO-50(경화 피마자유의 폴리옥시에틸렌(50 mol) 부가물)] 등과 같은 적절한 가용화제와 병용하여 사용될 수 있다. 유성 매질로서, 예를 들어 참기름, 대두유 등이 이용되며, 이들은 벤질 벤조에이트, 벤질 알코올 등과 같은 가용화제와 병용하여 사용될 수 있다. 이렇게 제조된 주사액은 바람직하게는 적절한 앰플에 충전된다.

[0122] 유리하게는, 상기에 기술된 경구 또는 비경구 사용을 위한 약학 조성물은 유효 성분의 투여량을 맞추기에 적합한 단위 투여량의 투여 형태로 제조된다. 이 같은 단위 투여량의 투여 형태는, 예를 들어, 정제, 환제, 캡슐, 주사액(앰플), 좌제 등을 포함한다. 일부 실시형태에서, 조성물은 유리 바이알 내에 포함된다.

[0123] 본 개시내용의 방법의 문맥에서 사용될 수 있는 항-PCSK9 항체를 포함하는 예시적인 약학적 제형은, 예를 들어 US 2013/0189277에 기술되어 있으며, 이의 본 개시내용은 그 전체가 본원에서 참고로 포함된다.

[0124] 용량

[0125] 본 개시내용의 방법에 따라 개체에게 투여되는 PCSK9 억제제(예를 들어, 항-PCSK9 항체)의 양은 일반적으로 치료적 유효량이다. 본원에서 사용된 바와 같이, "치료적 유효량"이란 문구는 LDL-C, ApoB100, 비-HDL-C, 총 콜레스테롤, VLDL-C, 트리글리세리드, Lp(a) 및 잔여 콜레스테롤로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 파라미터에서 검출 가능한 감소(기준선으로부터의 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75% 또는 그 이상의 감소)를 초래하는 PCSK9 억제제의 투여량을 의미한다

[0126] 항-PCSK9 항체의 경우, 치료적 유효량은 약 0.05 mg 내지 약 600 mg 범위, 예를 들어 약 0.05 mg, 약 0.1 mg, 약 1.0 mg, 약 1.5 mg, 약 2.0 mg, 약 10 mg, 약 20 mg, 약 30 mg, 약 40 mg, 약 50 mg, 약 60 mg, 약 70 mg, 약 75 mg, 약 80 mg, 약 90 mg, 약 100 mg, 약 110 mg, 약 120 mg, 약 130 mg, 약 140 mg, 약 150 mg, 약 160 mg, 약 170 mg, 약 180 mg, 약 190 mg, 약 200 mg, 약 210 mg, 약 220 mg, 약 230 mg, 약 240 mg, 약 250 mg, 약 260 mg, 약 270 mg, 약 280 mg, 약 290 mg, 약 300 mg, 약 310 mg, 약 320 mg, 약 330 mg, 약 340 mg, 약 350 mg, 약 360 mg, 약 370 mg, 약 380 mg, 약 390 mg, 약 400 mg, 약 410 mg, 약 420 mg, 약 430 mg, 약 440 mg, 약 450 mg, 약 460 mg, 약 470 mg, 약 480 mg, 약 490 mg, 약 500 mg, 약 510 mg, 약 520 mg, 약 530 mg, 약 540 mg, 약 550 mg, 약 560 mg, 약 570 mg, 약 580 mg, 약 590 mg 또는 약 600 mg의 항-PCSK9 항체일 수 있다.

[0127] 개별 투여량 내에 포함된 항-PCSK9 항체의 양은 환자의 체중 킬로그램 당 항체의 밀리그램(즉, mg/kg)으로 표현될 수 있다. 예를 들어, 항-PCSK9 항체는 약 0.0001 mg/kg 내지 약 10 mg/kg(환자 체중)의 투여량으로 환자에게 투여될 수 있다.

[0128] 병용 요법

[0129] 본 개시내용의 특정 실시형태에 따르면, 스타틴 이외에 추가적인 치료제는 PCSK9 억제제와 병용하여 환자에게 투여될 수 있다. 이 같은 추가적인 치료제의 예로는, 예를 들어 (1) 콜레스테롤 섭취 및 또는 담즙산 재흡수를 억제하는 약제(예를 들어, 에세티미브); (2) 지질단백질 이화작용을 증가시키는 약제(예를 들어, 니아신); 및/또는 (3) 22-하이드록시콜레스테롤과 같은 콜레스테롤 제거에 역할을 하는 LXR 전사 인자의 활성화제를 들 수 있다. 특정 실시형태에 따르면, 항-ANGPTL3 항체(예를 들어, 에비나쿠맙(evinacumab))은 본 개시내용의 방법의 문맥에서 PCSK9 억제제와 병용하여 투여된다.

[0130] 투여 용법

[0131] 본 개시내용의 특정 실시형태에 따르면, PCSK9 억제제(즉, PCSK9 억제제를 포함하는 약학 조성물)의 1회 이상의 투여량은 (예를 들어, 1일 치료용 스타틴 용법 대신에) 개체에 정의된 시간 과정에 걸쳐 투여할 수 있다. 본 개시내용의 본 양태에 따른 방법은 개체에게 PCSK9 억제제의 1회 이상의 투여량을 순차적으로 투여하는 단계를 포

함한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "순차적으로 투여하는"은, PCSK9 억제제의 각각의 투여량을 개체에게 상이한 시점에서, 예를 들어 소정의 간격(예를 들어, 수시간, 수일, 수주 또는 수개월)으로 분리된 상이한 날에 투여된다는 것을 의미한다. 본 개시내용은 환자에게 PCSK9 억제제의 1회 초기 투여량을 투여한 후 PCSK9 억제제의 적어도 1회 제2 투여량을 투여하고, 선택적으로는 PCSK9 억제제의 적어도 1회 제3 투여량을 순차적으로 투여하는 단계를 포함하는 방법을 포함한다.

[0132] "초기 투여량", "제2 투여량" 및 "제3 투여량"이란 용어는 PCSK9 억제제를 포함하는 약학 조성물들의 개별 투여량의 투여의 시간적 순서를 지칭한다. 따라서, "초기 투여량"은 치료 용법의 초반에 투여되는 투여량("기준선 투여량"으로도 지칭됨)이고; "제2 투여량"은 초기 투여량 이후에 투여되는 투여량이고; "제3 투여량"은 제2 투여량 이후에 투여되는 투여량이다. 초기, 제2 및 제3 투여량은 모두 동일한 양의 PCSK9 억제제를 함유할 수 있지만, 일반적으로 투여 빈도의 측면에서 서로 상이할 것이다. 그러나, 특정 실시형태들에서 초기, 제2 및/또는 제3 투여량 내에 포함된 PCSK9 억제제의 양은 치료 과정 동안 서로 변경될 것이다(예를 들어, 적절히 상향 또는 하향으로 조절됨). 특정 실시형태에서, 2회 이상(예를 들어, 2회, 3회, 4회 또는 5회)의 투여량은 "부하 투여량"으로서 치료 용법의 초반에 투여된 후, 후속적인 투여량이 보다 낮은 빈도로 투여된다(예를 들어, "유지 투여량").

[0133] 본 개시내용의 예시적인 실시형태에 따르면, 각각의 제2 및/또는 제3 투여량은 바로 직전 투여량 이후 1주 내지 26주(예를 들어, 1주, 1.5주, 2주, 2.5주, 3주, 3.5주, 4주, 4.5주, 5주, 5.5주, 6주, 6.5주, 7주, 7.5주, 8주, 8.5주, 9주, 9.5주, 10주, 10.5주, 11주, 11.5주, 12주, 12.5주, 13주, 13.5주, 14주, 14.5주, 15주, 15.5주, 16주, 16.5주, 17주, 17.5주, 18주, 18.5주, 19주, 19.5주, 20주, 20.5주, 21주, 21.5주, 22주, 22.5주, 23주, 23.5주, 24주, 24.5주, 25주, 25.5주, 26주, 26.5주 또는 그 이상)에 투여된다. 본원에서 사용된 바와 같이, "바로 직전 투여량"이란 문구는, 다중 투여들의 순서에서, 개재되는 투여량 없이 순서에서 바로 다음 투여량의 투여 이전에 개체에게 투여되는 항원 결합 분자의 투여량을 의미한다.

[0134] 본 개시내용의 본 양태에 따른 방법은 환자에게 PCSK9 억제제의 제2 및/또는 제3 투여량을 임의의 횟수로 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어, 특정 실시형태에서, 1회 제2 투여량만이 환자에게 투여한다. 기타 실시형태에서, 2회 이상(예를 들어, 2회, 3회, 4회, 5회, 6회, 7회, 8회 또는 그 이상) 제2 투여량을 환자에게 투여한다. 마찬가지로, 특정 실시형태에서, 1회 제3 투여량만이 환자에게 투여된다. 기타 실시형태에서, 2회 이상(예를 들어, 2회, 3회, 4회, 5회, 6회, 7회, 8회 또는 그 이상) 제3 투여량을 환자에게 투여한다.

[0135] 다수의 제2 투여량을 수반하는 실시형태에서, 각각의 제2 투여량은 기타 제2 투여량과 동일한 빈도로 투여될 수 있다. 예를 들어, 각각의 제2 투여량은 환자에게 바로 직전 투여량 이후 1주 내지 2주, 4주, 6주, 8주 또는 그 이상에 투여될 수 있다. 유사하게, 다수의 제3 투여량을 수반하는 실시형태에서, 각각의 제3 투여량은 기타 제3 투여량과 동일한 빈도에서 투여될 수 있다. 예를 들어, 각각의 제3 투여량은 환자에게 바로 직전 투여량 이후 1주 내지 2주, 4주, 6주, 8주 또는 그 이상에 투여될 수 있다. 대안으로는, 제2 및/또는 제3 투여량이 환자에게 투여되는 빈도는 치료 용법의 과정에 걸쳐 달라질 수 있다. 또한, 투여 빈도는 임상 실험 이후에 개별 환자의 필요에 따라 치료 과정 동안 주치의에 의해 조절될 수 있다.

[0136] 본 개시내용의 특정 실시형태에 따르면, 약 75 mg의 항-PCSK9 항체를 포함하는 약학 조성물의 다수의 투여량은 환자에게 2주마다 1회의 빈도로 투여된다.

[0137] 본 개시내용의 특정 실시형태에 따르면, 약 150 mg의 항-PCSK9 항체를 포함하는 약학 조성물의 다수의 투여량은 환자에게 2주마다 1회의 빈도로 투여된다.

[0138] 본 개시내용의 특정 실시형태에 따르면, 약 75 mg의 항-PCSK9 항체를 포함하는 약학 조성물의 다수의 투여량은 환자에게 4주마다 1회의 빈도로 투여된다.

[0139] 본 개시내용의 특정 실시형태에 따르면, 약 150 mg의 항-PCSK9 항체를 포함하는 약학 조성물의 다수의 투여량은 환자에게 4주마다 1회의 빈도로 투여된다.

[0140] 본 개시내용은 상향 적정(up-titration) 선택안("투여량 조절"로도 지칭됨)을 포함하는 투여 용법을 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "상향 적정 선택안"은 PCSK9 억제제의 투여량을 특정 회수 투여받은 이후에 환자가 하나 이상의 정의된 치료 파라미터에서의 소정의 감소를 달성하지 못하면 그 이후에 PCSK9 억제제의 투여량이 증가된다는 것을 의미한다. 예를 들어, 환자에게 항-PCSK9 항체를 75 mg의 투여량으로 2주마다 1회의 빈도로 투여하는 단계를 포함하는 치료 용법의 경우, 8주(즉, 0주, 2주 및 4주, 6주 및 8주차에 투여되는 5회의 투여량) 이후에 환자가 70 mg/dL 미만의 혈청 LDL-C 농도를 달성하지 못하면, 항-PCSK9 항체의 투여량은, 예를 들어 150

mg까지 증가되며, 이는 그 이후에(예를 들어, 10주 또는 12주차 또는 그 이후에 시작하여) 2주마다 1회 투여된다.

[0141] 특정 실시형태에서, 항-PCSK9 항체는, 예를 들어 적어도 3회 투여량에 대해 개체에게 2주마다 약 75 mg의 투여량으로 투여된다.

[0142] 특정 실시형태에서, 항-PCSK9 항체는, 예를 들어 적어도 3회 투여량에 대해 개체에게 2주마다 약 150 mg의 투여량으로 투여된다.

[0143] 일부 실시형태에서, 항체는 개체에게 12주 동안 2주마다 약 75 mg의 투여량으로 투여되고, 투여량은 8주차에 개체의 LDL-C 값이 100 mg/dl 미만이거나 LDL-C의 30% 감소를 나타내는 경우 2주마다 75 mg으로 유지한다.

[0144] 기타 실시형태에서, 항체는 개체에게 12주 동안 2주마다 약 75 mg의 투여량으로 투여되고, 투여량은 8주차에 개체의 LDL-C 값이 100 mg/dl 이상이면 2주마다 약 150 mg으로 상향 조정된다.

[0145] 일부 실시형태에서, 항체는 개체에게 12주 동안 2주마다 약 75 mg의 투여량으로 투여되고, 투여량은 8주차에 개체의 LDL-C 값이 70 mg/dl 미만이거나 LDL-C의 30% 감소를 나타내는 경우 2주마다 75 mg으로 유지한다.

[0146] 다른 실시형태에서, 항체는 개체에게 4주마다 약 300 mg의 투여량으로 투여된다.

[0147] 추가의 실시형태에서, 항체는 총 3회 투여량에 대해 개체에게 4주마다 약 300 mg의 투여량으로 투여되고, 투여량은 8주차에 개체가 소정의 치료 목표를 달성하지 못하거나 개체가 기준선으로부터의 LDL-C의 적어도 30% 감소를 갖지 못하면 추가의 36주 동안 2주마다 150 mg으로 변경된다.

[0148] 특정 실시형태에서, 항-PCSK9 항체는 적어도 3회 투여량에 대해 개체에게 4주마다 약 150 mg의 투여량으로 투여된다.

[0149] 일부 실시형태에서, 항체는 개체에게 12주 동안 4주마다 약 150 mg의 투여량으로 투여되고, 투여량은 8주차에 개체의 LDL-C 값이 100 mg/dl 미만이거나 LDL-C의 30% 감소를 나타내는 경우 4주마다 150 mg으로 유지한다.

[0150] 기타 실시형태에서, 항체는 개체에게 12주 동안 4주마다 약 150 mg의 투여량으로 투여되고, 투여량은 8주차에 개체의 LDL-C 값이 100 mg/dl 이상이면 2주마다 약 300 mg으로 상향 조정된다.

[0151] 일부 실시형태에서, 항체는 개체에게 12주 동안 4주마다 약 150 mg의 투여량으로 투여되고, 투여량은 8주차에 개체의 LDL-C 값이 70 mg/dl 미만이거나 LDL-C의 30% 감소를 나타내는 경우 추가의 12주 동안 4주마다 150 mg으로 유지한다.

[0152] 다른 실시형태에서, 항체는 개체에게 4주마다 약 300 mg의 투여량으로 투여된다.

[0153] 추가의 실시형태에서, 항체는 총 3회 투여량에 대해 개체에게 4주마다 약 300 mg의 투여량으로 투여되고, 투여량은 8주차에 개체가 소정의 치료 목표를 달성하지 못하거나 개체가 기준선으로부터의 LDL-C의 적어도 30% 감소를 갖지 못하면 추가의 36주 동안 2주마다 150 mg으로 변경된다.

[0154] 실시예

[0155] 하기 실시예는 본 개시내용의 방법 및 조성물을 제조하고 사용하는 방법에 대한 완전한 개시 및 설명을 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 제공하기 위해 기술되어 있으며, 본 발명자들이 이의 개시내용으로 간주하는 것의 범주를 제한하기 위한 것은 아니다. 정확한 수치(예를 들어, 양, 온도 등)를 사용하기 위한 노력이 이루어졌지만, 일부 실험 오차 및 편차가 고려되어야만 한다. 달리 표시하지 않는 한, 부는 중량부이고, 분자량은 평균 분자량이며, 온도는 섭씨 도이고, 압력은 대기압이거나 대기압에 가깝다.

[0156] 실시예 1: 인간 PCSK9에 대한 인간 항체의 생성

[0157] 인간 항-PCSK9 항체를 미국 특허 제8,062,640호에 기술된 바와 같이 생성하였다. 하기 실시예에서 사용되는 예시적인 PCSK9 억제제는 "REGN727," 또는 "알리코쿠프"으로도 알려진 "mAb316P"로 표시되는 인간 항-PCSK9 항체이다. mAb316P는 하기 아미노산 서열 특징을 갖는다: 서열 번호 5를 포함하는 중쇄 및 서열 번호 9를 포함하는 경쇄; 서열 번호 1을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR) 및 서열 번호 6을 포함하는 경쇄 가변 도메인(LCVR); 서열 번호 2를 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역 1(HCDR1), 서열 번호 3을 포함하는 HCDR2, 서열 번호 4를 포함하는 HCDR3, 서열 번호 7을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역 1(LCDR1), 서열 번호 8을 포함하는 LCDR2 및 서열 번호 10을 포함하는 LCDR3.

- [0158] 실시예 2: 동형접합 가족성 고콜레스테롤혈증을 앓는 환자에서 항-PCSK9 항체("알리로쿠맙")의 효능 및 안전성을 평가하기 위한 무작위화, 이중 맹검, 플라시보-대조 병용 그룹 연구
- [0159] 본 연구의 목적은 hoFH를 앓는 환자(LDLR 대립유전자 둘 모두에서 영/영 돌연변이를 갖는 이들 환자는 제외함)에서 항-PCSK9 항체("알리로쿠맙")의 효능, 안전성 및 내약성을 평가하는 것이다. 보다 상세하게는, 본 연구의 목적은 치료 12주 후에 플라시보와 비교하여 2주마다(Q2W) 150 mg의 알리로쿠맙의 피하(SC) 투여에 의한 LDL-C 감소를 증명하는 것이다. 본 연구의 2차 목적은, hoFH를 앓는 환자에서 기타 지질 파라미터(즉, 아포지질단백질 [Apo] A-1 및 B, 비-고밀도 지질단백질 콜레스테롤[비-HDL C], 총 콜레스테롤[TC], LDL-C의 15%, 30% 및 50% 감소를 나타낸 환자의 비율, Lp(a), HDL-C, 트리글리세리드[TG])에 대한 알리로쿠맙(2주마다 150 mg)의 효과를 평가하고, hoFH를 앓는 환자에서 알리로쿠맙(2주마다 피하 150 mg)의 안전성 및 내약성을 평가하고, hoFH를 앓는 환자에서 알리로쿠맙(2주마다 피하 150 mg)의 약동학(PK)을 평가하고, 항-약품 (알리로쿠맙) 항체의 잠재적인 개발을 평가하는 것을 포함한다.
- [0160] 본 연구의 기타 목적은, 효능 및 안전성에서의 잠재적인 차이를 탐구하기 위해 환자에 대한 유전자형 정보를 수집하여 hoFH 돌연변이 상태를 특성 분석하고, (독일 및 미국 성분채집술 기준을 사용하여) 성분채집술에 대한 적격성(eligibility)에 대한 알리로쿠맙의 효과를 평가하고, EQ-5D QOL 설문지를 사용하여 삶의 질에 대한 알리로쿠맙의 효과를 평가하는 것을 포함한다.
- [0161] hoFH를 앓는 환자는 다수의 건강 상의 우려에 대한 기여 인자인 LDL-C가 지속적으로 높아졌고, 주로 죽상 동맥 경화증이 가속화되어 조기 CV 질병을 초래하였다. 스타틴을 비롯한 약리학제와 같은 LMT를 이용한 치료 및 LDL 성분채집술에 의한 지질의 기계적 제거에도 불구하고, hoFH를 앓는 많은 환자는 이들의 LDL-C 치료 목표와는 요원한 상태이다. 코호트 연구(cohort study)에서, 제1 CVD 이벤트는 hoFH에서 20세 내지 29세 사이에 발생하였다 (문헌[Raal, *et al.* 2011 *Circulation* 124(20): 2202-2207]). 이는 스타틴과 같은 의료 용법의 이행 이전에 10 대 초반에 발생한 것보다는 나중이지만, CVD의 발병 및 이벤트의 발생을 지연시키기 위해 보다 강력한 치료에 대한 요구가 존재한다.
- [0162] hoFH를 앓는 환자에서 알리로쿠맙의 효능 및 안전성을 평가하기 위해, 본 연구를 실시하였다. 연구 개체군에는 18세 이상의 사람이 포함되었다. hoFH의 진단은 유전형 분석 데이터 또는 임상적 기준 중 하나에 기초하여 이루어졌다. 유전적 정의에는 LDLR, ApoB, PCSK9 또는 LDLRAP1 유전자에서의 돌연변이를 위한 진정한 동형접합체, 복합 이형접합체 또는 이중 이형접합체인 것으로 간주되는 모든 사람이 포함된다.
- [0163] 기준선으로부터의 LDL-C의 변화율이 1차 종료점이었다. 저밀도 지질단백질 콜레스테롤은 CV 위험성에 대한 허용된 대리 종료점이며, 다수의 기타 hoFH 치료 승인을 위한 1차 종료점으로서 반복적으로 사용되어 왔다. 본 연구는 플라시보 제어 시험으로서 설계되었으며, 지질 성분채집술을 포함하는 환자의 최대 내약성 LMT의 기존 치료 용법 이외에도 알리로쿠맙이 첨가되었다. 이중 맹검 치료 기간 전반에 걸쳐 유지되도록 요구되는 안정한 배경 치료 용법을 여전히 달성하지 못한 이들 환자에 대해 선택적인 준비 기간을 사용하였다. 환자의 기존 치료 용법으로부터 임의의 요법의 제거가 LDL-C의 증가를 초래할 수 있고, 가능하게는 이러한 질병에서 나타나는 심각한 CV 휴유증에 일조할 수 있기 때문에 추가요법 설계(add-on design)가 적절하였다. 1차 종료점에 대한 12주의 치료 지속 기간에는 안정상태를 달성하고 알리로쿠맙이 LDL-C에 대한 이의 완전한 효과를 발휘하도록 하였다. 모든 환자에게 알리로쿠맙이 투여되는 추가적인 12주 개방 표지 치료 기간은 이러한 개체군에서 추가의 안정성 평가를 가능케 하였다.
- [0164] 투여량 선택에 대한 근거
- [0165] 알리로쿠맙(2주마다 피하 75 mg 및 150 mg)은 승인된 투여량이며, 전 세계 40개 국가(미국, 유럽 연합, 캐나다, 노르웨이, 아이슬란드, 브라질 및 일본을 포함함)에서 현재 허용되고 있다. hoFH를 앓는 환자가 비-FH 및 HeFH 환자와 비교하여 치료하기 어려운 개체군인 것으로 입증되고 이들의 표적 수준에서 벗어난 매우 높은 기준선 LDL-C를 가질 것이기 때문에 본 연구를 위해 제안된 알리로쿠맙의 투여량은 가장 높은 승인된 투여량인 2주마다 피하 150 mg이다.
- [0166] 효과적이란 것 이외에도, 알리로쿠맙은 바람직한 안전성 프로파일을 갖는다. 대체로, 플라시보와 비교하여 알리로쿠맙 그룹에서 보다 높은 비율의 환자(즉, 알리로쿠맙 그룹에서의 2.0% 이상의 발생률)에서 보고된 가장 흔하게 발생하는 치료-유발 유해 이벤트(TEAE)는 다음과 같다: 주사 부위 반응(7.2% 대 5.1%), 비인두염(11.3% 대 11.1%), 인플루엔자(5.7% 대 4.6%), 근육통(4.3% 대 3.4%), 요로감염(4.8% 대 4.6%), 설사(4.7% 대 4.4%) 및 기관지염(4.3% 대 3.8%)(프랄루트(Praluent) 제품 삽입). 75 mg 및 150 mg의 2개의 승인된 투여량 사이에서는

어떠한 안전성 프로파일의 차이도 관찰되지 않았다.

[0167] 이미 최대 내약성 LMT 또는 LDL 성분채집술을 받고 있는, hoFH를 앓는 환자에서 알리로쿠맙(2주마다 150 mg)을 이용한 치료는 내약성이 높을 수 있고, 최대 LDL-C 저하 효과를 제공하면서 허용 가능한 안전성 프로파일을 갖는 것으로 가정되었다.

[0168] *유익성/유해성 평가*

[0169] hoFH를 앓는 환자는 극히 높은 LDL-C 수준을 가지며, 이들의 표적 LDL-C에서 벗어나 있고, LDL-C에서의 유의한 감소가 요구된다. 로미타피드 및 미포메르센을 비롯한 보다 새로운 치료의 승인에도 불구하고, 보다 집중적인 요법에 대한 요구가 여전하다. PCSK9 억제제는 LDL-C를 매우 크게 감소시키는 것으로 입증된 LMT 의약품(armamentarium)의 신규 품목이다. 스타틴 문헌으로부터의 일련의 증거에 따르면 LDL-C 감소와 CV 이벤트 감소 사이의 관계는 대략 선형 관계이며, hoFH 환자 개체군에 대한 본 연구의 문맥 내에서 LDL-C의 보통 수준의 감소는 이들 환자에 있어서 유의한 유익성으로 해석될 수 있는 것으로 나타난다.

[0170] 알리로쿠맙을 이용한 치료는 내약성이 높을 수 있으며, 허용 가능한 안전성 프로파일을 갖는 것으로 예상되었다. 측정된 안전성 정보에 따르면 알리로쿠맙에 의해 가장 흔히 발생하는 TEAE는 비인두염, 주사 부위 반응, 인플루엔자, 근육통, 근육격 통증 및 좌상인 것으로 나타났다. 게다가, 이들 유해 이벤트(AE)의 발생률은 비교적 낮으며, (플라시보 그룹에서 11.1% 내지 1.6%에 비해) 알리로쿠맙 치료 그룹의 경우에 11.3% 내지 2.1%로 나타났다(프랄린트 제품 삽입).

[0171] 종합하면, 이들 데이터에서는 hoFH 개체군에서의 알리로쿠맙을 이용한 치료의 유익성/유해성 평가가 바람직할 수 있다는 것을 보여주었다.

[0172] *인구 통계 및 기준선 특징*

[0173] 기준선 특징에는 각각의 환자에 대한 표준 인구 통계학(연령, 인종, 체중, 신장 등), 질병 특징(지질 수준을 포함함), 돌연변이 상태, 병력, 투약 이력 및 성분채집 스케줄(해당되는 경우)이 포함되었다.

[0174] *1차 및 2차 종료점*

[0175] 1차 효능 종료점은 hoFH를 앓는 환자에서의 플라시보와 비교할 때 알리로쿠맙(2주마다 150 mg)에 대한 ITT 개체군에서 기준선으로부터 12주차까지의 LDL-C의 변화율이었다. 기준선으로부터 12주차까지의 LDL-C의 변화율은 하기와 같이 정의되었다: $[100 \times (12\text{주차의 LDL-C 값} - \text{기준선에서의 LDL-C 값})] / \text{기준선에서의 LDL-C 값}$. LDL-C 분석을 위해, 계산된 LDL-C 값 및 측정된 LDL-C 값 둘 모두를 고려하였다. 계산된 LDL-C 값 및 측정된 LDL-C 값 둘 모두가 동일한 샘플링 시점에 이용 가능한 경우, 측정된 LDL-C가 고려되었다. 기준선 LDL-C 값은 이중 맹검 연구 약품의 첫 번째 투여량 이전에 획득된 마지막 LDL-C 값이었다. 무작위화되었지만 치료받지 않은 환자에 있어서, 기준선은 무작위화 이전의 마지막 값으로서 정의되었다. 12주차의 LDL-C는 치료 순응도와 상관없이 12주차 분석 윈도우 내에서 획득된 LDL-C 값이었다(ITT 추정치).

[0176] 계산되고 측정된 LDL-C 값(예정되거나 예정되지 않은 공복 또는 비-공복) 모두는 상기 정의에 따라 적절하다면 1차 효능 종료점을 위해 사용될 수 있었다. 측정에 시점을 할당하기 위해 사용되는 분석 윈도우는 통계 분석 계획(SAP)에서 정의되었다.

[0177] 주요 2차 효능 종료점에는 기준선으로부터 12주차까지의 Apo B의 변화율(ITT 추정치), 기준선으로부터 12주차까지의 비-HDL-C의 변화율(ITT 추정치), 기준선으로부터 12주차까지의 총 콜레스테롤의 변화율(ITT 추정치), 12주차에 LDL-C 감소가 15% 이상인 환자의 비율(ITT 추정치), 12주차에 LDL-C 감소가 30% 이상인 환자의 비율(ITT 추정치), 기준선으로부터 12주차까지의 Lp(a)의 변화율(ITT 추정치), 12주차에 LDL-C 감소가 50% 이상인 환자의 비율(ITT 추정치), 기준선으로부터 12주차까지의 HDL-C의 변화율(ITT 추정치), 기준선으로부터 12주차까지의 공복 TG의 변화율(ITT 추정치) 및 기준선으로부터 12주차까지의 Apo A-1의 변화율이 포함되었다. 이들 주요 2차 효능 종료점에 적용된 바와 동일한 정의 및 규칙이 1차 효능 종료점에도 적용되었다.

[0178] 기타 2차 효능 종료점에는 12주차 분석 윈도우 이내 및 효능 치료 기간 동안 LDL-C 값 모두를 사용하여 변형된 (m)ITT 개체군(이중 맹검 시험용 연구 약품의 적어도 1회 투여량 또는 투여량의 일부를 복용하고 평가 가능한 1차 종료점을 갖는 모든 무작위화된 개체군)에서 기준선으로부터 12주차까지의 LDL-C의 변화율(시험자군 추정치(on-treatment estimand)), 기준선으로부터 12주차까지의 Apo B, 비-HDL-C, TC, Lp(a), HDL-C, 공복 TG 및 Apo A-1의 변화율(시험자군 추정치), 12주차에 LDL-C의 감소가 15% 이상, 감소가 30% 이상 및 감소가 50% 이상인 환자의 비율(시험자군 추정치) 및 기준선으로부터 12주차까지의 Apo B/Apo A-1 비율의 절대 변화율(ITT 추정치)이

포함되었다. 효능 치료 기간은 어느 쪽이 먼저이든 간에 첫 번째 이중 맹검 연구 약품 주사로부터 마지막 이중 맹검 연구 약품 주사 이후 21일까지 또는 첫 번째 개방 표지 알리로쿠맙 주사(해당되는 경우)까지의 시간으로 정의되었다.

[0179] 안전성 종료점은 연구 기간 내내 평가된 안전성 파라미터(AE, 실험실 데이터, 활력 징후 및 심전도[ECG])를 구성하였다. 기타 종료점에는 hoFH 유전자형 상태와 지질 파라미터 사이의 탐색적 관계, 기준선으로부터 12주차까지의 미국 성분채집술 적격성 기준을 충족하는 환자 비율의 변화(문헌[Goldberg, *et al.* 2011 *J Clin Lipidol* 5(3 Supp): S1~S8]), 기준선으로부터 12주차까지의 독일 성분채집술 적격성 기준을 충족하는 환자 비율의 변화(문헌[Schettler, *et al.* 2012 *Clin Res Cardiol Suppl* 7: 15~19]) 및 각각의 EQ-5D 항목의 응답, 지수 점수 및 기준선으로부터 12주차까지의 지수 점수의 변화가 포함되었다.

[0180] 약동학적 변수

[0181] 약동학(PK) 변수는 지정한 샘플링 시간에 수집된 알리로쿠맙 혈청 농도이다.

[0182] 항-약품 항체 변수

[0183] 항-약품(알리로쿠맙) 항체 상태를 평가하였다: 모든 시점에서 ADA 검정에 음성인 모든 환자, 기존의 면역 반응성(모든 투여 후 결과가 음성인 경우에 검정에서 기준선에서의 항-약품 항체(ADA) 양성 반응 또는 모든 치료 후 ADA 반응이 기준선 역가 수준보다 4배 낮은 경우에 기준선에서의 양성 반응 중 하나로서 정의됨), 및/또는 치료 유발(기준선 결과가 음성인 경우에 임의의 투여 후 양성 ADA 반응 또는 기준선이 ADA 검정에서 양성인 경우에 기준선 기준보다 적어도 4배 높은 임의의 투여 후 양성 ADA 반응 중 하나로서 정의됨).

[0184] ADA 검정에서 양성인 샘플을 역가에 대해 평가하였다. 역가 범주에는 낮은 역가(1,000 미만의 역가), 중등 역가(1,000 이상 및 10,000 이하의 역가) 및 높은 역가(10,000 초과 역가)가 포함되었다.

[0185] ADA 검정에서 양성인 샘플을 중화 활성에 대해 평가하였다.

[0186] 연구 설계

[0187] 본 연구는 hoFH를 앓는 환자에서 알리로쿠맙의 효능 및 안전성을 평가하기 위한 무작위화, 이중 맹검, 플라시보-대조, 병용 그룹 연구이다.

[0188] 대략 74명의 환자를 2:1의 비율로 무작위화하여 알리로쿠맙(2주마다 피하 150 mg) 또는 대응 플라시보 중 하나를 투여받았다. 무작위화는 성분채집 치료 상태(예/아니오)로 계층화되었다.

[0189] 연구는 하기 연구 순서도에 따라 최대 4개의 기간, 즉 선택적인 4주간의 준비 기간(스크리닝 이전에 배경 의약품 LMT 용법 또는 성분채집 스케줄 및/또는 성분채집 환경이 안정한 환자의 경우), 2주간의 스크리닝 기간, 12주간의 이중 맹검 치료 기간 및 의무적인 12주간의 개방 표지 치료 기간으로 이루어 있었다.

선택적인 준비		스크리닝		개방 표지 치료	
		기준선	이중 맹검의 종료	개방 표지의 종료	연구의 종료
(-42일 째 날)	(-14일째 날)	(1일째 날)	(85일째 날)	(169일째 날)	(225일째 날)

[0190]

[0191] 다른 지질 저하 연구를 중단한 환자는 또한 8주간의 추적조사 기간을 겪었다.

[0192] 선택적인 준비에는 성분채집 요법 및 지질 조절 요법을 겪는 단계가 포함되었다.

[0193] 성분채집 요법을 겪는 중인 환자는 안정적인 매주 또는 격주 스케줄을 따라야 했다. 스케줄 또는 성분채집 환경이 스크리닝 방문 이전 적어도 8주 동안 안정하지 않았던 환자는 스크리닝 기간 이전에 4주간의 준비 기간에 진입하였다. 4주간의 준비 기간 이후, 지질-성분채집 스케줄/환경이 안정한 채로 유지된(적어도 총 8주 동안 안정한) 환자는 2주간의 스크리닝 기간에 진입하는 데 적격이었다. 또한, LDL 성분채집술 도중인 모든 환자는 유전자형을 기초하여 진단되어야 했으며, 유전자형 정보가 사전에 결정되지 않았다면 이들은 준비 단계로 진입하여 필요한 경우 시간을 들여 이들의 돌연변이 상태를 확인할 수 있었다.

[0194] 스크리닝 방문 이전에 적어도 4주 동안 안정하지 않았던 배경 지질 조절 요법(LMT) 도중인 환자는 4주간의 준비 기간에 진입하여 이들 LMT를 안정화시킨 후, 스크리닝 기간에 진입하였다. 스크리닝 이전 6개월 동안 미포메르센의 안정적인 투여량에 의한 치료 도중 또는 스크리닝 이전 12주 동안 로미타피드의 최대 내약성 투여량에 의

한 치료 도중이 아닌 환자를 배제하였다.

[0195] *스크리닝*

[0196] 상기에 정의된 바와 같은 안정한 배경 용법으로 치료 도중이면, 환자는 2주간의 스크리닝 기간에 진입하였다. 초기 적격성을 표준 스크리닝 절차에 의해 이러한 스크리닝 기간 동안 결정하였다. DNA 샘플을 hoFH 돌연변이 상태를 위해 수집하였다.

[0197] 환자는 스크리닝에서 시작하여 이중 맹검 치료 기간의 종료 및 개방 표지 치료 기간까지의 연구 지속 기간 전반에 걸쳐 안정적인 저지방 또는 심장 건강식 식이 도중이어야 했다. 환자의 운동 용법은 스크리닝에서부터 이중 맹검 치료 기간의 종료 및 개방 표지 치료 기간까지의 연구 지속 기간 전반에 걸쳐 안정한 채로 유지되어야 했다.

[0198] 환자 또는 간병인은 스크리닝 기간 동안 또는 이중 맹검 치료 기간의 최초 방문 시에 플라시보의 투여량을 사용하여 자가 주사/주사하도록 훈련을 받았다.

[0199] *이중 맹검 치료*

[0200] 모든 포함 기준을 충족하고 배제 기준 중 어떠한 것도 충족하지 못한 환자는 2:1의 비율로 무작위화되어 알리로쿠맙(2주마다 피하 150 mg) 또는 대응 플라시보(2주마다 피하)를 투여받는다. 투여받은 것은 본원에서 "연구 약품" 및 "시험용 의약품"으로도 지칭된다.

[0201] 이중 맹검 치료 기간 동안의 연구 약품의 투여는 무작위화 당일에 시작되었으며, LDL 성분채집 시술(해당되는 경우)의 완료 직후에 투여되었다. LDL 성분채집술을 겪지 못한 이들 환자에 있어서, 연구 약품의 투여는 임상 실험실 평가를 위한 모든 샘플이 수득된 후에 이루어졌다. 이중 맹검 치료 기간 동안의 마지막 주사는 71일차/10주차이었다.

[0202] LDL 성분채집술을 겪은 모든 환자에 있어서, 임상 실험실 평가를 위한 모든 샘플은 LDL 성분채집 시술 직전 및 연구 약품의 투여 직전에 수득되었다. 지질 파라미터에 대한 LDL 성분채집술의 영향을 고려할 때, 12주차 활성 시기와 기준선 활성 시간을 일치시키는 것이 중요하였다. 이는 가장 최근에 완료된 LDL 성분채집 시술 대비 기준선 샘플 수집 사이의 시기는 가장 최근에 완료된 LDL 성분채집 시술 대비 12주차 샘플의 수집 시기를 일치시켜야 한다는 것을 의미한다.

[0203] 성분채집술을 겪지 않은 모든 환자에 있어서, 임상 실험실 평가를 위한 모든 샘플은 시험용 의약품의 투여 이전에 수득되었다. 알리로쿠맙의 효능은 연구 전반에 걸쳐 소정의 시점에 지질 수준에 대한 임상 실험실 평가에 의해 평가되었다.

[0204] LMT를 받는 중이거나 성분채집술을 겪는 중인 환자는 스크리닝에서부터 개방 표지 치료 기간의 종료/연구 종료 방문(24주차)까지의 연구 지속 기간 전반에 걸쳐 안정한 LMT 및 안정한 성분채집 스케줄(해당되는 경우)을 유지하였다.

[0205] 이중 맹검 치료 기간 동안 연구 약품을 조기에 중단한 환자는 연구를 유지하고 모든 이중 맹검 연구 방문 및 연구 약품을 이용한 투약을 제외한 시술을 수행하도록 장려되었다. 연구 약품의 중단 시에, 환자는 가능한 한 빨리 이중 맹검 치료 방문의 종료 시에 정상적으로 계획된 평가와 함께 예정되지 않은 방문을 해야 했다(이는, 가능하다면, 연구 약품의 중단 5일 이내에 이루어져야 했음).

[0206] *개방 표지 치료*

[0207] 이러한 희귀한 환자 개체군에서 추가의 안전성 데이터를 제공하기 위해, 모든 환자는 개방 표지 치료 기간에 참가하였다. 이중 맹검 치료 기간에서의 치료 배경과는 무관하게, 환자는 12주차(85일차)에 시작하여 24주차(개방 표지 치료 기간의 종료, 155일차/22주차)에 연구 약품의 마지막 주사까지 계속하여 개방 표지 연구 약품(2주마다 피하로 알리로쿠맙 150 mg)을 투여받았다. LMT를 받는 중이거나 LDL 성분채집술을 겪는 중인 환자는 개방 표지 치료 지속 기간 전반에 걸쳐 안정적인 투여량 및 용법 및 안정적인 LDL 성분채집 스케줄 및 환경(해당되는 경우)을 계속하였다.

[0208] 개방 표지 치료 기간이 완료되었을 때, 환자는 추가적인 지질 저하 임상 시험에 참가하거나, 8주간의 추적조사 기간을 직접 겪었다. 추적조사 전화 호출은 AE 및 병용 약물 정보를 수집하기 위해 32주차에 이루어졌다.

[0209] 본 연구에 대한 연구 종료는 마지막 환자의 마지막 방문으로서 정의되었다.

- [0210] 환자 선별
- [0211] 알리코쿠마 및 플라시보에 2:1로 무작위화된 69명의 환자가 연구에 포함되었다.
- [0212] 초기 스크리닝 동안에 적격성 기준을 충족하지 못한 환자는 단지 1회만 재스크리닝할 수 있었다. 스크리닝 윈도우가 끝난 후에 재스크리닝된 환자는 연구 참가에 다시 동의하고, 모든 스크리닝 과정을 반복해야 했다. 초기 스크리닝 동안 적격성 기준을 충족하지 못했지만 여전히 스크리닝 윈도우 내에 있는 환자는 적격성 기준을 1회 충족하지 못한 이들 평가를 재검사할 수 있었다.
- [0213] 연구 개체군
- [0214] 연구 개체군은 LDLR 대립유전자 둘 모두에서 영/영 돌연변이를 갖는 것으로 알려진 환자를 제외하고 hoFH로 진단된 18세 이상의 남성 및 여성 환자로 이루어질 것이다.
- [0215] 포함 기준
- [0216] 본 연구에 적격이 되기 위해, 환자는 하기 기준을 충족해야 했다:
- [0217] i) 스크리닝 방문 시에 18세 이상인 남성 및 여성,
- [0218] ii) 하기 유전자형 또는 임상적 기준 중 적어도 하나에 의한 hoFH의 진단(LDL 성분채집술 도중인 모든 환자는 유전자형에 기초하여 진단됨): a) LDLR 대립유전자 둘 모두에서의 문서로 기록된 동형접합 또는 복합 이형접합 돌연변이(주석: LDLR 대립유전자 둘 모두에서 영 돌연변이가 있는 것으로 알려진 환자는 배제된다(하기 배제 기준 참조), b) Apo B, PCSK9 또는 LDLRAP1에서의 동형접합 또는 복합 이형접합 돌연변이의 존재, c) 이중 이형접합 돌연변이, 즉 LDLR, Apo B 또는 PCSK9 대립유전자 내의 상이한 유전자 상의 돌연변이의 존재, d) 500 mg/dl (12.93 mmol/l) 초과 무처리 TC 및 300 mg/dl (3.39 mmol/l) 미만의 TG, 및 e) 10세 이전에 250 mg/dl (6.46 mmol/l) 초과 TC 이력 또는 피부 또는 힘줄 황색종 이력을 갖는 환자 둘 모두,
- [0219] iii) 스크리닝 방문 시에 스타틴의 안정적인 투여량을 투여받기(주석: 스타틴에 내약성을 나타낼 수 없거나 스타틴이 효과가 없는 것으로 밝혀진 환자는 연구에 포함될 수 있으나, 그 이유가 증례 기록지(CRF)에 문서로 기록되어야 함),
- [0220] iv) LDL 성분채집술을 겪고 있다면 스크리닝 전 적어도 3개월에 LDL 성분채집술을 개시해야 했으며, 안정적인 주1회(7일마다) 스케줄 또는 격주(14일마다) 스케줄, 또는 적어도 8주 동안 안정적인 환경이 지속되어야 함,
- [0221] v) 연구 지속 기간 동안 안정한 저지방 또는 심장 건강식 식이를 유지할 의향이 있음,
- [0222] vi) 임상 방문 및 연구 관련 과정을 준수할 의향이 있으며 이를 준수할 수 있음,
- [0223] vii) 서명된 사전 동의(informed consent)를 제공함.
- [0224] 기준선에서의 본 연구의 환자 특징에 대한 요약은 하기 표에 제공된다:

표 1

기준선에서의 인구 통계 및 환자 특징 - 무작위화된 개체군

	플라시보(N = 24)	알리로쿠맙(2주마다 150)(N = 45)	총수(N = 69)	플라시보 대비 p-값
연령(세)				
인원수	24	45	69	0.5081
평균(SD)	45.4(15.80)	42.3(14.13)	43.4(14.69)	
중간값	43.0	42.0	42.0	
최소:최대	23:81	19:69	19:81	
연령 그룹(세)[n(%)]				
인원수	24	45	69	0.6210
45 미만	13(54.2%)	27(60.0%)	40(58.0%)	
45 이상 내지 65 미만	7(29.2%)	14(31.1%)	21(30.4%)	
65 이상 내지 75 미만	3(12.5%)	4 (8.9%)	7(10.1%)	
75 이상	1(4.2%)	0	1(1.4%)	
연령 그룹(세)[n(%)]				
인원수	24	45	69	0.4354
65 미만	20(83.3%)	41(91.1%)	61(88.4%)	
65 이상	4(16.7%)	4(8.9%)	8(11.6%)	
성별[n(%)]				
인원수	24	45	69	0.6183
남성	13(54.2%)	21(46.7%)	34(49.3%)	
여성	11(45.8%)	24(53.3%)	35(50.7%)	
인종[n(%)]				
인원수	24	45	69	0.4188
백인	18(75.0%)	36(80.0%)	54(78.3%)	
흑인 아프리카계 미국인	0	2(4.4%)	2(2.9%)	
아시아인	5(20.8%)	7(15.6%)	12(17.4%)	
미국계 인디언 또는 알래스카 원주민	0	0	0	
하와이 원주민 또는 기타 태평양 섬 주민	0	0	0	
기타	1(4.2%)	0	1(1.4%)	
민족성[n(%)]				
인원수	24	45	69	0.5396
히스패닉 또는 라틴계	0	2(4.4%)	2(2.9%)	
비히스패닉 또는 비라틴계	24(100%)	43(95.6%)	67(97.1%)	
체중(kg)				
인원수	24	45	69	0.7913
평균(SD)	70.1(17.75)	71.6(20.23)	71.1(19.28)	
중간값	69.8	71.0	70.0	
최소:최대	46:114	42:157	42:157	
체중 그룹(kg)[n(%)]				
인원수	24	45	69	0.8480
50 미만	2 (8.3%)	6(13.3%)	8(11.6%)	
50 이상 내지 70 미만	10 (41.7%)	14(31.1%)	24(34.8%)	
70 이상 내지 100 미만	11(45.8%)	22(48.9%)	33(47.8%)	
100 이상	1(4.2%)	3(6.7%)	4(5.8%)	

[0225]

	플라시보(N = 24)	알리로쿠맙(2주마다 150)(N = 45)	총수(N = 69)	플라시보 대비 p-값
BMI(kg/m ²)				
인원수	24	45	69	0.9899
평균(SD)	25.1(5.12)	25.1(5.37)	25.1(5.24)	
중간값	24.8	25.1	24.8	
최소:최대	18:40	18:47	18:47	
BMI 그룹(kg/m ²)[n(%)]				
인원수	24	45	69	1.0000
30 미만	21(87.5%)	40(88.9%)	61(88.4%)	
30 이상	3(12.5%)	5(11.1%)	8(11.6%)	
주석: 치료 그룹들 사이의 기준선 데이터를 비교한 p-값은 정성적 데이터에 대한 피셔 정확 검정(Fisher exact test) 및 연속형 데이터에 대한 윌콕슨 점수(Wilcoxon score)용 점근적 1원 ANOVA 검정(크러스칼-윌리스 검정(Kruskal-Wallis test))을 사용하여 스크리닝 도구로서 설명을 목적으로 제공된다.				

[0226]

[0227]

배제 기준

[0228]

하기 기준 중 임의의 것을 충족하는 환자는 본 연구에서 배제되었다:

[0229]

i) LDLR 대립유전자 둘 모두에서의 영 돌연변이의 문서로 기록된 증거,

[0230]

ii) 스크리닝 방문으로부터 10주 이내에 PCSK9 억제제의 사용,

[0231]

iii) 스크리닝 방문 이전에 적어도 4주(피브레이트의 경우 6주, 미포메르센의 경우 24주, 로미타피드의 최대 내

약성 투여량에 대해 12주) 동안 안정하지 않았던 배경 의료용 LMT; 환자는 선택적인 준비 기간에 진입할 선택권을 갖고; 환자가 적절한 기간 동안 자신의 배경 의료용 LMT에 안정하면 환자는 스크리닝 기간에 진입할 수 있음,

- [0232] iv) 스크리닝 방문 이전에 적어도 8주 동안 안정하지 않았던 LDL 성분채집 스케줄/성분채집 환경 또는 다음 24주에 걸쳐 안정한 것으로 예상되지 않은 성분채집 스케줄/환경; 환자는 선택적인 준비 기간에 진입할 선택권을 갖고; 환자가 적절한 기간 동안 자신의 배경 지질 성분채집 스케줄/환경에 안정하면 환자는 스크리닝 기간에 진입할 수 있음,
- [0233] v) 스크리닝 방문 이전 또는 스크리닝과 무작위화 방문 사이에 적어도 4주 동안 안정하지 않았던 투여량/양으로 지질에 영향을 미치는 것으로 알려진 약효식품(nutraceuticals) 또는 비처방 (OTC) 요법의 사용; 환자는 선택적인 준비 기간에 진입할 선택권을 갖고; 환자가 적절한 기간 동안 자신의 약효식품 또는 OTC 요법에 안정하면 환자는 스크리닝 기간에 진입할 수 있음,
- [0234] vi) 혈청 지질 또는 지질단백질에 영향을 미치는 것으로 알려진 임의의 임상적으로 유의한, 제어되지 않는 내분비 질병의 존재; 이는 (무작위화 방문(0주차/1일차) 이전 3개월 이내에) 새로 진단된 진성 당뇨병 또는 갑상선 기능 저하증의 징후 및 증상을 포함할 수 있음; 참고로, 대체 요법의 복용량이 스크리닝 이전 적어도 12주 동안 안정하고, 갑상선 자극 호르몬(TSH) 수준이 스크리닝 방문 시에 정상 범위 내에 있으면 갑상선 대체 요법 도중인 환자를 포함시킬 수 있음,
- [0235] vii) 스크리닝 방문(-2주차) 이전 2개월 이내에 불안정한 체중(5 kg 초과)의 변화),
- [0236] viii) 스크리닝 이전 4개월 이내에 새로운 식이의 개시 또는 이전 식이에 있어 대대적인 변경,
- [0237] ix) 무작위화 이전 적어도 6주 동안 1일 10 mg 이하의 프레드니손 등가물의 안정적인 용법 중에 있는 경우를 제외한, 전신성 코르티코스테로이드의 만성적인 사용; 참고로, 국소, 관절 내, 비강, 흡입형 및 안과용 스테로이드 요법은 '전신성'인 것으로 간주되지 않아서 허용되었음,
- [0238] x) 스크리닝 방문 이전 지난 6주 이내에 용법이 안정적이고 연구 동안에 용법을 변경할 계획이 없는 경우를 제외한, 에스트로겐 또는 테스토스테론 요법의 사용,
- [0239] xi) 스크리닝 방문 시에 160 mmHg 초과 수축기 혈압 또는 100 mmHg 초과 확장기 혈압(1회 반복 측정이 허용됨),
- [0240] xii) 스크리닝 방문 시에 70 mg/dl(1.81 mmol/l) 미만의 LDL-C 수준,
- [0241] xiii) 스크리닝 방문 이전 3개월 이내에 MI, 입원을 초래하는 불안정 협심증, 관상동맥 우회 이식 수술, 경피적 관상동맥 중재, 제어되지 않는 심장 부정맥, 경동맥 수술 또는 스텐트 시술, 뇌졸중, 일과성 허혈 발작, 밸브 교체 수술, 경동맥 혈관재생, 혈관 내 시술 또는 말초 혈관 질병에 대한 수술적 중재 이력,
- [0242] xiv) 스크리닝 이전 12개월 이내에 뉴욕 심장 학회(NYHA) 클래스 IV 심부전 이력,
- [0243] xv) 적절히 치료된 기저 세포 피부암, 편평세포 피부암 또는 원위치 자궁경부암을 제외한 지난 2년 이내에 암의 이력,
- [0244] xvi) 어느 쪽이 길든, 스크리닝 방문 이전 1개월 이내 또는 5의 반감기 이내에 임의의 활성 시험용 약품의 사용,
- [0245] xvii) 조사자 또는 임의의 시험 담당자의 판단 하에 연구의 안전한 완료를 불가능하게 하거나 종료점의 평가를 제약할 수 있는, 스크리닝 시기에 확인된 임의의 임상적으로 유의한 비정상과 같은 병태/상황; 예를 들어, 주요 전신성 질병, 기대 수명이 짧은 환자, 또는 조사자 또는 임의의 시험 담당자에 의해 임의의 이유로 본 연구에 부적절한 것으로 간주되는 환자, 예를 들어 구체적인 프로토콜 요건, 예를 들어 예정된 방문을 충족시킬 수 없는 것으로 여겨지는 환자, 환자 또는 조사자, 프로토콜의 수행 등에 직접 연루된 조사자 또는 임의의 시험 담당자, 약사, 연구 조정자, 기타 연구 직원 또는 이의 관계자에 따라 주사에 내약성을 나타낼 수 없는 것으로 여겨지는 환자, 또는 조사자가 느끼기에 연구 지속 기간 동안 환자의 참가를 방해하거나 제한할 것으로 생각되는, 실제의 또는 예상되는 임의의 기타 조건(예를 들어, 지리적, 사회적)의 존재,
- [0246] xviii) 스크리닝 기간 동안의 실험실 결과(무작위화 실험을 포함하지 않음): 스크리닝 방문 시의 B형 간염 표면 항원 및/또는 C형 간염 항체(양성 HCV RNA 폴리메라아제 연쇄 반응과 연관됨), 임신 가능성이 있는 여성에서의

양성 혈청 베타-인간 융모막 고나도트로핀(hCG) 또는 소변 임신 검사, 30 ml/분/1.73 m² 미만의 추측된 사구체 여과율(eGFR)(중앙 연구실에 의해 계산됨), 정상 상한치가 3초파인 알라닌 아미노트랜스페라아제(ALT) 또는 아스파르트산 아미노트랜스페라아제(AST)(1회 반복 실험이 허용됨) 또는 ULN이 5배 초과인 원인 불명의 혈청 크레아틴 포스포키나아제(CPK)(1회 반복 실험이 허용됨),

- [0247] xix) 단클론성 항체 치료제에 대한 알려진 과민증,
- [0248] xx) 임상 현장 연구팀의 멤버 및/또는 이의 근친,
- [0249] xxi) 임신부 또는 모유 수유 여성, 및
- [0250] xxii) 최초 치료의 초기 투여량/시작 이전 및 연구 지속 기간 동안 매우 효과적인 피임을 실천할 의향이 없는 임신 가능성이 있는 여성*; 매우 효과적인 피임 척도는 스크리닝 이전에 2회 이상의 월경 주기를 개시한 여성의 배란 억제와 연관된 병용(에스트로겐 및 프로게스토겐(progestogen) 함유) 호르몬 피임(경구, 질내, 경피) 또는 프로게스토겐-단독 호르몬 피임(경구, 주사용, 이식용)의 안정적인 사용; 자궁 내 장치(IUD); 자궁 내 호르몬 방출 시스템(IUS); 난관 결찰; 정관 절제술을 받은 파트너; 및/또는 금욕**을 포함하였다. * 폐경 후 여성은 임신 가능성이 있는 것으로 간주되지 않도록 적어도 12개월 동안 무월경이어야 했다. 임신 검사 및 피임은 문서로 기록된 자궁 절제술 또는 난소 절제술을 받은 여성에게는 요구되지 않았다. **금욕은 연구 치료와 연관된 전체 위험 기간 동안 이성 교제를 삼가는 것으로 정의되는 경우에만 매우 효과적인 방법으로 간주되었다.
- [0251] 초기 연구 철회
- [0252] 환자는 임의의 이유로 그리고 아무런 영향 없이 임의의 시기에 연구를 그만둘 권리를 가졌다. 조사자 및/또는 후원자는 환자의 연구 참여 지속이 이익이 되지 않거나 환자가 연구를 계속함에 따라 연구의 과학적 결과가 위험에 처하는 경우(예를 들어, 환자가 연구 과정을 따르지 못했거나 따를 수 없었던 경우)에 환자를 연구에서 철회시킬 권리를 가졌다. 과도한 철회율은 연구를 해석 불가능하게 만들 수 있기 때문에 환자의 불필요한 철회는 방지되어야 한다.
- [0253] 현장으로의 복귀 및 건강 상태(최소한의 생명 유지 상태를 포함함) 확인이 이루어지지 않은 임의의 환자와 접촉 하도록 조사자는 최선의 노력(예를 들어, 환자의 가족 또는 개인 의사와의 접촉, 이용 가능한 등록소 또는 보건 의료 데이터베이스의 검토)을 해야 했다. 이 같은 환자와 접촉하려는 시도는 환자 기록으로 문서화(예를 들어, 전화 접촉을 시도한 시간 및 일자, 등기 편지를 전달하기 위한 영수증)되어야 했다.
- [0254] 연구를 초기에 중단한 환자는 교체되지 않았다.
- [0255] 연구 치료
- [0256] 시험용 연구 약품의 주사는 사전 충전형 펜으로 제공되었으며, 복부, 넓적다리 또는 상박의 외부 영역에 피하 투여되었다. 환자 또는 간병인은 임상 현장에서의 주사 훈련을 위해 플라시보를 사용하였다. 연구 적격성이 확인된 후, 환자 또는 간병인은 플라시보를 사용하여 자가 주사/주사하도록 훈련을 받았다.
- [0257] 시험용 및 기준 치료
- [0258] 이중 맹검 치료: 이중 맹검 치료 기간 동안의 연구 약품의 투여는 무작위화 당일에 시작되었으며, LDL 성분채집 시술(해당되는 경우)의 완료 직후에 투여되었다. LDL 성분채집술을 겪지 못한 이들 환자에 있어서, 시험용 연구 약품의 투여는 임상 실험실 평가를 위한 모든 샘플이 수득된 후에 이루어졌다. 이중 맹검 연구 약품의 마지막 주사는 71일차/10주차에 발생하였다. 투여량이 결측되는 경우, 환자는 결측 투여량으로부터 7일 이내에 주사를 투여하도록 지사를 받았다. 결측 투여량이 7일 이내에 투여되지 않으면, 환자는 투여량을 무시하고 원래의 스케줄을 재개하도록 지사를 받았다.
- [0259] 환자를 2:1의 비율로 무작위화하여 알리로쿠맙(2주마다 피하 150 mg) 또는 대응 플라시보(2주마다 피하) 중 하나를 투여받았다. 평균 알리로쿠맙 약품은 사전 충전형 펜으로 150 mg/ml의 농도로 공급되었다. 플라시보는 또한 사전 충전형 펜으로 공급되었다.
- [0260] 개방 표지 치료: 이러한 희귀한 환자 개체군에서 추가의 안전성 데이터를 제공하기 위해, 이중 맹검 치료 기간에서의 치료 배정과는 무관하게 모든 환자는 12주차에 시작하여 24주차(개방 표지 치료 기간의 종료/EOS 방문, 22주차에 마지막 주사)까지 계속하여 개방 표지 연구 약품(2주마다 피하로 알리로쿠맙 150 mg)을 투여받았다. LMT를 받는 중이거나 성분채집술을 겪는 중인 환자는 개방 표지 치료 지속 기간 전반에 걸쳐 안정적인 투여량

및 용법 및 안정한 성분채집 스케줄 및 환경(해당되는 경우)을 계속해야 했다. 평균 알리코쿠마프 약품은 사전 충전형 펜으로 150 mg/mL의 농도로 공급되었다.

[0261] 준비 (선택적) 및 배경 치료(들)

[0262] 성분채집 요법: 스크리닝 방문 이전에 적어도 8주 동안 안정적인 매주 또는 격주 스케줄 또는 안정한 환경 없이 성분채집 요법을 겪는 중인 환자는 스크리닝 기간 이전에 4주간의 선택적인 준비 기간에 진입하였다. 4주간의 준비 기간 이후, 지질 성분채집 스케줄/환경이 안정한 채로 유지되는 환자는 2주간의 스크리닝 기간에 진입하는데 적격이었다. 또한, LDL 성분채집술 도중인 모든 환자는 유전자형에 기초하여 진단되어야 했으며, 유전자형 정보가 사전에 결정되지 않았다면 이들은 준비 단계로 진입하여 필요한 경우 시간을 들여 이들의 돌연변이 상태를 확인할 수 있었다.

[0263] 지질 조절 요법: 스크리닝 방문 이전에 적어도 4주 동안 안정하지 않은 배경 LMT 도중인 환자는 이들의 LMT를 안정화시키기 위해 4주간의 준비 기간에 진입하였다. 스크리닝 이전 6개월 이내에 미포페르센의 안정적인 투여량 또는 스크리닝 이전 12주 동안 로미타피드의 최대 내약성 투여량으로 치료 도중이 아닌 환자를 배제하였다.

[0264] 투여량 조절 및 연구 치료 중단

[0265] 개별 환자에 대한 투여량 조절은 허용되지 않았다.

[0266] 연구 약품은 가능할 때마다 계속되었다. 시험용 연구 약품의 투약이 중단되면, 중단이 일시적으로 끝날 수 있는지를 결정해야 했으며; 연구 중단은 마지막 수단이 되어야 했다. 임의의 경우, 환자는 가능한 한 오래 연구를 유지해야 한다.

[0267] 이중 맹검 치료 기간 동안에 연구 약품을 조기에 중단한 환자는 연구를 유지해야 했으며, 연구 약품을 이용한 투약을 제외한 모든 이중 맹검 연구 방문 및 과정을 수행해야 했다. 연구 약품의 중단 시에, 환자는 가능한 한 빨리 이중 맹검 치료 방문의 종료 시에 정상적으로 계획된 평가와 함께 (가능하면, 연구 약품의 중단 5일 이내에) 예정되지 않은 방문을 해야 했다. 이어서, 환자는 이중 맹검 치료 기간이 끝날 때까지 원래의 연구 스케줄을 재개해야 했으며, 12주차에 12주차 평가를 수행하기 위해 모든 노력을 해야 했다. 연구 방문(즉, 추적 조사 전화 호출 방문)이 끝날 때까지 원래의 연구 스케줄을 계속하였다.

[0268] 개방 표지 기간 동안 연구 약품을 조기에 중단한 환자는 가능한 한 빨리 개방 표지 치료 기간의 종료 시에 정상적으로 계획된 평가와 함께 (가능하면 연구 약품의 중단 5일 이내) 예정되지 않은 방문을 해야 했다. 이러한 방문이 완료되었을 때, 연구(즉, 추적조사 전화 방문)가 끝날 때까지 원래의 연구 스케줄을 재개하였다.

[0269] 환자는 하기의 이유로 인해 연구 약품을 조기에 중단하였다: 여성 환자의 경우, 임신했거나, 임신하려고 능동적으로 노력하고 있거나, 프로토콜-정의된 효과적인 산아 제한 방법의 사용을 중단했던 개인, 환자가 요청하고 조사자의 의견에 따라 시험용 연구 약품의 투약 지속이 환자의 건강과 행복에 유해할 수 있다고 판단되는 경우의 임상적 우려가 있는 급성 주사 반응, 후원자의 구체적인 요청 하에 시험용 연구 약품의 중단이 요구되는 병발성 병태, 및/또는 환자는 무작위화 이전에 이중 맹검 치료를 받음.

[0270] 시험용 연구 약품의 일시적 중단은 시험용 연구 약품의 투여량과 관련된 알레르기성 이벤트를 비롯한 의심스러운 AE로 인해 조사자에 의해 고려되었다. 시험용 연구 약품 투약의 재개는 밀접하고 적절한 임상적 및/또는 실험실 모니터링 하에 이루어졌다. 시험용 연구 약품의 일시적 중단은 1회 이상의 예정된 주사가 조사자에 의해 결정된 바와 같이 환자에게 투여되지 않는 것으로서 정의된다.

[0271] 급성 반응의 관리

[0272] 시험용 연구 약품의 (피하[SC]) 주사 이후의 급성 전신성 반응은 전형적인 임상 실습에 따라 적절한 반응을 결정하기 위한 임상적 판단을 이용하여 치료되어야 했다.

[0273] 치료 배정 방법

[0274] 치료 키트 번호의 무작위화된 목록이 중앙에 생성되었다. 대화식 음성 응답 시스템(IVRS) 및/또는 대화식 웹 응답 시스템(IWRS)이 본 연구에 사용되었다. 시험용 연구 약품은 이러한 목록에 따라 포장되었다.

[0275] 환자는 알리코쿠마프(150 mg) 또는 대응 플라시보를 2:1의 비율로 투여받도록 무작위로 배정되고, LDL 성분채집 치료 상태(치료 개시 대 치료 중단)에 의해 계층화되었다.

[0276] 치료 키트 번호는 하기 표 1에 명시된 주에 무작위 방문 시에 중앙화 치료 배정 시스템을 이용하여 재보급 방문

및 필요한 경우 예정되지 않은 방문으로서 배정되었다.

[0277] *맹검*

[0278] 연구 환자, 조사자 및 연구 현장 인원은 본 연구 전반에 걸쳐 모든 무작위화 배정에 대해 알지 못하였다. 연구 현장과 정기적으로 접촉하는 연구 책임자, 의료 감시자, 연구 감시자 및 임의의 인원은 모든 환자 무작위화 배정에 대해 알지 못하였다.

[0279] 무작위화 방문 이후에 수집된 혈액 샘플로부터의 지질 결과는 현장에 전달되지 않았으며, 후원자의 운영팀은 이 중 맹검 치료 기간 및 최초 단계 분석이 완료된 이후까지 이들 실험실 결과에 접근하지 못하였다.

[0280] 약물 번호 부여 시스템을 이용하여 코딩된 맹검 시험용 연구 약품 키트를 사용하였다. 맹검을 유지하기 위해, 이들 코드를 제품 로트 번호와 연결한 목록은 연구 수행에 관련된 개인에게는 접근 불가능하였다.

[0281] 항-약품 항체(ADA)는 현장에 전달되지 않았으며, 후원자의 운영팀은 이 중 맹검 치료 기간이 완료된 이후 데이터 베이스 잠금 이후까지 환자의 신원확인 및 연관된 결과에 접근하지 못하였다.

[0282] 연구가 진행 중이지만, 제1 단계 분석(모든 환자가 무작위화되고 12주차(이중 맹검 기간)까지의 모든 데이터가 수집 및 입증되자마자 수행되고; 이는 이중 맹검 1차 및 2차 효능 종료점에 대한 최종 분석으로 이루어져 있음) 이후에 비맹검 데이터를 보건 당국에 제출할 것으로 예상되었다. 보건 당국에 대한 제출을 위한 이 같은 데이터 분석을 수행 및 검토한 후원자 대표는 그 이후로 연구 운영팀의 일부가 아니었으며, 환자 수준 결과는 연구 현장에 제공되지 않았다.

[0283] *응급 비맹검*

[0284] 환자를 위한 치료 배정의 비맹검은 의료 응급상황 또는 임의의 기타 유의한 의학적 이벤트(예를 들어, 임신)로 인해 필요하게 되었다. 비맹검이 필요하다면, 조사자만이 치료 배정을 비맹검화하도록 결정을 내렸으며, 병든 환자만이 비맹검화되었다.

[0285] 치료 배정은, 실제 응급 상황인 경우를 제외하고 연구 수행 동안에 결코 현장 인원에게 제공되지 않았다. 연구 약사가 없는 경우, 이 역할을 수행하는 현장 사람이 현장 인원의 유일한 비맹검 멤버였다.

[0286] *치료 실행 계획 및 책무성*

[0287] 포장, 표지 및 저장과 관련하여, 약물 번호 부여 시스템은 맹검 시험용 연구 약품을 표지하기 위해 사용되었다. 약물 번호를 제품 로트 번호와 연결한 목록은 시험용 연구 약품의 포장에 책임이 있는 그룹(또는 회사)별로 유지되었다. 맹검을 유지하기 위해, 이들 목록은 연구 수행에 관련된 개인에게는 접근 불가능하였다. 하나의 플라시보-사전 충전형 펜을 포함하는 훈련 키트는 스크리닝 기간 동안 또는 기준선 방문 시에 무작위화 이전에 수행된 환자/간병인 주사 훈련을 위한 현장에 제공되었다. 제2 플라시보-사전 충전형 펜은 환자/간병인이 추가적인 주사 훈련을 요구하면 무작위화 이전에 사용될 수 있었다. 연구 약품은 2℃ 내지 8℃의 온도에서 현장에서 냉장 보관하였다. 저장 온도를 기록하였다. 상세한 저장 지침서는 연구 설명서 내에 제공되었다.

[0288] 치료의 보급 및 처분과 관련하여, 연구 약품은 2℃ 내지 8℃의 온도에서 일정한 간격으로 조사자 또는 피지명자에게 운송되거나, 필요한 경우 연구 동안에 운송되었다. 연구 동안의 명시된 시점(예를 들어, 중간 현장 모니터링 방문)에, 현장 종료 방문 시에, 그리고 현장 감시자에 의한 약품 조정 및 문서화 이후에, 모든 개봉 및 미개봉 시험용 연구 약품을 후원자 또는 피지명자에게 반환해야 했다. 시험용 연구 약품을 각각의 환자에게 조제하였다. 시험용 연구 약품을 각각의 환자/간병인에게 제공된 지침서에 따라 환자/간병인에 의해 저장, 준비 및 투여되었다.

[0289] 치료 책무성과 관련하여, 모든 약품 책무성 기록은 최신으로 유지되었다. 조사자는 모든 개봉 및 미개봉 시험용 연구 약품을 설명할 수 있어야 했다. 이들 기록에는 일자, 양, 및 각각의 환자에게 조제되고, 각각의 환자(해당되는 경우)로부터 반환되고, 현장에서 처분하거나 후원자 또는 피지명자에 반환되는 연구 약물이 포함되어 있어야 했다.

[0290] 시험용 연구 약품의 투여에 대한 순응도를 문서화하기 위해 환자들은 투약 기록일지 작성을 완료하였다. 시험용 연구 약품 책무성 및 순응도를 확보하고 문서화하기 위해 이루어진 방안은 다음과 같다:

[0291] i) 조사자 또는 피지명자는 IVRS/IWRS를 통해 치료 키트 번호(들)를 수득하였으며, 치료 키트(들)를 환자에게 분배하고,

- [0292] ii) 시험용 연구 약품 키트 재보급 방문 동안에만 책무성을 확인하고; 사용 및 미사용한 키트(들)를 책무성 목적으로 이들 방문에 제공되어야 하고,
- [0293] iii) 사용 및 미사용한 키트를 포함하는 모든 키트는 지정 방문 시에 환자에 의해 반환되어야 하고; 미사용한 키트에는 미사용한 사전 충전형 펜 모두가 포함되어 있으며; 사용한 키트는 환자가 하나 이상의 사전 충전형 펜을 제거한 것이고; 사용한 사전 충전형 펜은 투여할 의도로 키트(부분적으로 또는 완전히 주사된 이들 주사액을 포함함)로부터 제거되었던 것이고; 환자는 모든 사용한 사전 충전형 펜을 폐기물 용기(sharps container)에 폐기해야 하고, 사용한 사전 충전형 펜을 사용한 키트에 다시 넣어서는 안 되고,
- [0294] iv) 모든 폐기물 용기는 환자에 의해 현장에 반환되어야 하고,
- [0295] v) 조사자/연구 조정자는 치료 일지 서식에 기록된 데이터에 따라 적절한 CRF 페이지에 데이터를 입력하고,
- [0296] vi) 감시자는 CRF 페이지 중의 데이터 일관성, 치료 일지 서식을 점검하고, 미사용한 사전 충전형 펜을 상응하는 키트에 반환시켰다.
- [0297] 모든 치료 키트는 후원자에 의해 회수되었다. 반환된 시험용 연구 약품의 상세한 치료 일지는 조사자 또는 피지명자와 함께 작성되고, 조사자 및 모니터링 팀에 의해 부서(countersigning)되었다.
- [0298] 치료 순응도와 관련하여, 모든 약품 순응도 기록은 최신으로 유지되었으며, 후원자 및 규제 기관 조사관에 의한 검사용으로 이용 가능하게 되었다. 시험용 연구 약품 투여에 대한 순응도를 문서화하기 위해 환자들은 투약 일지 작성을 완료하였다.
- [0299] **병용 약물**
- [0300] 병용 약물은 연구 동안에 최소로 유지되어야 했다. 환자의 복지를 위해 필요한 것으로 간주되고, 시험용 연구 약품을 방해할 가능성이 없으면, 병용 약물(연구 동안에 금지된 약물은 제외함)은 가능한 때에 조사자의 재량으로 안정적인 투여량으로 제공될 수 있다. 사전 동의/최종 연구 방문에 대한 승인을 한 시간으로부터 투여된 임의의 치료를 병용 약물로 간주하였다. 이는 연구 이전에 시작되었고 연구 동안에 계속 진행 중인 약물을 포함하였다.
- [0301] 금지 약물 및 시술에는 a) 스크리닝 방문으로부터 10주 이내에 PCSK9 억제제의 사용, b) 초기 스크리닝 방문에서부터 연구 방문이 종료할 때까지의 LDL 성분채집 스케줄 및/또는 환경(해당되는 경우) 또는 배경 의료용 LMT의 억제 또는 이에 대한 변경, c) 용법이 스크리닝 방문 이전 지난 6주 이내에 안정한 경우를 제외한, 연속형 에스트로겐 또는 테스토스테론 호르몬 대체 요법의 사용, 및 d) 무작위화 이전 적어도 6주 동안 1일 10 mg 이하의 프레드니손 등가물의 안정적인 용법 중에 있는 경우를 제외한, 전신성 코르티코스테로이드의 만성적인 사용이 포함되었다. 참고로, 국소, 관절 내, 비강, 흡입형 및 안과용 스테로이드 요법은 '전신성'인 것으로 간주되지 않아서 허용되었다.
- [0302] 금지 약물 및 시술에는 지질에 영향을 미치지만 스크리닝 방문 이전에 적어도 4주(미포메르센의 경우 6개월, 로미타피드의 최대 내약성 투여량에 대해 12주) 동안 사용된 경우에만 지질에 영향을 미치는 지질 조절 요법, 약효식품 및 일반 의약품 요법(over-the-counter therapy)이 포함되었다. 투여량 및 용법은 연구 방문이 끝날 때까지 안정한 채로 유지되어야 했다. 스케줄/환경이 스크리닝 방문 이전에 적어도 8주 동안 안정하고 연구 방문이 끝날 때까지 안정한 채로 유지되는 경우에만 저밀도 지질단백질 성분채집술이 허용되었다.
- [0303] 본 연구에서 환자의 지질 조절 요법(LMT) 이력은 하기 표에 요약되어 있다:

표 2

LMT 이력 - 무작위화된 개체군

	플라시보(N = 24)	알리로쿠마프(2주마다 150)(N = 45)	총수(N = 69)
조사자 당 최대 내약성 LMT[n(%)] 도중의 절반			
예	22(91.7%)	44(97.8%)	66(95.7%)
아니오	2(8.3%)	1(2.2%)	3(4.3%)
스크리닝 시의 스타틴[n(%)] 치료 도중			
예	23(95.8%)	44(97.8%)	67(97.1%)
아니오	1(4.2%)	1(2.2%)	2(2.9%)
고강도 HMG COA 억제제(스타틴) 치료 도중			
예	23(95.8%)	44(97.8%)	67(97.1%)
최대 내약성 투여량 투약 중인 환자	23(95.8%)	42(93.3%)	65(94.2%)
아니오	1(4.2%)	1(2.2%)	2(2.9%)
이유			
불내성 - 근육 증상 경험	0	1(2.2%)	1(1.4%)
불내성 - 기타 증상	0	0	0
약물 상호작용에 대한 우려	0	0	0
사용으로 인한 잠재적인 유해 효과(예를 들어 인지 장애)에 대한 우려	0	0	0
효능 상실	0	0	0
승인된 약물 부재	0	0	0
지역 실습/지역 처방 정보	0	0	0
접근성 부족	0	0	0
기타	1(4.2%)	0	1(1.4%)
내약성으로 인한 스타틴의 하향 조정 이력			
예	4(16.7%)	12(26.7%)	16(23.2%)
아니오	20(83.3%)	33(73.3%)	53(76.8%)
내약성으로 인한 상이한 스타틴으로의 변경 이력			
예	4(16.7%)	9(20.0%)	13(18.8%)
아니오	20(83.3%)	36(80.0%)	56(81.2%)
스크리닝 시의 LIT[n(%)]			
고강도 HMG COA 억제제(스타틴)	23(95.8%)	44(97.8%)	67(97.1%)
피브레이트	1(4.2%)	0	1(1.4%)
담즙산 제거제	2(8.3%)	3(6.7%)	5(7.2%)
콜레스테롤 흡수 억제제	3(12.5%)	6(13.3%)	9(13.0%)
니코틴산 및 유도체(니아신)	1(4.2%)	1(2.2%)	2(2.9%)
오메가 3 지방산(1,000 mg/일 초과)	0	6(13.3%)	6(8.7%)
에제티미브	19(79.2%)	31(68.9%)	50(72.5%)
PCSK9 억제제	0	0	0
프로부콜[1]	0	0	0
성분채집술	4(16.7%)	6(13.3%)	10(14.5%)
로미타피드	3(12.5%)	7(15.6%)	10(14.5%)
미포메르센	0	0	0

[0304]

* 환자는 여러 범주에 대해 계수될 수 있다.

[0305]

본 연구에서 환자의 기준선에서의 지질 효능 파라미터는 하기 표에 요약되어 있다(통상적인 단위로 정량적 요약 - 무작위화된 개체군):

표 3

	플라시보(N = 24)	알리로쿠마프(2주마다 150)(N = 45)	총수(N = 69)	플라시보 대비 p-값
LDL-C(mg/dℓ)				
인원수	24	45	69	0.2338
평균(SD)	259.6(175.75)	295.0(154.59)	282.7(161.86)	
중간값	232.0	248.0	240.0	
Q1:Q3	152.5:296.5	186.0:366.0	183.0:346.0	
최소:최대	86:896	78:767	78:896	
비-HDL-C(mg/dℓ)				
인원수	24	45	69	0.2313
평균(SD)	282.0(177.41)	320.5(160.36)	307.1(166.22)	
중간값	259.0	275.0	275.0	
Q1:Q3	167.0:319.0	203.0:416.0	195.0:364.0	
최소:최대	102:928	92:791	92:928	
총-C(mg/dℓ)				
인원수	24	45	69	0.1966
평균(SD)	325.1(171.57)	364.3(157.30)	350.7(162.24)	
중간값	305.5	326.0	315.0	
Q1:Q3	209.0:362.0	253.0:444.0	235.0:400.0	
최소:최대	155:947	162:830	155:947	
HDL-C(mg/dℓ)				
인원수	24	45	69	0.7526
평균(SD)	43.2(11.96)	43.8(14.78)	43.6(13.78)	
중간값	46.0	40.0	40.0	
Q1:Q3	35.0:53.5	32.0:50.0	32.0:53.0	
최소:최대	19:60	24:95	19:95	
공복 TG(mg/dℓ)				
인원수	24	45	69	0.1403
평균(SD)	111.7(77.97)	128.0(74.34)	122.3(75.45)	
중간값	80.5	110.0	97.0	
Q1:Q3	61.0:128.5	79.0:160.0	72.0:148.0	
최소:최대	41:305	25:346	25:346	
Lp(a)(mg/dℓ)				
인원수	24	45	69	0.7719
평균(SD)	40.0(36.41)	42.9(36.34)	41.9(36.12)	
중간값	32.5	36.0	36.0	
Q1:Q3	12.0:52.5	10.0:68.0	10.0:65.0	
최소:최대	4:144	4:157	4:157	
Apo-B(mg/dℓ)				
Number	24	45	69	0.2675
평균(SD)	175.0(95.12)	193.3(87.59)	186.9(90.01)	
중간값	161.0	178.0	165.0	
Q1:Q3	110.0:202.0	132.0:232.0	124.0:220.0	
최소:최대	82:525	66:468	66:525	
Apo-A1(mg/dℓ)				
인원수	24	45	69	0.7913
평균(SD)	124.8(24.59)	125.6(28.57)	125.3(27.07)	
중간값	124.5	117.0	118.0	
Q1:Q3	108.0:144.0	106.0:143.0	108.0:144.0	
최소:최대	67:164	80:206	67:206	
Apo-B/Apo-A1(비율)				
인원수	24	45	69	0.2077
평균(SD)	1.590(1.4746)	1.635(0.8693)	1.619(1.1067)	
중간값	1.235	1.400	1.380	
Q1:Q3	0.860:1.630	1.020:1.990	0.970:1.930	
최소:최대	0.54:7.84	0.38:4.46	0.38:7.84	
주석: 치료 그룹들 사이의 기준선 데이터를 비교한 p-값은 윌콕슨 점수용 접근적 1원 ANOVA 검정(크리스칼-윌리스 검정)을 사용하여 스크리닝 도구로서 설명을 목적으로 제공된다.				

[0306]

[0307]

본 연구에서 환자의 기준선에서의 지질 효능 파라미터는 하기 표에 요약되어 있다(정성적 요약- 무작위화된 개체군):

표 4

	플라시보(N = 24)	알리로쿠맙(2주마다 150)(N = 45)	총수(N = 69)	플라시보 대비 p-값
LDL-C				
인원수	24	45	69	0.2678
70 mg/dL 미만/1.81 mmol/L 미만	0	0	0	
70 이상 내지 100 mg/dL 미만/ 1.81 이상 내지 2.59 mmol/L 미만	4(16.7%)	1(2.2%)	5(7.2%)	
100 이상 내지 130 mg/dL 미만/2.59 이상 내지 3.37 mmol/L 미만	1(4.2%)	4(8.9%)	5(7.2%)	
130 이상 내지 160 mg/dL 미만/3.37 이상 내지 4.14 mmol/L 미만	1(4.2%)	2(4.4%)	3(4.3%)	
160 이상 내지 190 mg/dL 미만/4.14 이상 내지 4.91 mmol/L 미만	3(12.5%)	5(11.1%)	8(11.6%)	
190 mg/dL 이상/4.91 mmol/L 이상	15(62.5%)	33(73.3%)	48(69.6%)	
HDL-C				
인원수	24	45	69	0.6192
40 mg/dL 미만/1.04 mmol/L 미만	10(41.7%)	22(48.9%)	32(46.4%)	
40 mg/dL 이상/1.04 mmol/L 이상	14(58.3%)	23(51.1%)	37(53.6%)	
공복 TG				
인원수	24	45	69	0.7709
150 mg/dL 미만/1.7 mmol/L 미만	19(79.2%)	33(73.3%)	52(75.4%)	
150 mg/dL 이상/1.7 mmol/L 이상	5(20.8%)	12(26.7%)	17(24.6%)	
150 이상 내지 200 mg/dL 미만/1.7 이상 내지 2.3 mmol/L 미만	2(8.3%)	5(11.1%)	7(10.1%)	
200 mg/dL 이상/2.3 mmol/L 이상	3(12.5%)	7(15.6%)	10(14.5%)	
Lp(a)				
인원수	24	45	69	0.8006
30 mg/dL 미만/0.3 g/L 미만	12(50.0%)	20(44.4%)	32(46.4%)	
30 mg/dL 이상/0.3 g/L 미만	12(50.0%)	25(55.6%)	37(53.6%)	
30 이상 내지 50 mg/dL 미만/0.3 이상 내지 0.5 g/L 미만	5(20.8%)	10(22.2%)	15(21.7%)	
50 mg/dL 이상/0.5 g/L 이상	7(29.2%)	15(33.3%)	22(31.9%)	

주석: 치료 그룹들 사이의 기준선 데이터를 비교한 p-값은 피셔 정확 검정을 사용하여 스크리닝 도구로서 설명을 목적으로 제공된다.

[0308]

[0309] 돌연변이 상태에 따른 본 연구에서의 환자에 따른 요약은 하기 표에 요약되어 있다(무작위화된 개체군):

표 5

	플라시보(N = 24)	알리로쿠맙(2주마다 150)(N = 45)	총수(N = 69)	플라시보 대비 p-값
유전자형 상태				
동형접합	11(45.8%)	19(42.2%)	30(43.5%)	0.6160
복합 이형접합	7(29.2%)	11(24.4%)	18(26.1%)	
이중 이형접합	0	4(8.9%)	4(5.8%)	
기타(이형접합, 미확인 또는 돌연변이 부재)	6(25.0%)	11(24.4%)	17(24.6%)	
동형접합(LDLR)	10(41.7%)	18(40.0%)	28(40.6%)	
결합/결합	10(41.7%)	16(35.6%)	26(37.7%)	
음성/음성	0	2(4.4%)	2(2.9%)	
동형접합(LDLRAP1)	0	1(2.2%)	1(1.4%)	
음성/음성	0	1(2.2%)	1(1.4%)	
동형접합(PCSK9)	1(4.2%)	0	1(1.4%)	
결합/결합	1(4.2%)	0	1(1.4%)	
복합 이형접합(LDLR)	7(29.2%)	11(24.4%)	18(26.1%)	
결합/결합	4(16.7%)	7(15.6%)	11(15.9%)	
결합/음성	3(12.5%)	4(8.9%)	7(10.1%)	
음성/음성	0	0	0	
이중 이형접합(LDLR 및 APOB 및 PCSK9)	0	4(8.9%)	4(5.8%)	
결합(LDLR)/음성(APOB)	0	1(2.2%)	1(1.4%)	
결합(LDLR)/결합(APOB)	0	1(2.2%)	1(1.4%)	
결합(LDLR)/결합(PCSK9)	0	1(2.2%)	1(1.4%)	
음성(LDLR)/결합(PCSK9)	0	1(2.2%)	1(1.4%)	

주석: 치료 그룹들 사이의 기준선 데이터를 비교한 p-값은 피셔 정확 검정을 사용하여 스크리닝 도구로서 설명을 목적으로 제공된다.

[0310]

[0311] 돌연변이 상태에 따른 본 연구에서의 환자에 따른 요약은 하기 표에 요약되어 있다(영/영 대 비-영/영): 2% 미만의 LDLR 활성 - 무작위화된 개체군:

표 6

	플라시보(N = 24)	알리로쿠맙(2주마다 150)(N = 45)	총수(N = 69)	플라시보 대비 p-값
유전자형 상태				
동형접합(LDLR)				
영/영	1(4.2%)	4(8.9%)	5(7.2%)	0.6264
비-영/영	9(37.5%)	14(31.1%)	23(33.3%)	
동형접합(LDLRAP1)				
영/영	0	0	0	
복합 이형접합(LDLR)				
비-영/영	7(29.2%)	11(24.4%)	18(26.1%)	

영/영은 2% 미만의 LDLR 활성으로서 정의된다.
주석: 치료 그룹들 사이의 기준선 데이터를 비교한 p-값은 피셔 정확 검정을 사용하여 스크리닝 기구로서 설명을 목적으로 제공된다.

[0312]

[0313]

이벤트 및 시술에 대한 연구 스케줄

[0314]

연구 평가 및 시술은 하기 표 7에 나타나 있다.

표 7

	선택적인 준비	스크리닝 기간	이중 맹검 치료 기간						개방 표지 치료 기간	추적조사 ¹⁰
연구 과정	준비 방문 1a	스크리닝 방문 1	기준선 방문 2	방문 3	방문 4	방문 5	이중 맹검 치료 방문 6의 종료	방문 7	개방 표지 치료 방문 8의 종료	연구 전회 방문 9의 종료
일	-42 내지 -14	-14 내지 -1	1(±1)	29(±5/±1 ⁹)	57(±5/±1 ⁹)	71(±5/±1 ⁹)	85(±3/±1 ⁹)	127(±7)	169(±3/±1 ⁹)	225(±5)
주	-6 내지 -2	-2 내지 -1	0	4	8	10	12	18	24	32
스크리닝/기준선:										
포함/배제	X	X								
사전 동의/승인 ¹	X	X								
개념 약학 동의/승인		X								
병력/수술 이력, 음주력, 흡연 습관		X								
연구 통계		X								
치료:										
주사 훈련 ²		X	X							
시험용 연구 약품 키트 분배			X	X			X	X		
이중 맹검 시험용 연구 약품의 피하 투여 ⁸			X	X	X	X				
개방 표지 시험용 연구 약품의 투여 ³							X	X		
키트 반환				X	X			X	X	
투약 일지의 검토				X	X			X	X	
변용 약물	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
효능:										
지질 패널		X	X	X	X		X	X	X	
특별 지질			X	X	X		X		X	
패널										
EO-5D			X				X		X	
안전성										
유해 이벤트	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

[0315]

신체 검사		X					X		X	
체중	X	X					X		X	
혈액 검사	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
심전도 ⁵		X					X		X	
실험실 시험:										
혈액 화학 ⁶		X	X		X		X		X	
크레아틴		X	X		X		X		X	
포스포키										
나아제 ⁶										
B형 간염		X								
표면 항원 ⁶										
C형 간염		X					X		X	
항원 ⁶										
혈청 임신		X								
검사										
소변 임신	X						X		X	
검사(국부										
적 수행)										
소변 검사		X	X		X		X		X	
TSH		X								
hs-CRP ⁶		X	X				X		X	
연구 샘플 ⁶			X	X	X		X		X	
hoFH	X	X								
유전자										
검사를										
위한										
의무적										
DNA 수집 ⁷										
PK/약물 농도 및 ADA 샘플:										
PK 샘플 ⁷			X	X	X	X	X		X	
ADA 샘플 ⁶			X				X		X	
선택적인			X							
개념성										
DNA 샘플 ⁸										

[0316]

[0317]

상기 표 6의 각주는 하기를 의미한다: 1. (선택적인 준비 시간을 필요로 하는 환자의 경우) 방문 1a 또는 (선택적인 준비가 필요 없는 환자의 경우) 방문 1에 사전 동의/승인을 얻었다. 2. 플라시보를 사용하여 스크리닝 기간 동안 또는 기준선에서 환자 및/또는 간병인과 함께 주사 훈련을 실시하였다. 3. 시험용 연구 약품의 투여(이중 맹검 및 개방 표지) 이후, 30분 동안 환자를 모니터링할 필요가 있었다. 4. 지질 패널은 총-C, LDL-C, HDL-C, TG, 비-HDL-C로 이루어져 있었다. 특별 지질 패널은 ApoB, Apo A-1, Apo B/Apo A-1 비율 및 Lp(a)로 이루어져 있었다. 대략 8시간의 검사 이후에 지질 패널을 수집해야 했다. 5. 혈액 샘플을 수집하기 전에 ECG를 실시해야 했다. 6. 임상 방문과 투약일이 일치하는 날에, 모든 혈액 샘플(ADA 샘플을 포함함)을 LDL 성분채집술(해당되는 경우) 직전 및 시험용 연구 약품의 투여 직전에 수집하였지만, 연구 평가를 수행한 이후에 수집하였다. 또한 PK 샘플을 유리 및 총 PCSK9 분석을 위해 사용하였다. 7. 샘플을 무작위화 이전에 수집해야 했으며, hoFH 돌연변이 상태를 결정하기 위해 사용하였다. 성분채집술 도중인 환자는 방문 1a 동안에 이를 수집할 수 있었다. 8. 선택적인 DNA 샘플을 1일차에 수집해야 했으나; 이들은 연구 과정 동안에 임의의 방문 시에 수집할 수 있었다. 이러한 평가를 수행하기 전에 개념 사전 동의 양식(ICF)에 서명해야 했다. 9. 방문 윈도우는 성분채집술 도중이 아닌 환자의 경우 ± 3 일 및 성분채집술 도중인 환자의 경우 +1일이었다. LDL 성분채집술 직전에 모든 샘플이 수집되었는지를 확인하기 위해 모든 노력을 해야 했다. 가장 최근에 완료된 LDL 성분채집 시술 대비 기준선 샘플 수집 사이의 시기는 가장 최근에 완료된 LDL 성분채집 시술 대비 12주차 샘플의 수집 시기를 일치시켜야 했다. LDL 성분채집 시술과 샘플 수집 사이의 지속 기간에 따라 방문 윈도우가 적용되지 않을 수 있다. 이러한 방문은 다른 지질 저하 연구에 참가하여 않는 환자만을 위한 것이다.

[0318]

조기 종결 방문과 관련하여, 임의의 이유로 인해 환자가 연구를 계속하기를 거절하면, 환자가 이중 맹검 치료 기간 내에 있는 경우 이중 맹검 치료 방문 시에 정상적으로 계획된 평가와 함께 가능한 한 빨리 예정되지 않은 방문을 해야 했으며(12주차 방문 평가); 환자가 개방 표지 치료 방문 중이면, 개방 표지 치료 평가의 종료를 이용해야 했다(24주차 방문 평가). 이러한 방문이 가능하다면 치료 중단 5일 이내에 이루어져야 했다. 환자는 어느 쪽이 나중에 오든 간에 연구 약품의 마지막 투여량으로부터 지정한 대로 추적 조사될 임의의 AE의 회복 또는 안전화까지 적어도 70일 동안 추적 조사되어야 했다.

[0319]

예정되지 않은 방문과 관련하여, 환자를 연구 스케줄에 맞추도록 하기 위해 모든 노력을 해야 했다. 보증한 바와 같이, 예정되지 않은 방문은 AE의 추적조사를 위해 또는 임의의 기타 이유로 인해 비정상적인 실험실 결과 이후에 검사를 반복하기 위해 필요로 할 수 있다.

[0320]

연구 과정

[0321]

연구 적격성을 결정하고 기준선 개체군을 특성 분석할 목적으로만 하기 과정, 즉 병력/수술 이력, 투약 이력, 인구 통계, B형 간염 표면 항원 및 혈청 임신 검사를 수행하였다.

- [0322] 1일차, 연구 평가의 완료, 혈액 샘플의 수집, LDL 성분채집술(해당되는 경우) 이후에 이중 맹검 시험용 연구 약품의 첫 번째 투여량을 투여하였다. 첫 번째 투여량 이후 30분 동안 임상 현장에서 환자를 모니터링하였다. 시험용 연구 약품의 후속적인 투여량은 2주마다 피하 투여하여야 했다. 시험용 연구 약품의 투여량을 연구 전반에 걸쳐 (환자 선호도에 기초하여) 대략 동일한 날에 투여하여야 했다. 1일차 이후, 12주차 및 24주차에 주요 효능 평가가 있었기 때문에 10주차 및 22주차의 투여량을 제외하고 투약이 $\pm$ 5일의 윈도우 범위 내에 있는 것이 허용 가능하였으며, 이는 성분채집술 도중이 아닌 환자의 경우에 $\pm$ 3일의 투약 윈도우 및 성분채집술 도중인 환자의 경우에 +1일의 투약 윈도우를 가졌다.
- [0323] 주사가 7일 넘게 지연되거나 완전히 결측되면, 환자는 추가적인 주사의 투여 없이 원래의 시험용 연구 약품의 투약 스케줄로 되돌아가야 했다. 지연이 결측 일자로부터 7일 이하이면, 환자는 지연된 주사를 투여한 후, 원래의 투약 스케줄을 재개해야 했다. 현장 인원은 시험용 연구 약품의 수송, 저장, 준비 및 투여를 위한 상세한 지침서를 환자/간병인에게 제공했다.
- [0324] *효능 과정*
- [0325] 총 콜레스테롤, HDL-C, TG, Apo B, Apo A-1 및 Lp(a)를 중앙 실험실에 의해 직접 측정하였다. 저밀도 지질단백질 콜레스테롤을 프리드왈드식(Friedewald formula)을 이용하여 계산하였다. TG 값이 400 mg/dL(4.52 mmol/L)를 초과하거나, 계산된 LDL-C 값이 15 mg/dL 미만이면, 중앙 실험실은 반사적으로 베타 정량화 방법을 사용하여 LDL-C를 측정하였다. 총-C에서 HDL-C를 뺀으로써 비-HDL-C를 계산하였다. Apo B/Apo A-1 비율을 계산하였다.
- [0326] 지질 패널 및 특별 지질 패널에 대한 혈액 샘플을 상기 표 7에 따른 시점에 수집하였다. 지질 패널 및 특별 지질 패널에 포함된 것이 하기에 기술되어 있다.
- [0327] *삶의 질 과정*
- [0328] EuroQol-5 설문지: EQ-5D는 임상 및 경제적 평가를 위한 단순하고 일반적인 건강 척도를 제공하기 위해 EuroQol 그룹이 개발한 건강 상태의 표준화된 척도이다. 건강-관련 삶의 질의 척도로서의 EQ-5D는 5개의 관점(dimension), 즉 운동성, 자기 관리, 통상의 활동, 고통/불편, 불안/우울의 측면에서 건강을 정의한 것이다. 각각의 관점은 3개의 중증도의 서열 수준, 즉 "문제 없음"(1), "일부 문제가 있음"(2) 및 "심각한 문제가 있음"(3)을 갖는다. 전반적인 건강 상태는 5자리 숫자로서 정의된다. 5-관점 분류에 의해 정의된 건강 상태는 건강 상태를 정량화하는 상응하는 지수 점수로 변환될 수 있으며, 여기서 0은 "사망"을 나타내고, 1은 "완전한 건강"을 나타낸다.
- [0329] *안전성 과정*
- [0330] 혈압 및 심박수를 포함하는 활력 징후를 상기 표 7에 따른 시점에 수집하였다. 상기 표 7에 따른 시점에 철저하고 완전한 신체 검사를 수행하였다. 상기 표 7에 따른 시점에 체중을 수집하였다. 환자의 병력에 의해 나타난 바와 같이, 존재 가능한 임의의 이상을 검사 및 평가하는 데 주의해야 했다. 채혈이 요구되는 방문 동안에 채혈하기 전에 심전도를 수행해야 했다. 상기 표 7에 따라 10분 동안 조용히 휴식한 후 환자가 누워있는 상태에서 표준 12-유도 ECG를 수행하였다. 심실 박동률로부터 심박수를 기록하였으며, PR, QRS, RR 및 QT 간격을 기록하였다. ECG 스트립 또는 기록을 출처와 함께 보관하였다.
- [0331] 평가를 수행한 후, 그리고 투약일과 일치하는 방문 시에 시험용 연구 약품의 투여량을 투여한 후에 모든 실험실 샘플(ADA 샘플을 포함함)을 수집하였다. 혈액 샘플링 전 48시간 이내의 알코올 섭취 또는 24시간 이내의 강렬한 신체 운동은 자제되었다. 상기 표 6에 따른 시점에 실험실 검사를 위한 샘플을 수집하고, 연구 동안 중앙 실험실에서 분석하였다. 8시간의 공복 이후에 지질 패널 샘플을 수집하였다. 혈액 샘플 수집을 위한 상세한 지침서는 연구 현장에 제공된 실험 설명서 내에 있었다. 시험에는 하기가 포함되었다:

지질 패널 및 특별 지질 패널

총 콜레스테롤	Apo B
트리글리세리드	Apo A-1
계산된 LDL-C	Apo B/Apo A-1 비율
HDL-C	Lp(a)
비-HDL-C	

혈액 화학

나트륨	총 단백질, 혈청	총 빌리루빈
칼륨	크레아티닌	요산
염소	혈액 요소 질소(BUN)	크레아틴 포스포키나아제(CPK)
이산화탄소	아스파르트산 아미노트랜스페라아제(AST)	
칼슘	알라닌 아미노트랜스페라아제(ALT)	
글루코오스	알칼리 포스파타아제	
알부민	락테이트 데하이드로제나아제(LDH)	

혈액학

헤모글로빈	차이:
적혈구 용적	호중구
적혈구(RBC)	림프구
백혈구(WBC)	단핵구
적혈구 지수	호염기구
혈소판 계수	호산구

소변 검사

색깔	글루코오스	RBC
투명도	혈액	유리질 및 기타 원주(cast)
pH	빌리루빈	박테리아
비중	백혈구 에스터라아제	상피 세포
케톤	아질산염	결정
단백질	WBC	효모

[0332]

[0333]

기타 실험실 검사를 하기와 같이 수행하였다: 상기 표 7에 따른 시점에 임신 검사(혈청 및 소변)를 수행하고, 상기 표 7에 따른 시점에 임신 검사(소변)를 국소적으로 수행하였으며, 간 패널(ALT, AST, 알칼리 포스파타아제 및 총 빌리루빈), 고감도 C-반응성 단백질(hs-CRP)에 대한 샘플을 상기 표 7에 따른 시점에 수집하고, B형 간염 표면 항원, C형 간염 항체 및 TSH에 대한 샘플을 스크리닝 시에 수집하였다. C형 간염 항체에 대한 샘플을 상기 표 6에 따른 시점에 수집하였다.

[0334]

비정상적인 실험 값 및 실험 유해 이벤트

[0335]

모든 실험 값은 조사자 또는 공인 피지명자에 의해 검토되어야 했다. 치료를 시작한 후에 나타난 상당히 비정상적인 시험 결과는 이상의 특성 및 정도를 확인하기 위해 반복되어야 했다. 필요한 경우, 적절한 보조 조사가 개시되어야 했다. 이상이 해결되지 못하거나 연구 약물 또는 이의 투여와 관련이 없는 이벤트 또는 병태에 의해 설명될 수 없다면, 의료 감시자에게 조언을 구한다. 연구 중인 질병의 문맥 내에서 비정상적인 시험 값의 임상적 유의성은 조사자에 의해 결정되어야 한다.

[0336]

비정상적인 객관적인 시험 결과가 AE로서 보고되어야 하는지를 결정하기 위한 기준은 본 발명자들이 동반 증상과 연관시키는 시험 결과를 포함하고/하거나, 시험 결과는 추가적인 진단 검사 또는 의료/수술적 중재가 요구되고/되거나, 시험 결과는 투약(프로토콜-규정 투여량 조절 범위를 벗어남), 연구 중단, 유의한 추가 병용 약물 치료 또는 기타 요법에서의 변경을 초래하였다.

[0337]

약동학 및 항-약물 항체 절차

[0338]

약품 농도

[0339]

약품 농축을 위한 샘플을 상기 표 7에 나열된 시점에 수집하였다. 임의의 미사용한 샘플을 탐색용 바이오마커 조사용으로 사용될 수 있었다.

[0340]

항-약물 항체(ADA) 평가를 위한 샘플은 상기 표 6에 나열된 시점에 수집하였다. 투약일에 이루지는 방문 시에, ADA 평가를 위한 모든 샘플을 시험용 연구 약물의 투여량을 투여하기 전에 수집하였다. 연구의 맹검을 유지하기 위해 플라시보만을 투여받은 환자를 비롯한 모든 환자로부터 ADA 샘플을 수집하였다. 임의의 미사용한 샘플을 탐색적 바이오마커의 조사용으로 사용할 수 있었다.

- [0341] *hoFH 유전자 검사*
- [0342] 상기 표 7에 나열된 바와 같이, 각각의 환자의 돌연변이 상태를 특성 분석하기 위해 의무적인 hoFH 유전자 검사를 위한 샘플을 수집하였다.
- [0343] *연구 샘플*
- [0344] PCSK9 수준, PCSK9 기능, 단클론성 항체를 이용한 PCSK9 억제 효과 및 고지혈증 및 심장 질병의 기작을 연구하기 위한 국소 조절에 의해 허용되는 바와 같이, 탐색적 조사용 샘플을 수집하였다. 연구 샘플링을 상기 표 7에 나열된 시점에 수집하였다. 연구 샘플을 암호화하여 환자의 비밀 보호를 유지하였다.
- [0345] *바이오마커 과정*
- [0346] 바이오마커 샘플을 연구 샘플의 일부로서 상기 표 7에 나열된 시점에 수집하였다. 바이오마커의 측정을 기질, 예를 들어 혈청 샘플에서 수행하여 지시의 바이오마커 또는 관련 생리적 및 병리적 과정에 대한 효과를 결정하였다. 연구된 바이오마커는 지시의 생리 병리학, 표적 결합, 작용 기작 및 가능한 독성과 관련이 있는 것으로 여겨지는 것이었다. 연구된 바이오마커는 PCSK9를 포함할 수 있지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0347] *유해 이벤트*
- [0348] 유해 이벤트(AE)는 시험용 연구 약품이 투여된 환자에서의 임의의 뜻밖의 의료적 발생(untoward medical occurrence)이며, 이는 시험용 연구 약품과 인과관계를 갖거나 갖지 않을 수 있다. 따라서, AE는 시험용 연구 약품이 관련이 있는 것으로 간주되든 그렇지 않은 시험용 연구 약품의 사용과 일시적으로 연관이 있는 임의의 바람직하지 않고 의도치 않은 징후(비정상적인 실험 결과를 포함함), 증상 또는 질병이다. 또한, AE는 시험용 연구 약품의 사용과 일시적으로 연관이 있는 기존의 병태의 임의의 악화(즉, 빈도 및/또는 세기에서의 임의의 임상적으로 유의한 변화)를 포함한다.
- [0349] 특별히 관심이 있는 유해 이벤트(심각 또는 심각하지 않음)는 후원자의 제품 또는 프로그램별로 상이한 과학적 및 의료적 우려사항 중 하나이며, 이를 위해 조사자가 후원자에 조사자에게 진행 중인 모니터링 및 신속한 연락을 하는 것이 적절할 수 있다. 본 연구를 위해 특별히 관심이 있는 유해 이벤트는 하기와 같다: a) ALT의 증가: (기준선 ALT가 ULN보다 낮으면) 3 x ULN의 ALT 또는 (기준선 ALT가 ULN 이상이면) 기준선 값보다 2배 이상인 ALT, b) 추가 평가를 위한 다른 의사와의 상담이 요구되는 알레르기성 이벤트 및/또는 국소 주사 부위 반응, c) 임신, d) 시험용 의약품의 증상에 따른 과다 복용, e) 추가적인 검사/기술 및/또는 전문가에 대한 위탁이 요구되는 신경학적 이벤트, 즉 신경 인지 이벤트, f) 백내장, g) 당뇨병의 신규 발병(여기서 당뇨병의 신규 발병(NOD)의 정의는 1형 또는 2형 당뇨병 TEAE임), 및/또는 h) TEAE 기간 동안의 6.5% 이상인 HbA1c의 적어도 2개의 값(주석: TEAE 기간 동안 이용 가능한 단일 측정치만을 갖는 환자에 있어서, 6.5% 이상의 단일 값은 기본적으로 NOD 환자로 간주되고 환자 자격이 부여될 것이고; 수회 HbA1c 측정치를 갖지만 6.5%의 마지막 측정치를 갖는 환자에 있어서, 6.5%의 이러한 단일 값은 기본적으로 NOD 환자로 간주되고 환자 자격이 부여될 것임), 및/또는 i) 126 mg/dL(7.0 mmol/L) 이상의 공복 혈장 글루코오스(FPG)의 적어도 2개의 값(주석: TEAE 기간 동안 이용 가능한 단일 측정치만을 갖는 환자에 있어서, 126 mg/dL(7.0 mmol/L) 이상의 단일 값은 NOD 환자로 간주되지 않고 환자 자격이 부여되지 않을 것이고; 수회 HbA1c 측정치를 갖지만 126 mg/dL(7.0 mmol/L)의 마지막 측정치를 갖는 환자에 있어서, 126 mg/dL(7.0 mmol/L) 이상의 단일 값은 NOD 환자로 간주되지 않고 환자 자격이 부여되지 않을 것임).
- [0350] *심각한 유해 이벤트*
- [0351] SAE(심각한 유해 이벤트)는, 임의의 투여량에서: a) 사망(모든 사망, 심지어 시험용 연구 약품과 전혀 관련이 없는 것으로 보이는 사망(예를 들어, 환자가 승객인 교통 사고)을 초래하고/하거나, b) 생명을 위협하고/하거나 (조사자의 관점에서, 환자는 이벤트 당시에 직접적인 사망 위험에 처해 있고; 이는 보다 심각한 형태로 발생했고 사망을 초래할 수 있는 AE를 포함하지 않음), c) 입원 환자의 입원 또는 기존 입원의 연장이 요구되고/되거나(여기서, 입원 환자의 입원은 24시간 이상 동안 병원 또는 응급실 입원으로서 정의되고; 기존 입원의 연장은 이벤트에 대해 초기에 예상한 것보다 오래 있거나, 조사자 또는 치료 의사에 의해 결정된 바와 같이 새로운 AE의 발생으로 인해 연장되는 재원 기간으로서 정의됨), d) 지속적이거나 유의한 장애/능력상실(정상적인 삶의 기능을 수행할 능력의 실질적인 방해)을 초래하고/하거나, e) 선천성 기형/출생 결함이고/이거나, f) 중요한 의학적 이벤트(중요한 의학적 이벤트는 직접적으로 생명을 위협하지 않을 수 있거나, 사망 또는 입원을 초래할 수 있지만, 환자를 위태롭게 할 수 있거나, 상술한 기타 심각한 결과(예를 들어, 알레르기성 기관지 경련으로 인해

응급실 또는 가정에서의 집중 치료; 입원을 초래하지 않는 혈액병 또는 경련; 또는 약물 의존성 또는 약물 남용의 발생) 중 하나를 예방하기 위해 중재가 요구될 수 있음)인 임의의 뜻밖의 의료적 발생이다.

[0352] 따라서, 본원에 개시된 무작위화, 이중 맹검, 플라시보-대조, 병용 그룹, 3상 연구에서는 hoFH를 앓는 성인 환자에서의 치료 12주 이후에 플라시보와 비교하여 LDL-C 감소에서의 PCSK9 억제제(2주마다 피하로 알리로쿠맙 150 mg)의 효능 및 안전성을 평가하였다. 2차 목적에는, 1) 기타 지질 파라미터(즉, 아포지질단백질 B[Apo B], 비-HDL-C, 지질단백질 콜레스테롤[비-HDL-C], 총-콜레스테롤[TC], LDL-C 감소가 15%, 30% 및 50%인 환자의 비율, 지질단백질(a)[Lp(a)], HDL-C, 트리글리세리드[TG], Apo A-1); 2) 알리로쿠맙의 안전성 및 내약성; 3) 약동학; 4) 항-약물(알리로쿠맙) 항체의 잠재적인 발생의 평가가 포함되어 있었다. 마지막으로, 안전성 평가에는 유해 이벤트(AE), 심각한 AE, 사망, AE로 인한 중단이 포함되어 있었다.

[0353] **결과**

[0354] **ITT 개체군에서의 1차 효능 분석**

[0355] 1차 효능 분석에서는 플라시보 그룹(LS평균 = +8.6%)과 비교할 때 알리로쿠맙 치료 그룹(LS평균 = -26.9%)의 경우에 12주차에 기준선으로부터의 LDL-C 변화율에서 통계적으로 유의한 감소를 나타냈다. 알리로쿠맙-치료 환자와 플라시보 환자 사이의 LS 평균의 차이는 -35.6%($p < 0.0001$)이었다. 기준선으로부터의 LDL-C 변화율에서의 알리로쿠맙 LS평균 감소는 방문 4주차보다 빨리 나타날 수 있었으며, 그 이후에 알리로쿠맙 유익성이 12주간의 이중 맹검 치료 기간 전반에 걸쳐 유지되었다.

[0356] 12주차에 기준선으로부터의 LDL-C의 변화율(MMRM - ITT 분석 - ITT 개체군)은 하기 표 8에 나타나 있다.

표 8

LDL 콜레스테롤	플라시보(N = 24)	알리로쿠맙(2주마다 150)(N = 45)
기준선(mmol/L)		
인원수	24	45
평균(SD)	6.723(4.5524)	7.640(4.0040)
중간값	6.010	6.420
최소:최대	2.23:23.21	2.02:19.87
기준선(mg/dL)		
인원수	24	45
평균(SD)	259.6(175.75)	295.0(154.59)
중간값	232.0	248.0
최소:최대	86:896	78:767
기준선으로부터의 12주째 날 변화율(%)		
LS 평균(SE)	8.6(6.3)	-26.9(4.6)
플라시보 대비 LS 평균 차이(SE)		-35.6(7.8)
95% CI		(-51.2 내지 -19.9)
플라시보 대비 p-값		0.0001 미만
주석: MMRM(반복 측정 혼합 효과 모델) 분석으로부터 얻은 최소 제곱(LS) 평균, 표준 오차(SE) 및 p-값. 이 모델은 치료 그룹의 고정형 단점 효과(categorical effect), IVRS에 따른 무작위화 계층, 시점, 시점별 치료 상호작용, 시점별 계층 상호작용 뿐만 아니라, 시점 상호작용에 의한 기준선 LDL-C 값 및 기준선 값의 연속형 고정 공변량을 포함한다. 모델에서 사용되는 분석 윈도우 중 적어도 하나에서 기준선 값 및 기준선 이후 값을 갖는 환자에 대한 MMRM 모델 및 기준선 설명		

[0357]

[0358] 이중 맹검 기간 동안의 기준선으로부터의 LDL-C LS 평균($\pm$ SE) 변화율:시간 프로파일(ITT 분석 - ITT 개체군) (데이터 미도시)은 기준선으로부터 12주차까지의 LDL-C 변화율(%)의 통계적으로 유의한 감소를 보여준다. 알리로쿠맙에 있어서, 기준선 대비 LS평균은 -26.9%(즉, LDL-C의 감소)이었다. 플라시보에 있어서, 기준선 대비 LS평균은 8.6%(즉, LDL-C의 증가)이었다.

[0359] 상이한 시점에서(12주차까지)의 환자의 인원수는 하기와 같다:

환자의 인원수

치료	기준선	4 주째 날	8 주째 날	12 주째 날
플라시보	24	24	24	24
알리로쿠맙	45	43	45	44

[0360]

[0361] 본 hoFH 연구에서의 LDL-C 효능은 하기와 같이 요약되어 있다:

시점	플라시보 (24 명의 환자)	알리로쿠맙 (45 명의 환자)	플라시보-조정 차이
4 주째 날	-0.7%	-31.9%	-31.3%
8 주째 날	5.2%	-27.9%	-33.1%
12 주째 날	8.6%	-26.9%	-35.6%

[0362]

[0363] 주요 2차 효능 변수

[0364] 쉽게 참조하기 위해, 하기 표(표 9)에는 0.05의 유의성 수준에서의 통계 검사를 위한 계층적 순서로 주요 2차 종료점 모두에 대한 분석 결과가 요약되어 있다. 본 연구에서는 상위 7개의 주요 효능 종료점에 대하여 알리로쿠맙-치료 환자에 대한 통계적으로 유의한 결과가 달성되었다. 통계적 가설 검사는 "12주차에 기준선으로부터의 HDL-C의 변화율"(p = 0.3541)의 제8 종료점에서 종료된다. "12주차에 기준선으로부터의 공복 TG의 변화율" 및 "12주차에 기준선으로부터의 Apo A-1의 변화율"의 나머지 2개의 종료점에 대한 공칭 p-값은 설명을 목적으로 제공되었다.

표 9

순서	종료점/분석	플라시보 결과	알리로쿠맙 결과	비교	p-값
1	12주째에 기준선으로부터의 Apo B의 변화율	LS 평균: 7.2%	LS 평균: -22.5%	차이: -29.8%	0.0001 미만
2	12주째에 기준선으로부터의 비-HDL-C의 변화율	LS 평균: 8.0%	LS 평균: -24.8%	차이: -32.9%	0.0001 미만
3	12주째에 기준선으로부터의 총 콜레스테롤의 변화율	LS 평균: 6.6%	LS 평균: -19.8%	차이: -26.5%	0.0001 미만
4	12주째에 LDL-C의 15% 이상 감소	비율: 12.5%	비율: 61.9%	교차비: 12.2	0.0004
5	12주째에 LDL-C의 30% 이상 감소	비율: 4.2%	비율: 57.1%	교차비: 36.5	0.0010
6	12주째에 기준선으로부터의 Lp(a)의 변화율	LS 평균: 8.8%	LS 평균: -19.6%	차이: -28.4%	0.0001 미만
7	12주째에 LDL-C의 50% 이상 감소	비율: 0%	비율: 26.7%	교차비*: 17.7	0.0017
8	12주째에 기준선으로부터의 HDL-C의 변화율	LS 평균: 2.7%	LS 평균: 6.3%	차이: 3.6%	0.3541
9	12주째에 기준선으로부터의 공복 TG의 변화율	LS 평균: 3.9%	LS 평균: -7.4%	차이: -11.3%	0.1112
10	12주째에 기준선으로부터의 Apo A-1의 변화율	LS 평균: 1.4%	LS 평균: 5.0%	차이: 3.6%	0.3212

[0365]

[0366] 보다 상세한 효능 종료점의 통계 결과는 하기 표에 나타나 있다. 12주차에 기준선으로부터의 Apo B의 변화율(MMRM - ITT 분석 - ITT 개체군) 결과는 하기 표 10에 제공되어 있다.

표 10

아포지립단백질 B	플라시보(N = 24)	알리로쿠맙(2주마다 150)(N = 45)
기준선(g/L)		
인원수	24	45
평균(SD)	1.750(0.9512)	1.933(0.8759)
중간값	1.610	1.780
최소:최대	0.82:5.25	0.66:4.68
기준선(mg/dℓ)		
인원수	24	45
평균(SD)	175.0(95.12)	193.3(87.59)
중간값	161.0	178.0
최소:최대	82:525	66:468
12주차에 기준선으로부터의 변화율(%)		
LS 평균(SE)	7.2(5.0)	-22.5(3.7)
플라시보 대비 LS 평균 차이(SE)		-29.8(6.3)
95% CI		(-42.3 내지 -17.3)
플라시보 대비 p-값		0.0001 미만
주석: MMRM(반복 측정 혼합 효과 모델) 분석으로부터 얻은 최소 제곱(LS) 평균, 표준 오차(SE) 및 p-값. 이 모델은 치료 그룹의 고정형 단점 효과, IVRS에 따른 무작위화 계층, 시점, 시점별 치료 상호작용, 시점별 계층 상호작용 뿐만 아니라, 시점 상호작용에 의한 기준선 ApoB 값 및 기준선 값의 연속형 고정 공변량을 포함한다.		

[0367]

[0368]

12주차에 기준선으로부터의 비-HDL-C의 변화율(MMRM - ITT 분석 - ITT 개체군) 결과는 하기 표 11에 제공되어 있다.

표 11

비-HDL 콜레스테롤	플라시보(N = 24)	알리로쿠맙(2주마다 150)(N = 45)
기준선(mmol/ℓ)		
인원수	24	45
평균(SD)	7.304(4.5954)	8.302(4.1535)
중간값	6.710	7.120
최소:최대	2.64:24.04	2.38:20.49
기준선(mg/dℓ)		
인원수	24	45
평균(SD)	282.0(177.41)	320.5(160.36)
중간값	259.0	275.0
최소:최대	102:928	92:791
12주차에 기준선으로부터의 변화율(%)		
LS 평균(SE)	8.0(5.9)	-24.8(4.3)
플라시보 대비 LS 평균 차이(SE)		-32.9(7.4)
95% CI		(-47.6 내지 -18.2)
플라시보 대비 p-값		0.0001 미만
주석: MMRM(반복 측정 혼합 효과 모델) 분석으로부터 얻은 최소 제곱(LS) 평균, 표준 오차(SE) 및 p-값. 이 모델은 치료 그룹의 고정형 단점 효과, IVRS에 따른 무작위화 계층, 시점, 시점별 치료 상호작용, 시점별 계층 상호작용 뿐만 아니라, 시점 상호작용에 의한 기준선 ApoB 값 및 기준선 값의 연속형 고정 공변량을 포함한다.		

[0369]

[0370]

12주차에 기준선으로부터의 총 콜레스테롤의 변화율(MMRM - ITT 분석 - ITT 개체군) 결과는 하기 표 12에 제공되어 있다.

표 12

중 콜레스테롤	플라시보(N = 24)	알리로쿠마프(2주마다 150)(N = 45)
기준선(nmol/L)		
인원수	24	45
평균(SD)	8.422(4.4443)	9.437(4.0742)
중간값	7.915	8.440
최소:최대	4.01:24.53	4.20:21.50
12주차에 기준선으로부터의 변화율(%)		
인원수	24	45
평균(SD)	325.1(171.57)	364.3(157.30)
중간값	305.5	326.0
최소:최대	155:947	162:830
LS 평균(SE)	6.6(5.0)	-19.8(3.7)
플라시보 대비 LS 평균 차이(SE)		-26.5(6.2)
95% CI		(-38.9 내지 -14.0)
플라시보 대비 p-값		0.0001 미만

주석: MMRM(반복 측정 혼합 효과 모델) 분석으로부터 얻은 최소 제곱(LS) 평균, 표준 오차(SE) 및 p-값. 이 모델은 치료 그룹의 고정형 단정 효과, IVRS에 따른 무작위화 계층, 시점, 시점별 치료 상호작용, 시점별 계층 상호작용 뿐만 아니라, 시점 상호작용에 의한 기준선 ApoB 값 및 기준선 값의 연속형 고정 공변량을 포함한다.

[0371]

[0372]

12주차에 기준선으로부터의 Lp(a)의 변화율(다중 대체(multiple imputation) 후 로버스트 회귀(robust regression) - ITT 분석 - ITT 개체군) 결과는 하기 표 13에 제공되어 있다.

표 13

지질단백질-a	플라시보(N = 24)	알리로쿠마프(2주마다 150)(N = 45)
기준선(g/L)		
평균(SE)에 대한 결합 추정값	0.400(0.074)	0.429(0.054)
기준선(mg/dL)		
평균(SE)에 대한 결합 추정값	40.0(7.4)	42.9(5.4)
12주차에 기준선으로부터의 변화율(%)		
조정된 평균(SE)에 대한 결합 추정값	8.8(5.4)	-19.6(4.0)
조정된 평균 차이(SE)에 대한 추정값(비교물)		-28.4(6.7)
질 대비 알리로쿠마프)		
95% CI		(-41.5 내지 -15.2)
플라시보 대비 p-값		0.0001 미만

주석: 2-단계 다중 대체 과정은 무작위화된 개체군에서의 결측 값을 도입하기 위해 사용된다(2개의 단계에서 각각 시드 = 1,628 및 3,256; 대체수 = 100 및 1). 제1 단계에서, 단조 결측 패턴은 다중 대체된 데이터에서 유도된다. 제2 단계에서, 후속 방문 시의 결측 데이터는 연속형 변수에 대한 회귀 방법을 사용하여 대체된다. 결합 추정값 및 표준 오차(SE)는 상이한 대입된 데이터 세트에 대한 로버스트 회귀 모델 분석으로부터 조정된 평균 및 SE를 결합함으로써 취득된다. 로버스트 회귀 모델은 치료 그룹의 고정형 단정 효과 및 IVRS에 따른 무작위화 계층 및 기준선 Lp(a) 값의 연속형 고정 공변량을 포함한다. 평균 및 SE를 결합하기 위해 루빈식(Rubin's formula)을 사용한다.

[0373]

[0374]

12주차에 기준선으로부터의 HDL-C의 변화율(MMRM - ITT 분석 - ITT 개체군) 결과는 하기 표 14에 제공되어 있다.

표 14

HDL 콜레스테롤 기준선 (mmol/L)	플라시보(N = 24)	알리로쿠맙(2주마다 150)(N = 45)
인원수	24	45
평균(SD)	1.118(0.3095)	1.134(0.3824)
중간값	1.195	1.040
최소:최대	0.49:1.55	0.62:2.46
기준선 (mg/dL)		
인원수	24	45
평균(SD)	43.2(11.96)	43.8(14.78)
중간값	46.0	40.0
최소:최대	19:60	24:95
12주차에 기준선으로부터의 변화율(%)		
LS 평균(SE)	2.7(3.1)	6.3(2.3)
플라시보 대비 LS 평균 차이(SE)		3.6(3.8)
95% CI		(-4.1 내지 11.3)
플라시보 대비 p-값		0.3541
주석: MMRM(반복 측정 혼합 효과 모델) 분석으로부터 얻은 최소 제곱(LS) 평균, 표준 오차(SE) 및 p-값. 이 모델은 치료 그룹의 고정형 단점 효과, IVRS에 따른 무작위화 계층, 시점, 시점별 치료 상호작용, 시점별 계층 상호작용 뿐만 아니라, 시점 상호작용에 의한 기준선 ApoB 값 및 기준선 값의 연속형 고정 공변량을 포함한다.		

[0375]

[0376]

12주차에 기준선으로부터의 공복 트리글리세리드의 변화율(다중 대치 후 로버스트 회귀 - ITT 분석 - ITT 개체군) 결과는 하기 표 15에 제공되어 있다.

표 15

공복 트리글리세리드 기준선 (mmol/L)	플라시보(N = 24)	알리로쿠맙(2주마다 150)(N = 45)
평균 (SE)에 대한 결합 추정값	1.263 (0.180)	1.446 (0.125)
기준선 (mg/dL)		
평균 (SE)에 대한 결합 추정값	111.7 (15.9)	128.0 (11.1)
12주차에 변화율 from 기준선 (%)		
조정된 평균(SE)에 대한 결합 추정값	3.9 (5.7)	-7.4 (4.2)
조정된 평균 차이(SE)에 대한 추정값(비교물질 대비 알리로쿠맙)		-11.3 (7.1)
95% CI		(-25.2 내지 2.6)
플라시보 대비 p-값		0.1112
주석: 2-단계 다중 대치 과정은 무작위화된 개체군에서의 결측 값을 도입하기 위해 사용된다(2개의 단계에서 각각 시드 = 1,628 및 3,256; 대치수 = 100 및 1). 제1 단계에서, 단조 결측 패턴은 다중 대치된 데이터에서 유도된다. 제2 단계에서, 후속 방문 시의 결측 데이터는 연속형 변수에 대한 회귀 방법을 사용하여 대치된다. 결합 추정값 및 표준 오차(SE)는 상이한 대입된 데이터 세트에 대한 로버스트 회귀 모델 분석으로부터 조정된 평균 및 SE를 결합함으로써 취득된다. 로버스트 회귀 모델은 치료 그룹의 고정형 단점 효과 및 IVRS에 따른 무작위화 계층 및 기준선 TG 값의 연속형 고정 공변량을 포함한다. 평균 및 SE를 결합하기 위해 루빈식을 사용한다.		

[0377]

[0378]

알리로쿠맙 치료는 동형접합(LDLR), 복합 이형접합(LDLR), 이중 이형접합(LDLR + APOB 또는 PCSK9) 및 이형접합(LDLR + 기타 양성 변이체)을 비롯한 다양한 유전자형을 갖는 hoFH 환자에서의 LDL-C 감소를 초래하였으며, 영/영 환자에서는 최소 효과가 예상되거나 어떠한 효과도 예상되지 않았다. 임의의 유전자형을 갖는 플라시보-치료 환자에서는 어떠한 LDL-C 감소도 관찰되지 않았다.

[0379]

요약하면, 2주간의 스크리닝 기간 이후에 69명의 환자를 2개의 그룹에서 비슷한 인구 통계를 갖는 연구 치료(24명의 플라시보; 45명의 알리로쿠맙)로 무작위화하였다. 무작위화 당시, 97%의 환자가 고강도 스타틴 치료 중이었고; 72%는 에제티미브 치료 중이었고; 17.4%는 성분채집술 도중이었으며; 평균 기준선 LDL-C는 플라시보에서는 259.6 mg/dL이었고, 알리로쿠맙에서는 295.0 mg/dL이었다. 12주차에 기준선으로부터의 LDL-C 변화율의 차이는 -35.6%(플라시보[8.6%] 대비 알리로쿠맙[-26.9%]; $p < 0.0001$)이었다. 2차 종료점은 다음과 같다: ApoB: -29.8%($p < 0.0001$); 비-HDL-C: -32.9%($p < 0.0001$); 총 콜레스테롤: -26.5%($p < 0.0001$). 어떠한 치료-유발 SAE도 발생하지 않았으며; TEAE로 인한 어떠한 중단과 어떠한 사망도 보고된 바 없었다.

[0380]

따라서, 알리로쿠맙을 이용한 치료는 hoFH를 앓는 환자에서 LDL-C의 통계적으로 유의하고 임상적으로 유의미한 감소를 초래하였으며, 이는 4주차 방물 초기에 관찰된 후, 12주간의 이중 맹검 치료 기간 전반에 걸쳐 유지되었다. 알리로쿠맙을 이용한 치료는 또한 심혈관 위험성 증가와 연관된 기타 지질단백질 및 지질 척도(Apo B, 총

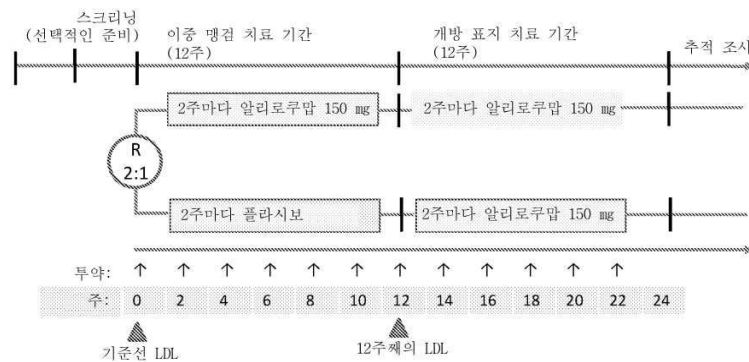
콜레스테롤, 비-HDL-C 및 Lp(a))에서의 유의한 감소를 초래하였다. 최종적으로, 알리로쿠맙은 일반적으로 내약성이 높으며, 이때 TEAE, AESI(특별히 관심 있는 유해 이벤트) 및 실험실 파라미터와 관련하여 치료 그룹들 사이의 임상적으로 유의한 차이가 없었다. 또한, 개방 표지 데이터로부터는 어떠한 안전성 문제도 확인되지 않았다.

[0381]

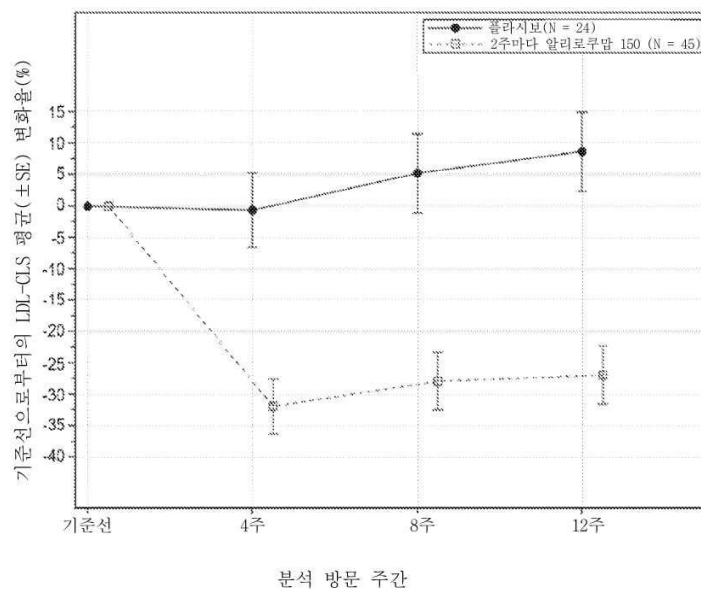
본 개시내용은 본원에 기술된 구체적인 실시형태에 의해 범주 내에서 제한되는 것은 아니다. 실제로, 본원에 기술된 것 이외에도 본 개시내용의 다양한 변경은 상술한 설명으로부터 당업자에게 명백할 것이다. 이 같은 변경은 첨부된 청구범위의 범주 내에 있는 것으로 의도된다.

도면

도면1



도면2



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Regeneron Pharmaceuticals, Inc.

Sanofi Biotechnology

<120> USE OF A PCSK9 INHIBITOR TO TREAT HOMOZYGOUS FAMILIAL HYPERCHOLESTEROLEMIA

<130> 711599:SA9-291PC

<140> 62946268

<141> 2019-12-10

<140> 62987148

<141> 2020-03-09

<160> 198

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 1

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

1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr

20 25 30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Asp Trp Val

35 40 45
Ser Thr Ile Ser Gly Ser Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60
Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Ser Ser Lys His Thr Leu Tyr

65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Lys Asp Ser Asn Trp Gly Asn Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr

100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 2

Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr Ala

1 5

<210> 3

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 3

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Thr Thr

1 5

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 4

Ala Lys Asp Ser Asn Trp Gly Asn Phe Asp Leu

1 5 10

<210> 5

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
REGN727 heavy chain polypeptide

<400> 5

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 6

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 6

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Arg

20 25 30

Ser Asn Asn Arg Asn Phe Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Pro Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

Tyr Tyr Thr Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile

100 105 110

Lys

<210> 7

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 7

Gln Ser Val Leu Tyr Arg Ser Asn Asn Arg Asn Phe

1 5 10

<210> 8

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 8

Trp Ala Ser

1

<210> 9

<211> 220

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

REGN727 light chain polypeptide

<400> 9

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Arg

20 25 30

Ser Asn Asn Arg Asn Phe Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Pro Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

Tyr Tyr Thr Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile

100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn

130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr

180 185 190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser

195 200 205

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215 220

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 10

Gln Gln Tyr Tyr Thr Thr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 11

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 11

Glu Met Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His

20 25 30

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

35 40 45

Ala Asn Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Ile Val Leu Met Val Tyr Asp Met Asp Tyr Tyr Tyr Tyr

100 105 110

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

115 120 125

<210> 12

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 12

Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Trp

1 5

<210> 13

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 13

Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys

1 5

<210> 14

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 14

Ala Arg Asp Ile Val Leu Met Val Tyr Asp Met Asp Tyr Tyr Tyr Tyr

1 5 10 15

Gly Met Asp Val

20

<210> 15

<211> 112

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 15

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

Asn Gly Asn Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 16

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 16

Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Asn Asn Tyr

1 5 10

<210> 17

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 17

Leu Gly Ser

1

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 18

Met Gln Thr Leu Gln Thr Pro Leu Thr

1

5

<210> 19

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 19

Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Trp

1

5

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 20

Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys

1

5

<210> 21

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 21

Ala Arg Asp Ile Val Leu Met Val Tyr Asp Met Asp Tyr Tyr Tyr Tyr

1 5 10 15

Gly Met Asp Val

20

<210> 22

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 22

Gln Ser Leu His His Ser Asn Gly Asn Asn Tyr

1 5 10

<210> 23

<211>

3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 23

Leu Gly Ser

1

<210> 24

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 24

Met Gln Thr Leu Gln Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 25

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 25

Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Trp

1 5

<210> 26

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 26

Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys

1 5

<210> 27

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 27

Ala Arg Asp Ile Val Leu Met Val Tyr His Met Asp Tyr Tyr Tyr Tyr

1 5 10 15

Gly Met Asp Val

20

<210> 28

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 28

Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Asn Asn Tyr

1 5 10

<210> 29

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 29

Leu Gly Ser

1

<210> 30

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 30

Met Gln Thr Leu Gln Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 31

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 31

Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Trp

1 5

<210> 32

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 32

Ile Asn Gln Asp Gly Ser Glu Lys

1 5

<210> 33

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 33

Ala Arg Asp Ile Val Leu Met Val Tyr His Met Asp Tyr Tyr Tyr Tyr

1 5 10 15

Gly Met Asp Val

20

<210> 34

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 34

Gln Ser Leu His His Ser Asn Gly Asn Asn Tyr

1 5 10

<210> 35

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 35

Leu Gly Ser

1

<210> 36

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 36

Met Gln Thr Leu Gln Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 37

<211> 131

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

VH; m2CX1D05 polypeptide

<400> 37

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Asn Ser His

20 25 30

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

35 40 45

Gly Gly Ile Asn Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg His Tyr Glu Ile Gln Ile Gly Arg Tyr Gly Met Asn Val Tyr
 100 105 110

Tyr Leu Met Tyr Arg Phe Ala Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 115 120 125

Val Ser Ser
 130

<210> 38

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

VH CDR1; m2CX1D05 peptide

<400> 38

Gly Gly Thr Phe Asn Ser His Ala Ile Ser

1 5 10

<210> 39

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

VH CDR2; m2CX1D05 peptide

<400> 39

Trp Met Gly Gly Ile Asn Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln

1 5 10 15

Lys Phe Gln Gly

20

<210> 40

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

VH CDR3; m2CX1D05 peptide

<400> 40

His Tyr Glu Ile Gln Ile Gly Arg Tyr Gly Met Asn Val Tyr Tyr Leu

1 5 10 15

Met Tyr Arg Phe Ala Ser

20

<210> 41

<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

LC; m2CX1D05 polypeptide

<400> 41

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Ser Ala

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Asn Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asp Gly Asp Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser

165

170

175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala

180

185

190

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

195

200

205

Asn Arg Gly Glu Ala

210

<210> 42

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

VL CDR 1; m2CX1D05 peptide

<400> 42

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Ser Ala Leu Asn

1

5

10

<210> 43

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

VL CDR2; m2CX1D05 peptide

<400> 43

Leu Leu Ile Tyr Asn Gly Ser Thr Leu Gln Ser

1

5

10

<210> 44

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

VL CDR3; m2CX1D05 peptide

<400> 44

Gln Gln Phe Asp Gly Asp Pro

1 5

<210> 45

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

VH; 1B20 polypeptide

<400> 45

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Trp Tyr Lys Pro Leu Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 46

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

VH CDR1; 1B20 peptide

<400> 46

Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr Trp Ile Ser

1 5 10

<210> 47

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

VH CDR2; 1B20 peptide

<400> 47

Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Ser Pro

1 5 10 15

Ser Phe Gln Gly

20

<210> 48

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

VH CDR3; 1B20 peptide

<400> 48

Asp Tyr Trp Tyr Lys Pro Leu Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 49

<211> 220

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

LC; 1B20 polypeptide

<400> 49

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser

20

25

30

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

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

Tyr Ser Ser Phe Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn

130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr

180 185 190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser

195 200 205

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Ala

210 215 220

<210> 50

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

VL CDR1; 1B20 peptide

<400> 50

Arg Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 51

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

VL CDR2; 1B20 peptide

<400> 51

Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5 10

<210> 52

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

VL CDR3; 1B20 peptide

<400> 52

Gln Gln Tyr Ser Ser Phe Pro Ile

1 5

<210> 53

<211

> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

variable heavy antibody region polypeptide

<400> 53

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120

<210> 54

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX132 heavy chain CDR1 antibody region peptide

<400> 54

Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met Tyr Trp Val Arg

1 5 10 15

<210> 55

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX132 heavy chain CDR2 antibody region peptide

<400> 55

Trp Ile Gly Trp Ile Asp Pro Gly Ser Gly Gly Thr Lys Tyr Asn Glu

1 5 10 15

Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr

20

<210> 56

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX132 heavy chain CDR3 antibody region peptide

<400> 56

Cys Ala Arg Glu Arg Tyr Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

1 5 10 15

<210> 57

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

variable light antibody region polypeptide

<400> 57

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Val Gly Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly 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 Val Trp Asp Ser Ser Pro Pro

85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 58

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX213 and AX132 light chain CDR1 antibody region peptide

<400> 58

Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Val Gly Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr

1 5 10 15

Gln

<210> 59

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX213 and AX132 light chain CDR2 antibody region peptide

<400> 59

Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro

1 5 10

<210> 60

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX132 & AX213 light chain CDR3 antibody region peptide

<400> 60

Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Pro Pro Val Val Phe Gly Gly

1 5 10 15

<210> 61

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

variable heavy antibody region polypeptide

<400> 61

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Arg Tyr
 20 25 30
 Gly Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

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

 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 115 120

<210> 62

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX213 heavy chain CDR1 antibody region peptide

<400> 62

Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Arg Tyr Gly Ile Asn Trp Val Arg
 1 5 10 15

<210> 63

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX213 heavy chain CDR2 antibody region peptide

<400> 63

Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asn Gly Gly Thr Arg Tyr Asn Glu
1 5 10 15
Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr
20
<210> 64
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
AX213 heavy chain CDR3 antibody region peptide
<400> 64
Cys Ala Arg Ala Asn Asp Gly Tyr Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
1 5 10 15
<210> 65
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
variable light antibody region polypeptide
<400> 65
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Val Gly Ser Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly 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 Val Trp Asp Ser Ser Pro Pro
85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

<210> 66

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX213 and AX132 light chain CDR1 antibody region peptide

<400> 66

Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Tyr Val Gly Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr

1

5

10

15

Gln

<210> 67

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX213 and AX132 light chain CDR2 antibody region peptide

<400> 67

Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro

1

5

10

<210> 68

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX132 & AX213 light chain CDR3 antibody region peptide

<400> 68

Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Pro Pro Val Val Phe Gly Gly

1

5

10

15

<210> 69

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX1 VH antibody sequence polypeptide

<400> 69

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Asn Pro Asp Ser Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Arg Leu Ser Trp Asp Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 70

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX1 VH CDR1 antibody sequence peptide

<400> 70

Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg

1 5 10 15

<210> 71

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX1 VH CDR2 antibody sequence peptide

<400> 71

Trp Ile Gly Arg Ile Asn Pro Asp Ser Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu

1 5 10 15

Lys Phe Lys Gly Arg Ala Thr

20

<210> 72

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX1 VH CDR3 antibody sequence peptide

<400> 72

Cys Ala Arg Gly Gly Arg Leu Ser Trp Asp Phe Asp Val Trp Gly Gln

1 5 10 15

<210> 73

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX1 VL antibody sequence polypeptide

<400> 73

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Arg Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

<210>

74

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX1 VL CDR1 antibody sequence peptide

<400> 74

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Arg Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 75

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX1 AX9 AX189 VL CDR2 antibody sequence peptide

<400> 75

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 76

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX1 VL CDR3 antibody sequence peptide

<400> 76

Ala Ala Tyr Asp Tyr Ser Leu Gly Gly Tyr Val

1 5 10

<210> 77

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX9 AX189 VH antibody sequence polypeptide

<400> 77

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

1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Arg Tyr Gly Tyr Tyr Leu Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 78

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX9 AX189 VH CDR1 antibody sequence peptide

<400> 78

Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Met His Trp Val Arg

1 5 10 15

<210> 79

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX9 AX189 VH CDR2 antibody sequence peptide

<400> 79

Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Lys Tyr Asn Glu

1 5 10 15

Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr

20

<210> 80

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX9 AX189 VH CDR3 antibody sequence peptide

<400> 80

Cys Ala Arg Tyr Gly Tyr Tyr Leu Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp

1 5 10 15

Gly Gln

<210> 81

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX189 VL antibody sequence polypeptide

<400> 81

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Arg Tyr

20 25 30

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

<210> 82

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223

> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX189 VL CDR1 antibody sequence peptide

<400> 82

Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Arg Tyr Leu Thr

1 5 10

<210> 83

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX1 AX9 AX189 VL CDR2 antibody sequence peptide

<400> 83

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 84

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

AX189 VL CDR3 antibody sequence peptide

<400> 84

Gln Ala Tyr Asp Tyr Ser Leu Ser Gly Tyr Val

1 5 10

<210> 85

<211> 115

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 85

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 Leu Thr Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Val Ser Phe Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 86

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 86

Ser Tyr Gly Ile Ser

1 5

<210> 87

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 87

Trp Val Ser Phe Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 88

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 88

Gly Tyr Gly Met Asp Val

1 5

<210> 89

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 89

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

1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr

20 25 30

Asn Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Met Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Tyr Thr Ser Thr

85 90 95

Ser Met Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100

105

<210>

90

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 90

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Ser Val Ser

1

5

10

<210> 91

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 91

Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser

1

5

<210> 92

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 92

Asn Ser Tyr Thr Ser Thr Ser Met Val

1

5

<210> 93

<211> 123

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 93

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

1

5

10

15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20

25

30

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

35 40 45
 Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Ser 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 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Tyr Asp Phe Trp Ser Ala Tyr Tyr Asp Ala Phe Asp Val
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 94

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 94

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Asn
 1 5 10

<210> 95

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 95

Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 96

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 96

Asp Tyr Asp Phe Trp Ser Ala Tyr Tyr Asp Ala Phe Asp Val

1 5 10

<210> 97

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 97

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

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly

 20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu

 35 40 45

Leu Ile Ser Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe

 50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser

 85 90 95

Leu Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

 100 105 110

<210> 98

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 98

Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val His

1 5 10

<210> 99

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 99

Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser

1 5

<210> 100

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 100

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Ser Val

1 5 10

<210> 101

<211> 114

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 101

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Val Ile Tyr Tyr Asp Gly Ile Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Arg Gly Leu Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

100 105 110

Ser Ser

<210> 102

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 102

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His

1 5 10

<210> 103

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 103

Val Ile Tyr Tyr Asp Gly Ile Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 104

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 104

Asp Arg Gly Leu Asp

1 5

<210> 105

<211> 113

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 105

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser

20 25 30

Ser Asn Ser Lys Asn Tyr Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95
Tyr Tyr Ser Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110
Lys

<210> 106

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 106

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Ser Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15
Val

<210> 107

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 107

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 108

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 108

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Trp Thr
1 5

<210> 109

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

anti-PCSK9 monoclonal antibody pJG04 (clones LGT-209 and
LGT-210) Vh heavy chain variable region (FR1-FR4)
polypeptide

<400> 109

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 Ser Thr Met

20 25 30

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

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Glu His Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ser Tyr Tyr Tyr Asn Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 110

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

anti-PCSK9 monoclonal antibody clones LGT-209,
LGT-210 and LGT-211 heavy chain CDR1 peptide

<400> 110

Thr Met Tyr Met Ser

1 5

<210> 111

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

anti-PCSK9 monoclonal antibody clones LGT-209,
LGT-210 and LGT-211 heavy chain CDR2 peptide

<400> 111

Arg Ile Asp Pro Ala Asn Glu His Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 112

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

anti-PCSK9 monoclonal antibody pJG04(clones
LGT-209 and LGT-210) Vh heavy chain complementarity
determining region 3 (CDR3) peptide

<400> 112

Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Asn Met Asp Tyr

1 5

<210> 113

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

anti-PCSK9 monoclonal antibody pJG10(clones
LGT-209 and LGT-211) Vk light chain variable
region (FR1-FR4) polypeptide

<400> 113

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

<210> 114

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

anti-PCSK9 monoclonal antibody clones LGT-209,
LGT-210 and LGT-211 light chain CDR1 peptide

<400> 114

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Met His

1 5 10

<210> 115

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

anti-PCSK9 monoclonal antibody clones LGT-209,
LGT-210 and LGT-211 light chain CDR1 peptide

<400> 115

Gly Val Phe Arg Arg Ala Thr

1 5

<210> 116

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

mouse anti-PCSK9 monoclonal antibody LFU720 and

anti-PCSK9 monoclonal antibody clones LGT-209,

LGT-210 and LGT-211 light chain CDR3 peptide

<400> 116

Leu Gln Trp Ser Ser Asp Pro Pro Thr

1 5

<210> 117

<211> 118

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400>

117

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

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Glu Ile Ser Pro Phe Gly Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Arg Pro Leu Tyr Ala Ser Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 118

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 118

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

1 5

<210> 119

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 119

Ser Pro Phe Gly Gly Arg

1 5

<210> 120

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
variable heavy chain CDR peptide

<

400> 120

Glu Arg Pro Leu Tyr Ala Ser Asp Leu

1 5

<210> 121

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 121

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Tyr Ser Leu Trp Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 122

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

variable light chain CDR peptide

<400> 122

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 123

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

variable light chain CDR peptide

<400> 123

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr

1 5

<210> 124

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

variable light chain CDR peptide

<400> 124

Gln Gln Arg Tyr Ser Leu Trp Arg Thr

1 5

<210> 125

<211> 118

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 125

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

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Glu Ile His Pro Ser Gly Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Arg Pro Leu Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 126

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 126

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His

1 5 10

<210> 127

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 127

Glu Ile His Pro Ser Gly Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Ser

<210> 128

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 128

Glu Arg Pro Leu Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 129

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 129

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val His Thr Ala

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr His Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

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

<210> 130

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 130

Lys Ala Ser Gln Asp Val His Thr Ala Val Ala

1 5 10

<210> 131

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 131

His Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr

1 5

<210> 132

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 132

Gln Gln Arg Tyr Ser Leu Trp Arg Thr

1 5

<210> 133

<211> 118

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 133

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
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Glu Ile His Pro Ser Gly Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Ser Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Arg Pro Leu Tyr Ala Ser Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 134

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 134

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His

1 5 10

<210> 135

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 135

Glu Ile His Pro Ser Gly Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Ser

<210> 136

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 136

Glu Arg Pro Leu Tyr Ala Ser Asp Leu

1 5

<210> 137

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 137

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val His Thr Ala

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr His Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Tyr Ser Leu Trp Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 138

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 138

Lys Ala Ser Gln Asp Val His Thr Ala Val Ala

1 5 10

<210> 139

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 139

His Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr

1 5

<210> 140

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 140

Gln Gln Arg Tyr Ser Leu Trp Arg Thr

1 5

<210> 141

<211> 118

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 141

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Ser Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Glu Arg Pro Leu Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110
 Ser Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 142
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 142
 Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 1 5
 <210> 143
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 143
 Asn Pro Ser Asn Gly Arg
 1 5
 <210> 144
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 144
 Glu Arg Pro Leu Tyr Ala Met Asp Tyr
 1 5
 <
 210> 145
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Mus musculus
 <400> 145
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile

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

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

100 105
<210> 146
<211> 11
<212> PRT
<213> Mus musculus
<400> 146
Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala

1 5 10
<210> 147
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
variable light chain CDR peptide

<400> 147
Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr

1 5
<210> 148
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus
<400> 148
Gln Gln Arg Tyr Ser Thr Pro Arg Thr

1 5
<210> 149

<211> 115

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 149

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

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

<210> 150

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 150

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

1	5
---	---

<210> 151

<211> 6

<212>

> PRT

<213> Mus musculus

<400> 151

Asn Pro Asn Asn Gly Gly

1 5

<210> 152

<211> 6

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 152

Trp Leu Leu Phe Ala Tyr

1 5

<210> 153

<211> 108

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 153

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Leu Ser

65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Phe Tyr Ser Tyr Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 154

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 154

Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala

1 5 10

<210> 155

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 155

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser

1 5

<210> 156

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 156

Gln Gln Phe Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 157

<211> 123

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 157

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Asp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Gly Gly Ile Tyr Tyr Arg Tyr Asp Arg Asn Tyr Phe Asp Tyr
 100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 158

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 158

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

1 5

<210> 159

<211> 6

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 159

Asn Pro Asn Asn Gly Gly

1 5

<210> 160

<211> 14

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 160

Gly Gly Ile Tyr Tyr Arg Tyr Asp Arg Asn Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 161

<211> 107

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 161

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr

20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Pro

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

<210> 162

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 162

Ser Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 163

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400>

> 163

Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser

1 5

<210> 164

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 164

Gln Gln Tyr Ser Lys Leu Pro Phe Thr

1 5

<210> 165

<211> 117

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 165

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

1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr

20 25 30

Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Val Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Asn Ile Asn Tyr Asp Gly Ser Asn Thr Ser Tyr Leu Asp Ser Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ile Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Glu Lys Phe Ala Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 166

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 166

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr

1 5

<210> 167

<211> 6

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 167

Asn Tyr Asp Gly Ser Asn

1 5

<210> 168

<211> 8

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 168

Glu Lys Phe Ala Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 169

<211> 108

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 169

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Phe Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Asn Ala

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly His Ser Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala

65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 170

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 170

Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Asn Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 171

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

variable light chain CDR peptide

<400> 171

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr

1 5

<210> 172

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 172

Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp Thr

1 5

<210> 173

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 173

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Arg His

20 25 30

Thr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35

40

45

Ala Arg Ile Ser Pro Ala Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Trp Ile Gly Ser Arg Glu Leu Tyr Ile Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 174

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 174

Gly Phe Thr Phe Thr Arg His Thr Ile His

1 5 10

<210> 175

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 175

Arg Ile Ser Pro Ala Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 176

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 176

Trp Ile Gly Ser Arg Glu Leu Tyr Ile Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 177

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 177

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Arg Ile Gln Pro

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 178

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 178

Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala

1 5 10

<210> 179

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 179

Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser

1 5

<210> 180

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 180

Gln Gln Ser Tyr Arg Ile Gln Pro Thr

1 5

<210> 181

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 181

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Thr

20 25 30

Ala Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Arg Ile Ser Pro Ala Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Trp Ile Gly Ser Arg Glu Leu Tyr Ile Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 182

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 182

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Thr Ala Ile His

1 5 10

<210> 183

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 183

Arg Ile Ser Pro Ala Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 184

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 184

Trp Ile Gly Ser Arg Glu Leu Tyr Ile Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 185

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 185

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala

20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Pro Ala Leu His

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 186

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 186

Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala

1 5 10

<210> 187

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 187

Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser

1 5

<210> 188

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 188

Gln Gln Ser Tyr Pro Ala Leu His Thr

1 5

<210> 189

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 189

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Pro Phe Ser Lys Leu

20 25 30
 Gly Met Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Thr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Tyr Thr Tyr Tyr Pro 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 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Glu Gly Ile Ser Phe Gln Gly Gly Thr Tyr Thr Tyr Val Met
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 190

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 190

Gly Phe Pro Phe Ser Lys Leu Gly Met Val
 1 5 10

<210> 191

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 191

Thr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 192

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 192

Glu Gly Ile Ser Phe Gln Gly Gly Thr Tyr Thr Tyr Val Met Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 193

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 193

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Arg

20 25 30

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

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Leu Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Asn

85 90 95

Leu Glu Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 194

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 194

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Arg Asn Gly Ile Thr Tyr Ser Tyr
1 5 10 15

<210> 195

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 195

Gln Leu Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 196

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 196

Tyr Gln Asn Leu Glu Leu Pro Leu Thr
1 5

<210> 197

<211> 2076

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 197

atgggcaccg tcagctccag gcggctcctgg tggccgctgc cactgctgct gctgctgctg 60

ctgctcctgg gtcccgcggg cgcccgtgcg caggaggacg aggacggcga ctacaggag 120

ctggtgctag ccttgcgttc cgaggaggac ggcttgccg aagcacccga gcacggaacc 180
 acagccacct tccaccgtg cgccaaggat ccgtggaggt tgccctggcac ctacgtggtg 240
 gtgctgaagg aggagaccca cctctcgcag tcagagcgca ctgcccgcg cctgcaggcc 300
 caggctgccc gccggggata cctcaccaag atcctgcatg tcttccatgg ccttcttcct 360
 ggcttcctgg tgaagatgag tggcgacctg ctggagctgg ccttgaagtt gcccctatgc 420
 gactacatcg aggaggactc ctctgtcttt gccagagca tcccgtggaa cctggagcgg 480

 attacccctc cacggtaccg ggccgatgaa taccagcccc ccgacggagg cagcctggtg 540
 gagggtgtatc tcttagacac cagcatacag agtgaccacc gggaaatcga gggcagggtc 600
 atggtcaccg acttcgagaa tgtgcccag gaggcaggga cccgttcca cagacaggcc 660
 agcaagtgtg acagtcatgg caccacctg gcagggtggt tcagcggccg ggatgccggc 720
 tggccaagg gtccagcat gcgcagcctg cgcgtgctca actgccaagg gaagggcacg 780
 gttagcggca cctcatagg cctggagttt attcgaaaa gccagctggt ccagcctgtg 840
 gggccactgg tgggtgtgct gccctggcg ggtgggtaca gccgcgtcct caacgccgc 900

 tgccagcgc tgccgagggc tgggtcgtg ctggtcaccg ctgccggcaa cttccgggac 960
 gatgcctgcc tctactccc agcctcagct cccgaggtca tcacagtgg gccaccaat 1020
 gcccaagacc agccgtgac cctggggact ttggggacca actttggccg ctgtgtggac 1080
 ctctttgcc caggggagga catcatgtgt gcctccagcg actgcagcac ctgctttgtg 1140
 tcacagagtg ggacatcaca ggctgtgcc cagctggctg gcattgcagc catgatgtg 1200
 tctgccgagc cggagctcac cctggccgag ttgaggcaga gactgatcca cttctctgcc 1260
 aaagatgtca tcaatgagc ctggttcctt gaggaccagc gggtactgac cccaacctg 1320

 gtggccgcc tgccccccag caccatggg gcaggttggc agctgtttt caggactgta 1380
 tggctcagcac actcggggcc tacacggatg gccacagccg tcgccgctg cggcccagat 1440
 gaggagctgc tgagctgtc cagtttctcc aggagtggga agcggcgggg cgagcgcatg 1500
 gaggcccaag ggggcaagct ggtctgccg gcccaaacg cttttggggg tgagggtgtc 1560
 tacgccattg ccaggtgtg cctgtatccc caggccaact gcagcgtcca cacagctcca 1620
 ccagctgagg ccagcatggg gaccctgtc cactgccacc aacagggcca cgtcctcaca 1680
 ggctgcagct cccactggga ggtggaggac ctgggcaccc acaagccgc tgtgtgagg 1740

 ccacagggtc agcccaacca gtgcgtgggc cacaggagg ccagcatcca cgcttcctgc 1800
 tgccatgcc caggtctgga atgcaaagtc aaggagcatg gaatcccgc cctcaggag 1860
 caggtgaccg tggcctgcga ggagggtg accctgactg gctgcagtgc cctccctggg 1920
 acctccacg tctgggggc ctacgccga gacaacacgt gtgtagttag gagccgggac 1980

gtcagcacta caggcagcac cagcgaaggg gccgtgacag ccgttgccat ctgctgccgg 2040
agccggcacc tggcgcaggc ctcccaggag ctccag 2076

<210> 198
<211> 692
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 198

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

His Arg Cys Ala Lys Asp Pro Trp Arg Leu Pro Gly Thr Tyr Val Val
65 70 75 80
Val Leu Lys Glu Glu Thr His Leu Ser Gln Ser Glu Arg Thr Ala Arg
85 90 95
Arg Leu Gln Ala Gln Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Leu Thr Lys Ile Leu
100 105 110
His Val Phe His Gly Leu Leu Pro Gly Phe Leu Val Lys Met Ser Gly
115 120 125

Asp Leu Leu Glu Leu Ala Leu Lys Leu Pro His Val Asp Tyr Ile Glu
130 135 140
Glu Asp Ser Ser Val Phe Ala Gln Ser Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg
145 150 155 160
Ile Thr Pro Pro Arg Tyr Arg Ala Asp Glu Tyr Gln Pro Pro Asp Gly
165 170 175
Gly Ser Leu Val Glu Val Tyr Leu Leu Asp Thr Ser Ile Gln Ser Asp
180 185 190

His Arg Glu Ile Glu Gly Arg Val Met Val Thr Asp Phe Glu Asn Val
195 200 205

Pro Glu Glu Asp Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys Cys Asp
210 215 220

Ser His Gly Thr His Leu Ala Gly Val Val Ser Gly Arg Asp Ala Gly
225 230 235 240

Val Ala Lys Gly Ala Ser Met Arg Ser Leu Arg Val Leu Asn Cys Gln
245 250 255

Gly Lys Gly Thr Val Ser Gly Thr Leu Ile Gly Leu Glu Phe Ile Arg
260 265 270

Lys Ser Gln Leu Val Gln Pro Val Gly Pro Leu Val Val Leu Leu Pro
275 280 285

Leu Ala Gly Gly Tyr Ser Arg Val Leu Asn Ala Ala Cys Gln Arg Leu
290 295 300

Ala Arg Ala Gly Val Val Leu Val Thr Ala Ala Gly Asn Phe Arg Asp
305 310 315 320

Asp Ala Cys Leu Tyr Ser Pro Ala Ser Ala Pro Glu Val Ile Thr Val
325 330 335

Gly Ala Thr Asn Ala Gln Asp Gln Pro Val Thr Leu Gly Thr Leu Gly
340 345 350

Thr Asn Phe Gly Arg Cys Val Asp Leu Phe Ala Pro Gly Glu Asp Ile
355 360 365

Ile Gly Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe Val Ser Gln Ser Gly
370 375 380

Thr Ser Gln Ala Ala Ala His Val Ala Gly Ile Ala Ala Met Met Leu
385 390 395 400

Ser Ala Glu Pro Glu Leu Thr Leu Ala Glu Leu Arg Gln Arg Leu Ile
405 410 415

His Phe Ser Ala Lys Asp Val Ile Asn Glu Ala Trp Phe Pro Glu Asp
420 425 430

Gln Arg Val Leu Thr Pro Asn Leu Val Ala Ala Leu Pro Pro Ser Thr

435 440 445
 His Gly Ala Gly Trp Gln Leu Phe Cys Arg Thr Val Trp Ser Ala His
 450 455 460
 Ser Gly Pro Thr Arg Met Ala Thr Ala Val Ala Arg Cys Ala Pro Asp
 465 470 475 480
 Glu Glu Leu Leu Ser Cys Ser Ser Phe Ser Arg Ser Gly Lys Arg Arg
 485 490 495
 Gly Glu Arg Met Glu Ala Gln Gly Gly Lys Leu Val Cys Arg Ala His
 500 505 510

 Asn Ala Phe Gly Gly Glu Gly Val Tyr Ala Ile Ala Arg Cys Cys Leu
 515 520 525
 Leu Pro Gln Ala Asn Cys Ser Val His Thr Ala Pro Pro Ala Glu Ala
 530 535 540
 Ser Met Gly Thr Arg Val His Cys His Gln Gln Gly His Val Leu Thr
 545 550 555 560
 Gly Cys Ser Ser His Trp Glu Val Glu Asp Leu Gly Thr His Lys Pro
 565 570 575

 Pro Val Leu Arg Pro Arg Gly Gln Pro Asn Gln Cys Val Gly His Arg
 580 585 590
 Glu Ala Ser Ile His Ala Ser Cys Cys His Ala Pro Gly Leu Glu Cys
 595 600 605
 Lys Val Lys Glu His Gly Ile Pro Ala Pro Gln Glu Gln Val Thr Val
 610 615 620
 Ala Cys Glu Glu Gly Trp Thr Leu Thr Gly Cys Ser Ala Leu Pro Gly
 625 630 635 640

 Thr Ser His Val Leu Gly Ala Tyr Ala Val Asp Asn Thr Cys Val Val
 645 650 655
 Arg Ser Arg Asp Val Ser Thr Thr Gly Ser Thr Ser Glu Gly Ala Val
 660 665 670
 Thr Ala Val Ala Ile Cys Cys Arg Ser Arg His Leu Ala Gln Ala Ser
 675 680 685

Gln Glu Leu Gln

690