

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0077622

(43) 공개일자 2020년06월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 38/17 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01) A61K 9/00 (2006.01)

A61P 27/02 (2006.01) C07K 14/71 (2006.01)

C07K 16/22 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 38/179 (2013.01)

A61K 39/395 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2020-7018126(분할)

(22) 출원일자(국제) 2012년01월11일

심사청구일자 없음

(62) 원출원 특허 10-2019-7012536

원출원일자(국제) 2012년01월11일

심사청구일자 2019년05월29일

(85) 번역문제출일자 2020년06월23일

(86) 국제출원번호 PCT/US2012/020855

(87) 국제공개번호 WO 2012/097019

국제공개일자 2012년07월19일

(30) 우선권주장

61/432,245 2011년01월13일 미국(US)

(뒷면에 계속)

(71) 출원인

리제너론 파아마슈티컬스, 인크.

미국 뉴욕 10591-6707 테리타운 올드 소오 밀 리버 로드 777

(72) 발명자

얀코폴로스 조지 디.

미국 뉴욕주 10598 요크타운 하이츠 뱍티스트 처치 로드 1519

(74) 대리인

장훈

전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 혈관신생 눈 장애를 치료하기 위한 VEGF 길항제의 용도

(57) 요약

본 발명은 환자에게 VEGF 길항제의 다중 용량을 순차적으로 투여함으로써 혈관신생 눈 장애를 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명의 방법은 환자에게 8주 이상마다 1회의 빈도로 VEGF 길항제의 다중 용량을 투여하는 것을 포함한다. 본 발명의 방법은 연령 관련 황반 변성, 당뇨병성 망막병증, 당뇨병성 황반 부종, 중심성 망막 정맥 폐색 및 각만 신혈관형성과 같은 혈관신생 눈 장애의 치료에 유용하다.

(52) CPC특허분류

A61K 9/0048 (2013.01)
A61P 27/02 (2018.01)
C07K 14/71 (2013.01)
C07K 16/22 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2319/30 (2013.01)
C07K 2319/32 (2013.01)

(30) 우선권주장

61/434,836 2011년01월21일 미국(US)
61/561,957 2011년11월21일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

VEGF 길항제를 포함하는, 환자의 당뇨병성 망막병증을 치료하는 방법에 사용하기 위한 약제학적 조성물로서,

상기 방법은, 상기 VEGF 길항제의 단일 초기 용량, 이어서 상기 VEGF 길항제의 4회의 2차 용량의 사용, 이어서 상기 VEGF 길항제의 1회 이상의 3차 용량의 사용의 순차적 사용을 포함하고;

상기 각각의 2차 용량은 직전 용량 후 4주째에 사용하기 위한 것이고;

상기 각각의 3차 용량은 직전 용량 후 적어도 8주째에 사용하기 위한 것이고;

상기 VEGF 길항제는 VEGFR1의 면역글로불린-유사(Ig) 도메인 2 및 VEGFR2의 Ig 도메인 3, 및 다량체화 요소를 포함하는 수용체-기반 키메라 분자인, 약제학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 VEGF 길항제가 (1) 서열번호 2의 아미노산 27 내지 129를 포함하는 VEGFR1 요소, (2) 서열번호 2의 아미노산 130 내지 231을 포함하는 VEGFR2 요소, 및 (3) 서열번호 2의 아미노산 232 내지 457을 포함하는 다량체화 요소를 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 길항제가 아플리버셉트인, 약제학적 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 VEGF 길항제의 모든 용량들이 국소 투여 또는 안내 투여에 의해 상기 환자에게 투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 VEGF 길항제의 모든 용량들이 안내 투여에 의해 상기 환자에게 투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 안내 투여가 유리체내 투여인, 약제학적 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 VEGF 길항제의 모든 용량들이 0.5mg 내지 2mg의 VEGF 길항제를 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 VEGF 길항제의 모든 용량들이 0.5mg의 VEGF 길항제를 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 9

제7항에 있어서, 상기 VEGF 길항제의 모든 용량들이 2mg의 VEGF 길항제를 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 10

VEGF 길항제를 포함하는, 환자의 당뇨병성 황반 부종을 치료하는 방법에 사용하기 위한 약제학적 조성물로서,

상기 방법은, 상기 VEGF 길항제의 단일 초기 용량, 이어서 상기 VEGF 길항제의 4회의 2차 용량의 사용, 이어서 상기 VEGF 길항제의 1회 이상의 3차 용량의 사용의 순차적 사용을 포함하고;

상기 각각의 2차 용량은 직전 용량 후 4주째에 사용하기 위한 것이고;

상기 각각의 3차 용량은 직전 용량 후 적어도 8주째에 사용하기 위한 것이고;

상기 VEGF 길항제는 VEGFR1의 면역글로불린-유사(Ig) 도메인 2 및 VEGFR2의 Ig 도메인 3, 및 다량체화 요소를 포함하는 수용체-기반 키메라 분자인, 약제학적 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 VEGF 길항제가 (1) 서열번호 2의 아미노산 27 내지 129를 포함하는 VEGFR1 요소, (2) 서열번호 2의 아미노산 130 내지 231을 포함하는 VEGFR2 요소, 및 (3) 서열번호 2의 아미노산 232 내지 457을 포함하는 다량체화 요소를 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 12

제10항에 있어서, 상기 길항제가 아플리버셉트인, 약제학적 조성물.

청구항 13

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 VEGF 길항제의 모든 용량들이 국소 투여 또는 안내 투여에 의해 상기 환자에게 투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 VEGF 길항제의 모든 용량들이 안내 투여에 의해 상기 환자에게 투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 안내 투여가 유리체내 투여인, 약제학적 조성물.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 VEGF 길항제의 모든 용량들이 0.5mg 내지 2mg의 VEGF 길항제를 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 VEGF 길항제의 모든 용량들이 0.5mg의 VEGF 길항제를 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 18

제16항에 있어서, 상기 VEGF 길항제의 모든 용량들이 2mg의 VEGF 길항제를 포함하는, 약제학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 눈 장애의 치료학적 처치의 분야에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 혈관신생에 의한 또는 혈관신생과 관련된 눈 장애를 치료하기 위한 VEGF 길항제의 투여에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 몇몇의 눈 장애는 병리학적 혈관신생과 관련이 있다. 예를 들면, 연령-관련 황반 변성(AMD)의 개시는 맥락막 신혈관형성(CNV)이라고 칭하는 프로세스와 관련이 있다. CNV 유래의 누출은 황반 부종 및 시력 손실을 초래하는 황반 하의 유체 수집을 야기한다. 당뇨병성 황반 부종(DME)은 혈관신생 요소를 지닌 다른 눈 장애이다. DME는 당뇨병을 지닌 환자의 중간 시력 손실의 가장 일반적인 요인이고, 당뇨병성 망막병증, 망막 혈관에 영향을 미치는 질환의 일반적인 합병증이다. 임상적으로 유의한 DME는 황반의 중심으로 유체가 누출되는 경우에 선평한 직시에 대한 책임이 있는 망막의 감광부에서 발생한다. 황반 내의 유체는 중증의 시력 손실 또는 시력 상

실을 야기할 수 있다. 이상 혈관신생과 관련된 또 다른 눈 장애는 중심성 망막 정맥 폐색(CRVO)이다. CRVO는 망막 내의 혈액 및 유체의 백-업(back-up)에 이르는 중심성 망막 정맥의 폐색에 의해 야기된다. 또한, 망막은 시력 손실 및 보다 심각한 합병증을 추가로 야기할 수 있는 새로운 부적절한 혈관의 성장을 초래하는 허혈성이 될 수 있다. 혈관 내피 성장 인자(VEGF)의 방출은 눈의 증가된 혈관 투과성 및 부적절한 새로운 혈관 성장에 기여한다. 따라서, VEGF의 혈관신생-촉진 특성을 억제하는 것은 혈관신생 눈 장애를 치료하기 위한 효과적인 전략인 것으로 밝혀진다.

[0003] AMD 및 CRVO 등의 혈관신생 눈 장애의 FDA-승인된 치료로는 유리체내 주사에 의한 매월 기초의 라니비주마브(Lucentis®, Genentech, Inc.)라고 칭하는 항-VEGF 항체의 투여가 포함된다.

[0004] VEGF 길항제를 이용한 눈 장애를 치료하는 방법은 예를 들면, 미국 특허 제 7,303,746호; 미국 특허 제 7,306,799호; 미국 특허 제 7,300,563호; 미국 특허 제 7,303,748호; 및 미국 특허출원 공보 2007/0190058에 언급된다. 그럼에도 불구하고, 당해 분야에 혈관신생 눈 장애에 대한 새로운 투여 요법, 특히 높은 효능 수준을 유지하면서 보다 덜 빈번한 투약을 허용하는 투여 요법에 대한 요구가 남아 있다.

발명의 내용

[0005] 본 발명은 혈관신생 눈 장애를 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명의 방법은 시간 경과에 따라 환자에게 VEGF 길항제의 다중 용량을 순차적으로 투여하는 것을 포함한다. 특히, 본 발명의 방법은 환자에게 VEGF 길항제의 단일 초기 용량, 이어서 VEGF 길항제의 1회 이상의 2차 용량, 이어서 VEGF 길항제의 1회 이상의 3차 용량으로 순차적으로 투여하는 것을 포함한다. 본 발명자들은 놀랍게도, 혈관 신생 눈 장애를 앓고 있는 환자에게 VEGF 길항제를 8주 이상마다 1회의 빈도로 투여함으로써, 특히, 이러한 용량에 앞서, 약 2 내지 4주의 빈도로 환자에게 투여된 약 3회 용량이 선행되는 경우에 상기 환자에서 이로인한 치료학적 효과를 달성할 수 있음을 발견하였다. 따라서, 본 발명의 방법에 따라, VEGF 길항제의 각각의 2차 용량을 직전 용량 후 2 내지 4주째에 투여하고, 각각의 3차 용량을 직전 용량 후 적어도 8주째에 투여한다. 본 발명의 투약 요법의 예는 도 1에 나타난다. 이러한 본 발명의 투약 요법의 한 이점은, 치료의 과정의 대부분(즉, 3차 용량)에 대하여, 이러한 본 발명의 투약 요법이 치료의 전체 과정을 통해 매달 투여를 요구하는 혈관신생 눈 장애에 대한 투여에 대한 선행 기술의 투여 요법에 비하여 보다 덜 빈번한(예를 들면, 8주마다 1회) 투약을 허용한다는 것이다. (예를 들면, Lucentis®([라니비주마브], Genentech, Inc.)에 대한 처방 정보를 참조한다.).

[0006] 본 발명의 방법을 이용하여 예를 들면, 연령 관련된 황반 변성, 당뇨병성 망막병증, 당뇨병성 황반 부종, 중심성 망막 정맥 폐색, 각막 신혈관형성 등을 포함한 임의의 혈관신생 눈 장애를 치료할 수 있다.

[0007] 본 발명의 방법은 환자에게 임의의 VEGF 길항제를 투여하는 것을 포함한다. 한 실시형태에서, VEGF 길항제는 하나 이상의 VEGF 수용체-기반 키메라 분자(들)(본원에 "VEGF-Trap" 또는 "VEGFT"로서도 나타냄)를 포함한다. 본 발명과 관련하여 사용될 수 있는 예시 VEGF 길항제는 본원에 "VEGFR1R2-FcΔC1(a)" 또는 "아플리버셉트"로서 나타낸 2개 이상의 VEGF 수용체-기반 키메라 분자를 포함하는 다량체 VEGF-결합 단백질이다.

[0008] 본 발명의 방법에 사용하기 위해, 예를 들면, 국소 투여 또는 안내 투여(예를 들면, 유리체내 투여)를 포함한 각종 투여 경로를 고려한다.

[0009] 혈관신생 (습성) 연령-관련된 황반 변성을 지닌 환자를 치료하기 위해, 처음 3개월 동안 4주마다 유리체내 주사에 의해 투여되는 2mg, 이어서, 8주마다 1회 유리체내 주사에 의해 투여되는 2mg의 추천 용량으로 사용하는 아플리버셉트(Aflibercept: EYLEA™, Regeneron Pharmaceuticals, Inc)가 2011년 11월에 FDA에 의해 승인되었다.

[0010] 본 발명의 다른 실시형태는 후속적 상세 설명의 리뷰로부터 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0011] 도 1은 본 발명의 예시 투약 요법을 나타낸다. 이러한 요법에서, VEGF 길항제("VEGFT")의 단일 "초기 용량"은 치료 요법의 개시시(즉, "0주")에 투여하고, 2회의 "2차 용량"은 4주 및 8주에 각각 투여하고, 그 후, 적어도 6회의 "3차 용량"을 8주마다(즉, 16, 24, 43, 40, 48, 56주 등) 투여한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0012] 본 발명을 기술하기 전에, 본 발명은 특정 방법 및 기술된 실험 조건에 한정되지 않고 이러한 방법 및 조건은

변할 수 있음이 이해되어야 한다. 또한, 본원에 사용된 용어는 단지 특정 실시형태를 설명할 목적을 위한 것이고, 한정되는 것으로 의도되는 것은 아니며, 그 이유는 본 발명의 범위는 특허청구범위에만 한정될 것이기 때문임이 이해되어야 한다.

[0013] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 당해 분야의 숙련가에 의해 일반적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "약"은 특정 인용된 수적 값과 관련하여 사용되는 경우 상기 값은 인용된 값으로부터 1% 이하만큼 다를 수 있음을 의미한다. 예를 들면, 본원에 사용된 바와 같이, 표현 "약 100"은 99 및 101 및 이들 사이의 모든 값(예를 들면, 99.1, 99.2, 99.3, 99.4 등)을 포함한다.

[0014] 본원에 사용된 것과 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 재료를 본 발명의 실행 또는 시험에 사용할 수 있지만, 바람직한 방법 및 재료는 하기에 기재된다.

[0015] 투약 요법

[0016] 본 발명은 혈관신생 눈 장애를 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명의 방법은 환자에게 VEGF 길항제의 다중 용량을 순차적으로 투여하는 것을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, "순차적으로 투여하는"은 환자에게 VEGF 길항제의 각각의 용량을 소정 간격(예를 들면, 시간, 일, 주, 또는 개월)으로 떨어진 상이한 시점에, 예를 들면, 상이한 날짜에 투여함을 의미한다. 본 발명은, 환자에게 VEGF 길항제의 단일 초기 용량, 이어서, VEGF 길항제의 1회 이상의 2차 용량, 이어서 VEGF 길항제의 1회 이상의 3차 용량으로 순차적으로 투여하는 것을 포함하는 방법을 포함한다.

[0017] 용어 "초기 용량", "2차 용량" 및 "3차 용량"은 VEGF 길항제의 투여의 시기적 서열을 말한다. 따라서, "초기 용량"은 치료 요법의 개시시에 투여하는 용량("기준 용량"으로서도 나타냄)이고; "2차 용량"은 초기 용량 후에 투여하는 용량이고; "3차 용량"은 2차 용량 후에 투여하는 용량이다. 초기, 2차, 및 3차 용량은 모두 동일한 양의 VEGF 길항제를 함유하지만, 일반적으로 투여의 빈도의 관점에서 서로 상이할 것이다. 그러나, 소정 실시형태에서, 초기, 2차, 및/또는 3차 용량에 함유되는 VEGF 길항제의 양은 치료 과정 동안에 서로 다를 것이다(예를 들면, 적절하게 상향 또는 하향 조절됨).

[0018] 본 발명의 한 예시 실시형태에서, 각각의 2차 용량은 직전 용량 후 2 내지 4(예를 들면, 2, 2½, 3, 3½ 또는 4)주째에 투여하고, 각각의 3차 용량은 직전 용량 후 적어도 8주(예를 들면, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½ 또는 그 이상)주째에 투여한다. 본원에 사용된 바와 같은 어구 "직전 용량"은 다중 투여의 서열에서 개재 용량이 없는 서열의 바로 다음 용량의 투여 전에 환자에게 투여하는 VEGF 길항제 용량을 의미한다.

[0019] 본 발명의 한 예시 실시형태에서, VEGF 길항제의 단일 초기 용량은 치료 요법의 제1일(즉, 0주)에 환자에게 투여하고, 이어서, 2회의 2차 용량은 각각 직전 용량 후 4주째(즉, 4주 및 8주)에 투여하고, 이어서, 5회 이상의 3차 용량은 각각 직전 용량 후 8주째(즉, 16, 24, 43, 40 및 48주)에 투여한다. 3차 용량은 치료 요법의 과정 동안 무기한으로 (8지 이상의 간격으로) 지속될 수 있다. 이러한 예시 투여 요법은 도 1에 도시된다.

[0020] 본 발명의 방법은 환자에게 임의의 횟수의 2차 및/또는 3차 용량의 VEGF 길항제를 투여하는 것을 포함할 수 있다. 예를 들면, 소정 실시형태에서, 단지 1회의 2차 용량을 환자에게 투여한다. 다른 실시형태에서, 2회 이상(예를 들면, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 그 이상)의 2차 용량을 환자에게 투여한다. 마찬가지로, 소정 실시형태에서, 단지 1회의 3차 용량을 환자에게 투여한다. 다른 실시형태에서, 2회 이상(예를 들면, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 또는 그 이상)의 3차 용량을 환자에게 투여한다.

[0021] 다중 2차 용량과 관련된 실시형태에서, 각각의 2차 용량은 다른 2차 용량과 동일한 빈도로 투여할 수 있다. 예를 들면, 각각의 2차 용량은 직전 용량 후 4주째에 환자에게 투여할 수 있다. 유사하게, 다중 3차 용량과 관련된 실시형태에서, 각각의 3차 용량은 다른 3차 용량과 동일한 빈도로 투여할 수 있다. 예를 들면, 각각의 3차 용량은 직전 용량 후 8주째에 환자에게 투여할 수 있다. 대안으로, 2차 및/또는 3차 용량을 환자에게 투여하는 빈도는 치료 요법의 과정에 걸쳐 변할 수 있다. 예를 들면, 본 발명은, 환자에게 단일 초기 용량의 VEGF 길항제를 투여하고, 이어서, 1회 이상의 2차 용량의 VEGF 길항제를 투여하고, 이어서, 5회 이상의 3차 용량의 VEGF 길항제를 투여하는 것을 포함하고, 여기서, 처음 4회의 3차 용량은 직전 용량 후 8주째에 투여하고, 각각의 후속적 3차 용량은 직전 용량 후 8 내지 12주째(예를 들면, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12)에 투여하는, 방법을 포함한다. 또한, 투여의 빈도는 치료 과정 동안 임상학적 실험에 따르는 개별적 환자의 요구에 따라 의사에 의해 조정될 수 있다.

- [0022] **VEGF 길항제**
- [0023] 본 발명의 방법은 특정 투약 요법에 따라 환자에게 VEGF 길항제를 투여하는 것을 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, 표현 "VEGF 길항제"는 VEGF의 보통의 생물학적 활성을 차단하거나, 감소시키거나, 방해하는 임의의 분자를 의미한다.
- [0024] VEGF 길항제는 VEGF와 천연 VEGF 수용체 사이의 상호작용을 방해하는 분자, 예를 들면, VEGF 또는 VEGF 수용체에 결합하여 VEGF와 VEGF 수용체 사이의 상호작용을 방지하거나 그렇지 않으면 저지하는 분자를 포함한다. 특정 예시 VEGF 길항제로는 항-VEGF 항체, 항-VEGF 수용체 항체, 및 VEGF 수용체-기반 키메라 분자("VEGF-Traps"로서도 나타냄)가 포함된다.
- [0025] VEGF 수용체-기반 키메라 분자로써 VEGFR1(F1t1로서도 나타냄) 및/또는 VEGFR2(F1k1 또는 KDR로서도 나타냄)와 같은 VEGF 수용체의 2개 이상의 면역글로불린(Ig)-유사 도메인을 포함하는 키메라 폴리펩타이드가 포함되고, 또한, 다량체화 도메인(예를 들면, 2개 이상의 키메라 폴리펩타이드의 다량체화[예를 들면, 2량체화]를 용이하게 하는 Fc 도메인)도 함유할 수 있다. 예시 VEGF 수용체-기반 키메라 분자는 서열번호 1의 핵산 서열에 의해 암호화된 VEGFR1R2-Fc Δ C1(a)로서 나타낸 분자이다. VEGFR1R2-Fc Δ C1(a)는 3개의 요소: (1) 서열번호 2의 아미노산 27 내지 129를 포함하는 VEGFR1 요소; (2) 서열번호 2의 아미노산 130 내지 231을 포함하는 VEGFR2 요소; 및 (3) 서열번호 2의 아미노산 232 내지 457을 포함하는 다량체화 요소를 포함한다(서열번호 2의 C-말단 아미노산[즉, K458]은 본 발명의 방법에서 사용되는 VEGF 길항제에 포함되거나 포함되지 않을 수 있다; 예를 들면, 미국 특허 제7,396,664호를 참조한다). 서열번호 2의 아미노산 1 내지 26은 신호 서열이다.
- [0026] 하기 본원에 제시된 실시예에서 사용되는 VEGF 길항제는 2개의 VEGFR1R2-Fc Δ C1(a) 분자를 포함하는 2량체 분자이고, 본원에서 "VEGFT"로서 나타낸다. 본 발명과 관련하여 사용될 수 있는 추가의 VEGF 수용체-기반 키메라 분자는 미국 특허 제7,396,664호, 제7,303,746호, 및 제W000/75319호에 개시된다.
- [0027] **혈관신생 눈 장애**
- [0028] 본 발명의 방법을 이용하여 임의의 혈관신생 눈 장애를 치료할 수 있다. 본원에 사용된 바와 같은 표현 "혈관신생 눈 장애"는 혈관의 성장 또는 증식에 의해 또는 혈관 누출에 의해 또는 이들과 관련된 눈의 임의의 질환을 의미한다. 본 발명의 방법을 이용하여 치료할 수 있는 혈관신생 눈 장애의 비제한적 예로는 맥락막 신혈관형성, 연령-관련 황반 변성(AMD), 당뇨병성 망막병증, 당뇨병성 황반 부종(DME), 중심성 망막 정맥 폐색(CRVO), 각막 신혈관형성, 및 망막 신혈관형성이 포함된다.
- [0029] **약제학적 제형**
- [0030] 본 발명은 환자에게 투여되는 VEGF 길항제가 약제학적 제형 내에 함유되는 방법을 포함한다. 약제학적 제형은 예를 들면, 약제학적으로 허용가능한 담체 등의 하나 이상의 불활성 성분과 함께 VEGF 길항제를 포함할 수 있다. 개선된 이동, 전달, 내성 등을 제공하기 위해 다른 제제가 약제학적 조성물에 도입될 수 있다. 용어 "약제학적으로 허용가능한"은 동물, 보다 특정하게는 사람에서의 용도에 대해 미국 연방 정부 또는 주 정부의 조절 기관에 의해 승인되거나 미국 약전 또는 다른 일반적으로 인정된 약전에 열거되어 있음을 의미한다. 용어 "담체"는 항체와 함께 투여되는 희석제, 보조제, 부형제, 또는 비히클을 말한다. 모든 약사에게 공지되어 있는 처방집: 레밍턴의 약제학(Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th ed, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1975), 특히 그 중에서도 Blaug, Seymour에 의한 챕터 87에서 다수의 적절한 제형을 발견할 수 있다. 이들 제형으로는 예를 들면, 분말, 페이스트, 연고, 젤리, 왁스, 오일, 지질, 소포를 함유하는 지질(양이온성 또는 음이온성)(예를 들면, LIPOFECTINTM), DNA 접합체, 무수 흡수 페이스트, 수-중-유 및 유-중-수 유제, 유제 카보왁스(각종 분자량의 폴리에틸렌 글리콜), 반-고체 겔, 및 카보왁스를 함유하는 반-고체 혼합물이 포함된다.
- [0031] 상기 혼합물 중 임의의 하나는 본 발명의 방법과 관련하여 적절할 수 있고, 단, VEGF 길항제는 제형에 의해 불활성화되지 않으며, 제형은 생리학적으로 상용성이고, 투여 경로에 대해 내성이다. 또한, 문헌[Powell et al. PDA (1998) J Pharm Sci Technol. 52:238-311] 및 상기 문헌 내의 약사에게 잘 알려져 있는 부형제 및 담체와 관련된 추가 정보에 대한 인용을 참조한다.
- [0032] 본 발명과 관련하여 주사에 의한 투여에 유용한 약제학적 제형은, 종래 주사용으로 사용된 멸균 수성 매체 또는 유성 매체에 VEGF 길항제를 용해시키거나, 현탁시키거나, 유화시킴으로써 제조할 수 있다. 주사용 수성 매체로서는 예를 들면, 생리 식염수, 글루코스 및 기타 보조제 등을 함유하는 등장성 용액이 있고, 이는 알콜(예를 들

면, 에탄올), 폴리알콜(예를 들면, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜), 비이온성 계면활성제[예를 들면, 폴리소르베이트 80, HCO-50(수소화된 피마자유의 폴리옥시에틸렌(50몰) 부가물)] 등의 적절한 가용화제와 병용하여 사용할 수 있다. 유성 매체로서, 예를 들면, 참깨유, 대두유 등을 사용할 수 있고, 이는 벤질 벤조에이트, 벤질 알콜 등의 가용화제와 병용하여 사용할 수 있다. 이로써 제조된 주사액은 필요에 따라 적절한 앰플에 충전될 수 있다.

[0033] 투여 방식

[0034] VEGF 길항제(또는 VEGF 길항제를 포함하는 약제학적 제형)는 임의의 공지된 전달 시스템 및/또는 투여 방법에 의해 환자에게 투여할 수 있다. 소정 실시형태에서, VEGF 길항제를 점안, 안내, 유리체내, 또는 결막하 주사에 의해 환자에게 투여한다. 다른 실시형태에서, VEGF 길항제는 국소 투여에 의해, 예를 들면, VEGF r길항제를 함유하고 눈에 직접 적용할 수 있는 점안액 또는 다른 액체, 젤, 연고 또는 유체를 통해 환자에게 투여할 수 있다. 투여의 다른 가능한 경로로는 예를 들면, 피내, 근육내, 정맥내, 피하, 비내, 경막의 및 경구가 포함된다.

[0035] 투여되는 VEGF 길항제의 양

[0036] 치료 요법의 관정에 걸쳐 환자에게 투여되는 VEGF 길항제의 각각의 용량은 동일하거나 실질적으로 동일한 양의 VEGF 길항제를 함유할 수 있다. 대안으로, 개별 용량 내에 함유된 VEGF 길항제의 양은 치료 요법의 과정에 걸쳐 변할 수 있다. 예를 들면, 소정 실시형태에서, 제1양의 VEGF 길항제는 초기 용량으로 투여하고, 제2양의 VEGF 길항제는 2차 용량으로 투여하고, 제3양의 VEGF는 3차 용량으로 투여한다. 본 발명은 개별 용량 내에 함유된 VEGF 길항제의 양이 시간 경과에 따라 증가하거나(예를 들면, 각각의 후속 용량이 최종보다 많은 VEGF 길항제를 함유함), 감소하거나(예를 들면, 각각의 후속 용량이 최종보다 적은 VEGF 길항제를 함유함), 처음에는 증가하고, 이어서 감소하거나, 처음에는 감소하고, 이어서 증가하거나, 투여 요법의 과정에 걸쳐 동일하게 유지하는 투약 계획을 고려한다.

[0037] 각각의 용량 중 환자에게 투여되는 VEGF 길항제의 양은 대부분의 경우 치료학적 유효량이다. 본원에 사용된 바와 같이, 어구 "치료학적 유효량"은 혈관신생 눈 장애의 하나 이상의 증상 또는 징후에 있어서 검출가능한 개선을 초래하는 VEGF 길항제의 용량, 또는 혈관신생 눈 장애의 진행을 억제하거나, 예방하거나, 경감시키거나 지연시키는 VEGF 길항제의 용량을 의미한다. 항-VEGF 항체 또는 VEGF 수용체-기반 키메라 분자(예를 들면, VEGFR1R2-Fc Δ C1(a))의 경우, 치료학적 유효량은 약 0.05mg 내지 약 5mg, 예를 들면, 약 0.05mg, 약 0.1mg, 약 0.15mg, 약 0.2mg, 약 0.25mg, 약 0.3mg, 약 0.35mg, 약 0.4mg, 약 0.45mg, 약 0.5mg, 약 0.55mg, 약 0.6mg, 약 0.65mg, 약 0.7mg, 약 0.75mg, 약 0.8mg, 약 0.85mg, 약 0.9mg, 약 1.0mg, 약 1.05mg, 약 1.1mg, 약 1.15mg, 약 1.2mg, 약 1.25mg, 약 1.3mg, 약 1.35mg, 약 1.4mg, 약 1.45mg, 약 1.5mg, 약 1.55mg, 약 1.6mg, 약 1.65mg, 약 1.7mg, 약 1.75mg, 약 1.8mg, 약 1.85mg, 약 1.9mg, 약 2.0mg, 약 2.05mg, 약 2.1mg, 약 2.15mg, 약 2.2mg, 약 2.25mg, 약 2.3mg, 약 2.35mg, 약 2.4mg, 약 2.45mg, 약 2.5mg, 약 2.55mg, 약 2.6mg, 약 2.65mg, 약 2.7mg, 약 2.75mg, 약 2.8mg, 약 2.85mg, 약 2.9mg, 약 3.0mg, 약 3.5mg, 약 4.0mg, 약 4.5mg, 또는 약 5.0mg의 항체 또는 수용체-기반 키메라 분자일 수 있다.

[0038] 개별 용량 내에 함유된 VEGF 길항제의 양은 환자 체중 킬로그램당 항체의 밀리그램(즉, mg/kg)으로 나타낼 수 있다. 예를 들면, VEGF 길항제는 환자 체중의 약 0.0001 내지 약 10mg/kg의 용량으로 환자에게 투여할 수 있다.

[0039] 치료 집단 및 효능

[0040] 본 발명의 방법은 혈관신생 눈 장애를 앓고 있거나 혈관신생 눈 장애를 앓을 위험이 있는 것으로 진단된 환자에서의 혈관신생 눈 장애를 치료하는데 유용하다. 일반적으로, 본 발명의 방법은 치료 요법의 개시의 104주("0주"에 초기 용량을 투여함) 내에, 예를 들면, 16주 말까지, 24주 말까지, 32주 말까지, 40주 말까지, 48주 말까지, 56주 말까지 등에 효능을 입증한다. AMD, CRVO, 및 DME 등의 혈관신생 눈 장애를 치료하기 위한 방법과 관련하여, "효능"은 치료의 개시로부터, 환자가 조기 치료 당뇨병성 망막병증 연구(ETDRS) 시력 차트 상의 15개 이하의 문자의 손실을 나타냄을 의미한다. 소정 실시형태에서, "효능"은 치료의 개시 시점으로부터 ETDRS 차트 상의 1개 이상(예를 들면, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 그 이상)의 문자의 수득을 의미한다.

[0041] 실시예

[0042] 하기 실시예는 본 발명의 방법 및 조성물을 제조 및 사용하는 방법의 완전한 개시 및 설명을 당해 분야 숙련가

에게 제공하기 위해서 제공되는 것이고, 본 발명자들이 이들의 발명으로서 간주하는 것의 범위를 제한하고자 의도되는 것은 아니다. 사용된 수(예를 들면, 양, 온도 등)와 관련하여 정확성을 확보하기 위한 노력이 이루어졌지만, 몇몇 실험적 오류 및 편차를 고려해야만 한다. 달리 나타내지 않는 한, 부는 질량부이고, 분자량은 평균 분자량이고, 온도는 °C이고, 압력은 대기압 또는 대기압 근처이다.

[0043] 하기에 제시된 모든 실시예에 사용된 예시 VEGF 길항제는 2개의 기능성 VEGF 결합 단위를 갖는 2량체 분자이다. 각각의 기능성 결합 단위는 VEGFR2 유래의 Ig 도메인 3에 융합된 VEGFR1 유래의 Ig 도메인 2로 이루어지고, 이는 결국 사람 IgG1 Fc 도메인의 힌지 영역(서열번호 1에 의해 암호화됨; VEGFR1R2-Fc ΔC1(a))에 융합된다. 이러한 VEGF 길항제는 하기 실시예에 "VEGFT"로서 나타낸다. 하기 실시예의 목적에 관하여, "매달" 투약은 4주마다 1회 투약과 동등하다.

[0044] **실시예 1: 신혈관형성 AMD를 지닌 피검체에서의 유리체내 투여된 VEGF 수용체-기반 키메라 분자(VEGFT)의 제 I 상 임상 시험**

[0045] 이러한 제 I 상 연구에서, 신혈관형성 AMD를 지닌 21명 피검체는 VEGFT의 단일 유리체내(IVT) 용량을 투여받았다. 3명 피검체의 5그룹은 각각 0.05, 0.15, 0.5, 2 또는 4mg의 VEGFT를 투여받았고, 6명 피검체의 6그룹은 1mg을 투여받았다. 연구 약물과 관련된 심각한 유해 사건 및 확인가능한 안내 염증은 보고되지 않았다. 예비 결과는, VEGFT의 주사에 따라 망막 중심와(foveal) 두께 및 황반 체적의 신속한 감소가 관찰되었고, 이는 6주에 걸쳐 유지되었음을 나타냈다. 모든 투약 그룹에 걸쳐 43일째에, 광학 단층 촬영법(OCT: Optical Coherence Tomography)에 대한 평균 과도한 망막 두께[과도한 망막 두께 = (망막 두께 - 179 μ)]는 Fast Macular Scan에 의해 평가시 119 μ에서 27 μ로 단일 Posterior Pole scan을 이용한 평가시 194 μ에서 60 μ로 감소하였다. 최고 교정 시력(BCVA)의 평균 증가는 4.75 문자였고, BCVA는 안정하거나 피검체의 95%에서 개선되었다. 2개의 최고 투약 그룹(2 및 4mg)에서, BCVA의 평균 증가는 13.5 문자였고, 6명의 피검체 중 3명이 3라인 이상의 개선을 입증하였다.

[0046] **실시예 2: 신혈관형성 AMD를 지닌 피검체에서의 유리체내 투여된 VEGF 수용체-기반 키메라 분자(VEGFT)의 제 II 상 임상 시험**

[0047] 이러한 연구는 4주 및/또는 12주 투약 간격으로 시험된 VEGFT의 3개의 용량(0.5, 2, 및 4mg)의 이중-맹검의 무작위 연구였다. 이러한 연구에서 5개의 치료 암(arm)이 존재하고; 이는 하기와 같았다: 1) 4주마다 0.5mg, 2) 12주마다 0.5mg, 3) 4주마다 2mg, 4) 12주마다 2mg, 및 5) 12주마다 4mg. 피검체에게 처음 12주 동안 고정된 간격으로 투약하였고, 그 후, 피검체는 9개월 동안 4주마다 평가하였고, 이 동안 사전-지정된 기준에 기초하여 추가 용량을 투약하였다. 이어서, 피검체의 VEGFT 최종 용량 후 모든 피검체를 1년 동안 지켜보았다. 사전-계획된 중간 분석으로부터의 예비 데이터는, VEGFT가 기준선과 비교하여 12주 후에 망막 두께에서의 통계학적으로 현저한 감소의 1차 종점과 일치함을 나타냈다(모든 그룹 조합, 135 μ의 감소, $p < 0.0001$). 또한, 시력에 있어서 기준선으로부터의 평균 변화, 연구의 주요 2차 종점도 통계학적으로 현저한 개선(모든 그룹 조합, 5.9 문자의 증가, $p < 0.0001$)을 입증하였다. 또한, 단지 단일 용량을 투여받은 투약 그룹의 환자는 대체로 12주째에 과도한 망막 두께에서의 감소($p < 0.0001$) 및 시력의 증가($p = 0.012$)를 입증하였다. 약물-관련된 심각한 유해 사건은 없었고, VEGF 길항제를 이용한 치료는 일반적으로 잘 견딜 수 있었다. 가장 일반적인 유해 사건은 전형적으로 유리체내 주사와 관련된 것이었다.

[0048] **실시예 3: 신혈관형성 AMD를 지닌 피검체에서의 전신 투여된 VEGF 수용체-기반 키메라 분자(VEGFT)의 제 I 상 임상 시험**

[0049] 이러한 연구는 신혈관형성 AMD를 지닌 피검체에서 IV 주입에 의한 VEGFT의 위약-조절된, 순차적-그룹, 용량-상승 안전성, 내성 및 생물학적 효과의 연구였다. AMD에 관련된 망막 중심와아래 맥락막 신혈관형성(CNV)에 대한 적절한 기준으로 만족하는 8명의 피검체의 그룹에게 VEGFT 또는 위약의 4회 IV 주사를 8주 기간에 걸쳐 0.3, 1, 또는 3mg/kg 초과 용량 수준으로 투여받도록 하였다.

[0050] VEGFT에 기여한 대부분의 유해 사건은 중증도에 있어서 경미한 정도 내지 중간 정도였지만, 5명의 피검체 중 용량-제한 독성(DLT)을 경험한 2명(4등급의 고혈압을 지닌 1명 및 2등급의 단백뇨를 지닌 1명)은 3mg/kg로 치료하였고; 따라서, 3mg/kg 용량 그룹 내의 모든 피검체가 연구에 참가한 것은 아니었다. 과도한 망막 두께의 평균 백분율 변화는: 15일째에 위약, 0.3, 1, 및 3mg/kg 용량 그룹에 대해 -12%, -10%, -66%, 및 -60%(ANOVA $p < 0.02$)였고, 71일째에 위약, 0.3, 및 1mg/kg 용량 그룹에 대해 -5.6%, +47.1%, 및 -63.3%(ANOVA $p < 0.02$)였다. VEGFT로 치료된 피검체의 BCVA에 있어서 수적 향상이 있었다. 이러한 작은 연구에서 기대되는 바와 같이, 결과

는 통계학적으로 현저하지 않았다.

- [0051] 실시예 4: 신혈관형성 연령-관련 황반 변성을 지닌 피검체에서의 유리체내 VEGFT의 반복 투약의 효능, 안전성, 및 내성의 제 III 상 임상 시험
- [0052] A. 목적, 가설 및 중점
- [0053] 2개의 평행 III상 임상 시험을 행하여 신혈관형성 형태의 연령-관련 황반 변성을 지닌 환자를 치료하기 위한 VEGFT의 용도를 조사하였다(연구 1 및 연구 2). 이들 연구의 1차 목적은 신혈관형성 AMD의 모든 아형을 지닌 피검체에서의 중간 정도의 시력 손실을 예방하는데 있어서 비-열등성 패러다임으로 라니비주마브(Lucentis®, Genentech, Inc.)에 대해 비교한 IVT 투여된 VEGFT의 효능을 평가하는 것이었다.
- [0054] 2차 목적은 (a) 2년 이하의 기간 동안 신혈관형성 AMD의 모든 아형을 지닌 피검체에서의 VEGFT의 반복된 IVT 투여의 안전성 및 내성을 평가하는 것; 및 (b) 신혈관형성 AMD의 모든 아형을 지닌 피검체에서 시력-관련 삶의 질(QOL)에 대한 VEGFT의 반복된 IVT 투여의 효과를 평가하는 것이었다.
- [0055] 이들 연구의 주요 가설은 BCVA가 안정하거나 향상된(<15 문자 손실) VEGFT로 치료된 피검체의 비율은 BCVA가 안정하거나 향상된 라니비주마브로 치료된 피검체의 비율과 유사하여 비-열등성이 입증된다는 것이었다.
- [0056] 이들 연구에 대한 1차 중점은 52주째에 기준선과 비교하여 ETDRS 차트 상에서 15개 문자 이상의 시력 손실의 예방이었다. 2차 중점은 하기와 같았다: (a) ETDRS 차트 상에서의 문자 스코어에서 기준선으로부터 52주까지의 변화; (b) ETDRS 차트상에서 기준선으로부터 52주까지의 15개 문자 수득; (c) 전체 NEI VFQ-25 스코어에서 기준선으로부터 52주까지의 변화; 및 (d) CNV 영역에서 기준선으로부터 52주까지의 변화.
- [0057] B. 연구 설계
- [0058] 각각의 연구에 대하여, 하기 4개의 투약 요법 중 하나를 1:1:1:1 비로 무작위로 피검체에 부여하였다: (1) 2mg의 VEGFT를 4주마다 투여함(2Q4); (2) 0.5mg의 VEGF를 4주마다 투여함(0.5Q4); (3) 2mg의 VEGFT를 4주 내지 8주마다, 이어서 8주마다 투여함(연구 약물이 투여되지 않는 경우 중간 4주 투여시 허위 주사(sham injection)를 이용함)(2Q8); 및 (4) 0.5mg의 라니비주마브를 4주마다 투여함(RQ4). (2Q8)이 부여된 피검체는 연구의 처음 52주 동안 4주 내지 8주마다 2mg의 주사, 이어서, 중간 4주 투여시 허위 주사(연구 약물이 투여되지 않는 경우)를 투여받았다(52주째에 허위 주사를 제공하지 않았다).
- [0059] 각각의 피검체에 대한 연구 지속기간은 96주 + 회복 기간인 것으로 계획하였다. 처음 52주(1년) 동안, 피검체는 연구 눈에 4주마다 IVT 또는 허위 주사를 투여받았다. (52주째에 허위 주사를 제공하지 않았다). 연구의 2번째 해 동안, 피검체는 4주마다 평가될 것이고, 특정 투약 기준에 의해 측정된 간격으로 연구 약물의 IVT 주사를 투여받을 것이다. (연구의 2번째 해 동안, 허위 주사는 제공되지 않을 것이다). 이 기간 동안, 주사는 하기 기준에 따라 매 4주만큼 빈번하지만 매 12주보다는 덜 빈번하지 않게 제공할 수 있다: (i) 광학 단층 촬영법(OCT)에 의해 측정시 이전 최저값에 비하여 100 μ m 이상의 중앙 망막 두께 증가; 또는 (ii) OCT에 의해 나타낸 바와 같이 반복 유체와 관련하여 이전 최고 문자 스코어로부터 적어도 5개의 ETDRS 문자의 손실; 또는 (iii) OCT에 의해 나타낸 바와 같은 신규 또는 지속적 유체; 또는 (iv) 플루오레세인 혈관조영법(FA)에 대해 신규 발병한 전형적인 신혈관형성 또는 신규 또는 지속적 누출; 또는 (v) 신규 황반 출혈; 또는 (vi) 이전 주사로 인한 12주 경과. 본 발명의 프로토콜에 따르면, 피검체는 적어도 12주마다 주사를 투여받아야만 한다.
- [0060] 피검체를 4미터 ETDRS 프로토콜을 이용하여 안전성 및 최고 교정 시력(BCVA)에 대해 4주마다 평가하였다. NEI VFQ-25 설문지를 이용하여 삶의 질(QOL)을 평가하였다. OCT 및 FA 실험을 주기적으로 행하였다.
- [0061] 치료 담당 300명의 피검체를 표적 등록하여 대략 1200명의 피검체를 등록하였다.
- [0062] 이러한 연구에 적격이기 위해서, 피검체는 AMD에 속발성인 망막 중심와 맥락막 신혈관형성(CNV)을 갖는 것이 요구되었다. "망막 중심와" CNV는 FA에 의해 문서화된 망막 중심와 신혈관형성의 존재로서, 또는 혈관 조영법적으로 국소적으로 망막 중심와 주위에 위치하지만 망막 중심와에 영향을 미치는 병변의 존재로서 정의되었다. 피검체 적격성은 무작위화 이전에 혈관 조영법 기준에 기초하여 확인하였다.
- [0063] 한쪽 눈만이 연구 눈으로서 지정되었다. 양쪽 눈에서 적격성 기준을 만족하는 피검체의 경우, VA가 보다 나쁜 눈을 연구 눈으로서 선택하였다. 양쪽 눈의 VA가 동일한 경우, 수정체 및 눈 매체가 가장 클리어하고 망막 중심와 상처 또는 지리적 위축의 양이 적은 눈을 선택하였다. 연구 눈을 선택하기 위한 목표 기준이 없는 경우, 선택하는데 안 우위(ocular dominance), 다른 안 병증 및 피검체 선호 등의 인자를 고려하였다.

[0064] 두 연구를 위한 포함 기준은 하기와 같았다: (i) 사전 서명 동의; (ii) 50세 이상의 연령; (iii) AMD에 속발성인 황반 1차 망막 중심와아래 CNV 병변, 연구 눈에서 FA에 의해 입증되는 바와 같은 망막 중심와에 영향을 미치는 망막 중심와 주변 병변을 포함; (iv) 전체 병변 크기의 50% 이상에서의 CNV; (v) 조기 치료 당뇨병성 망막병증 연구(ETDRS) 최고-교정 시력: 연구 눈에서 20/40 내지 20/320(73 내지 25의 문자 스코어); (vi) 모든 클리닉 방문에 응하고 모든 연구-관련 절차를 완료할 의지, 수행, 및 여건; 및 (vii) 사전 동의서를 읽고, 이해할 수 있고, 서명할 수 있음(또는 시각 손상으로 인하여 읽을 수 없는 경우, 사전 동의서를 작성하는 사람 또는 가족 구성원에 의해 그대로 읽어줌).

[0065] 두 연구에 대한 제외 기준은 하기와 같았다: 1. 식이 보충제 또는 비타민을 제외한 신혈관형성 AMD에 대한 임의의 사전 눈(연구 눈) 치료 또는 전신 치료 또는 수술. 2. 연구 눈에서 신혈관형성 AMD를 치료하기 위한 다른 조사용 제제를 이용한 임의의 사전 또는 동시 치료요법. 3. 하기와 같은 항-VEGF 제제를 이용한 사전 치료: (a) 연구 눈에서 항-VEGF 치료요법을 이용한 사전 치료는 허용되지 않았음; (b) 조사용 제제(FDA 승인되지 않음, 예를 들면, 베바시주마브)를 이용한 동급의 눈에서 항-VEGF 치료요법으로의 사전 치료는 연구시 제1용량 이전 3개월까지 허용되었고, 이러한 치료는 연구 동안에 허용되지 않았음. 동급의 눈에서의 승인된 항-VEGF 치료요법을 이용한 사전 치료는 허용되었고; (c) 조사용 또는 캐나다 FDA/Health 승인된 제제를 이용한 사전 전신 항-VEGF 치료요법은 제1용량 이전 3개월까지 허용되었고, 연구 동안에는 허용되지 않았다. 4. 연구 눈에서의 FA에 의한 평가시 전체 병변 크기 > 12 디스크 면적(30.5mm², 혈액, 상처, 및 신혈관형성 포함). 5. 전체 병변 면적의 50% 또는 그 이상이 존재하거나 또는 연구 눈에서 망막 중심와 아래에 혈액이 존재하고 크기가 1 이상의 디스크 면적인 경우의 망막하 출혈. (혈액이 망막 중심와 아래에 존재하면, 망막 중심와는 가시성 CNV에 의해 270도 둘러싸여야만 한다.) 6. 연구 눈에서 전체 병변의 50% 초과를 구성하는 상처 또는 섬유증. 7. 망막 중심와의 중심에 관여하는 상처, 병변, 또는 위축성. 8. 연구 눈에서의 황반에 관여하는 망막 색소 상피 열상 또는 박리의 존재. 9. 연구 눈에서의 제1방문 전 4주 내에 유리체 출혈의 이력. 10. 연구 눈에서의 병리학적 근시(-8디옵터 이상의 음성 구면 대응치, 또는 25mm 이상의 안축장 길이), 안히스토플라스마증 증후군, 혈관양 선조, 맥락막 파열, 또는 다소성 맥락막염을 포함한 CNV의 다른 요인의 존재. 11. 다른 쪽 눈에서 AMD 이외에 당뇨병성 망막병증, 당뇨병성 황반 부종 또는 망막에 영향을 미치는 임의의 다른 혈관 질환의 이력 또는 임상학적 근거. 12. 연구 눈에서의 사전 유리체 절제술. 13. 연구 눈에서의 망막 박리의 이력 또는 망막 박리에 대한 치료 또는 수술. 14. 연구 눈에서의 2단계 이상의 황반 천공의 임의의 이력. 15. 연구 눈에서의 3일째의 3개월 이내의, 주사를 방해하는 경우가 없는 한 1일째의 1개월 이내에 발생하지 않는 눈꺼풀 수술을 제외한 임의의 안내 또는 안구주위 수술. 16. 연구 눈에서의 사전 섬유주 절제술 또는 다른 여과 수술. 17. 연구 눈에서의 비제어된 녹내장(항-녹내장 의약을 이용한 치료에도 불구하고 25mm Hg 이상인 안내 압력으로서 정의됨). 18. 다른 쪽 눈에서의 황반 안내 염증. 19. 다른 쪽 눈에서의 황반 안구 또는 안구주위 감염. 20. 다른 쪽 눈에서의 스크리닝 이전에 최종 2주 내에 임의의 안구 또는 안구주위 감염. 21. 다른 쪽 눈에서의 포도막염의 임의의 이력. 22. 다른 쪽 눈에서의 황반 공막염 또는 상공막염. 23. 다른 쪽 눈에서의 공막연화증의 존재 또는 이력. 24. 연구 눈에서 후낭 부재로의 무수정체안 또는 인공수정체안(이트륨 알루미늄 가넷[YAG] 후낭 절제술의 결과로서 발생하지 않는 경우). 25. 연구 눈의 영역에서의 이전 방사선 치료. 26. 연구 눈에서의 각막 이식 또는 각막 이형성증의 이력. 27. 시력, 안전성 평가, 또는 안저 촬영을 방해할 수도 있는, 백내장을 포함한 연구 눈에서의 현저한 매체 불투명성. 28. 조사자의 관점에서 96주 연구 기간 동안 의학적 또는 외과적 개입을 요구할 수도 있는 연구 눈에서의 임의의 동시 안내 병태(예를 들면, 백내장). 29. 조사자의 관점에서, 피검체에 대해 안내 주사의 표준 절차로부터 기대되는 것 이상으로 위험을 증가시킬 수 있거나, 또는 그렇지 않으면 주사 절차 또는 효능 또는 안전성의 평가를 방해할 수 있는, 연구 눈에서의 임의의 동시 안내 병태. 30. 다른 질환, 대사 기능 장애, 조사용 약물의 사용을 금지하거나 또는 연구 결과의 해석에 영향을 미치거나 치료 합병증에 대해 피검체의 위험이 높아지는 질환 또는 병태의 합당한 의심을 제공하는 신체 검사 발견, 또는 임상학 실험실 발견의 이력. 31. 1일째 이전에 12주 내의 임의의 임상학적 연구에 피검체로서 참여. 32. 1일째 이전에 지난 3개월 내의 조사용 제제를 이용한 임의의 전신 치료 또는 눈 치료. 33. 1일째 이전에 6개월 내의 전신 또는 안내의 장기 효능 스테로이드 사용. 34. 포비돈 요오드에 대한 임의의 알레르기 이력. 35. 혈관조영법에서 주사를 위한 플루오레세인 나트륨에 대한 공지되어 있는 심각한 알레르기. 36. 라니비주마브에 대한 FDA 승인된 라벨(Lucentis®)로 나타난 임의의 금지의 존재. 37. 연구에 걸쳐 적합한 피임을 실행할 의지가 없는 임신중이거나, 모유수유 중이거나 임신 가능성이 있는 여성. 적당한 피임약 척도로는 경구 피임약(스크리닝 전에 2회 이상의 주기 동안 사용하는 것이 안정함); IUD; Depo-Provera®; Norplant® System 임플란트; 양측 난관 절찰술; 정관 절제술; 콘돔 또는 다이어프램 및 피임 스폰지, 폼, 또는 젤리가 포함된다.

[0066] 피검체는 방문 평가의 완료/조기 종료를 완성할 때까지 프로토콜에 특정화된 바와 같이 VEGFT 또는 라니비주마

브를 이용한 이들의 할당된 연구 치료 이외에 연국 눈에 AMD의 치료를 위한 임의의 표준 또는 조사용 제제를 투여받는 것이 허용되지 않았다. 이는 국소(예를 들면, IVT, 국부, 공막주위 또는 안와주위 경로) 투여되는 의약품만 아니라 연구 눈 및 동급 눈을 치료할 의도로 전신 투여되는 의약품도 포함한다.

[0067] 연구 절차는 하기와 같이 요약한다:

[0068] 최고 교정 시력: 연구 눈 및 동급 눈의 시각 기능은 ETDRS 프로토콜(조기 치료 당뇨병성 망막병증 연구 그룹: The Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Group)을 이용하여 4미터에서 평가하였다. 시력 검사자는 BCVA의 지속적인 측정을 확보하는 것으로 증명되었다. VA 검사자는 치료 부위에 대한 맹검을 유지하도록 요구되었다.

[0069] 광학 단층 촬영법: 연구 눈에 대해 OCT를 이용하여 망막 및 병변 특성을 평가하였다. 스크린 방문(제1 방문)시, 화상을 포획하여 양쪽 눈에 전송하였다. 모든 OCT 화상은 소프트웨어 버전 3 이상의 Zeiss Stratus OCTTM을 이용하여 포획하였다. OCT 화상은 독립적인 판독 센터에 전송되었고, 여기서, 화상은 OCT가 요구된 방문시 맹검 판독자에 의해 판독되었다. 모든 OCT는 소스 문서의 일부로서 사이트에 정기적으로 보관되었다. OCT화상의 서브셋을 판독하였다. OCT 테크니션은 화상 획득의 지속성 및 품질을 확보하는 것이 판독 센터에 의해 증명될 것이 요구되었다. 치료 부위에 대해 맹검이 유지된 위치에 OCT 테크니션을 확보하기 위한 적합한 노력이 이루어졌다.

[0070] 안저 촬영 및 플루오레세인 혈관조영법(FA): 연구 눈의 망막 맥관구조의 해부학적 상태는 검안경 실험, 안저 촬영 및 FA에 의해 평가하였다. 스크린 방문(제1 방문)시, 양쪽 눈에 대해 검안경 실험, 안저 촬영 및 FA를 포획 및 전송하였다. 안저 화상 및 혈관조영 화상을 독립적인 판독 센터에 전송하고, 여기서, 화상을 맹검된 판독자에 의해 판독하였다. 판독 센터는 무작위화 전에 혈관 조영 기준에 기초하여 피검체 적격성을 확인하였다. 모든 FA 및 안저 사진을 소스 문서의 일부로서 사이트에 보관하였다. 촬영자는 화상 획득의 지속성 및 품질을 확보하는 것이 판독 센터에 의해 증명될 것이 요구되었다. 치료 부위에 대해 맹검이 유지된 위치에 모든 촬영자를 확보하기 위한 적합한 노력이 이루어졌다.

[0071] 시력-관련 삶의 질: 인터뷰어 관리된 포맷으로의 National Eye Institute 25-Item Visual Function Questionnaire(NEI VFQ-25)를 이용하여 시력 관련 QOL을 평가하였다. NEI VFQ-25는 증명된 사람에 의해 계약된 콜 센터에서 관리되었다. 스크리닝 방문시, 사이트는 피검체를 보조하였고, 피검체의 접촉 정보를 전부 수집하고, 무작위화 및 IVT 주사 전에 전화로 제1 NEIVFQ-25를 완료하기 위해 콜 센터에 첫번째 전화를 개시하였다. 모든 후속 방문에 대해, 콜 센터는 설문지를 완료하기 위해 IVT 주사 전에 전화로 피검체에게 전화를 하였다.

[0072] 안내 압력: 연구 눈의 안내 압력(IOP)은 압평 안압계 또는 토노펜(Tonopen)d을 이용하여 측정하였다. 연구에 걸쳐 IOP 측정의 동일한 방법을 각각의 피검체에서 이용하였다.

[0073] C. 결과 요약 (52주째 데이터)

[0074] 1차 종점(상기 정의된 바와 같은 중간 또는 중증의 시력 손실의 예방)은 본 연구의 3개의 VEGFT 그룹(2Q4, 0.5Q4 및 2Q8) 모두에 대해 충족되었다. 두 연구로부터의 결과는 표 1에 요약한다.

표 1

	매달 라니비주마브 0.5 mg (RQ4)	매달 VEGFT 0.5 mg (0.5Q4)	매달 VEGFT 2 mg (2Q4)	8 주마다 VEGFT 2 mg ^[a] (2Q8)
기준선에 대한 52 주째의 시력의 유지* (15 문자 미만이 손실된 환자 %)				
연구 1	94.4%	95.9%**	95.1%**	95.1%**
연구 2	94.4%	96.3%**	95.6%**	95.6%**
기준선에 대한 52 주째의 시력의 평균 개선*(문자) (p-값 대 RQ4)***				
연구 1	8.1	6.9 (NS)	10.9 (p<0.01)	7.9 (NS)
연구 2	9.4	9.7 (NS)	7.6 (NS)	8.9 (NS)

[a] 후속 3 회의 매달 초기 용량

* 초기 치료 당뇨병성 망막병증 연구(ETDRS) 눈 차트에 대해 정확하게 판독된 전체 문자의 수로서 시력을 측정하였다.

** 신뢰 구간 접근법을 이용하여 10%의 비-열등성 차이에 기초한 통계학적 비-열등성(연구 1 및 연구 2에 대해 각각 95.1% 및 95%)

*** 우수성에 대한 시험

NS = 현저하지 않음

[0075]

[0076]

연구 1에서, 매달 VEGFT 2mg을 투여받은 환자(2Q4)는, 매달 라니비주마브 0.5mg(RQ4)에 비하여 52주째 시력 대 기준선(2차 종점)에서 통계학적으로 현저하게 큰 평균 개선을 달성하였고; 매달 라니비주마브 0.5mg을 투약한 경우의 평균 8.1 문자 수득에 비하여, 매달 VEGFT 2mg을 투여받은 환자는 대체로 10.9문자를 수득하였다 (p<0.01). 연구 1의 모든 VEGFT 투약 그룹 및 연구 2의 모든 투약 그룹은 이러한 2차 종점에서 라니비주마브와 통계학적으로 상이하지 않았다.

[0077]

일반적으로 바람직한 안전성 프로파일은 VEGFT 및 라니비주마브 둘 다에 대해 관찰되었다. 유해 사건 신생의 눈 치료의 발생은 두 연구의 4개의 모든 치료 그룹에 걸쳐서 평형을 이루었고, 가장 빈번한 사건은 주사 절차, 기저 질환, 및/또는 경시 프로세스와 관련이 있었다. 가장 빈번한 눈 유해 사건은 결막 출혈, 황반변성, 눈 통증, 망막 출혈, 및 유리체 부유물이었다. 가장 빈번한 중증의 비-눈 유해 사건은 습성 AMD에 대해 유리체내 치료를 받은 노인 집단에서 전형적으로 보고되었고; 가장 빈번하게 보고된 사건은 낙상, 폐렴, 심근 경색, 심방 세동, 유방암, 및 급성 관상 증후군이었다. 연구 암 사이에 주목할만한 차이는 없었다.

[0078]

실시예 5: 당뇨병성 황반 부종(DME)을 지닌 피검체에서의 VEGFT의 제 II 상 임상 시험

[0079]

이러한 연구에서, 중심성 황반 관여된 임상학적으로 현저한 DME를 지닌 221명의 환자를 무작위화하고, 219명의 환자를 5개의 그룹에 걸쳐 평형을 이루게 분포시켜 치료하였다. 대조군 그룹은 기준선에서 황반 레이저 치료요법을 받았고, 환자는 반복 레이저 치료에 적격이었지만, 16주 간격 보다 빈번하지 않았다. 남아 있는 4개의 그룹은 하기와 같이 유리체내 주사에 의해 VEGFT를 투여받았다: 2개의 그룹은 12개월의 투약 기간에 걸쳐서 4주마다 1회 0.5 또는 2mg의 VEGFT(각각 0.5Q4 및 2Q4)를 투여받았다. 2개의 그룹은 4주마다 1회(즉, 기준선, 및 4주 및 8주) 2mg VEGF의 3회의 초기 용량을 투여받았고, 이어서 52주에 걸쳐 8주마다 1회(2Q8) 투약하거나 또는 필요에 따라 매우 엄격한 반복 투약 기준(PRN)을 이용하여 투약하였다. 시력의 평균 수득 대 기준선은 표 2에 나타낸 바와 같았다:

표 2

	n	기준선에 대한 24 주째의 시력의 평균 변화 (문자)	기준선에 대한 52 주째의 시력의 평균 변화 (문자)
레이저	44	2.5	-1.3
매달 VEGFT 0.5 mg (0.5Q4)	44	8.6**	11.0**
매달 VEGFT 2 mg (2Q4)	44	11.4**	13.1**
8 주마다 VEGFT 2 mg ^[a] (2Q8)	42	8.5**	9.7**
필요한 경우 VEGFT 2 mg ^[a] (PRN)	45	10.3**	12.0**

^[a] 후속 3 회의 매달 초기 용량

** 레이저에 대한 $p < 0.01$

[0080]

[0081]

이러한 연구에서, 24주째에 VEGFT 투여로 달성된 시력 수득은 2달마다 2mg 투약된 그룹을 포함한 모든 VEGFT 연구 그룹에서 52주째에 연구의 완료까지 유지되었거나 수적으로 향상되었다.

[0082]

상기 실시예에서 입증되는 바와 같이, 혈관신생 눈 장애(예를 들면, AMD 및 DME)를 앓고 있는 환자에서의 VEGFT의 8주마다 1회, 이어서 단일 초기 용량 및 4주 후 투여된 2회의 2차 용량 빈도로의 투여는 중간 정도 또는 중증의 시력 손실의 현저한 방지 또는 시력의 향상을 초래하였다.

[0083]

실시예 6: CRVO에 대해 속발성인 황반 부종을 지닌 치료 나이브 환자에서의 무작위화된 다중심성 이중 맹검 시험

[0084]

이러한 무작위화된 이중-맹검 제 3 상 연구에서, 환자는 2mg의 유리체내 VEGFT(114명의 환자) 또는 허위 주사(73명의 환자)의 6개월마다 주사를 투여받았다. 24주 내지 52주에서, 모든 환자는 재치료 기준에 따라 필요한 경우 2mg의 VEGFT를 투여받았다(PRN). 따라서, "허위-치료된 환자"는 0주 내지 20주에 4주마다 1회의 허위 주사, 이어서 24주 내지 52주에 필요한 경우 유리체내 VEGFT를 투여받은 환자를 의미한다. "VEGFT-치료된 환자"는 0주 내지 20주에 4주마다 1회의 VEGFT 유리체내 주사, 이어서 24주 내지 52주에 필요한 경우 유리체내 VEGFT를 투여받은 환자를 의미한다. 1차 종점은 24주째에 기준선으로부터 ETDRS 15문자 이상을 수득한 환자의 비율이었다. 24주 및 52주의 2차 시각적, 해부학적 결과 및 NEI VFQ-25 삶의 질 결과도 평가하였다.

[0085]

24주째에, VEGFT-치료된 환자의 56.1%는 허위-치료된 환자의 12.3%에 비하여 기준선으로부터 ETDRS 15문자 이상을 수득하였다($P < 0.0001$). 유사하게, 52주째에, VEGFT-치료된 환자의 55.3%는 허위-치료된 환자의 30.1%에 비하여 15문자 이상을 수득하였다($P < 0.01$). 52주째에, VEGFT-치료된 환자는 허위 치료된 환자의 경우 3.8문자에 비하여 평균 16.2문자를 수득하였다($P < 0.001$). 평균 주사 횟수는 허위-치료된 환자의 경우 3.9회에 비하여 VEGFT-치료된 환자의 경우 2.7회였다. 중심성 망막 두께의 평균 변화는 허위-치료된 환자의 경우의 $-381.8 \mu\text{m}$ 에 비하여 VEGFT-치료된 환자의 경우 $-413.0 \mu\text{m}$ 였다. 24주째에 눈 신혈관형성을 지닌 환자의 비율은 각각 VEGFT-치료된 환자의 경우 0%였고, 허위-치료된 환자의 경우 6.8%였고; VEGFT PRN을 투여받은 후 52주째에, 상기 비율은 VEGFT-치료된 환자 및 허위 치료된 환자에 대해 0% 및 6.8%였다. 24주째에, VFQ-25 전체 스코어에서 기준선으로부터의 평균 변화는 VEGFT-치료된 그룹 및 허위-치료된 그룹에 대해 7.2 대 0.7이었고; 52주째에, 상기 스코어는 VEGFT-치료된 그룹 및 허위-치료된 그룹에 대해 7.5 대 5.1이었다.

[0086]

이러한 실시예는 매달 2mg의 유리체내 VEGFT 주사를 투약하는 것이 24주째에 시력에 있어서 통계학적으로 현저한 개선을 초래하고, 이는 허위 PRN 치료와 비교된 PRN 투약으로 52주에 걸쳐 유지되었다. VEGFT는 일반적으로 내성이었고, 일반적으로 바람직한 안전성 프로파일을 가졌다.

[0087]

서열

[0088] 서열번호 1(1377 뉴클레오타이드를 갖는 DNA 서열):

ATGGTCAGCTACTGGGACACCGGGGTCCTGCTGTGCGCGCTGCTCAGCTGTCTGCTTCTC
ACAGGATCTAGTTCCGGAAGTGATACCGGTAGACCTTTCTAGAGATGTACAGTGAAATCC
CCGAAATTATACACATGACTGAAGGAAGGGAGCTCGTCATTCCCTGCCGGGTACGTCAC
CTAACATCACTGTTACTTTAAAAAAGTTTCCACTTGACACTTTGATCCCTGATGGAAAAACGC
ATAATCTGGGACAGTAGAAAAGGGCTTCATCATATCAAATGCAACGTACAAAGAAATAGGGC
TTCTGACCTGTGAAGCAACAGTCAATGGGCATTTGTATAAGACAACTATCTCACACATCGA
CAAACCAATACAATCATAGATGTGGTTCTGAGTCCGTCTCATGGAATTGAACTATCTGTTGG
AGAAAAGCTTGTCTTAAATTGTACAGCAAGAACTGAACTAAATGTGGGGATTGACTTCAACT
GGGAATACCCCTTCTTCGAAGCATCAGCATAAGAACTTGTAACCGAGACCTAAAAACCCA
GTCTGGGAGTGAGATGAAGAAATTTTGAGCACCTTAACTATAGATGGTGTAAACCCGGAGT
GACCAAGGATTGTACACCTGTGCAGCATCCAGTGGGCTGATGACCAAGAAGAACAGCACA
TTTGTGAGGGTCCATGAAAAGGACAAACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAA
CTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATC
TCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGT
CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG
AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTGCAGCGTCCTCACCCTCCTGCACCAGGACT

[0089]

GGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCG
AGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCC
CATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCT
ATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAG
ACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTG
GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTG
CACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

[0090]

[0091] 서열번호 2(458 아미노산을 갖는 폴리펩타이드 서열)

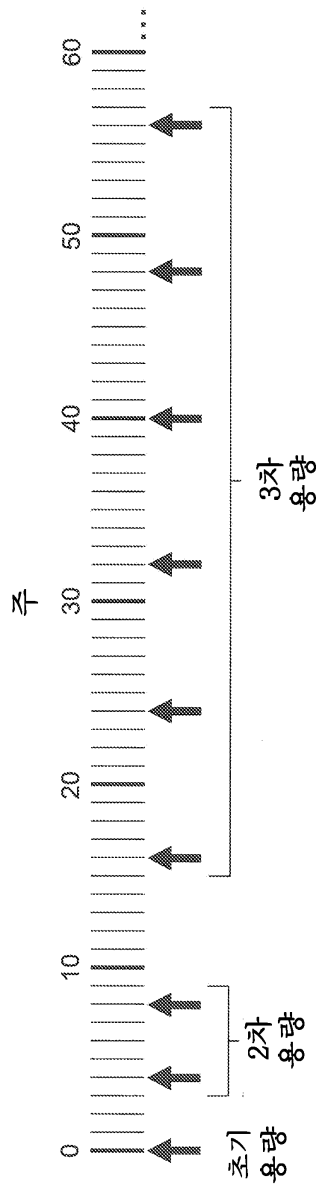
MVSYWDTGVLLCALLSCLLLTGSSSGSDTGRPFVEMYSEIPEIIHMTGRELVIPCRVTSPNITV
TLKKFPLDTLIPDGKRIIWDNRKGFIIISNATYKEIGLLTCEATVNGHLYKTNLYTHRQTNTIIDVVL
PSHGIELSVGEKLVNCTARTELNVGIDFNWEYPSSKHQHKLVNRDLKTQSGSEMKKFLSTLT
IDGVTRSDQGLYTCAASSGLMTKKNSTFVRVHEKDKHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHYTQ
KSLSLSPGK

[0092]

[0093] 본 발명은 본원에 기재된 특정 실시형태에 의해 그 범위를 한정하는 것은 아니다. 실제로 본원에 기재된 것 이외에 본 발명의 각종 변형은 상기 설명 및 첨부된 도면으로부터 당해 분야 숙련자에게 명백할 것이다. 이러한 변형은 첨부된 특허청구범위의 범위 내가 되도록 의도된다.

도면

도면1



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.

<120> USE OF A VEGF ANTAGONIST TO TREAT ANGIOGENIC EYE DISORDERS

<130> 725A-WO

<150> US 61/432,245

<151> 2011-01-13

<150> US 61/434,836

<151> 2011-01-21

<150> US 61/561,957

<151> 2011-11-21

<160> 2

<170> KopatentIn 1.71

<210> 1

<211> 1377

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 1

atggtcagct actgggacac cggggctcctg ctgtgcgcgc tgctcagctg tctgcttctc 60

acaggatcta gttccggaag tgataccggt agacctttcg tagagatgta cagtgaatac 120

cccgaataa tacacatgac tgaaggaagg gagctcgtca ttccctgccg ggttacgtca 180

cctaacaatc ctgttacttt aaaaaagttt ccacttgaca ctttgatccc tgatggaaaa 240

cgcataatct gggacagtag aaagggttc atcatatcaa atgcaacgta caaagaaata 300

gggcttctga cctgtgaagc aacagtcaat gggcatttgt ataagacaaa ctatctcaca 360

catcgacaaa ccaatacaat catagatgtg gttctgagtc cgtctcatgg aattgaacta 420

tctgttgagg aaaagcttgt cttaaattgt acagcaagaa ctgaactaaa tgtggggatt 480

gacttcaact gggaataccc ttcttcgaag catcagcata agaaacttgt aaaccgagac 540

ctaaaaacc agtctgggag tgagatgaag aaatttttga gcaccttaac tatagatggt 600

gtaaccgga gtgaccaagg attgtacacc tgtgcagcat ccagtgggct gatgaccaag 660

aagaacgca catttgtcag ggtccatgaa aaggacaaaa ctacacatg cccaccgtgc 720

ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca gtcttctct tcccccaaa acccaaggac 780

accctcatga tctcccgac ccctgaggtc acatgcgtgg tggaggacgt gagccacgaa 840

gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca 900

aagccgcggg aggagcagta caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg 960

caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgaagg tctccaacaa agccctccca 1020

gccccatcg agaaaacat ctcaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac 1080

accctgcccc catcccgga tgagctgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc 1140

aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gagggggaga gcaatgggca gccggagaa 1200

aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ctttcttct ctacagcaag 1260

ctcacgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat 1320
gaggctctgc acaaccacta cagcagaag agcctctccc tgtctcggg taaatga 1377

<210> 2

<211> 458

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223

> Synthetic

<400> 2

Met Val Ser Tyr Trp Asp Thr Gly Val Leu Leu Cys Ala Leu Leu Ser

1 5 10 15

Cys Leu Leu Leu Thr Gly Ser Ser Ser Gly Ser Asp Thr Gly Arg Pro

20 25 30

Phe Val Glu Met Tyr Ser Glu Ile Pro Glu Ile Ile His Met Thr Glu

35 40 45

Gly Arg Glu Leu Val Ile Pro Cys Arg Val Thr Ser Pro Asn Ile Thr

50 55 60

Val Thr Leu Lys Lys Phe Pro Leu Asp Thr Leu Ile Pro Asp Gly Lys

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Lys Glu Ile Gly Leu Leu Thr Cys Glu Ala Thr Val Asn Gly His

100 105 110

Leu Tyr Lys Thr Asn Tyr Leu Thr His Arg Gln Thr Asn Thr Ile Ile

115 120 125

Asp Val Val Leu Ser Pro Ser His Gly Ile Glu Leu Ser Val Gly Glu

130 135 140

Lys Leu Val Leu Asn Cys Thr Ala Arg Thr Glu Leu Asn Val Gly Ile

145 150 155 160

Asp Phe Asn Trp Glu Tyr Pro Ser Ser Lys His Gln His Lys Lys Leu

165 170 175

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

180	185	190
Leu Ser Thr Leu Thr Ile Asp Gly Val Thr Arg Ser Asp Gln Gly Leu		
195	200	205
Tyr Thr Cys Ala Ala Ser Ser Gly Leu Met Thr Lys Lys Asn Ser Thr		
210	215	220
Phe Val Arg Val His Glu Lys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys		
225	230	235
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		
245	250	255
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
260	265	270
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp		
275	280	285
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
290	295	300
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
305	310	315
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
325	330	335
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
340	345	350
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu		
355	360	365
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
370	375	380
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
385	390	395
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
405	410	415
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
420	425	430

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455