



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116096365 A

(43) 申请公布日 2023. 05. 09

(21) 申请号 202180058786.0

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所
11247

(22) 申请日 2021.08.06

专利代理人 张建 黄革生

(30) 优先权数据

63/062,990 2020.08.07 US

63/135,946 2021.01.11 US

(51) Int.Cl.

A61K 31/22 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.01.31

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/045008 2021.08.06

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/032137 EN 2022.02.10

(71) 申请人 瑞泽恩制药公司

地址 美国纽约州

(72) 发明人 R·C·波尔蒂 S·阿里

D·A·施韦默吉佩

权利要求书3页 说明书28页

序列表5页 附图1页

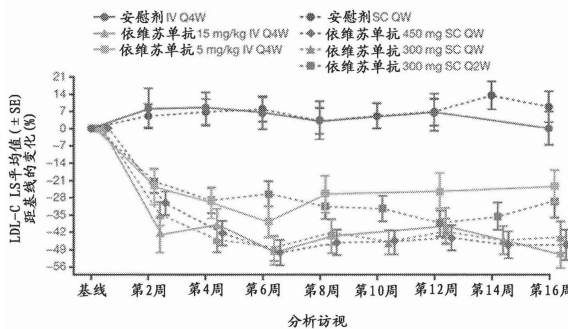
(54) 发明名称

涉及ANGPTL3抑制剂的治疗难治性高胆固醇血症的方法

(57) 摘要

本发明提供了用于治疗患有难治性高胆固醇血症的患者的方法。本发明的方法提供了降低患者的至少一种脂质参数,通过施用治疗有效量的特异性结合ANGPTL3的抗体或其抗原结合片段与治疗有效量的他汀、除他汀之外的第一降脂质活性剂和除他汀之外的第二降脂质活性剂来进行。

计算的LDL-C LS平均值(±SE)随时间距基线的百分比变化



1. 治疗患有难治性高胆固醇血症的患者的方法,所述方法包括向所述患者施用治疗有效量的如下组合:(a)他汀;(b)除他汀之外的降脂活性剂;和(c)ANGPTL3抑制剂。

2. 权利要求1的方法,还包括施用治疗有效量的除他汀之外的第二降脂活性剂。

3. 权利要求1或2的方法,其中他汀选自阿托伐他汀(**LIPITOR®**)、匹伐他汀(**LIVALO®**)、洛伐他汀(**MEVACOR®**)、辛伐他汀(**ZOCOR®**)、普伐他汀(**PRAVACHOL®**)、氟伐他汀(**LESCOL®**)和瑞舒伐他汀(**CRESTOR®**)。

4. 权利要求3的方法,其中他汀是瑞舒伐他汀(**Crestor®**),其按约5mg至约40mg的剂量一日一次口服施用。

5. 权利要求3的方法,其中他汀是阿托伐他汀(**LIPITOR®**),其按约10mg至约80mg的剂量一日一次口服施用。

6. 权利要求1-5任一项的方法,其中一种除他汀之外的降脂活性剂是抑制胆固醇吸收的活性剂。

7. 权利要求6的方法,其中抑制胆固醇吸收的活性剂是依折麦布(**ZETIA®**)。

8. 权利要求7的方法,其中依折麦布(**ZETIA®**)以约10mg的剂量一日一次口服施用。

9. 权利要求2的方法,其中除他汀之外的第二降脂活性剂是抑制微粒体甘油三酯转移蛋白(MTTP)的活性剂。

10. 权利要求9的方法,其中抑制MTTP的活性剂是洛美他派(**JUXTAPID®**)。

11. 权利要求10的方法,其中洛美他派(**JUXTAPID®**)以约5mg至约60mg的剂量一日一次口服施用。

12. 权利要求11的方法,其中洛美他派(**JUXTAPID®**)以约20mg的剂量一日一次口服施用。

13. 权利要求1-12任一项的方法,其中ANGPTL3抑制剂是与ANGPTL3特异性结合的抗体或其抗原结合片段。

14. 权利要求13的方法,其中抗ANGPTL3抗体是依维苏单抗。

15. 权利要求14的方法,其中依维苏单抗在用他汀、依折麦布或洛美他派治疗之前、期间或之后施用。

16. 权利要求14或15的方法,其中依维苏单抗以约1mg/kg至约20mg/kg体重的剂量静脉内施用。

17. 权利要求16的方法,其中依维苏单抗以约15mg/kg体重的剂量静脉内施用。

18. 权利要求14和15的方法,其中依维苏单抗以约50mg至约750mg的剂量皮下施用。

19. 权利要求18的方法,其中依维苏单抗以约300mg至约450mg的剂量皮下施用。

20. 权利要求14-19任一项的方法,其中依维苏单抗每周、每两周、每3周、每4周、每2个月、每3个月或每4个月施用。

21. 用于改善诊断患有难治性高胆固醇血症的患者的一种或多种脂质参数的方法,所述方法包括施用一个或多个治疗有效剂量的血管生成素样蛋白3(ANGPTL3)抑制剂与一个或多个治疗有效剂量的选自他汀、抑制胆固醇吸收的活性剂和抑制微粒体甘油三酯转移蛋白(MTTP)的活性剂或其组合的降脂活性剂,其中一种或多种脂质参数的改善是以下的一项

或多项：

- (a) 低密度脂蛋白-C (LDL-C) 距基线(第0周) 下降；
- (b) 载脂蛋白B (ApoB) 距基线下降；
- (c) 非高密度脂蛋白-C (非HDL-C) 距基线下降；
- (d) 总胆固醇(总-C) 距基线下降；和/或
- (e) 甘油三酯(TG) 距基线下降。

22. 权利要求21的方法，其中一种或多种脂质参数的改善是以下的一项或多项：

- (a) 低密度脂蛋白-C (LDL-C) 距基线(第0周) 下降 $\geq 23\%$ ；
- (b) 载脂蛋白B (ApoB) 距基线下降 \geq 约20%；
- (c) 非高密度脂蛋白-C (非HDL-C) 距基线下降 $\geq 30\%$ ；
- (d) 总胆固醇(总-C) 距基线下降 \geq 约30%；和/或
- (e) 甘油三酯(TG) 距基线下降 $\geq 35\%$ 。

23. 权利要求21或22的方法，其中ANGPTL3抑制剂是与ANGPTL3特异性结合的抗体或其抗原结合片段。

24. 权利要求23的方法，其中抗ANGPTL3抗体是依维苏单抗。

25. 权利要求24的方法，其中依维苏单抗在用他汀、依折麦布或洛美他派治疗之前、期间或之后施用。

26. 权利要求21-25任一项的方法，其中他汀选自阿托伐他汀(**LIPITOR®**)、匹伐他汀(**LIVALO®**)、洛伐他汀(**MEVACOR®**)、辛伐他汀(**ZOCOR®**)、普伐他汀(**PRAVACHOL®**)、氟伐他汀(**LESCOL®**)和瑞舒伐他汀(**CRESTOR®**)。

27. 权利要求26的方法，其中他汀是瑞舒伐他汀(**Crestor®**)并且按约5mg至约40mg的剂量一日一次口服施用。

28. 权利要求26的方法，其中他汀是阿托伐他汀(**LIPITOR®**)并且按约10mg至约80mg的剂量一日一次口服施用。

29. 权利要求21的方法，其中抑制胆固醇吸收的活性剂是依折麦布(**ZETIA®**)。

30. 权利要求29的方法，其中依折麦布(**ZETIA®**)按约10mg的剂量一日一次口服施用。

31. 权利要求21的方法，其中抑制MTTP的活性剂是洛美他派(**JUXTAPID®**)。

32. 权利要求30的方法，其中洛美他派(**JUXTAPID®**)按约5mg至约60mg的剂量一日一次口服施用。

33. 权利要求31的方法，其中洛美他派(**JUXTAPID®**)按约20mg的剂量一日一次口服施用。

34. 权利要求24或25的方法，其中依维苏单抗以约1mg/kg至约20mg/kg体重的剂量静脉内施用。

35. 权利要求34的方法，其中依维苏单抗以约15mg/kg体重的剂量静脉内施用。

36. 权利要求24和25的方法，其中依维苏单抗以约50mg至约750mg的剂量皮下施用。

37. 权利要求36的方法，其中依维苏单抗以约300mg至约450mg的剂量皮下施用。

38. 权利要求34-37任一项的方法,其中依维苏单抗每周、每两周、每3周、每4周、每2个月、每3个月或每4个月施用。

39. 权利要求13或23的方法,其中与ANGPTL3特异性结合的抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链可变区(HCVR)的互补决定区(CDR)和SEQ ID NO:5的轻链可变区(LCVR)的CDR。

40. 权利要求13、23和39任一项的方法,其中与ANGPTL3特异性结合的抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的重链CDR1(HCDR1)、具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR2、具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HCDR3、具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的轻链CDR1(LCDR1)、具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的LCDR2和具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的LCDR3。

41. 权利要求13、23、39和40任一项的方法,其中与ANGPTL3特异性结合的抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCVR。

42. 他汀、一种除他汀之外的降脂活性剂和血管生成素样蛋白3(ANGPTL3)抑制剂的组合在治疗患有难治性高胆固醇血症的患者中的用途。

43. 他汀、一种除他汀之外的降脂活性剂和血管生成素样蛋白3(ANGPTL3)抑制剂的组合在制备用于治疗患有难治性高胆固醇血症的患者的药物中的用途。

44. 用于治疗患有难治性高胆固醇血症的患者的药物组合物,其中该组合物包含治疗有效量的他汀、一种除他汀之外的降脂活性剂和血管生成素样蛋白3(ANGPTL3)抑制剂的组合。

45. 血管生成素样蛋白3(ANGPTL3)抑制剂与选自他汀、抑制胆固醇吸收的活性剂和抑制微粒体甘油三酯转移蛋白(MTTP)的活性剂或其组合的降脂活性剂在改善诊断患有难治性高胆固醇血症的患者的一种或多种脂质参数中的用途。

46. 血管生成素样蛋白3(ANGPTL3)抑制剂与选自他汀、抑制胆固醇吸收的活性剂和抑制微粒体甘油三酯转移蛋白(MTTP)的活性剂或其组合的降脂活性剂在制备-用于改善诊断患有难治性高胆固醇血症的患者的一种或多种脂质参数的药物中的用途。

47. 用于改善诊断患有难治性高胆固醇血症的患者的一种或多种脂质参数的药物组合物,其中该组合物包含治疗有效量的血管生成素样蛋白3(ANGPTL3)的抑制剂与选自他汀、抑制胆固醇吸收的活性剂和抑制微粒体甘油三酯转移蛋白(MTTP)的活性剂或其组合的降脂活性剂。

涉及ANGPTL3抑制剂的治疗难治性高胆固醇血症的方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请于2021年8月6日作为PCT国际专利申请提交,并要求于2020年8月7日提交的美国临时专利申请号63/062,990和于2021年1月11日提交的美国临时专利申请号63/135,946的优先权,其各自的全部内容通过引用并入本文作为参考。

发明领域

[0003] 本发明涉及与脂质水平和脂蛋白水平升高相关的疾病和病症的治疗性治疗领域。更特别地,本发明涉及ANGPTL3抑制剂伴随降脂疗法治疗患有家族性高胆固醇血症的患者,以实现最佳的血清脂质及脂蛋白水平的用途。

[0004] 背景

[0005] 高脂血症是涵盖特征为血液中脂质水平和/或脂蛋白水平升高或与之相关的疾病和障碍的一般术语。高脂血症包括高胆固醇血症、高甘油三酯血症、混合性高脂血症和脂蛋白a(Lp(a))升高。在许多群体中,特定的高脂血症普遍形式是高胆固醇血症。

[0006] 高胆固醇血症,特别是低密度脂蛋白(LDL)胆固醇(LDL-C)水平升高,构成形成动脉粥样硬化和冠心病(CHD)的主要风险(Sharrett等人,2001,Circulation 104:1108-1113)。低密度脂蛋白胆固醇经鉴定为胆固醇降低疗法的主要靶标并且被公认为有效的代用治疗终点。众多研究已经显示,降低LDL-C水平减少CHD风险,在LDL-C水平和CHD事件之间存在强直接关系;LDL-C每降低1mmol/L(约40mg/dL),则降低心血管疾病(CVD)死亡率和发病率22%。更大的LDL-C降幅引起更大的各事件减幅,并且强化他汀治疗与标准他汀治疗的对比数据表明,LDL-C水平越低,在面临极高心血管(CV)风险的患者中获益越大。

[0007] 家族性高胆固醇血症(FH)是使人们易患早发重度心血管疾病(CVD)的脂质代谢遗传性障碍(Kolansky等人,(2008),Am J Cardiology,102(11):1438-1443)。FH可以是因低密度脂蛋白受体(LDLR)中或至少3个编码涉及肝脏清除LDL-C的蛋白质的不同基因中突变产生的常染色体显性或常染色体隐性疾病,所述突变可能造成FH。这类缺陷的实例包括在编码从循环移走LDL-C的LDL受体(LDLR)的基因中和作为LDL粒子的主要蛋白质的载脂蛋白(Apo)B基因中的突变。在全部病例中,FH特征如下:血浆中LDL-C从出生堆积及后续形成腱黄瘤、黄色斑、粥样斑和CVD。取决于个体是否在牵涉基因的一个(杂合)或两个(纯合)拷贝中具有遗传缺陷,FH可以分为杂合FH(heFH)或纯合FH(hoFH)。

[0008] 当前降低LDL-C的药物包括他汀、胆固醇吸收抑制剂、贝特、烟酸和胆汁酸螯合剂和9型前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/Kexin(PCSK9)抑制剂。他汀是为降低LDL-C常开具的治疗。但是,尽管这类降脂疗法可用性,但许多高风险患者不能实现其指导目标LDL-C水平(Gitt等人,2010,Clin Res Cardiol 99(11):723-733)。

[0009] 患有难治性高胆固醇血症的患者是尽管最大限度地耐受降脂疗法(包括他汀类和PCSK9抑制剂)但未达到目标低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平并且具有增加的动脉粥样硬化性心血管疾病(ASCVD)风险的患者。尽管用LDL单采血液成分术可以进行LDL-C水平的额外降低,但是这种侵入性方法的应用受到单采血液成分中心的有限可达性、高程序成本、对

患者的不便、缺乏保险覆盖支持和不良事件的限制。尽管接受优化的LMT方案但未达到LDL-C目标的患者需要替代的降LDL-C疗法,或需要使用治疗剂(例如本文所述的活性剂和方案)的组合。

[0010] 发明简述

[0011] 在一个方面,本发明提供了治疗患有难治性高胆固醇血症的患者的方法,该方法包括向该患者施用治疗有效量的以下的组合:(a)他汀;(b)除他汀之外的降脂活性剂;和(c)ANGPTL3抑制剂。如本文所用,“患有难治性高胆固醇血症”的患者还指患有难治性高胆固醇血症的受试者或患者和/或被诊断患有难治性高胆固醇血症的受试者。

[0012] 在一个实施方案中,本发明的方法还包括施用治疗有效量的除他汀之外的第二降脂活性剂。

[0013] 在本发明方法的一个实施方案中,他汀选自阿托伐他汀(**LIPITOR®**)、匹伐他汀(**LIVALO®**)、洛伐他汀(**MEVACOR®**)、辛伐他汀(**ZOCOR®**)、普伐他汀(**PRAVACHOL®**)、氟伐他汀(**LESCOL®**)和瑞舒伐他汀(**CRESTOR®**)。在另一个实施方案中,他汀是瑞舒伐他汀(**Crestor®**),其按约5mg至约40mg的剂量一日一次口服施用。在另一个实施方案中,他汀是瑞舒伐他汀(**Crestor®**),其按约10mg-80mg的剂量一日一次口服施用。

[0014] 在本发明方法的一个实施方案中,一种除他汀之外的降脂活性剂是抑制胆固醇吸收的活性剂。在另一个实施方案中,抑制胆固醇吸收的活性剂是依折麦布(**ZETIA®**)。在另一个实施方案中,依折麦布(**ZETIA®**)按约10mg的剂量一日一次口服施用。

[0015] 在本发明方法的一个实施方案中,除他汀之外的第二降脂活性剂是抑制微粒体甘油三酯转运蛋白(MTTP)的活性剂。在另一个实施方案中,抑制MTTP的活性剂是洛美他派(**JUXTAPID®**)。在一个实施方案中,洛美他派(**JUXTAPID®**)按约5mg至约60mg的剂量一日一次口服施用。在另一个实施方案中,洛美他派(**JUXTAPID®**)按约20mg的剂量一日一次口服施用。

[0016] 在本发明方法的一个实施方案中,ANGPTL3抑制剂是特异性结合ANGPTL3的抗体或其抗原结合片段。在另一个实施方案中,抗ANGPTL3抗体是依维苏单抗。在另一个实施方案中,在使用他汀、依折麦布或洛美他派治疗之前、期间或之后向患者施用依维苏单抗。在另一个实施方案中,依维苏单抗按约1mg/kg至约20mg/kg体重的剂量静脉内施用。在另一个实施方案中,依维苏单抗按约15mg/kg体重的剂量静脉内施用。在一个实施方案中,依维苏单抗按约50mg至约750mg的剂量皮下施用。在另一个实施方案中,依维苏单抗按约300mg至约450mg的剂量皮下施用。在一个实施方案中,每周、每两周、每3周、每4周、每2个月、每3个月或每4个月施用依维苏单抗。

[0017] 在另一个方面,本发明提供了通过施用ANGPTL3抑制剂与他汀和至少一种除他汀之外的降脂活性剂的组合来降低难治性高胆固醇血症患者中至少一种脂质参数的方法。在一个实施方案中,向患者施用除他汀以外的第二降脂活性剂。第一非他汀降脂剂可以例如是抑制胆固醇摄取的活性剂(例如依折麦布)。第二非他汀降脂活性剂可以例如是微粒体甘油三酯转移蛋白的抑制剂(例如,洛美他派)。

[0018] 在另一个方面,本发明提供了用于改善诊断为患有难治性高胆固醇血症的患者中一个或多个脂质参数的方法,所述方法包括与一个或多个治疗有效剂量的降脂活性剂组合施用一个或多个治疗有效剂量的血管生产素-样蛋白3 (ANGPTL3) 抑制剂,所述降脂活性剂选自他汀、抑制胆固醇吸收的活性剂、抑制微粒体甘油三酯转运蛋白 (MTTP) 的活性剂或其组合,其中一个或多个脂质参数的改善是以下一项或多项:

[0019] (a) 低密度脂蛋白-C (LDL-C) 距基线(第0周) 下降;

[0020] (b) 载脂蛋白B (Apo B) 距基线下降;

[0021] (c) 非高密度脂蛋白-C (非HDL-C) 距基线下降;

[0022] (d) 总胆固醇(总-C) 距基线下降;和/或

[0023] (e) 甘油三酯(TG) 距基线下降。

[0024] 在另一个实施方案中,一个或多个脂质参数的改善是以下一项或多项:

[0025] (a) 低密度脂蛋白-C (LDL-C) 距基线(第0周) 下降 $\geq 23\%$;

[0026] (b) 载脂蛋白B (Apo B) 距基线下降 \geq 约20%;

[0027] (c) 非高密度脂蛋白-C (非HDL-C) 距基线下降 $\geq 30\%$;

[0028] (d) 总胆固醇(总-C) 距基线下降 \geq 约30%;和/或

[0029] (e) 甘油三酯(TG) 距基线下降 $\geq 35\%$ 。

[0030] 在本发明方法的一个实施方案中,ANGPTL3抑制剂是与ANGPTL3特异性结合的抗体或其抗原结合片段。在另一个实施方案中,抗-ANGPTL3抗体是依维苏单抗。在另一个实施方案中,在用他汀、依折麦布或洛美他派治疗之前、期间或之后向患者施用依维苏单抗。

[0031] 在本发明方法的一个实施方案中,他汀选自阿托伐他汀(**LIPITOR®**)、匹伐他汀(**LIVALO®**)、洛伐他汀(**MEVACOR®**)、辛伐他汀(**ZOCOR®**)、普伐他汀(**PRAVACHOL®**)、氟伐他汀(**LESCOL®**)和瑞舒伐他汀(**CRESTOR®**)。在另一个实施方案中,他汀是瑞舒伐他汀(**Crestor®**),其按约5mg至约40mg的剂量一日一次口服施用。在另一个实施方案中,他汀是瑞舒伐他汀(**Crestor®**),其按约10mg至约80mg的剂量一日一次口服施用。

[0032] 在本发明方法的一个实施方案中,抑制胆固醇吸收的活性剂是依折麦布(**ZETIA®**)。在另一个实施方案中,依折麦布(**ZETIA®**)按约10mg的剂量一日一次口服施用。

[0033] 在本发明方法的一个实施方案中,抑制MTTP的活性剂是洛美他派(**JUXTAPID®**)。在另一个实施方案中,洛美他派(**JUXTAPID®**)以约5mg至约60mg的剂量一日一次口服施用。在另一个实施方案中,洛美他派(**JUXTAPID®**)以约20mg的剂量一日一次口服施用。

[0034] 在本发明方法的一个实施方案中,依维苏单抗以约1mg/kg至约20mg/kg体重的剂量静脉内施用。在另一个实施方案中,依维苏单抗以约15mg/kg体重的剂量静脉内施用。

[0035] 在本发明方法的一个实施方案中,依维苏单抗以约50mg至约750mg的剂量皮下施用。在另一个实施方案中,依维苏单抗以约300mg至约450mg的剂量皮下施用。

[0036] 在本发明方法的一个实施方案中,每周、每两周、每3周、每4周、每2个月、每3个月或每4个月向患者施用依维苏单抗。

[0037] 在本发明方法的一个实施方案中,与ANGPTL3特异性结合的抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链可变区(HCVR)的互补决定区(CDR)和SEQ ID NO:5的轻链可变区(LCVR)的CDR。

[0038] 在另一个实施方案中,与ANGPTL3特异性结合的抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的重链CDR1(HCDR1)、具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR2、具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HCDR3、具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的轻链CDR1(LCDR1)、具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的LCDR2和具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的LCDR3。

[0039] 在另一个实施方案中,与ANGPTL3特异性结合的抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCVR。

[0040] 在一个方面,本发明提供了他汀、一种除他汀之外的降脂活性剂和血管生成素样蛋白3(ANGPTL3)抑制剂的组合在治疗患有难治性高胆固醇血症的患者中的用途。

[0041] 在另一个方面,本发明提供了他汀、一种除他汀之外的降脂活性剂和血管生成素样蛋白3(ANGPTL3)抑制剂的组合在制备用于治疗患有难治性高胆固醇血症的患者的药物中的用途。

[0042] 在另一个方面,本发明提供了用于治疗患有难治性高胆固醇血症的患者的药物组合物,其中所述组合物包含治疗有效量的他汀、一种除他汀之外的降脂活性剂和血管生成素样蛋白3(ANGPTL3)抑制剂的组合。

[0043] 在另一个方面,本发明提供了血管生成素样蛋白3(ANGPTL3)抑制剂与选自他汀、抑制胆固醇吸收的活性剂和抑制微粒体甘油三酯转移蛋白(MTTP)的活性剂或其组合的降脂活性剂组合在改善诊断患有难治性高胆固醇血症的患者的一种或多种脂质参数中的用途。

[0044] 在另一个方面,本发明提供了血管生成素样蛋白3(ANGPTL3)抑制剂与选自他汀、抑制胆固醇吸收的活性剂和抑制微粒体甘油三酯转移蛋白(MTTP)的活性剂或其组合的降脂活性剂在制备用于改善诊断患有难治性高胆固醇血症的患者的一种或多种脂质参数的药物中的用途。

[0045] 在另一个方面,本发明提供了用于改善诊断患有难治性高胆固醇血症的患者的一种或多种脂质参数的药物组合物,其中所述组合物包含治疗有效量的血管生成素样蛋白3(ANGPTL3)抑制剂与选自他汀、抑制胆固醇吸收的活性剂和抑制微粒体甘油三酯转移蛋白(MTTP)的活性剂或其组合的降脂活性剂。

[0046] 在另一个方面,本发明涉及治疗患有家族性高胆固醇血症的患者的方法,其通过施用ANGPTL3抑制剂与其他脂质修饰疗法以实现血清脂质和脂蛋白的最佳水平。

[0047] 在一个实施方案中,该方法包括向患有家族性高胆固醇血症的患者施用治疗有效量的以下的组合:(a)他汀;(b)一种除他汀之外的降脂活性剂和(c)ANGPTL3抑制剂。

[0048] 在一个实施方案中,向该患者施用(a)他汀;(b)一种除他汀之外的降脂活性剂;(c)ANGPTL3抑制剂,和(d)除他汀之外的第二降脂活性剂。

[0049] 在一个实施方案中,家族性高胆固醇血症选自杂合型家族性高胆固醇血症(HeFH)和纯合型家族性高胆固醇血症(HoFH)。

[0050] 在一个实施方案中,他汀选自阿托伐他汀(Lipitor®)、匹伐他汀(Lipitor®)、

洛伐他汀(**Mevacor®**)、辛伐他汀(**Zocor®**)、普伐他汀(**Pravachol®**)、氟伐他汀(**Lescol®**)和瑞舒伐他汀(**Crestor®**)。

[0051] 在一个实施方案中,他汀是瑞舒伐他汀(**Crestor®**),其按约5mg至约40mg的剂量一日一次口服施用。在另一个实施方案中,他汀是瑞舒伐他汀(**Crestor®**),其按5-40mg的剂量一日一次口服施用。

[0052] 在一个实施方案中,他汀是阿托伐他汀(**Lipitor®**),其按约10mg至约80mg的剂量一日一次口服施用。在另一个实施方案中,他汀是阿托伐他汀(**Lipitor®**),其按10-80mg的剂量一日一次口服施用。

[0053] 在一个实施方案中,一种除他汀之外的降脂活性剂是抑制胆固醇吸收的活性剂。

[0054] 在一个实施方案中,抑制胆固醇吸收的活性剂是依折麦布(**ZETIA®**)。

[0055] 在一个实施方案中,依折麦布(**ZETIA®**)按约10mg的剂量一日一次口服施用。在另一个实施方案中,依折麦布(**ZETIA®**)按10mg的剂量一日一次口服施用。

[0056] 在一个实施方案中,除他汀之外的第二降脂活性剂是抑制微粒体甘油三酯转运蛋白(MTTP)的活性剂。

[0057] 在一个实施方案中,抑制微粒体甘油三酯转运蛋白的活性剂是洛美他派(**JUXTAPID®**)。

[0058] 在一个实施方案中,洛美他派(**JUXTAPID®**)按约5mg至约60mg的剂量一日一次口服施用。在另一个实施方案中,洛美他派(**JUXTAPID®**)按5-60mg的剂量一日一次口服施用。

[0059] 在一个实施方案中,洛美他派(**JUXTAPID®**)按约20mg的剂量一日一次口服施用。在另一个实施方案中,洛美他派(**JUXTAPID®**)按20mg的剂量一日一次口服施用。

[0060] 在一个实施方案中,除他汀之外的第二降脂活性剂是抑制PCSK9的活性剂。在一个实施方案中,PCSK9抑制剂是阿妥莫单抗(alirocumab) (**PRALUENT®**)。

[0061] 在一个实施方案中,除他汀之外的第二降脂活性剂是减少含有apoB的脂蛋白产生的活性剂。在一个实施方案中,减少含有apoB的脂蛋白产生的活性剂是米泊美生。

[0062] 还构思可以将有降低脂质作用的其它活性剂替换本文所述的第一和第二降脂活性剂,或者可选择的是可以与第一和第二降脂活性剂组合,加上依维苏单抗(Evinacumab),以实现本文所述的至少一个脂质参数的正常化。

[0063] 在某些实施方案中,可以将本文所述的降脂疗法组合用于治疗正在接受单采血液成分术的患者,从而本文所述的一个或多个脂质参数的水平正常化。

[0064] 在一个实施方案中,ANGPTL3抑制剂选自小分子抑制剂、核酸(例如siRNA)和与ANGPTL3特异性结合的抗体。

[0065] 在一个实施方案中,ANGPTL3抗体是依维苏单抗。

[0066] 在一个实施方案中,在用他汀、依折麦布、洛美他派、米泊美生、PCSK9抑制剂或确立的可用于实现本文所述的至少一个脂质参数的正常化的任何其它降脂活性剂治疗之前、期间或之后施用依维苏单抗。

- [0067] 在一个实施方案中,依维苏单抗按约1mg/kg至约20mg/kg体重的剂量静脉内施用。
- [0068] 在一个实施方案中,依维苏单抗按约15mg/kg体重的剂量静脉内施用。在另一个实施方案中,依维苏单抗按15mg/kg体重的剂量静脉内施用。
- [0069] 在一个实施方案中,依维苏单抗按约50mg至约750mg的剂量皮下施用。
- [0070] 在一个实施方案中,依维苏单抗按约250mg至约450mg的剂量皮下施用。
- [0071] 在一个实施方案中,每周、每两周、每3周、每4周、每2个月、每3个月或每4个月施用依维苏单抗。
- [0072] 在第二个方面,本发明提供了用于改善诊断为患有家族性高胆固醇血症的患者中一个或多个脂质参数的方法,所述方法包括与一个或多个治疗有效剂量的降脂活性剂组合施用一个或多个治疗有效剂量的ANGPTL3抑制剂,所述降脂活性剂选自他汀、抑制胆固醇吸收的活性剂、抑制微粒体甘油三酯转运蛋白(MTTP)的活性剂或其组合,其中一个或多个脂质参数的改善是以下一项或多项:
- [0073] (a) 低密度脂蛋白-C(LDL-C)距基线(第0周)下降;
- [0074] (b) 载脂蛋白B(Apo B)距基线下降;
- [0075] (c) 非高密度脂蛋白-C(非HDL-C)距基线下降;
- [0076] (d) 总胆固醇(总-C)距基线下降;
- [0077] (e) 脂蛋白(a)(Lp(a))距基线下降;和/或
- [0078] (f) 甘油三酯(TG)距基线下降。
- [0079] 在一个实施方案中,家族性高胆固醇血症选自杂合型家族性高胆固醇血症(HeFH)和纯合型家族性高胆固醇血症(HoFH)。
- [0080] 在一个实施方案中,ANGPTL3抑制剂选自小分子抑制剂、核酸(例如siRNA)和与ANGPTL3特异性结合的抗体。
- [0081] 在一个实施方案中,与ANGPTL3特异性结合的抗体是依维苏单抗。
- [0082] 在一个实施方案中,他汀选自阿托伐他汀(**Lipitor®**)、匹伐他汀(**Lipitor®**)、洛伐他汀(**Mevacor®**)、辛伐他汀(**Zocor®**)、普伐他汀(**Pravachol®**)、氟伐他汀(**Lescol®**)和瑞舒伐他汀(**Crestor®**)。
- [0083] 在一个实施方案中,他汀是瑞舒伐他汀(**Crestor®**)并且按约5mg至约40mg的剂量一日一次口服施用。在另一个实施方案中,他汀是瑞舒伐他汀(**Crestor®**)并且按5-40mg的剂量一日一次口服施用。
- [0084] 在一个实施方案中,他汀是阿托伐他汀(**Lipitor®**)并且按约10mg至约80mg的剂量一日一次口服施用。在另一个实施方案中,他汀是阿托伐他汀(**Lipitor®**)并且按10-80mg的剂量一日一次口服施用。
- [0085] 在一个实施方案中,抑制胆固醇吸收的活性剂是依折麦布(**ZETIA®**)。
- [0086] 在一个实施方案中,依折麦布(**ZETIA®**)按约10mg的剂量一日一次口服施用。在另一个实施方案中,依折麦布(**ZETIA®**)按10mg的剂量一日一次口服施用。
- [0087] 在一个实施方案中,抑制微粒体甘油三酯转运蛋白的活性剂是洛美他派(**JUXTAPID®**)。

[0088] 在一个实施方案中,洛美他派(**JUXTAPID®**)按约5mg至约60mg的剂量一日一次口服施用。在另一个实施方案中,洛美他派(**JUXTAPID®**)按5-60mg的剂量一日一次口服施用。

[0089] 在一个实施方案中,洛美他派(**JUXTAPID®**)按约20mg的剂量一日一次口服施用。在另一个实施方案中,洛美他派(**JUXTAPID®**)按20mg的剂量一日一次口服施用。

[0090] 在一个实施方案中,其它降脂活性剂可以与上文所示的活性剂组合实现上文描述的至少一个脂质参数的可接受水平。其它活性剂包括但不限于PCSK9抑制剂。在一个实施方案中,PCSK9抑制剂是与PCSK9特异性结合的抗体。在一个实施方案中,与PCSK9特异性结合的抗体是阿妥莫单抗(**PRALUENT®**)。

[0091] 在一个实施方案中,可以与上文描述的疗法组合的其它降脂活性剂包括减少含有apoB的脂蛋白产生的活性剂。在一个实施方案中,减少含有apoB的脂蛋白产生的活性剂是米泊美生。

[0092] 还构思可以将有降低脂质作用的其它活性剂替换本文所述的第一和第二降脂活性剂,或者可选择的是可以与第一和第二降脂活性剂组合,加上依维苏单抗,以实现本文所述的至少一个脂质参数的正常水平。

[0093] 在某些实施方案中,可以将本文所述的降脂疗法组合用于治疗正在接受单采血液成分术的患者,目的在于降低上文描述的至少一个或多个脂质参数的水平至可接受的范围。在相关的实施方案中,使用本文所述疗法的组合可以消除对单采血液成分术的需要,或可以帮助增加各单采血液成分术操作之间的时间间隔。

[0094] 在一个实施方案中,治疗导致至少一个脂质参数距基线降低至少40%。

[0095] 在一个实施方案中,治疗导致至少一个脂质参数距基线降低至少75%。

[0096] 在一个实施方案中,治疗导致LDL-C水平距基线降低至少40%。

[0097] 在一个实施方案中,与ANGPTL3特异性结合的抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的重链可变区(HCVR)的互补决定区(CDR)和SEQ ID NO:5的轻链可变区(LCVR)的CDR。

[0098] 在一个实施方案中,与ANGTL3特异性结合的抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的重链CDR1(HCDR1)、具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的HCDR2、具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的HCDR3、具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的轻链CDR1(LCDR1)、具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的LCDR2和具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的LCDR3。

[0099] 在一个实施方案中,与ANGPTL3特异性结合的抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCVR。

[0100] 本发明的其它实施方案将从查看后续详述中变得显而易见。

[0101] 附图简述

[0102] 图1图示了计算的LDL-C LS平均值(\pm SE)随时间从基线的百分比变化。LS平均值和SE取自具有重复测量的混合效应模型,其具有治疗组、随机化层(高强度他汀类药物[是/否]和heFH状态[是/否])、至第16周的时间点、逐时间点的治疗相互作用和逐时间点的层相互作用的固定分类效应,以及基线计算的LDL-C值和逐时间点的基线值相互作用的连续固定协变量。IV,静脉内;QW,每周一次;Q2W,每两周一次;Q4W,每四周一次;SC,皮下。

[0103] 发明详述

[0104] 在描述本发明之前,应该理解本发明不限于所描述的具体方法和试验条件,因为这样的方法和条件可以变化。还应该理解的是,文中使用的术语仅仅是为了描述特定实施方案的目的,而不是为了限制,因为本发明的范围将仅由所附权利要求来限制。

[0105] 除非另外定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的相同的含义。如本文所使用的,术语“约”在用于提及特定的所述数值时意指该值可以不超过1%地与所述值不同。例如,如在此使用的,表述“约100”包括99和101以及之间的所有值(例如99.1、99.2、99.3、99.4等)。

[0106] 虽然在本发明的实施中可以使用与本文中所述相似或等价的任何方法和材料,现在描述了优选的方法和材料。本文中提到的全部出版物均通过描述其完整性的引用方式并入本文。

[0107] 用于治疗高脂血症的方法

[0108] 本发明一般地涉及通过施用以下组合:(a)他汀;(b)除他汀之外的第一降脂疗法;和(c)ANGPTL3的抑制剂,降低患有家族性高胆固醇血症的患者中脂蛋白水平的方法和组合物。在某些实施方案中,该组合包含除他汀之外的第二降脂活性剂。在某些实施方案中,不是他汀的第一降脂活性剂是抑制胆固醇吸收的活性剂,例如依折麦布(**ZETIA®**)。在某些实施方案中,不是他汀的第二降脂活性剂是抑制微粒体甘油三酯转运蛋白的活性剂,例如洛美他派(**JUSTAPID®**)。在一个实施方案中,ANGPTL3抑制剂是与ANGPTL3特异性结合的抗体,例如依维苏单抗。在本发明的某些实施方案中,用ANGPTL3抑制剂(例如依维苏单抗)与上文所示其它疗法(他汀、依折麦布和洛美他派)组合的治疗可以起到降低这些患者中脂蛋白水平至可接受范围的作用,因而降低其形成动脉粥样硬化、中风和其它心血管疾病的风险。在某些实施方案中,描述的方法可以用来治疗患有家族性高胆固醇血症(包括杂合型家族性高胆固醇血症(HeFH)和/或纯合型家族性高胆固醇血症(HoFH))的患者。在某些实施方案中,也可以将PCSK9抑制剂添加至上文描述的组合疗法,以进一步降低本文所述的至少一个脂质参数的水平。在相关的实施方案中,也可以在正在接受单采血液成分术的患者中使用上述疗法的组合,以实现所述至少一个脂质参数的正常化。所述疗法的组合可以消除对单采血液成分术的需要,或者可以增加需要单采血液成分术操作之间的时间间隔。当单独或与单采血液成分术组合使用时,所述疗法的组合可以起到降低这些患者中形成动脉粥样硬化和冠心病(CHD)的风险的作用。

[0109] 如本文所用,术语“脂蛋白”意指同时含有蛋白质和脂质的生物分子粒子。脂蛋白的实例包括例如低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)、极低密度脂蛋白(VLDL)、中等密度脂蛋白(IDL)和脂蛋白(a)(Lp(a))。

[0110] 根据某些实施方案,本发明包括用于治疗下述患者的方法,所述患者不响应于除所描述并且在本文所述组合中包含的那些脂质修饰疗法之外的脂质修饰疗法、不充分受其控制或对其不耐受。如本文所用,“不响应于脂质修饰疗法、不充分受其控制或对其不耐受”的具体患者由医师、医师的助手、诊断医师或其它医学从业人员,基于脂质修饰活性剂治疗后患者血清中所测量或另外检出的一种或多种脂蛋白(例如,LDL-C和/或非HDL-C)的水平确定。基于脂质修饰疗法的副作用特性,医师、医师的助手、诊断医师或其它医学从业人员还可以确定患者是否对某些脂质修饰疗法不耐受,其中所述患者可以出现所述副作用,包

括但不限于肌肉痛、触痛或虚弱(肌痛)、头痛、皮肤潮红、睡眠困难、腹部绞痛、胃胀气、腹泻、便秘、皮疹、恶心或呕吐。不响应于某些脂质修饰疗法、不充分受其控制或对其不耐受的患者也可以依据其它因素例如患者的家族史、医疗背景、当前治疗性治疗状态以及国家医学学会和医师团体采纳的普遍接受或主流的脂蛋白目标来确定或受其影响。例如,在某些情况下,如果患者正在接受某种脂质修饰活性剂疗法,并且显示大于或等于约70mg/dL的LDL-C水平,则这表示该患者“不响应于这种脂质修饰疗法或不充分受其控制或对其不耐受”并且可以通过使用本文所述疗法的治疗而得益。在其它情况下,如果患者正在接受某种脂质修饰活性剂疗法,并且显示大于或等于约100mg/dL的LDL-C水平,则这表示该患者“不响应于这种脂质修饰疗法或不充分受其控制或对其不耐受”并且可以通过使用本文所述疗法的治疗而得益。在其它情况下,如果患者正在接受某种脂质修饰活性剂疗法,并且显示大于或等于约150mg/dL、200mg/dL、250mg/dL、300mg/dL、400mg/dL或更高的LDL-C水平,则这表示该患者“不响应于这种脂质修饰疗法或不充分受其控制或对其不耐受”并且可以通过使用本文所述疗法的治疗而得益。在其它情况下,相对于患者在特定起始点(“基线”)的LDL-C或非HDL-C水平是否达到LDL-C或非HDL-C水平的特定百分数降低,可以用来确定患者是否已经响应于脂质修饰疗法或患者是否需要使用本发明方法和活性剂的其它治疗。例如,LDL-C或非HDL-C距基线降低小于50%(例如小于40%、小于35%、小于30%、小于25%等)可以预示需要使用本发明方法和活性剂的疗法。

[0111] 因此,本发明包括治疗方法,所述治疗方法包括给患者施用一个或多个剂量的ANGPTL3抑制剂(例如依维苏单抗)和一个或多个剂量的他汀、依折麦布、PCSK9抑制剂、米泊美生和/或洛美他派组合,所述患者正在接受其它类型的脂质修饰疗法(例如胆汁酸螯合剂、烟酸、非诺贝特),但是不响应于这类治疗,或对这类治疗不耐受,其中在接受一个或多个剂量的本文所述的组合疗法后,该患者能够实现总胆固醇、LDL-C或非HDL-C的正常水平。在某些情况下,该患者可以脱离其它脂质修饰疗法,或其它脂质修饰疗法可以继续,但可以按更低剂量施用并且可以与ANGPTL3抑制剂和他汀加依折麦布和洛美他派,以及任选PCSK9抑制剂,和/或米泊美生组合使用,以实现和/或维持特定的目标脂蛋白水平。可选择的是,可以按正常的开具剂量给患者施用其它脂质修饰疗法,但是如果其它脂质修饰疗法将要与本文所述的组合一起施用,则可以降低施用其它脂质修饰疗法的频率。在一些情况下,在施用一个或多个剂量的本文所述的组合疗法后,可以完全消除患者为实现和/或维持脂蛋白特定目标水平而对其它脂质修饰疗法治疗的需求。

[0112] 据某些实施方案,本发明包括用于减少或消除某种脂质修饰疗法需求的方法,其中所述方法包括选择在上个月、最近2个月、最近3个月、最近4个月、最近5个月、最近6个月或更长时间内已经用某些脂质修饰疗法治疗过的高脂血症(例如,高胆固醇血症)患者并且给该患者施用一个或多个剂量的ANGPTL3抑制剂和本文所述的活性剂(依折麦布、洛美他派和他汀)。根据本发明的这个方面,所述方法导致患者血清中至少一种脂质或脂蛋白的水平降低并且因此允许减少或消除患者对其它脂质修饰疗法(例如胆汁酸螯合剂、烟酸或非诺贝特)治疗的需要,其中患者不响应于所述其它脂质修饰疗法或患者显示对其不耐受。本文所述的方法也可以在接受单采血液成分术的患者中使用并且这个患者群体中使用的降脂活性剂组合可以导致对单采血液成分术的需要消除,或者可以增加单采血液成分术操作之间的时间间隔。例如,在本发明的某些实施方案中,在施用一个或多个剂量的ANGPTL3抑制

剂和他汀、依折麦布和/或洛美他派后,患者的血清LDL-C水平降至小于规定的水平(例如,小于100mg/dL或小于70mg/dL),或者总胆固醇降至规定的水平(例如小于200mg/dL或小于150mg/dL),或者与采用本文所述的组合治疗之前的基线水平相比,LDL-C的血清水平显示降低至少40%。

[0113] 根据某些实施方案,通过本发明方法可治疗的患者患有高胆固醇血症(例如,血清LDL-C浓度大于或等于70mg/dL(例如,如果该患者具有心血管事件史),或血清LDL-C浓度大于或等于100mg/dL(例如,如果该患者没有心血管事件史)。在某些实施方案中,患者的高胆固醇血症不充分受某些标准脂质修饰疗法(例如胆汁酸螯合剂、烟酸或非诺贝特)控制。本发明还包括在患有家族性高胆固醇血症(包括HeFH和HoFH)的患者中降低总胆固醇、LDL-C、非HDL-C、甘油三酯(TG)、ApoB、ApoCIII和Lp(a)的方法。

[0114] 适于治疗的患者

[0115] 本发明包括可用于治疗下述患者的方法和组合物,所述患者经诊断患有高胆固醇血症病症或经鉴定面临形成高胆固醇血症病症的风险,所述高胆固醇血症病症是例如因低密度脂蛋白受体(LDLR)中突变产生的杂合家族性高胆固醇血症(HeFH)或纯合家族性高胆固醇血症(HoFH)、常染色体显性高胆固醇血症(ADH,例如与PCSK9基因中一个或多个功能获得型突变相关的ADH)、记录到Apo B基因中存在纯合或复合杂合突变、常染色体隐性高胆固醇血症(ARH,例如与LDLRAP1中突变相关的ARH),以及异于家族性高胆固醇血症的高胆固醇血症(非FH)的发生。适于使用本发明方法治疗的患者还可以包括显示属于任何以下类别范围内的LDLR突变的患者:I类:受体无效突变,因而LDLR完全不合成;II类:转运缺陷性等位基因,因而LDLR未从内质网恰当地转运至高尔基体以表达在细胞表面上(IIA类(无受体转运)和IIB类(受体转运减少));III类:结合作用缺陷性等位基因,因而LDLR在细胞表面上未恰当地结合LDL,原因在于载脂蛋白B100(R3500Q)中或LDL-R中有缺陷;IV类:内化缺陷性等位基因,因而与LDL结合的LDLR未在披网格蛋白小窝中恰当地簇集,以便受体介导的内吞;类V:再循环缺陷性等位基因,因而LDLR没有再循环返回细胞表面。

[0116] 可以依据基因分型和/或临床标准作出家族性高胆固醇血症(例如,heFH或hoFH)的诊断。对于未进行基因分型的患者,临床诊断可以基于Simon Broome标准联合确定FH的标准,或WHO/Dutch脂质网络标准联合>8分的评分。

[0117] 根据某些实施方案,患者可能基于具有冠心病(CHD)史,适于治疗。如本文所用“CHD史”(或“记录的CHD史”)包括以下一者或多者:(i)急性心肌梗死(MI);(ii)沉默型MI;(iii)不稳定型心绞痛;(iv)冠状动脉血管再生术(例如,经皮冠状动脉干预治疗[PCI]或冠状动脉旁路移植手术[CABG]);和/或(v)依据侵入型或非侵入型检验(例如冠脉血管造影术、使用踏车的负荷试验、负荷超声心动图术或核成像术)诊断的有临床意义的CHD。

[0118] 根据某些实施方案,患者可以基于具有非冠心病心血管疾病(“非CHD CVD”)史,适于治疗。如本文所用,“非CHD CVD”包括以下一者或多者:(i)记录的既往缺血性中风伴随迁延超过24小时的视为动脉粥样化血栓形成源性的局灶性缺血性神经系统功能缺损;(ii)外周动脉病;(iii)腹主动脉瘤;(iv)动脉粥样硬化性肾动脉狭窄;和/或(v)颈动脉病(短暂性缺血发作或颈动脉阻塞>50%)。

[0119] 根据某些实施方案,患者可能基于具有以下一个或多个附加风险因素,适于治疗:例如(i)记录的如 $30 \leq eGFR < 60 \text{ mL/分钟/1.73m}^2$ 持续3个月或更长所定义的中等慢性肾病

(CKD); (ii) 伴有或未伴有靶器官损伤(例如视网膜病变、肾病、微量白蛋白尿)的1型或2型糖尿病; (iii) 计算的10年致命性CVD风险评分 $\geq 5\%$ (ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidemias, Conroy等人, 2003, Eur. Heart J. 24:987-1003)。

[0120] 根据某些实施方案, 患者可能基于具有选自以下的一个或多个附加风险因素, 适于治疗: 年龄(例如年龄超过40、45、50、55、60、65、70、75或80岁)、人种、国籍、性别(男性或女性)、锻炼习惯(例如定期锻炼者、从不锻炼者)、其它预存医学病症(例如II型糖尿病、高血压等)和当前用药状态(例如目前正在服用 β 阻滞剂、烟酸、依折麦布、贝特、 ω -3脂肪酸、胆汁酸树脂等)。

[0121] 根据本发明的某些实施方案, 通过本发明方法可治疗的个体可以显示升高水平的一种或多种炎症标志物。可以出于本发明目的, 利用全身性炎症的任何标志物。合适的炎症标志物包括但不限于C-反应蛋白、细胞因子(例如IL-6、IL-8和/或IL-17)和细胞粘附分子(例如ICAM-1、ICAM-3、BL-CAM、LFA-2、VCAM-1、NCAM和PECAM)。

[0122] 根据本发明, 患者可以基于一个或多个前述标准或治疗性特征的组合, 适于治疗。例如, 根据某些实施方案, 适于本发明方法治疗的患者还可以基于患有HeFH或非FH组合以下项来选择: (i) 记录的CHD史, (ii) 非CHD CVD, 和/或(iii) 糖尿病伴随靶器官损伤; 这类患者也可以基于具有大于或等于70mg/dL的血清LDL-C浓度来选择。

[0123] 根据某些其它实施方案, 除患有未充分受每日中等剂量治疗性他汀方案控制的高胆固醇血症之外, 适于用本发明方法治疗的患者还可以基于以下来选择: 患有HeFH或非FH未伴有CHI), 或者患有非CHD CVD, 但是具有(i) $\geq 5\%$ 的计算的10年致命性CVD风险评分; 或(ii) 糖尿病未伴有靶器官损伤; 这类患者也可以基于具有大于或等于100mg/dL的血清LDL-C浓度来选择。

[0124] 根据本发明的某些实施方案, 通过本发明方法可治疗的个体是患有家族性乳糜微粒血症综合征(FCS; 也称作脂蛋白脂酶缺乏症)的个体。

[0125] 根据本发明的某些实施方案, 通过本发明方法可治疗的个体是正在接受或(例如在最近六个月以内、最近12周以内、最近8周以内、最近6周以内、最近4周以内、最近2周以内等)曾接受过脂蛋白单采血液成分术的个体。

[0126] 施用ANGPTL3抑制剂作为附加疗法

[0127] 本发明包括治疗方法, 其中根据特定给药量和频率, 给正在接受或最近已经接受过标准脂质修饰疗法(例如他汀)的患者施用ANGPTL3抑制剂, 并且其中ANGPTL3抑制剂作为患者预存脂质修饰疗法(如果适用)的附加(例如患者预存每日治疗性他汀方案或其它方案(例如烟酸)的附加)施用。这些方法还包括将ANGPTL3抑制剂(例如依维苏单抗)作为附加疗法随同除他汀之外的其它脂质修饰疗法使用, 包括随依折麦布和洛美他派一起使用, 以实现最大降脂作用。在本发明方法中待使用的其它降脂活性剂包括PCSK9抑制剂, 或米泊美生。也可以在接受单采血液成分术的患者中使用活性剂的组合, 以实现可接受的脂质水平。

[0128] 例如, 本发明的方法包括附加治疗方案, 其中ANGPTL3抑制剂作为患者接受ANGPTL3抑制剂之前正在接受的同一个稳定每日治疗性他汀治疗方案的附加疗法施用(即相同给药量的他汀)。除他汀加ANGPTL3抗体疗法之外, 还添加单独或与洛美他派组合的依折麦布导致当施用该组合时血清脂质或脂蛋白水平显著较低。在其它实施方案中, ANGPTL3抑制剂作为治疗性他汀方案的附加疗法施用, 所述治疗性他汀方案包含的他汀量多于或少

于患者接受ANGPTL3抑制剂或本文所述的组合疗法。例如,在除依折麦布和洛美他派之外,启动包含按特定给药频率和给药量施用的ANGPTL3抑制剂的治疗方案后,取决于患者的治疗需要,与启动ANGPTL3抑制剂、依折麦布和/或洛美他派治疗方案之前患者正在服用的每日他汀剂量相比,给患者施用或开具的每日他汀剂量可以(a)保持相同,(b)增加,或(c)减少(例如上调或下调)。

[0129] 治疗功效

[0130] 本发明的方法可以导致选自总胆固醇、LDL-C、IDL、非HDL-C、ApoB100、ApoB 48、Apo A-1、Apo CIII、VLDL-C、甘油三酯、Lp(a)、乳糜微粒、乳糜微粒残余物和残粒胆固醇的一种或多种脂质组分的血清水平降低。例如,根据本发明的某些实施方案,给合适的个体施用ANGPTL3抑制剂组合他汀、依折麦布和/或洛美他派将导致至少约25%、30%、40%、50%、60%或更大的血清低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)距基线平均降低百分数;至少约25%、30%、40%、50%、60%或更大的ApoB距基线平均降低百分数;至少约25%、30%、40%、50%、60%或更大的非HDL-C距基线平均降低百分数;至少约10%、15%、20%、25%、30%、35%或更大的总胆固醇距基线平均降低百分数;至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%或更大的VLDL-C距基线平均降低百分数;至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%或更大的甘油三酯距基线平均降低百分数;和/或至少约5%、10%、15%、20%、25%或更大的Lp(a)距基线平均降低百分数。

[0131] ANGPTL3抑制剂

[0132] 本发明的方法包括给患者施用治疗性组合物,所述治疗性组合物包含ANGPTL3抑制剂(例如ANGPTL3抗体,例如依维苏单抗)组合他汀、胆固醇吸收抑制剂(例如依折麦布)和抑制微粒体甘油三酯转运蛋白的活性剂(例如洛美他派)。

[0133] 如本文所用,“ANGPTL3抑制剂”是在体外或体内与人ANGPTL3结合或相互作用并且抑制ANGPTL3的正常生物学功能的任何活性剂。ANGPTL3抑制剂类别的非限制性实例包括小分子ANGPTL3拮抗剂、基于核酸的ANGPTL3表达或活性抑制剂(例如siRNA或反义)、基于肽的与ANGPTL3特异性相互作用的分子(例如,肽体(peptibody))、与ANGPTL3特异性相互作用的受体分子、结合ANGPTL3的支架分子(例如DARPin、HEAT重复序列蛋白、ARM重复序列蛋白、三角形四肽重复序列蛋白(tetratricopeptide repeat proteins)、基于纤连蛋白的支架构建体和其它基于天然存在性重复序列蛋白的支架等[参见例如Boersma和Pluckthun,2011,Curr.Opin.Biotechnol.22:849-857,及其中引用的参考文献])和抗ANGPTL3适配体或其部分。根据某些实施方案,可以在本发明上下文中使用的ANGPTL3抑制剂是特异性结合人ANGPTL3的抗ANGPTL3抗体或抗体的抗原结合片段。

[0134] 如本文所用,术语“人血管生成素样蛋白-3”或“人ANGPTL3”或“hANGPTL3”指具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的ANGPTL3(还参见NCBI登录号NP_055310)或其生物活性片段。

[0135] 如本文所用的,术语“抗体”旨在表示免疫球蛋白分子及其多聚体(例如IgM),所述免疫球蛋白分子包含通过二硫键相互连接的四条多肽链:两条重(H)链和两条轻(L)链。每条重链包含重链可变区(本文缩写为HCVR或VH)和重链恒定区。重链恒定区包含三个结构域CH1、CH2和CH3。每条轻链包含轻链可变区(本文中缩写为LCVR或VL)和轻链恒定区。轻链恒定区包含一个结构域(CL1)。VH和VL区可以进一步细分成称为互补决定区(CDR)的高变区,其中散布有更保守的区,称为框架区(FR)。每个VH和VL由三个CDR和四个FR组成,从氨基

末端到羧基末端按以下顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在本发明的不同实施方案中,抗ANGPTL3抗体(或其抗原结合部分)的FR可以与人种系序列相同,或可以经天然或人工修饰。可以基于并排分析两个或更多个CDR限定氨基酸共有序列。

[0136] 如本文所用,术语“抗体”还包括完整抗体分子的抗原结合片段。如本文所用,术语抗体的“抗原结合部分”、抗体的“抗原结合片段”,等等包括任何天然存在的、酶促可获得的、合成的或基因工程化的多肽或糖蛋白,其特异性结合抗原以形成复合物。使用任何合适的标准技术例如蛋白水解消化或重组基因工程技术,包括操作和表达编码抗体可变和任选恒定结构域的DNA,抗体的抗原结合片段可以来源于例如完整抗体分子。这样的DNA是已知的和/或容易从例如商业来源、DNA文库(包括例如噬菌体抗体文库)获得,或者可以合成。可以对DNA进行测序,并且化学地或通过使用分子生物学技术操作,例如,将一个或多个可变和/或恒定结构域排列成合适的构型,或引入密码子,产生半胱氨酸残基,修饰、添加或缺失氨基酸等。

[0137] 抗原结合片段的非限制性实例包括:(i) Fab片段;(ii) F(ab)₂片段;(iii) Fd片段;(iv) Fv片段;(v) 单链Fv(scFv)分子;(vi) dAb片段;和(vii) 最小识别单元,其由模拟抗体高变区的氨基酸残基(例如分离的互补决定区(CDR),例如CDR3肽)或限制性FR3-CDR3-FR4肽组成。其它工程化的分子,例如结构域特异性抗体、单结构域抗体、结构域缺失的抗体、嵌合抗体、CDR接枝抗体、双抗体、三抗体、四抗体、微抗体、纳米抗体(例如单价纳米抗体、二价纳米抗体等)、小的模块化免疫药物(SMIP)和鲨鱼可变IgNAR结构域,也包括在本文所用的表述“抗原结合片段”内。

[0138] 抗体的抗原结合片段典型地将包含至少一个可变结构域。可变结构域可以是任何大小或氨基酸组成,并且通常将包含至少一个CDR,其与一个或多个框架序列相邻或在相同阅读框内(in frame)。在具有VH结构域和相关的VL结构域的抗原结合片段中,VH和VL结构域可以以任何合适的排列相对于彼此进行定位。例如,可变区可以是二聚体并且含有VH-VH、VH-VL或VL-VL二聚体。可选择的是,抗体的抗原结合片段可以含有单体VH或VL结构域。

[0139] 在某些实施方案中,抗体的抗原结合片段可以含有与至少一个恒定结构域共价连接的至少一个可变结构域。可以在本发明抗体的抗原结合片段内发现的可变结构域和恒定结构域的非限制性示例性构型包括:(i) VH-CH₁;(ii) VH-CH₂;(iii) VH-CH₃;(iv) VH-CH₁-CH₂;(v) VH-CH₁-CH₂-CH₃;(vi) VH-CH₂-CH₃;(vii) VH-CL;(viii) VL-CH₁;(ix) VL-CH₂;(x) VL-CH₃;(xi) VL-CH₁-CH₂;(xii) VL-CH₁-CH₂-CH₃;(xiii) VL-CH₂-CH₃;和(xiv) VL-CL。在包括上面列出的任何示例性构型的可变结构域和恒定结构域的任何构型中,可变结构域和恒定结构域可以彼此直接连接或者可以通过完整或部分铰链或接头区连接。铰链区可以由至少2个(例如5、10、15、20、40、60个或更多个)氨基酸组成,其导致在单个多肽分子中相邻可变和/或恒定结构域之间的柔性或半柔性连接。此外,本发明抗体的抗原结合片段可以包含上面列出的任何可变和恒定结构域构型的同二聚体或异二聚体(或其它多聚体),彼此非共价(例如通过二硫键)结合和/或与一个或多个单体VH或VL结构域非共价(例如通过二硫键)结合。

[0140] 与完整抗体分子一样,抗原结合片段可以是单特异性的或多特异性的(例如双特异性的)。抗体的多特异性抗原结合片段通常将包含至少两个不同的可变结构域,其中每个可变结构域能够特异性结合单独的抗原或在相同抗原上结合不同的表位。使用本领域可用

的常规技术,任何多特异性抗体形式,包括本文公开的示例性双特异性抗体形式可以适用于本发明抗体的抗原结合片段的上下文中。

[0141] 抗体的恒定区在抗体固定补体和介导细胞依赖的细胞毒性的能力中重要。因此,抗体的同种型可以基于抗体是否需要它介导细胞毒性来选择。

[0142] 如本文所用,术语“人抗体”旨在包括具有源自人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区的抗体。然而,本发明的人抗体可以包括,例如在CDR和特别是CDR3中包括不由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内细胞突变导入的突变)。然而,如本文所用,术语“人抗体”不旨在包括其中已经将从另一个哺乳动物物种(例如小鼠)的种系衍生的CDR序列移植到人构架序列上的抗体。该术语包括在非人类哺乳动物中或非人类哺乳动物的细胞中重组产生的抗体。该术语不旨在包括从人类个体分离或在其中生成的抗体。

[0143] 如本文所用,术语“重组人抗体”旨在包括通过重组手段制备、表达、产生或分离的所有人抗体,例如使用转染至宿主细胞的重组表达载体表达的抗体(下文进一步描述)、从重组、组合人抗体文库中分离的抗体(下文进一步描述)、从人免疫球蛋白基因转基因的动物(例如小鼠)中分离的抗体(参见例如Taylor等人(1992)Nucl.Acids Res.20:6287-6295)、或通过任何其它手段制备、表达、产生或分离的抗体,所述任何其它手段包括将人免疫球蛋白基因序列剪接到其它DNA序列。此类重组人抗体具有源自人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区。然而,在某些实施方案中,体外诱变这样的重组人抗体(或者当使用人Ig序列转基因的动物时,体内体细胞诱变),因此,重组抗体的VH和VL区的氨基酸序列是这样的序列,其虽然来自人种系VH和VL序列并且与人种系VH和VL序列相关,但可能不是人抗体种系库内在体内天然存在的序列。

[0144] 人抗体可以按照与铰链异质性相关的两种形式存在。在一种形式中,免疫球蛋白分子包含约150-160kDa的稳定的四链构建体,其中二聚体通过链间重链二硫键连接在一起。在第二种形式中,二聚体不通过链间二硫键连接,其是由共价偶联的轻链和重链组成的约75-80kDa的分子(半抗体)。甚至在亲和纯化之后,这些形式也极难分离。

[0145] 多种完整IgG同种型中出现第二种形式的频率归因于但不限于与抗体的铰链区同种型相关的结构性差异。人IgG4铰链的铰链区中的单个氨基酸取代可以将第二种形式(Angal等人(1993)Molecular Immunology 30:105)的出现显著降低至通常使用人IgG1铰链观察到的水平。本发明包括在铰链、CH2或CH3区具有一个或多个突变的抗体,可以例如期望其在生产中改善所需抗体形式的产量。

[0146] 本文使用的“分离的抗体”是指已经鉴定并且从其天然环境的至少一种组分中分离和/或回收的抗体。例如,已经从生物体的至少一种组分或从天然存在抗体或天然产生抗体的组织或细胞中分离或移出的抗体,是本发明目的的“分离的抗体”。分离的抗体还包括重组细胞内原位的抗体。分离的抗体是经历至少一个纯化或分离步骤的抗体。根据某些实施方案,分离的抗体可以基本上不含其它细胞材料和/或化学物质。

[0147] 术语“特异性结合”等意指抗体或其抗原结合片段与生理条件下相对稳定的抗原形成复合物。用于确定抗体是否与抗原特异性结合的方法是本领域熟知的并且包括例如平衡透析法、表面等离子体共振法等。例如,如本发明上下文所用,“特异性结合”ANGPTL3的抗体包括如表面等离子体共振测定法中测量,以小于约1000nM、小于约500nM、小于约300nM、

小于约200nM、小于约100nM、小于约90nM、小于约80nM、小于约70nM、小于约60nM、小于约50nM、小于约40nM、小于约30nM、小于约20nM、小于约10nM、小于约5nM、小于约4nM、小于约3nM、小于约2nM、小于约1nM或少于约0.5nM的KD结合ANGPTL3或其部分的抗体。然而,特异性结合人ANGPTL3的分离的抗体对来自其它(非人)物种的其它抗原(例如ANGPTL3分子)具有交叉反应性。

[0148] 如与衍生抗体的相应种系序列相比,可用于本发明方法的抗ANGPTL3抗体可以在重链可变结构域和轻链可变结构域的框架区和/或CDR区包含一个或多个氨基酸置换、插入和/或缺失。可以通过比较本文公开的氨基酸序列与例如从抗体序列公共数据库可获得的种系序列,容易地确定这类突变。本发明包括涉及抗体及其抗原结合片段的用途的方法,所述抗体及其抗原结合片段从本文公开的任何氨基酸序列衍生,其中一个或多个框架区和/或CDR区内部的一个或多个氨基酸突变成衍生抗体的种系序列的相应残基,或突变成另一个人类种系序列的相应残基,或突变成相应种系残基的保守性氨基酸置换(这类序列变化在本文统称为“种系突变”)。始于本文公开的重链可变区序列和轻链可变区序列,本领域普通技术人员可以容易地产生包含一个或多个独立种系突变或其组合的众多抗体和抗原结合片段。在某些实施方案中,VH和/或VL结构域内部的全部构架残基和/或CDR残基均回复突变成衍生所述抗体的原始种系序列中存在的残基。在其它实施方案中,仅某些残基回复突变成原始种系序列,例如突变的残基仅存在于FR1的前8个氨基酸内或FR4的最后8个氨基酸内或突变的残基仅存在于CDR1、CDR2或CDR3内。在其它实施方案中,一个或多个构架和/或CDR残基突变成不同种系序列(即与最初衍生抗体的种系序列不同的种系序列)的相应残基。另外,本发明的抗体可以在框架区和/或CDR区内部含有两个或更多个种系突变的任何组合,例如其中某些独立残基突变成特定种系序列的相应残基,而与最初种系序列不同的某些其它残基维持或突变成不同种系序列的相应残基。一旦获得,则可以对含有一个或多个种系突变的抗体和抗原结合片段容易地测试一种或多种所需特性,例如改善的结合特异性,增加的结合亲和力、改善或增强的拮抗性或激动性生物学特性(根据具体情况而定)、降低的免疫原性等。本发明内部涵盖以这种一般方式获得的抗体和抗原结合片段的用途。

[0149] 本发明还包括涉及抗ANGPTL3抗体用途的方法,所述抗体包含本文公开的具有一个或多个保守性置换的任何HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列的变体。例如,本发明包括具有HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列的抗ANGPTL3抗体的用途,相对于本文公开的任何HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列,所述氨基酸序列例如具有10个或更少、8个或更少、6个或更少、4个或更少等的保守性氨基酸置换。

[0150] 如本文所用,术语“表面等离子体共振”指允许例如使用BIAcore™系统(Biacore Life Sciences division of GE Healthcare,Piscataway,NJ),通过检测生物传感器基质内部蛋白质浓度的改变来分析实时相互作用的光学现象。

[0151] 如本文所用,术语“KD”旨在表示特定抗体-抗原相互作用的平衡解离常数。

[0152] 术语“表位”是指与称为互补位的抗体分子可变区中的特异性抗原结合位点相互作用的抗原决定簇。单个抗原可以具有多于一个的表位。因此,不同抗体可以与抗原上的不同区域结合并且可以具有不同的生物学效应。表位可以是构象的或线性的。构象表位由来自线性多肽链不同区段的空间并列的氨基酸产生。线性表位是由多肽链中相邻氨基酸残基产生的表位。在某些情况下,表位可以包括抗原上的糖、磷酸基或磺酰基的部分。

[0153] 根据某些实施方案,本发明方法中使用的抗ANGPTL3抗体是具有pH依赖性结合特征的抗体。如本文所用,表达“pH依赖性结合”意指抗体或其抗原结合片段显示“与中性pH相比,在酸性pH与ANGPTL3的结合作用降低,,(出于本公开的目的,两种表述可以互换使用)。例如“具有pH依赖性结合特征,,的抗体包括相比酸性pH,在中性pH以更高亲和力结合于ANGPTL3的抗体和其抗原结合片段。在某些实施方案中,相比酸性pH,本发明的抗体和抗原结合片段在中性pH以至少3、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100或更高倍的亲和力结合ANGPTL3。

[0154] 根据本发明的这个方面,具有pH依赖性结合特征的抗ANGPTL3抗体可以相对于亲本抗ANGPTL3抗体拥有一个或多个氨基酸变异。例如,具有pH依赖性结合特征的抗ANGPTL3抗体可以例如在亲本抗ANGPTL3抗体的一个或多个CDR中含有一个或多个组氨酸置换或插入。因此,根据本发明的某些实施方案,提供这样的方法,所述方法包括施用包含CDR氨基酸序列(例如重链CDR和轻链CDR)的抗ANGPTL3抗体,所述CDR氨基酸序列与亲本ANGPTL3抗体的CDR氨基酸序列相同,例外是亲本抗体的一个或多个CDR的一个或多个氨基酸置换成组氨酸残基。具有pH依赖性结合作用的抗ANGPTL3抗体可以拥有例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或更多组氨酸置换,所述组氨酸置换在亲本抗体的单个CDR内部或分布遍及亲本抗ANGPTL3抗体的多个(例如,2、3、4、5或6个)CDR。例如,本发明包括具有pH依赖性结合作用的抗ANGPTL3抗体的用途,所述抗体包含在亲本抗ANGPTL3抗体的HCDR1中的一个或多个组氨酸置换、在其HCDR2中的一个或多个组氨酸置换、在其HCDR3中的一个或多个组氨酸置换、在其LCDR1中的一个或多个组氨酸置换、在其LCDR2中的一个或多个组氨酸置换和/或在其LCDR3中的一个或多个组氨酸置换。

[0155] 如本文所用,表述“酸性pH”意指6.0或更小(例如小于约6.0、小于约5.5、小于约5.0等)的pH。表述“酸性pH”包括约6.0、5.95、5.90、5.85、5.8、5.75、5.7、5.65、5.6、5.55、5.5、5.45、5.4、5.35、5.3、5.25、5.2、5.15、5.1、5.05、5.0或更小的pH值。如本文所用,表述“中性pH”意指约7.0至约7.4的pH。表述“中性pH”包括约7.0、7.05、7.1、7.15、7.2、7.25、7.3、7.35和7.4的pH值。

[0156] 可以在本发明上下文使用的抗ANGPTL3抗体的非限制性实例包括依维苏单抗。

[0157] 制备人抗体

[0158] 可以根据本领域已知的产生份离抗体的任何方法,制备抗ANGPTL3抗体。例如,用于本发明方法中的抗体可以通过杂交瘤技术、通过噬菌体展示、通过酵母展示等制备。用于本发明方法中的抗体可以是例如嵌合抗体、人源化抗体或完整人抗体。

[0159] 转基因小鼠中产生人抗体的方法是本领域已知的。任何这类已知方法可以在本发明的上下文中用来产生特异性结合ANGPTL3的人抗体。

[0160] 例如,使用VELOCIMMUNETM技术(参见例如US 6,596,541,Regeneron Pharmaceuticals)或用于产生单克隆抗体的任何其它已知方法,最初分离了针对ANGPTL3的高亲和力嵌合抗体,其具有人类可变区和小鼠恒定区。**VELOCIMMUNE®**技术包括产生转基因小鼠,所述转基因小鼠具有包含与内源性小鼠恒定区基因座可操作连接的人重链和轻链可变区的基因组,使得所述小鼠产生响应于抗原刺激的包含人可变区和小鼠恒定区的抗体。分离编码抗体重链和轻链可变区的DNA并且可操作地连接到编码人重链和轻链恒定区的DNA上。然后在能够表达完整人抗体的细胞中表达DNA。

[0161] 通常,用感兴趣的抗原攻击**VELOCIMMUNE®**小鼠,从表达抗体的小鼠中回收淋巴细胞(例如B细胞)。可以将淋巴细胞与骨髓瘤细胞系融合以制备永生的杂交瘤细胞系,筛选和选择这些杂交瘤细胞系以鉴定产生对感兴趣的抗原特异的抗体的杂交瘤细胞系。分离编码重链和轻链可变区的DNA并且连接到期望的重链和轻链同种型恒定区。这样的抗体蛋白可以在细胞例如CHO细胞中产生。可选择的是,可以直接从抗原特异性淋巴细胞中分离编码抗原特异性嵌合抗体或轻链和重链的可变结构域的DNA。

[0162] 起初,分离具有人可变区和小鼠恒定区的高亲和力嵌合抗体。使用本领域技术人员已知的标准方法,对所述抗体进行表征和选择期望的特征,包括亲和力、选择性、表位等。然后用期望的人恒定区置换小鼠恒定区以产生本发明的完整人抗体,例如野生型或修饰的IgG1或IgG4。虽然所选恒定区可以根据具体用途而变化,但高亲和力抗原结合和靶特异性特征存在于可变区中。

[0163] 通常,当通过与固相上固定或在溶液相中的抗原结合测量时,如上文所述,可以在本发明方法中使用的抗体具有高亲和力。将小鼠恒定区替换为所需的人类恒定区以产生本发明的完整人抗体。虽然所选恒定区可以根据具体用途而变化,但高亲和力抗原结合和靶特异性特征存在于可变区中。

[0164] 可以在本发明方法的上下文中使用的特异性结合ANGPTL3的人抗体或抗体的抗原结合片段的具体实例包括这样的抗体或抗原结合蛋白,其包含来自含有SEQ ID NO:1/5的重链和轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对的六个CDR(HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0165] 在本发明的某些实施方案中,可以在本发明方法中使用的抗ANGPTL3抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:2、3、4、6、7和8的氨基酸序列的重链和轻链互补决定区(HCDR1-HCDR2-HCDR3/LCDR1-LCDR2-LCDR3)。

[0166] 在本发明的某些实施方案中,可以在本发明方法中使用的抗ANGPTL3抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的HCVR和具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的LCVR。

[0167] 药物组合物和施用方法

[0168] 本发明包括这样的方法,所述方法包括给患者施用ANGPTL3抑制剂组合他汀、胆固醇吸收抑制剂和微粒体甘油三酯转运蛋白抑制剂,其中ANGPTL3抑制剂和其它活性剂包含在相同的或不同的药物组合物内。本发明的药物组合物与合适的载体、赋形剂和提供合适的转运、递送、耐受性等的其它试剂一起配制。在所有药物化学家已知的处方集中可以找到许多合适的制剂:Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA。这些制剂包括例如散剂、糊剂、软膏剂、凝胶剂、蜡状物、油状物、脂质剂、含有小泡的脂质剂(阳离子或阴离子)(例如LIPOFECTIN™)、DNA缀合物、无水吸收糊剂、水包油和油包水乳剂、卡巴蜡乳剂(多种分子量的聚乙二醇)、半固体凝胶剂和含有卡巴蜡的半固体混合物。也参见Powell等人,“Compendium of excipients for parenteral formulations” PDA(1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311。

[0169] 可以在本发明的上下文中使用的包含抗ANGPTL3抗体的示例性药物制剂包括如US 8,795,669(特别是其描述包含阿妥莫单抗的示例性制剂)中或W02013/166448或W02012/168491中所述的任何制剂。

[0170] 多种递送系统是已知的并且可以用于施用本发明的药物组合物,例如包封在脂质体、微粒、微胶囊中、能够表达突变病毒的重组细胞、受体介导的胞吞作用(参见例如Wu等人,1987,J.Biol.Chem.262:4429-4432)。施用方法包括但不限于皮内、肌内、腹膜内、静脉内、皮下、鼻内、硬膜外和口服途径。可以通过任何方便的途径施用组合物,例如通过输注或推注、通过上皮或粘膜皮肤内层(mucocutaneous linings)(例如口腔粘膜、直肠和肠粘膜等)的吸收,并且可以与其它生物学活性剂一起施用。

[0171] 可以用标准的针头和注射器皮下或静脉内递送本发明的药物组合物。此外,相对于皮下递送,笔递送装置容易地应用于递送本发明的药物组合物。这种笔递送装置可以是可重复使用的或一次性的。可重复使用的笔递送装置通常使用含有药物组合物的可更换的药筒。一旦药筒内的所有药物组合物被施用并且药筒是空的,则可以容易地丢弃空药筒并且用含有药物组合物的新药筒替换。然后可以重新使用笔递送装置。在一次性笔递送装置中,没有可替换的药筒。相反,一次性笔递送装置预装有容纳在装置内储存器中的药物组合物。一旦储存器中的药物组合物清空,则丢弃整个装置。

[0172] 许多可重复使用的笔和自动注射器递送装置应用于皮下递送本发明的药物组合物中。实例包括但不限于AUTOPENTM(Owen Mumford,Inc.,Woodstock,UK)、DISETRONICTM笔(Disetronic Medical Systems,Bergdorf,Switzerland)、HUMALOG MIX 75/25TM笔、HUMALOGTM笔、HUMALIN 70/30TM笔(Eli Lilly and Co.,Indianapolis,IN)、NOVOPENTM I、II和III(Novo Nordisk,Copenhagen,Denmark)、NOVOPEN JUNIORTM(Novo Nordisk,Copenhagen,Denmark)、BDTM笔(Becton Dickinson,Franklin Lakes,NJ)、OPTIPENTM、OPTIPEN PROTTM、OPTIPEN STARLETTM和OPTICLIKTM(Sanofi-Aventis,Frankfurt,Germany),仅举几个例子。应用于皮下递送本发明药物组合物的一次性笔递送装置的实例包括但不限于SOLOSTARTM笔(Sanofi-Aventis)、FLEXPENTM(Novo Nordisk)和KVIKPENTM(Eli Lilly)、SURECLICKTM自动注射器(Amgen,Thousand Oaks,CA)、PENLETTM(Haselmeier,Stuttgart,Germany)、EPIPEN(Dey,L.P.)和HUMIRATM Pen(Abbott Labs,Abbott Park IL),仅举几个例子。

[0173] 在某些情况下,可以在控制释放系统中输送药物组合物。在一个实施方案中,可以使用泵(参见Langer,同上;Sefton,1987,CRC Crit.Ref.Biomed.Eng.14:201)。在另一个实施方案中,可以使用聚合物材料;参见Medical Applications of Controlled Release,Langer和Wise(编辑),1974,CRC Pres.,Boca Raton,Florida。在又一个实施方案中,可以将控制释放系统放置在组合物的靶标附近,因此仅需要全身剂量的一部分(参见例如Goodson,1984,Medical Applications of Controlled Release,同上,第2卷,第115-138页)。其它控制释放系统在Langer,1990,Science 249:1527-1533的综述中进行了讨论。

[0174] 可注射制剂可以包括用于静脉内、皮下、皮内和肌内注射、滴注等的剂型。这些可注射制剂可以通过已知的方法制备。例如,可以通过将上述抗体或其盐溶解、悬浮或乳化在常规用于注射的无菌水性介质或油性介质中来制备可注射制剂。作为注射用水性介质,例如有生理盐水、含有葡萄糖的等渗溶液和其它助剂等,其可以与适当的增溶剂例如醇(例如乙醇)、多元醇(例如丙二醇、聚乙二醇)、非离子表面活性剂[例如聚山梨酯80、HCO-50(氢化蓖麻油的聚氧乙烯(50mol)加合物)]等组合使用。作为油性介质,使用例如芝麻油、大豆油等,其可以与增溶剂例如苯甲酸苄酯、苯甲醇等组合使用。由此制备的注射剂优选填充在合

适的安瓿中。

[0175] 有利地,将上述用于口服或非肠道使用的药物组合物制备成适于装配活性成分剂量的单位剂量的剂型。这种单位剂量的剂型包括例如片剂、丸剂、胶囊剂、注射剂(安瓿)、栓剂等。

[0176] 剂量

[0177] 根据本发明的方法施用给个体的ANGPTL3抑制剂(例如抗ANGPTL3抗体)的量通常是治疗有效量。如本文所用,短语“ANGPTL3抑制剂的治疗有效量”意指这样的ANGPTL3抑制剂剂量,当与他汀、依折麦布和洛美他派组合施用,所述剂量导致选自总胆固醇、LDL-C、ApoB、ApoA-1、Apo CIII、非HDL-C、VLDL-C、甘油三酯和Lp(a)的一个或多个参数可检出地降低(距基线降低至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或更多),或者这样的量,所述量减少或消除患者对其它治疗活性剂或干预(例如脂蛋白单采血液成分术)的需求。

[0178] 根据本发明的方法施用给个体的ANGPTL3抑制剂(例如抗ANGPTL3抗体)的量通常是治疗有效量。如本文所用,短语“ANGPTL3抑制剂的治疗有效量”意指这样的ANGPTL3抑制剂剂量,当与本文所述的治疗活性剂组合时,所述剂量导致选自总胆固醇、LDL-C、ApoB、ApoA-1、Apo CIII、非HDL-C、VLDL-C、甘油三酯和Lp(a)的一个或多个参数可检出地降低(距基线降低至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或更多)。

[0179] 在抗-ANGPTL3抗体的情况下,治疗有效量可以在约0.05mg至约600mg,例如约0.05mg、约0.1mg、约1.0mg、约1.5mg、约2.0mg、约10mg、约20mg、约30mg、约40mg、约50mg、约60mg、约70mg、约80mg、约90mg、约100mg、约110mg、约120mg、约130mg、约140mg、约160mg、约170mg、约180mg、约190mg、约200mg、约210mg、约220mg、约230mg、约240mg、约250mg、约260mg、约270mg、约280mg、约290mg、约300mg、约310mg、约320mg、约330mg、约340mg、约350mg、约360mg、约370mg、约380mg、约390mg、约400mg、约410mg、约420mg、约430mg、约440mg、约450mg、约460mg、约470mg、约480mg、约490mg、约500mg、约510mg、约520mg、约530mg、约540mg、约550mg、约560mg、约570mg、约580mg、约590mg或约600mg的抗-ANGPTL3抗体。ANGPTL3抑制剂的其它给药量将对本领域普通技术人员而言显而易见并且在本发明的范围内关注。

[0180] 含于各个剂量内部的抗ANGPTL3抗体的量可以用毫克抗体/千克患者体重(即mg/kg)表示。例如抗ANGPTL3抗体可以按约0.0001至约20mg/kg患者体重的剂量施用给患者。

[0181] 组合疗法

[0182] 本发明的方法还可以包括给患者施用ANGPTL3抑制剂组合他汀、依折麦布和洛美他派,其中所述患者不响应于其它标准降脂疗法、不充分受其控制或对其不耐受。在某些实施方案中,可以完全消除进一步施用标准降脂疗法的需求。在某些实施方案中,ANGPTL3抑制剂与本文所述的其它活性剂的组合使用可以与先前开具给患者的降脂疗法组合使用(在此基础上)。例如,在降低患有高脂血症(例如高胆固醇血症)的患者中至少一个脂质/脂蛋白参数方面,其中患者不响应于标准降脂疗法、不充分受其控制或对其不耐受,ANGPTL3抑制剂与依折麦布和洛美他派的组合可以与稳定的每日治疗性他汀方案组合施用于患者。可以在本发明上下文中使用的示例性每日治疗性他汀治疗方案包括例如阿托伐他汀(每日

10、20、40或80mg)、(每日阿托伐他汀/依折麦布10/10mg或40/10mg)、瑞舒伐他汀(每日5、10或20mg)、西立伐他汀(每日0.4或0.8mg)、匹伐他汀(每日1、2或4mg)、氟伐他汀(每日20、40或80mg)、辛伐他汀(5、10、20、40或80mg)、辛伐他汀/依折麦布(每日10/10、20/10、40/10或80/10mg)、洛伐他汀(每日10、20、40或80mg)、普伐他汀(每日10、20、40或80mg)及其组合。在本发明上下文中可以与ANGPTL3抑制剂组合施用的其它脂质修饰疗法例如包括(1)增加脂蛋白分解代谢的活性剂(例如烟酸);和/或(2)在胆固醇消除中发挥作用的LXR转录因子激活物例如22-羟基胆固醇。

[0183] 在本发明上下文中待使用的ANGPTL3抗体的非限制性实例包括依维苏单抗。

[0184] 施用方案

[0185] 根据本发明的某些实施方案,除施用依折麦布和洛美他派之外,多剂量ANGPTL3抑制剂(即包含ANGPTL3抑制剂的药物组合物)还可以历经规定的时间过程(例如在每日治疗性他汀治疗方案或其它背景脂质修饰疗法基础上)给个体施用。根据本发明的这个方面,这些方法包括给个体依次施用多剂量ANGPTL3抑制剂。如本文所用,“依次施用”,意指在不同时间点,例如在预定间隔(例如数小时,数天、数周或数月)分隔的不同天给个体施用每剂量ANGPTL3抑制剂。本发明包括这样的方法,所述方法包括给患者依次施用单一初始剂量的ANGPTL3抑制剂,随后施用一个或多个第二剂量的ANGPTL3抑制剂,并且任选随后施用一个或多个第三剂量的ANGPTL3抑制剂。

[0186] 术语“初始剂量”、“第二剂量”和“第三剂量”是指各剂量包含ANGPTL3抑制剂的药物组合物的施用的时间顺序。因此,“初始剂量”是在治疗方案开始时施用的剂量(也称为“基线剂量”);“第二剂量”是在初始剂量之后施用的剂量;“第三剂量”是在第二剂量之后施用的剂量。初始、第二和第三剂量均可以含有相同量的ANGPTL3抑制剂,但就施用频率而言通常可以彼此不同。然而,在某些实施方案中,治疗期间初始、第二和/或第三剂量中所含的ANGPTL3抑制剂的量彼此不同(例如酌情上调或下调)。在某些实施方案中,在治疗方案开始时将两个或更多个(例如2、3、4或5)剂量作为“负载剂量”施用,随后以较低频率基础施用后续剂量(例如“维持剂量”)。

[0187] 根据本发明的某些示例性实施方案,在紧接之前的剂量后1至26(例如1、1^{1/2}、2、2^{1/2}、3、3^{1/2}、4、4^{1/2}、5、5^{1/2}、6、6^{1/2}、7、7^{1/2}、8、8^{1/2}、9、9^{1/2}、10、10^{1/2}、11、11^{1/2}、12、12^{1/2}、13、13^{1/2}、14、14^{1/2}、15、15^{1/2}、16、16^{1/2}、17、17^{1/2}、18、18^{1/2}、19、19^{1/2}、20、20^{1/2}、21、21^{1/2}、22、22^{1/2}、23、23^{1/2}、24、24^{1/2}、25、25^{1/2}、26、26^{1/2}或更多)周施用每个第二和/或第三剂量。如本文所用,短语“紧接之前的剂量”是指在多次施用的顺序中,在施用顺序中没有间隔剂量的紧邻下一个剂量之前给患者施用的抗原结合分子的剂量。

[0188] 根据本发明这个方面,这些方法可以包括给患者施用任何数目的第二剂和/或第三剂量ANGPTL3抑制剂。例如,在某些实施方案中,仅给患者施用单次第二剂量。在其它实施方案中,给患者施用两次或更多次(例如2、3、4、5、6、7、8次或更多次)第二剂量。同样地,在某些实施方案中,仅给患者施用单次第三剂量。在其它实施方案中,给患者施用两次或更多次(例如2、3、4、5、6、7、8或更多次)第三剂量。

[0189] 在包括多次第二剂量的实施方案中,每个第二剂量可以与其它第二剂量以相同的频率施用。例如,可以在紧接之前的剂量后1至2、4、6、8或更多周给患者施用每个第二剂量。相似地,在包括多次第三剂量的实施方案中,每个第三剂量可以与其它第三剂量以相同的

频率施用。例如,可以在紧接之前的剂量后1至2、4、6、8或更多周给患者施用每个第三剂量。可选择的是,给患者施用第二和/或第三剂量的频率可以在治疗方案的过程中变化。也可以在治疗过程中由医生根据临床检查后个体患者的需要调整施用的频率。同样,伴同疗法例如他汀、依折麦布和洛美他派的剂量可以在治疗期间由医师根据治疗期间观察到的脂质水平正常化情况调整。

实施例

[0190] 提供以下实施例从而为本领域普通技术人员提供如何产生和使用本发明方法和组合物的完整公开和描述,并且不旨在限制本发明人视为其发明的范围。已经作出努力以确保所用数字(例如量、温度等)方面的准确度,但是应当考虑一些试验性误差和偏差。除非另外指明,否则份数是以重量计的份数,分子量是平均分子量,温度是摄氏度,并且压力是在大气压或接近大气压。

[0191] 实施例1.产生针对人ANGPTL3的人抗体

[0192] 以下实施例中所用的示例性ANGPTL3抗体是称作“依维苏单抗”的人抗ANGPTL3抗体。依维苏单抗具有以下氨基酸序列特征:包含SEQ ID NO:1的重链可变区(HCVR)和包含SEQ ID NO:5的轻链可变结构域(LCVR);包含SEQ ID NO:2的重链互补决定区1(HCDR1)、包含SEQ ID NO:3的HCDR2、包含SEQ ID NO:4的HCDR3、包含SEQ ID NO:6的轻链互补决定区1(LCDR1)、包含SEQ ID NO:7的LCDR2和包含SEQ ID NO:8的LCDR3。

[0193] 实施例2:针对ANGPTL3的单克隆抗体依维苏单抗在接受伴同降脂疗法的纯合家族性高胆固醇血症患者中的安全性和疗效

[0194] 纯合型家族性高胆固醇血症(HoFH)涉及低密度脂蛋白(LDL)受体途径中的重大遗传缺陷,导致LDL-胆固醇(LDL-C)灾难性升高和重度过早动脉粥样硬化;对他汀和PCSK9抗体的响应受限。临床前研究和人体遗传分析表明,抑制血管生成素样蛋白(ANGPTL3)降低了LDL-C并且提供心血管益处,与LDL受体无关。将依维苏单抗(人ANGPTL3抗体)施用至九位已经接受最大耐受常规疗法的HoFH成人(三人为无效纯合体)。在第4周,LDL-C下降49%(范围-25%至-90%)(主要终点)。在第4周和第12周之间,LDL-C的总平均峰降幅是 $-58 \pm 18\%$ (-90%至-33%),显示依维苏单抗所致的ANGPTL3抑制作用在HoFH患者中大幅降低LDL-C。

[0195] 低密度脂蛋白(LDL)在动脉粥样硬化发起和进展和心血管疾病风险中发挥主要作用。家族性高胆固醇血症(FH)一般是因编码调节LDL清除的蛋白质的基因突变而出现的障碍。这些基因包括低密度脂蛋白受体(LDLR)、载脂蛋白B(APOB)、9型前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin(PCSk9)和低密度脂蛋白受体衔接子蛋白1(LDLRAP1)的基因(Cuchel等人,2014Eur Heart J 35:2146-57)。杂合FH患者通常具有350至550mg/分升的未治疗的血浆LDL-胆固醇(LDL-C)水平并且通常响应于降脂疗法,包括中等至高剂量的高效价他汀、依折麦布和PCSK9抗体(Goldberg等人,2011J Clin Lipidol 2011;5:S1-8;Kastelein等人,2014Cardiovasc Drugs Ther 28:281-9)。纯合FH(HoFH)是一种在160,000至300,000人中侵袭1位的罕见疾病。HoFH患者携带二个造成FH的突变(纯合或复合杂合),具有高得多的未治疗LDL-C水平,通常范围从500至1000mg/分升(Kolansky等人,2008The American journal of cardiology 102:1438-43),并且明显低响应或不响应于标准降脂疗法。大部分HoFH个体在早年形成重度黄瘤症、冠心病和外周动脉粥样硬化,并且如果不接受治疗,则

可能在30岁之前死亡(Nordestgaard等人,2013Eur Heart J 34:3478-90a)。

[0196] HoFH的遗传和表型异质性可以转换成心血管疾病表现和降脂疗法响应情况的广泛变异性。一些造成FH的突变导致具有残余活性的缺陷性LDL受体,而其它无活性并因此不响应于主要靶向LDL-受体表达过程的常规降脂药物,例如他汀和PCSK9抗体(Santos PC, Pereira AC.2015Pharmacogenomics16:1743-50;Rader DJ,Kastelein JJ.2014Circulation129:1022-32)。最近已经批准了作用机制与LDL受体不相关的药物例如洛美他派和米泊美生用于治疗HoFH,但是它们的使用可以受阻于耐受性问题和安全性问题。

[0197] 血管生成素样蛋白3(ANGPTL3)是肝脏中表达的分泌型蛋白。它通过抑制脂蛋白脂酶和内皮脂肪酶的活性或通过调节LDL产生过程上游的富含甘油三酯的脂蛋白清除过程,起到升高甘油三酯、LDL-C和高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)的血浆水平作用(Wang等人,2015J Lipid Res56:1296-307;Musunuru等人,2010N Engl J Med 363:2220-7)。临床前研究显示,敲除ANGPTL3或通过抗体阻断,可以降低甘油三酯和LDL-C,与LDL-R无关,并且在动脉粥样硬化模型中获得益处(Ando等人,2003JLipid Res 44:1216-23;Dewey等人,2017New Engl J Med;待发表)。与此相符,人体中大规模的遗传研究显示,ANGPTL3中的功能丧失型突变导致甘油三酯、LDL-C和HDL-C的血浆水平降低(Robciuc等人2013Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology 33:1706-13;Pisciotta等人2012Circ Cardiovasc Genet 5:42-50;Minicocci等人2013J Lipid Res54:3481-90;Wang等人,2015Proc Natl Acad Sci U S A112:11630-5;Noto等人,2012Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology 32:805-9;Martin-Campos等人,2012Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry413:552-5),并且甚至更多重要地,这些与ANGPTL3突变相关的脂质变化还与心血管疾病防护作用相关(Stitzziel等人,2017Journal of the American College of Cardiology)。总之,临床前研究以及人类遗传分析表明,ANGPTL3抑制疗法可能降低LDL-C并且在FH患者中提供益处,包括患有重度纯合疾病的那些患者,依维苏单抗是特异性阻断ANGPTL3的完整人单克隆抗体(Gusarova等人,2015J Lipid Res56:1308-17)。在正常的健康志愿者中,依维苏单抗耐受良好并且减少三种主要的脂质级分。实施了II期研究以确定依维苏单抗是否在九位遗传上和表型上证实患有HoFH的患者(包括完全缺少LDLR活性的无效突变纯合型患者)中降低LDL-C水平。

[0198] 方法

[0199] 患者:基于其基因型和表型选择九位患者(5男,4女)。全部患者均展示门腔静脉分流术后LDL-C>500mg/分升或>400mg/分升病史、过早动脉粥样硬化(8/9具有既往心血管事件史)和重度黄瘤症,并且是已知造成FH的LDLR突变的纯合体或复合杂合体(Hobbs等人1992Hum Mutat1:445-66)。三位患者是无效纯合体。全部患者正接受最大耐受降脂疗法。

[0200] 研究治疗:要求患者在整个研究期间维持其常规的背景降脂治疗及膳食和锻炼方案。全部患者均在基线访视期间,在腹部区域皮下接受单次开放标签剂量的依维苏单抗250mg及2周后单次15mg/千克静脉内剂量的依维苏单抗。在5mL一次性使用玻璃小瓶中供应无菌、冻干的依维苏单抗药品以重构至浓度100mg/毫升用于皮下给药和50mg/毫升用于静脉内给药。在静脉内剂量后随访患者长达24周时间以允许依维苏单抗的洗脱,并且提供这些患者入选于扩展研究中。

[0201] **药效学评估:**在施用研究药物之前、基线时以及在开放标签治疗期间和安全性随访阶段期间按定期时间间隔采集禁食血液样品,用于测量LDL-C、非HDL-C,总胆固醇、HDL-C、载脂蛋白B、脂蛋白(a)、甘油三酯、载脂蛋白A-1和其它参数。主要终点是LDL-C从基线至第4周变化的平均值±标准差(SD)百分数。

[0202] **结果**

[0203] 即使大部分患者正在接受最大耐受疗法,基线LDL-C的平均值±SD是376.0±240.9毫克/分升(mg/dL);一位他汀疗法失败并且不再进行每周单采血液成分术的患者具有756mg/dL的基线LDL-C。全部九位患者均报告出现至少一件不良事件,但是无一导致治疗停止。一件事件(归因基础疾病的冠状动脉病)为严重,但是不认定为与研究药物相关。六件事件认定为与研究药物相关,二件为严重程度为轻度的注射部位反应,一件为严重程度为中度的肌痛,并且一件为严重程度为重度鼻出血。

[0204] **药物响应:**施用依维苏单抗后LDL-C从基线至第4周变化的平均值±SD百分数(预先指定的主要终点)是-49±23%(范围:-90%至-25%),距基线绝对变化为-157±90(范围:-323至-71)mg/分升(下表1)。在第4周实现的LDL-C值的平均值±SD是219±191mg/分升。在相同时段内,载脂蛋白B的变化百分数降低46±18%(下表2),非HDL-C的变化百分数降低49±22%(下表3),甘油三酯的变化百分数降低47%(中位数,四分位范围-57%至-38%),并且HDL-C的变化百分数降低36±16%。总体上,第4周和第12周之间出现的LDL-C的平均值±SD峰减幅是-58±18%(范围-90%至-33%),LDL-C的绝对峰减幅为202mg/dL。在第4周(静脉内剂量后2周),一位患者实现LDL-C减幅大于80%。在3位纯合无效患者中,LDL-C的平均值±SD峰减幅在第12周是-48±13%(范围-60%至-33%)。

[0205] 表1:AngPTL3抑制作用对血浆LDL-C浓度的影响

[0206]

LDL-C	
访视	距基线变化百分数的平均值±SE (%)
BL (第 0 周)	0
第 4 天	-12.8 ± 3.7
第 1 周	-24 ± 7.0
第 2 周	-30.2 ± 8.1
第 3 周	-41.4 ± 8.3
第 4 周	-49.2 ± 7.7
第 5 周	-46.8 ± 5.1
第 6 周	-52.1 ± 4.9
第 8 周	-51.6 ± 6.0
第 10 周	-45.6 ± 4.6
第 12 周	-36.6 ± 6.4

[0207] 表2:AngPTL3抑制作用对载脂蛋白B浓度的影响

载脂蛋白 B	
访视	距基线变化百分数的平均值±SE (%)
BL (第 0 周)	0
第 2 周	-24.2 ± 7
第 3 周	-38.6 ± 7.3
第 4 周	-45.9 ± 6.1
第 5 周	-42.3 ± 4.7
第 6 周	-43.1 ± 4.9
第 8 周	-42.7 ± 4.8
第 12 周	-29.5 ± 7.2

[0209] 表3:AngPTL3抑制作用对非HDL-C浓度的影响

非-HDL-C	
访视	距基线变化百分数的平均值±SE (%)
BL (第 0 周)	0
第 4 天	-13.6 ± 3.6
第 1 周	-24.1 ± 6.7
第 2 周	-29.6 ± 7.8
第 3 周	-41.6 ± 8
第 4 周	-48.9 ± 7.4
第 5 周	-46.6 ± 5.0
第 6 周	-51.5 ± 4.8
第 8 周	-50.6 ± 5.7
第 10 周	-44.8 ± 4.4
第 12 周	-36.4 ± 6.2

[0211] 在九个HoFH成人(包含三个无效纯合体)中施用完整人单克隆ANGPTL3阻断性抗体依维苏单抗,产生有意义的LDL-C降低。重要的是,这些降低基于采用伴随或未伴随洛美他派、PCSK9单克隆抗体或门腔静脉分流术的稳定、最大耐受降脂疗法时已经实现的基线水平。这些结果提供了以下概念验证:治疗HoFH时,基于标准护理,通过依维苏单抗额外大幅降低LDL-C,同时有可能在某些显示极高LDL-C水平的患者中使LDL-C正常化。在基线时作为

250mg皮下注射剂给予和第2周时作为15mg/千克静脉内输注给予的依维苏单抗耐受良好。在最近报道的健康人志愿者首次人体内研究中,还显示依维苏单抗减少LDL-C并且在人数更多的患者中也耐受良好(Dewey等人,2017New Engl J Med;待发表)。全部九位患者,包括三位缺少LDLR活性的纯合无效患者,均显示有临床意义的LDL-C距基线降低。结合最近的临床前研究和人体遗传分析,结果表明,Angptl3抑制作用不仅可以降低LDL-C和甘油三酯,还提供心血管疾病防护作用。这些研究为患有严重家族性高胆固醇血症的患者提供了耐受良好和有效治疗的真实希望。基于胆固醇治疗个体协作(CTTC)分析(Cholesterol Treatment Trialists(CTT)Collaboration 2010Lancet376:1670-81),LDL-C的绝对降幅39mg/dL对应于4-5年他汀治疗期间相对风险降低22%;当考虑到治疗持续时间更短时,PCSK9抗体的最近结果数据支持相似的每单位LDL-C降幅的风险降低(Sabatine等人,2017N Engl J Med 3-17-2017电子出版;待发表)。结合关于ANGPTL3突变对心血管风险的保护作用的遗传数据(Stitzziel等人,2017Journal of the American College of Cardiology69(16):2054-2063),HoFH患者中用依维苏单抗实现的绝对降幅150-200mg/dL可能对这些极高风险患者具有前所未有的益处。

[0212] 目前仍在研究LDL-C如此大幅降低的机理。依维苏单抗缓解了ANGPTL3对脂蛋白脂酶(甘油三酯的主要调节物)和内皮脂肪酶(HDL-C的调节物)的正常抑制作用(Shimamura等人,2007Arteriosclerosis,thrombosis,and vascular biology 27:366-72);因此,通过依维苏单抗同时降低甘油三酯和HDL-C。结合最近体内研究的结果(Wang等人,2015JLipid Res 56:1296-307),本发明结果表明,依维苏单抗对LDL-C的作用涉及在LDL-粒子形成上游发挥作用的典型机理和非典型机理的组合。在小鼠模型中,用依维苏单抗失活ANGPTL3并不影响肝脏分泌的VLDL的数目,但是定性地改变产生的VLDL粒子。在分泌后,VLDL快速水解以形成甘油三酯更少的VLDL残余物,原因在于依维苏单抗诱导的脂蛋白脂酶上调,这可能增加它们借助LDL受体之外的受体的清除过程。对于随HDL-C所见的适度降幅,涉及内皮脂肪酶的先前广泛遗传分析(Voight等人,2012Lancet 380:572-80),以及关于ANGPTL3防护作用的最近遗传研究结果(Dewey 2017,Stitzziel 2017),与新形成的观点相符:HDL-C水平不直接影响心血管风险(Ko等人,2016Journal of the American College of Cardiology 68:2073-83)。

[0213] 在研究期间,患者C和患者G同时接受洛美他派-微粒体甘油三酯转运蛋白抑制剂。静脉内施用依维苏单抗后2周,这些患者显示LDL-C分别降低90%和44%,从而提出洛美他派(影响VLDL产生)和依维苏单抗(影响分泌型VLDL的特征)之间相乘协同的假设。但是,患者D未接受洛美他派并且在第4周显示LDL-C下降-77%。

[0214] 本文中报道的结果提供了以下概念验证:依维苏单抗对ANGPTL3的抑制在正在接受稳定降脂疗法的HoFH患者(包括具有无效/无效突变的那些患者)中导致额外的LDL-C大幅降低。依维苏单抗添加疗法在这项研究中四位HoFH参与者中引起LDL-C浓度正常化。例如,47岁女性患者C显示高于26岁时800mg/分升的LDL-C值。随着连续引入大剂量他汀、依折麦布和洛美他派,她的脂质谱渐进性改善(达到150至170mg/分升)。静脉内施用依维苏单抗后2周,LDL-C在第4周达到15mg/分升。

[0215] 实施例3:依维苏单抗对ANGPTL3的抑制在显示TG和/或LDL-C适度升高的个体中降低甘油三酯(TG)和LDL-C

[0216] LDL-C和TG升高已经与CHD风险升高关联。最近发现已经显示血管生成素样3 (ANGPTL3) 在脂质代谢中的核心作用。人体中ANGPTL3功能丧失 (LoF) 已经与TG、LDL-C和HDL-C降低相关。依维苏单抗是正在开发用于治疗血脂异常(包括高甘油三酯血症和高胆固醇血症)的ANGPTL3特异性人单克隆抗体。

[0217] 方法

[0218] 本发明研究构成在TG ($150 \leq TG \leq 450 \text{mg/dL}$) 和/或LDL C ($\geq 100 \text{mg/dL}$) 升高的个体中皮下(SC)或静脉内(IV)施用依维苏单抗的I期、首次人体内、递增单剂量、安慰剂(PBO)对照、双盲研究。八十三位个体随机分配至该研究(9位在PBO SC组中;12位在PBO IV组中;11位在75mgSC组中;12位在150mg SC组中;9位在250mg SC组中;10位在5mg/kg IV组中;9位在10mg/kg IV组中;并且11位在20mg/kg IV组中)。

[0219] 结果

[0220] 这项试验中显示依维苏单抗耐受良好。四十一(41)位个体报告了至少一种治疗期间发生的不良事件(TEAE):依维苏单抗组中有32位 [$\pm 51.6\%$] 而PBO组中9位 [$\pm 42.9\%$]。无一严重,并且没有个体因TEAE停止。最频繁的TEAE是头痛(7位 [11.3%]与0位 [0%])及ALT/AST升高 [$>2 \times \text{ULN}$] (5位治疗的个体与1位PBO个体)。不存在剂量相关的安全性趋势。在第4天观察到最大TG下降,各依维苏单抗剂量之间的中位数距基线变化%为 -1.0% 至 -75.0% ,并且对于PBO,其为 $+25.3\%$ 。在第11天,各依维苏单抗剂量之间LDL-C平均距基线变化%为 -3.4% 至 -25.5% ,并且对于PBO,其为 $+10.2$ 。TG和LDL下降的持续时间呈剂量依赖性并且在施用20mg/kg IV依维苏单抗后,分别延长至64天和43天。还观察到HDL-C、VLDL-C、总胆固醇、非HDL-C、ApoA1和ApoB的剂量依赖性降低,但是对Lp(a)无明显影响。

[0221] 在TG和/或LDL-C中等升高的健康个体中总体上良好耐受依维苏单抗的施用。另外,依维苏单抗引起TG快速和大幅度降低,以及LDL-C和HDL-C降低,这扼要重述了ANGPTL3 LOF突变纯合个体中观察到的低脂蛋白血症。

[0222] 实施例4:依维苏单抗在患有难治性高胆固醇血症的患者中的功效和安全性

[0223] 为了降低动脉粥样硬化性心血管疾病的风险,患有杂合型家族性高胆固醇血症的患者典型地用降脂疗法治疗,所述降脂疗法可以例如包括他汀和PCSK9抑制剂。尽管每种标准护理疗法有助于LDL胆固醇水平的总体降低,但在具有高基线LDL胆固醇水平的患者中仍然存在残余的未满足的需求(van Delden等人2018Atherosclerosis 277:327-333; Rallidis等人2020Atherosclerosis 309:67-69)。这在最近的ESC-EAS脂质管理指南的背景下特别相关,该指南规定了具有动脉粥样硬化性心血管疾病风险的目标LDL胆固醇水平。此外,一些患有杂合型家族性高胆固醇血症的患者可能具有与标准护理降脂疗法相关的不良事件,这限制了治疗方案的优化。

[0224] 评估了静脉内(IV)和皮下(SC)依维苏单抗(血管生成素样蛋白3抑制剂)在尽管用最大耐受的降脂疗法(包括PCSK9抑制剂)治疗但仍患有难治性高胆固醇血症的患者中的功效和安全性。

[0225] 方法

[0226] 双盲2期试验(NCT03175367)招募杂合型家族性高胆固醇血症(heFH)/非heFH患者,其中筛选LDL-C $\geq 70 \text{mg/dL}$ 且具有ASCVD或筛选 $\geq 100 \text{mg/dL}$ 且不具有ASCVD。将患者随机分成皮下(SC)或静脉内(IV)治疗组。IV组包括每4周(Q4W)接受依维苏单抗(EVIN)15mg/kg

(n=38)、EVIN 5mg/kg (n=35) 或安慰剂(PBO;n=33)的106名患者(HeFH,81.1%;非-HeFH,18.9%)。SC组包括160名患者(HeFH,71.9%;非-HeFH,28.1%),每周一次接受EVIN 450mg(QW;n=40)、每2周EVIN 300mg QW(n=42)、EVIN300mg(Q2W;n=39)或PBO QW(n=39)。主要终点是在第16周(W)EVIN相对于PBO的%LDL-C降低。

[0227] 结果

[0228] 对于IV治疗组,EVIN 15mg/kg(143.1[54.4]mg/dL)、EVIN 5mg/kg(146.0[61.0]mg/dL)和PBO(144.5[46.6]mg/dL)的平均(SD)基线LDL-C水平相似。在W16,对比使用PBO的+0.6%变化,EVIN 15mg/kg和5mg/kg分别使LDL-C从基线改变-49.9%和-23.5%,其中在EVIN 15mg/kg和5mg/kg组中基线调整的LS平均值(SE)差异分别为-50.5(9.0)% ($P<0.0001$)和-24.2(9.3)% ($P<0.0109$) (图1)。

[0229] 对于SC治疗组,平均(SD)基线LDL-C水平为:146.3(84.6)mg/dL,EVIN 450mg QW;159.1(73.0)mg/dL,EVIN 300mg QW;136.2(70.2)mg/dL,EVIN 300mg Q2W;和157.8(92.4)mg/dL,PBO。在W16,EVIN450mg QW、300mg QW、300mg Q2W使LDL-C从基线分别改变-47.2%、-44.0%和-29.7%,而使用PBO增加8.8%,其中EVIN 450mgQW、300mg QW和300mg Q2W的基线调整LS平均(SE)差异分别为-56.0(9.0)%、-52.9(9.0)%和-38.5(9.1)% (均 $P<0.0001$) (图1)。

[0230] 对于SC治疗组,次要终点数据显示如下:i)在wk16 Apo B%从基线的变化:安慰剂(LS平均值:6.7%),EVIN 300mg Q2W(LS平均值:-19.9%),EVIN 300mg QW(LS平均值:-35.2%)和EVIN 450mg QW(LS平均值:-38.8%);ii)在wk16非HDL-C%从基线的变化:安慰剂(LS平均值:8.0%),EVIN 300mg Q2W(LS平均值:-31.3%),EVIN 300mg QW(LS平均值:-45.8%)和EVIN 450mg QW(LS平均值:-50.6%);iii)在wk16TC%从基线的变化:安慰剂(LS平均值:6.1%),EVIN300mgQ2W(LS平均值:-31.0%),EVIN 300mg QW(LS平均值:-40.3%)和EVIN 450mg QW(LS平均值:-45.4%);iv)在wk16LDL-C降低 $\geq 30\%$ 的患者:安慰剂(11.3%),EVIN 300mg Q2W(68.1%),EVIN 300mg QW(73.9%)和EVIN 450mg QW(71.4%);v)在wk16 LDL-C降低 $\geq 50\%$ 的患者:安慰剂(5.2%),EVIN 300mg Q2W(28.6%),EVIN 300mg QW(53.7%)和EVIN450mg QW(60.6%);vi)在wk16 TG%从基线的变化:安慰剂(LS平均值:8.1%),EVIN 300mg Q2W(LS平均值:-38.0%),EVIN 300mg QW(LS平均值:-47.7%)和EVIN 450mg QW(LS平均值:-53.4%);;和vii)在wk16具有计算的LDL-C < 50 mg/dL的患者:安慰剂(5.1%),EVIN 300mg Q2W(22.8%),EVIN 300mg QW(29.7%)和EVIN 450mg QW(40.8%)。

[0231] 次要功效终点结果支持主要功效分析结果。在依维苏单抗300mg SC Q2W和450mg SC QW组中所有上面列出的次要功效测量中,依维苏单抗SC剂量方案与安慰剂相比继续显示出益处,并且在依维苏单抗300mg SC Q2W组中计算的LDL-C < 50 mg/dL。通常,在大多数终点中也观察到剂量反应。

[0232] 在IV治疗组中,83.8%(EVIN 15mg/kg)、75.0%(EVIN 5mg/kg)和69.9%(PBO)的患者发生不良反应(AE);与研究药物相关的一个严重AE(过敏反应:同一天消退)发生在EVIN 15mg/kg。在SC治疗组中,在67.5%(EVIN 450mg QW)、66.7%(EVIN 300mg QW)、82.1%(EVIN 300mg Q2W)和53.8%(PBO)的患者中发生AE。

[0233] 因此,在患有难治性高胆固醇血症的患者中,依维苏单抗(IV和SC)在最大剂量下

使LDL-C显著降低50.5-56.0%，并且通常耐受良好。依维苏单抗的应用降低了这些患有难治性高胆固醇血症的患者中LDL胆固醇和致动脉粥样硬化性脂蛋白的水平。早在第一次基线后脂质评估(第2周)就观察到对皮下和静脉内依维苏单抗治疗的反应或LDL胆固醇水平的降低,并维持至第16周。

[0234] 实施例5:依维苏单抗显著降低患有纯合型家族性高胆固醇血症的青少年患者的低密度脂蛋白胆固醇

[0235] 纯合型家族性高胆固醇血症(HoFH)的特征在于极高的低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)和非常年轻的心血管疾病,强调了对早期和积极治疗的需要。在患有HoFH的青少年患者中评估依维苏单抗的安全性和功效。

[0236] 方法

[0237] 在患有HoFH的青少年(年龄12- <18岁)患者中进行依维苏单抗开放标签3期试验(NCT03409744)的中期分析。参与先前的3期依维苏单抗研究(NCT03399786)或未经依维苏单抗治疗的患者每4周接受静脉内依维苏单抗15mg/kg。对所有患者进行基因分型。

[0238] 结果

[0239] 总计13名青少年患者(8名男性;平均[范围]年龄14[12-17]岁)接受治疗,平均(范围)持续时间为34.5(4-61)周。在基线时,平均(标准偏差[SD])LDL-C为310.3(97.3)mg/dL;8名患者(61.5%)接受脂蛋白单采血液成分术。治疗紧急不良反应(TEAE)发生在6名(46.2%)患者中;在>1名患者中未报告TEAE。一名患者报告了两个严重的不良反应(血管假性动脉瘤,动静脉瘘部位并发症,两者都与研究药物无关)。在第24周可获得9名患者的LDL-C数据。总体而言,依维苏单抗使平均LDL-C从基线至第24周降低52.4%(平均[SD],183.4[101.6]mg/dL)。在第24周时,在具有空-空(n=4)和非空-空(n=5)LDL-受体变体的患者中,依维苏单抗使平均LDL-C水平从基线分别降低67.2%和40.6%。

[0240] 因此,在患有HoFH的青少年患者中,依维苏单抗通常耐受良好并且显著降低LDL-C。

<210> 3
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> HCDR2
 <400> 3
 Ile Ser Gly Asp Gly Gly Ser Thr
 1 5
 <210> 4
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> HCDR3
 <400> 4
 Ala Lys Asp Leu Arg Asn Thr Ile Phe Gly Val Val Ile Pro Asp Ala
 1 5 10 15
 Phe Asp Ile
 <210> 5
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> LCVR
 <400> 5
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

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

计算的LDL-C LS平均值 (± SE) 随时间距基线的百分比变化

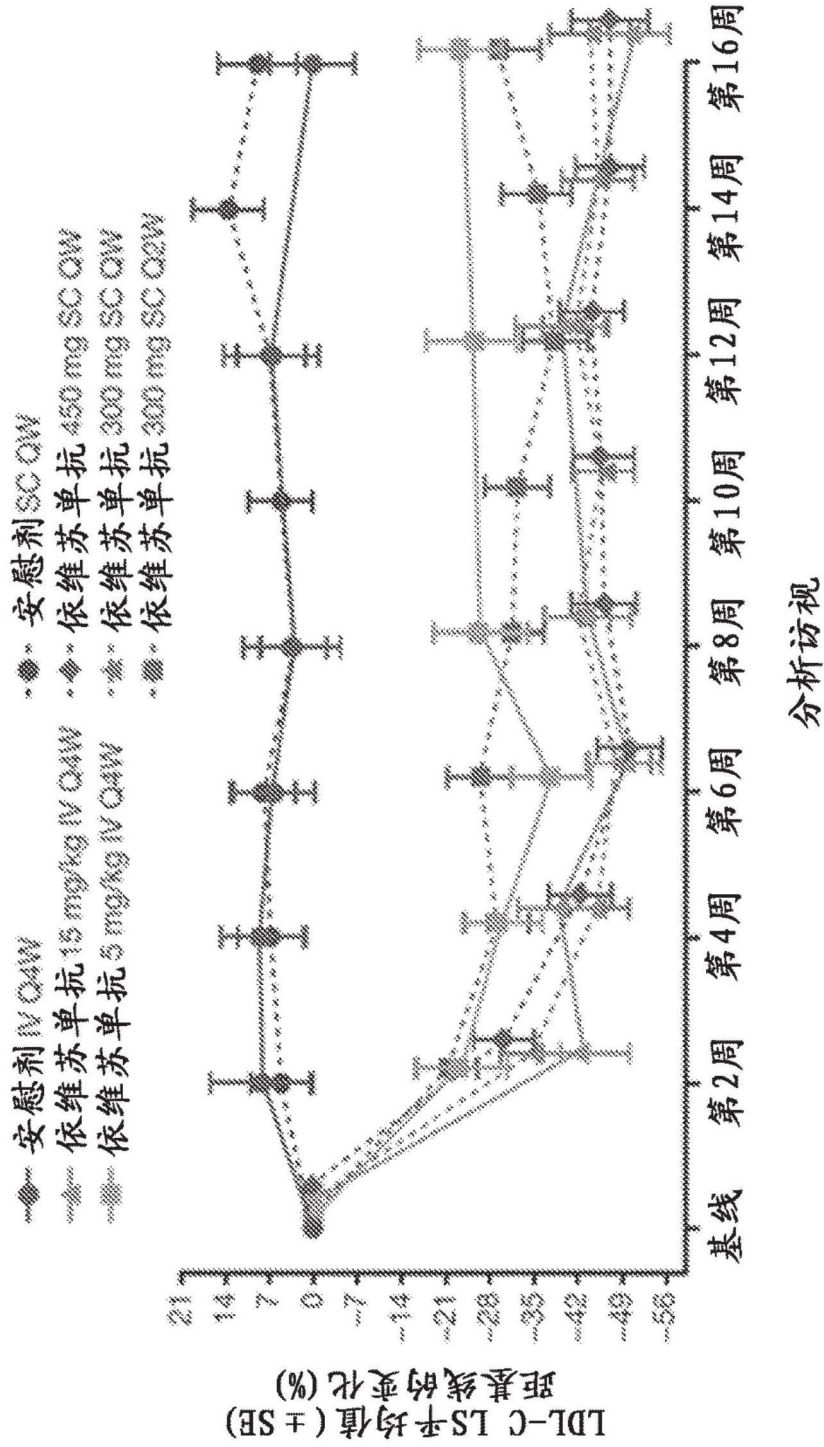


图1