(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119345221 A
(43)申请公布日 2025.01.24

(21)申请号 202411481996.2

(22)申请日 2017.10.18

(30)优先权数据
62/409,816 2016.10.18 US
62/422,028 2016.11.14 US
62/472,525 2017.03.16 US
62/550,426 2017.08.25 US

(62)分案原申请数据
201780077941.7 2017.10.18

(71)申请人 诺华股份有限公司
地址 瑞士巴塞尔

(72)发明人 P·韦恩加德 D·卡伦德

(74)专利代理机构 北京市金杜律师事务所 11256
专利代理师 郜红 郑永胜

(51)Int.Cl.
A61K 31/713(2006.01)
A61K 48/00(2006.01)
A61P 9/10(2006.01)
C12N 15/113(2010.01)
C07H 21/02(2006.01)

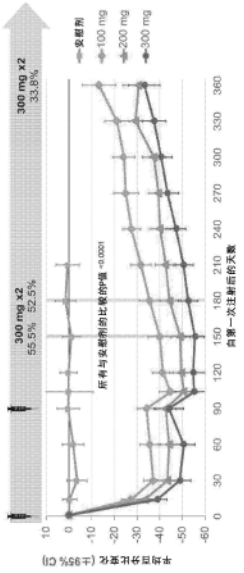
权利要求书4页 说明书50页
序列表（电子公布） 附图17页

(54)发明名称

通过降低前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶Kexin 9(PCSK9)蛋白质预防心血管事件的方法

(57)摘要

本发明涉及在患有动脉粥样硬化性心血管疾或者动脉粥样硬化性心血管疾病等同风险的对象中降低低密度脂蛋白胆固醇或预防心脏事件的方法,包括给对象施用预防有效量的RNAi剂。另外,本发明涉及一种预防对象中动脉粥样硬化性心血管疾病发展的方法,包括给对象施用预防有效量的RNAi剂。此外,本发明涉及治疗患有动脉粥样硬化性心血管疾病或动脉粥样硬化性心血管疾病等同风险的对象的方法,包括给对象施用治疗有效量的RNAi剂。



CN 119345221 A

1.一种降低对象中低密度脂蛋白胆固醇的方法,所述方法包括给对象施用治疗有效量的干扰核糖核酸(RNAi)剂,

其中所述RNAi是双链核糖核酸,其包含形成双链区的有义链和反义链,所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:4的核苷酸序列。

2.一种预防对象中心血管事件的方法,所述方法包括给对象施用治疗有效量的干扰核糖核酸(RNAi)剂,

其中所述RNAi是双链核糖核酸,其包含形成双链区的有义链和反义链,所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:4的核苷酸序列。

3.一种降低对象中心血管死亡率和发病率的方法,所述方法包括给对象施用治疗有效量的干扰核糖核酸(RNAi)剂,

其中所述RNAi是双链核糖核酸,其包含形成双链区的有义链和反义链,所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:4的核苷酸序列。

4.一种预防对象中动脉粥样硬化性心血管疾病发展的方法,所述方法包括给对象施用治疗有效量的干扰核糖核酸(RNAi)剂,

其中所述RNAi是双链核糖核酸,其包含形成双链区的有义链和反义链,所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:4的核苷酸序列。

5.权利要求1-4任一项的方法,其中所述对象具有动脉粥样硬化性心血管疾病(ASCVD)、ASCVD等同风险、升高的心血管疾病风险、杂合性家族性高胆固醇血症或纯合性家族性高胆固醇血症,或者需要降低LDL-C,或者其组合。

6.权利要求1-5任一项的方法,其中所述对象具有大约70mg/dl或更高的基线低密度脂蛋白(LDL-C)水平。

7.权利要求1-6任一项的方法,其中所述对象不患有活动性肝病。

8.权利要求1-7任一项的方法,其中所述对象患有活动性肝病。

9.权利要求7-8任一项的方法,其中活动性肝病通过以下一或多个特征鉴定:丙氨酸氨基转移酶(ALT)大于正常上限(ULN)的两倍,天冬氨酸氨基转移酶(AST)大于ULN的两倍,和总胆红素大于ULN的1.5倍。

10.权利要求1-9任一项的方法,其中所述对象正处于背景降脂治疗中;其中所述背景降脂治疗选自他汀类药物、依泽替米贝和LDL分离术。

11.权利要求10的方法,其中所述背景降脂治疗是他汀类药物。

12.权利要求10-11任一项的方法,其中所述对象处于最大耐受的他汀类药物治疗。

13.权利要求1-12任一项的方法,其中所述对象具有如下一个活多个特点:

a)所述对象具有不高于大约400mg/dl的基线甘油三酯水平,

b)所述对象具有至少大约30ml/min的基线估算的肾小球滤过率(eGFR),

c)所述对象不具有控制不佳的2型糖尿病,

d)所述对象不患有纽约心脏学会(NYHA)II、III或IV级心力衰竭,

e)所述对象的最新已知心室射血分数为30%或更高,

f)所述对象在施用所述RNAi剂的六个月内未经历过重大的不良心血管事件,

g)所述对象未经历出血性卒中,

h)所述对象在施用所述RNAi剂的三个月内没有心律失常,

i)所述对象在施用所述RNAi剂的三个月内不患有未通过药物或通过消融控制的心律失常,

j)所述对象没有心律失常,

k)所述对象是成年人,

l)所述对象患有杂合性家族性高胆固醇血症或纯合性家族性高胆固醇血症,

m)所述对象需要降低LDL-C,

n)所述对象具有大约70mg/dl或更高的基线低密度脂蛋白(LDL-C)水平。

14.权利要求13的方法,其中控制不佳的2型糖尿病通过至少大约10%的基线糖化血红蛋白A1c水平鉴定。

15.权利要求1-14任一项的方法,其中在施用所述RNAi剂后,LDL-C水平与基线水平相比大于大约20%或25%的降低维持15天或更长。

16.权利要求1-15任一项的方法,其中在施用所述RNAi剂后,PCSK9水平与基线水平相比大于大约25%的降低维持30天或更长,其中所述PCSK9基线水平是在施用所述RNAi剂之前测量的。

17.权利要求2或5-16任一项的方法,其中所述心血管事件选自心血管死亡、非致死性心肌梗塞、严重复发性缺血、卒中、症状性肺栓塞以及出血。

18.权利要求1-17任一项的方法,其中施用所述RNAi剂包括负荷阶段和维持阶段。

19.权利要求18的方法,其中所述负荷阶段包括以一或多次剂量施用所述RNAi剂。

20.权利要求19的方法,其中所述负荷阶段包括以至少两次剂量施用所述RNAi剂。

21.权利要求20的方法,其中所述至少两次剂量以时间间隔分开。

22.权利要求21的方法,其中所述时间间隔为大约60至大约120天。

23.权利要求21-22任一项的方法,其中所述至少两次剂量以大约90天的时间间隔分开。

24.权利要求19-23的方法,其中所述剂量包含大约50mg至大约800mg的所述RNAi剂;或包含大约100mg至大约500mg的所述RNAi剂。

25.权利要求24的方法,其中所述剂量包含大约300mg的所述RNAi剂。

26.权利要求18-25任一项的方法,其中所述维持阶段包括以一或多次剂量施用所述RNAi剂。

27.权利要求26的方法,其中所述加载阶段包括以至少两次剂量施用所述RNAi剂。

28.权利要求27的方法,其中所述至少两次剂量以时间间隔分开。

29.权利要求28的方法,其中所述至少两次剂量以规律的时间间隔分开。

30.权利要求29的方法,其中所述规律的时间间隔是大约3个月至大约9个月。

31.权利要求29-30任一项的方法,其中所述规律的时间间隔为大约6个月。

32.权利要求26-31的方法,其中所述剂量包含大约50mg至大约800mg的所述RNAi剂;或包含大约100mg至大约500mg的所述RNAi剂。

33.权利要求32的方法,其中所述剂量包含大约300mg的所述RNAi剂。

34.权利要求1-4任一项的方法,其中所述对象的饮食为改善血脂水平而设计并处于最大耐受的他汀类药物治疗,并且所述对象患有杂合性家族性高胆固醇血症并需要额外降低低密度脂蛋白胆固醇。

35.权利要求1-4任一项的方法,其中所述对象的饮食为改善脂质水平而设计并处于最大耐受的他汀类药物治疗,并且所述对象患有动脉粥样硬化性心血管疾病并需要额外降低低密度脂蛋白胆固醇。

36.权利要求1-4任一项的方法,其中所述对象的饮食为改善脂质水平而设计并处于降低低密度脂蛋白的治疗中,并且所述对象患有纯合性家族性高胆固醇血症并需要额外降低低密度脂蛋白胆固醇。

37.一种治疗对象的方法,所述对象的饮食为改善脂质水平而设计并处于最大耐受的他汀类药物治疗中,其中所述对象患有杂合性家族性高胆固醇血症并需要额外降低低密度脂蛋白胆固醇,

所述方法包括施用治疗有效量的RNAi剂,

其中所述RNAi剂是双链核糖核酸,其包含形成双链区的有义链和反义链,其中所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:4的核苷酸序列。

38.一种治疗对象的方法,所述对象的饮食为改善脂质水平而设计并处于最大耐受的他汀类药物治疗中,其中所述对象患有动脉粥样硬化性心血管疾病并需要额外降低低密度脂蛋白胆固醇,

所述方法包括施用治疗有效量的RNAi剂,

其中所述RNAi剂是双链核糖核酸,其包含形成双链区的有义链和反义链,其中所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:4的核苷酸序列。

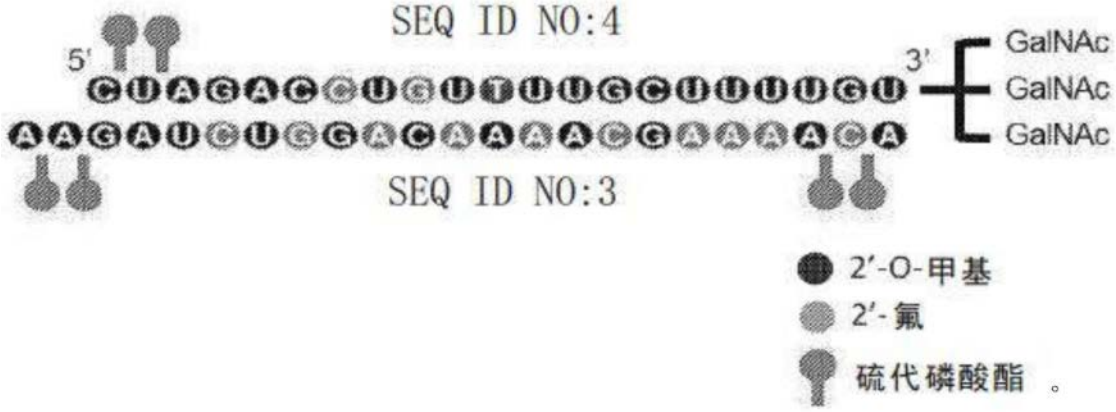
39.一种治疗对象的方法,所述对象的饮食为改善脂质水平而设计并处于降低低密度脂蛋白的治疗中,其中所述对象患有纯合性家族性高胆固醇血症并需要额外降低低密度脂蛋白胆固醇,

所述方法包括施用治疗有效量的RNAi剂,

其中所述RNAi剂是双链核糖核酸,其包含形成双链区的有义链和反义链,其中所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:4的核苷酸序列。

40.根据权利要求1-39中任一项所述的方法,其中所述受试者具有选自由以下组成的组的一个或多个风险因素:患有急性冠状动脉综合征;具有心肌梗死、稳定型或不稳定型心绞痛、冠状动脉或其它动脉血运重建、中风、短暂性脑缺血发作或动脉粥样硬化起源的外周动脉疾病的病史;男性;具有心脏病、ASCVD或ASCVD风险等同物的家族史;有吸烟习惯;缺乏身体活动;患有高血压;患有高血胆固醇;患有糖尿病或糖尿病前期;超重或肥胖;有妊娠期先兆子痫的病史;具有无法控制的压力和/或愤怒;绝经后;饮食不健康;年龄为55岁或以上;患有睡眠呼吸暂停;和患有贫血。

41.权利要求1-40任一项的方法,其中所述RNAi剂如下图所示:



42.根据权利要求1-41中任一项所述的方法,其中所述RNAi剂以约200mg/ml配制在合适的药物制剂中,从而向受试者施用约1.5ml所述制剂可提供所述固定剂量的RNAi剂。

通过降低前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶Kexin 9(PCSK9)蛋白质预防心血管事件的方法

[0001] 本申请是申请日为2017年10月18日、申请号为201780077941.7、发明名称为“通过降低前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶Kexin 9(PCSK9)蛋白质预防心血管事件的方法”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请要求如下美国临时专利申请的权益:2016年10月18日提交的美国临时专利申请62/409,816,2016年11月14日提交的美国临时专利申请62/422,028,2017年3月16日提交的美国临时专利申请62/472,525,2017年8月25日提交的美国临时专利申请62/550,426,这些临时专利申请每一篇的全部内容在此并入本文作参考。

[0004] 本申请还涉及2015年8月25日提交的美国临时专利申请62/209,526,2016年8月25日提交的PCT申请PCT/US2016/048666,2012年12月5日提交的美国临时申请61/733,518,2013年3月15日提交的美国临时申请61/793,530,2013年10月4日提交的美国临时申请61/886,916,2013年10月17日提交的美国临时申请61/892,188,2013年12月5日提交的PCT申请PCT/US2013/073349,和2015年6月5日提交的美国专利申请14/650,128,这些临时专利和PCT申请每一篇均以其全部内容并入本文作为参考。

[0005] 序列表

[0006] 本申请包含序列表,其已经以ASCII格式电子提交,其全部内容并入本文作参考。在2017年10月18日创建的所述ASCII拷贝命名为A115-2_WO_SL.txt,大小为1,800字节。

发明背景

[0008] 动脉粥样硬化性心血管疾病(ASCVD)仍然是对全球健康的挑战。动脉粥样硬化是一种系统性疾病过程,其特征是在动脉壁内积聚脂肪沉积物、炎性细胞和瘢痕组织,是大多数临床心血管事件的根本原因。虽然已经开发了各种类型的治疗和预防措施,但是降低低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)仍然是用于对抗ASCVD的可靠策略。为此,他汀类药物是一种广泛用于降低脂质水平的疗法,但许多风险中的对象仍然具有升高的LDL-C水平。

[0009] 最近已将前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶kexin 9(PCSK9)鉴定是降低LDL-C水平的靶。PCSK9是枯草杆菌蛋白酶丝氨酸蛋白酶家族的成员,示出在胆固醇代谢中起作用。

[0010] 已经开发了阻断PCSK9的单克隆抗体,及证明其可降低循环的PCSK9水平和降低LDL-C浓度。但是PCSK9的单克隆抗体具有短暂的作用持续时间,这可能导致重度给药以及经济负担。

[0011] 因此,本领域需要旨在降低LDL-C水平及最终治疗或预防ASCVD的有效治疗或预防措施。

发明概述

[0013] 本发明涉及在有需要的对象的预防或治疗方法中抑制PCSK9合成的RNA干扰(RNAi)剂的用途。

[0014] 一方面,本发明涉及降低对象中LDL-C的方法。所述方法包括给对象施用有效量的RNAi剂,其中所述RNAi剂是包含形成双链区的有义链和反义链的双链核糖核酸。所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:4的核苷酸序列。

[0015] 另一方面,本发明涉及预防对象中心血管事件的方法。所述方法包括给对象施用有效量的RNAi剂,其中所述RNAi剂是包含形成双链区的有义链和反义链的双链核糖核酸。所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:4的核苷酸序列。

[0016] 在另一方面,本发明涉及降低对象心血管死亡率和/或发病率的方法。所述方法包括给对象施用有效量的RNAi剂,其中RNAi剂是包含形成双链区的有义链和反义链的双链核糖核酸。所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:2的核苷酸序列。

[0017] 在某些实施方案中,所述对象可能具有ASCVD、ASCVD等同风险、升高的心血管疾病(CVD)风险、杂合性家族性高胆固醇血症或纯合性家族性高胆固醇血症,需要降低低密度脂蛋白胆固醇,或者具有可能受益于LDL-C降低的失调,或者这些的组合。

[0018] 在另一方面,本发明涉及一种预防ASCVD发展的方法。所述方法包括给对象施用有效量的RNAi剂,其中RNAi剂是包含形成双链区的有义链和反义链的双链核糖核酸。所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:4的核苷酸序列。

[0019] 另一方面,本发明涉及治疗具有ASCVD、ASCVD等同风险、升高的CVD风险、杂合性家族性高胆固醇血症、纯合性家族性高胆固醇血症、需要降低LDL-C或其组合的对象的方法。所述方法包括给对象施用有效量的RNAi剂,其中RNAi剂是包含形成双链区的有义链和反义链的双链核糖核酸。所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:4的核苷酸序列。

[0020] 在某些实施方案中,所述方法用于治疗急性冠状动脉综合征和/或高LDL-C水平。

[0021] 在一些实施方案中,所述对象可具有高于大约70mg/dl的基线LDL-C水平,如大约100mg/dl。

[0022] 在某些实施方案中,给对象施用一剂以上的所述RNAi剂。例如,可以给对象施用多剂的所述RNAi剂。在一些实施方案中,以规律间隔给对象施用所述RNAi剂,例如大约每周一次、大约每两周一次、大约每月一次、大约每两月一次、大约每三月一次、大约每四月一次、大约每六月一次、大约每年一次等。

[0023] 在某些实施方案中,所述方法包括在施用所述RNAi剂之前评估对象。评估可包括测量对象的一或多个生化参数,包括脂质参数。在施用所述RNAi剂之前可以测量的参数的例子包括LDL-C、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、PCSK9、总胆固醇、甘油三酯、非HDL-C、极低密度脂蛋白胆固醇(VLDL-C)、载脂蛋白A1(Apo-A1)、载脂蛋白B(Apo-B)、脂蛋白(a)(Lp(a))、C-反应蛋白(CRP)、糖化血红蛋白A1c、丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸氨基转移酶、碱性氨基转移酶、肌酸激酶和总胆红素的水平。在一些实施方案中,在施用所述RNAi剂之前对对象的评估提供了生化参数的基线测量值。在某些实施方案中,在施用所述RNAi剂之前对对象的评估决定和/或影响所述RNAi剂的施用,例如所述RNAi剂的量、所述RNAi剂的施用时间等。

[0024] 在某些实施方案中,所述方法包括在施用一或多剂的所述RNAi剂之间评估对象。评估可以包括对对象的一或多个生化参数进行测量,包括脂质参数。可以在施用一或多剂

的所述RNAi剂之间测量的参数的例子包括LDL-C、HDL-C、PCSK9、总胆固醇、甘油三酯、非HDL-C、VLDL-C、Apo-Al、Apo-B、Lp(a)、CRP、糖化血红蛋白A1c、丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸氨基转移酶、碱性氨基转移酶、肌酸激酶和总胆红素的水平。在一些实施方案中,评估结果可以确定和/或影响所述RNAi剂的后续一户多次施用,例如所述RNAi剂的量、所述RNAi剂的施用时间等。

[0025] 在一些实施方案中,施用所述RNAi剂使LDL-C水平与基线LDL-C水平相比降低超过大约20%。在某些实施方案中,在施用所述RNAi剂后,与基线水平相比,LDL-C水平降低超过大约20%维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间(maintained for,at orthrough):15天或更长时间。

[0026] 在一些实施方案中,施用所述RNAi剂使PCSK9的水平与PCSK9的基线水平相比降低超过大约25%。在某些实施方案中,在施用所述RNAi剂后,与基线水平相比,PCSK9水平降低超过大约25%维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:30天或更长时间。

[0027] 在一些实施方案中,对象可以处于背景降脂治疗中,例如他汀类药物治疗。在某些实施方案中,给对象施用所述RNAi剂,同时继续背景降脂治疗。在某些实施方案中,对象可以处于最大耐受的他汀类药物治疗中。或者,对象可以处于依泽替米贝(ezetimibe)或LDL分离术(LDL apheresis)。

[0028] 在其它实施方案中,所述对象未处于背景降脂治疗中。

[0029] 在某些实施方案中,所述对象没有活动性肝病。例如,所述对象可未表现出丙氨酸氨基转移酶和/或天冬氨酸氨基转移酶的基线水平大于正常上限(ULN)的2倍。在一些实施方案中,所述对象可未表现出总胆红素的基线水平大于ULN的1.5倍。

[0030] 另一方面,本发明涉及用于以下方法的RNAi剂:(i)降低对象的LDL-C;(ii)预防对象的心血管事件;(iii)降低对象的心血管死亡率和/或发病率;(iv)预防对象ASCVD的发展;(v)治疗具有ASCVD、ASCVD等同风险、升高的CVD风险、杂合性家族性高胆固醇血症、纯合性家族性高胆固醇血症、需要降低LDL-C或其组合的对象。所述RNAi剂是双链核糖核酸,其包含形成双链区的有义链和反义链。所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:4的核苷酸序列。这些方法包括给对象施用有效量的所述RNAi剂。

[0031] 本发明通过如下详细描述和附图进一步阐明。

附图简述

[0033] 图1示出根据本发明实施方案的RNAi剂。图1按出现的顺序分别示出SEQ ID NO:4、3和3。

[0034] 图2示出在实施例中讨论的在研究中使用的给药方案概述。

[0035] 图3示出根据本发明的实施方案,在第1天单次施用200mg剂量、300mg剂量和500mg剂量的RNAi剂后,直至第360天的LDL-C平均百分比变化。

[0036] 图4示出根据本发明的实施方案,在第1天单次施用200mg剂量、300mg剂量和500mg剂量RNAi剂以及第1天和第90天施用100mg剂量、200mg剂量和300mg剂量的RNAi剂之后直至第360天的LDL-C的随着时间的平均百分比变化。

[0037] 图5示出根据本发明的实施方案,在第1天单次施用200mg剂量、300mg剂量和500mg剂量RNAi剂以及第1天和第90天施用100mg剂量、200mg剂量和300mg剂量的RNAi剂之后直至

第360天的LDL-C随着时间的平均绝对变化。

[0038] 图6A-6B示出根据本发明的实施方案,在第1天单次施用200mg剂量、300mg剂量和500mg的RNAi剂后,各个患者的LDL-C在基线和第270天之间(图6A)以及在基线和第360天之间(图6B)的变化百分比。

[0039] 图7示出根据本发明的实施方案,在第1天和第90天施用100mg剂量、200mg剂量和300mg剂量的RNAi剂后直至第360天LDL-C的平均百分比变化。

[0040] 图8示出根据本发明的实施方案,在第1天和第90天施用300mg剂量的RNAi剂后,各个患者的LDL-C在基线和第180天之间的百分比变化。

[0041] 图9A-9B示出根据本发明的实施方案,在第1天和第90天施用100mg剂量、200mg剂量和300mg剂量的RNAi剂后,各个患者的LDL-C在基线和第270天之间(图9A)以及在基线和第360天之间(图9B)的变化百分比。

[0042] 图10A-10C示出根据本发明的实施方案,随机分配到双剂量安慰剂组(61名患者)的每个患者的LDL-C从基线到第180天的变化(图10A);随机分配到双剂量300mg RNAi剂(59名患者)的每个患者的LDL-C从基线到第180天的变化(图10B);以及随机分配到双剂量300mg RNAi剂组(59名患者)的LDL-C从基线到第240天的变化(图10C)。虚线表示LDL-C降低39毫克/分升和78毫克/分升(将胆固醇值转换为毫摩尔/升,乘以0.02586)。

[0043] 图11A-11B示出根据本发明的实施方案,在第1天施用300mg剂量RNAi剂(图11A)或在第1天和第90天施用300mg剂量的RNAi剂(图11B)之后,各个患者的LDL-C从基线到第90天和第270天的变化百分比。

[0044] 图12示出根据本发明的实施方案,在第1天单次施用200mg剂量、300mg剂量和500mg剂量RNAi剂后直至第270天的PCSK9水平的平均百分比变化。

[0045] 图13示出根据本发明的实施方案,在第1天和第90天施用100mg剂量、200mg剂量和300mg剂量的RNAi剂后直至第270天的PCSK9水平的平均百分比变化。

[0046] 图14示出根据本发明的实施方案,在一年施用两次或三次300mg剂量的RNAi剂后直至22个月的LDL-C的建模结果。

发明详述

[0048] 本发明至少部分基于使用小干扰RNA(siRNA)分子作为降低PCSK9蛋白水平的手段,其继而降低LDL-C水平。通过RNA干扰,siRNA在细胞内与RNA诱导的沉默复合物(RISC)结合,使其能裂解编码PCSK9的信使RNA(mRNA)。裂解的mRNA被降解及因此不能用于蛋白质翻译,导致PSCK9蛋白水平降低,由此降低LDL-C水平。

[0049] 因此,本发明提供了降低对象中LDL-C的方法,所述方法包括给对象施用有效量例如预防有效量或治疗有效量的RNAi剂。本发明还提供了预防对象中心血管事件的方法,所述方法包括给对象施用有效量的例如预防有效量或治疗有效量的RNAi剂。此外,本发明提供降低对象心血管死亡率和/或发病率的方法,所述方法包括给对象施用有效量例如预防有效量或治疗有效量的RNAi剂。对于这些方法,所述对象可具有ASCVD、ASCVD等同风险、升高的CVD风险、杂合性家族性高胆固醇血症、纯合性家族性高胆固醇血症、需要降低LDL-C或其组合。

[0050] 此外,本发明提供了一种预防对象中ASCVD发展的方法,所述该方法包括给对象施

用有效量的例如预防有效量或治疗有效量的RNAi剂。

[0051] 此外,本发明提供了治疗具有ASCVD、ASCVD等同风险、升高的CVD风险、杂合性家族性高胆固醇血症、纯合性家族性高胆固醇血症、需要降低LDL-C或其组合的对象的方法。所述方法可包括给对象施用有效量例如预防有效量或治疗有效量的RNAi剂。

[0052] 此外,本发明涉及用于本文所述方法的RNAi剂,即用于降低对象中的LDL-C,预防对象的心血管事件,降低对象的心血管死亡率和/或发病率,预防对象中ASCVD发展,和/或治疗具有ASCVD、ASCVD等同风险、升高的CVD风险、杂合性家族性高胆固醇血症、纯合性家族性高胆固醇血症、需要降低LDL-C或其组合的对象。

[0053] 在一些实施方案中,心血管事件可以是重要的不良心血管事件,其包括但不限于死亡、非致死性心肌梗塞、严重复发性缺血、卒中、症状性肺栓塞和出血。

[0054] 降低LDL-C和/或预防心血管事件的方法可以针对具有ASCVD或“ASCVD等同风险”的对象。在某些实施方案中,如果对象具有如下一或多个病症,则其是“ASCVD等同风险”对象:症状性动脉粥样硬化,2型糖尿病,家族性高胆固醇血症,包括通过Framingham风险评分(评分>20%)或等效评估其心血管事件10年风险的目标LDL-C<100mg/dl的对象。在一些实施方案中,对象可具有杂合性家族性高胆固醇血症。

[0055] 降低LDL-C和/或预防心血管事件的方法也可以针对呈现ASCVD的一或多个症状或风险因素的对象、具有“ASCVD等同风险”或者另外具有发生心脏健康问题倾向的对象。这些症状/风险因素可能包括具有急性冠状动脉综合征;具有心肌梗塞病史,稳定或不稳定性心绞痛病史,冠状动脉或其它动脉血管再生病史,卒中病史,短暂性脑缺血发作或者源于动脉粥样硬化的外周动脉疾病病史;男性;具有心脏病、ASCVD或ASCVD等同风险的家族史;具有吸烟习惯;行动不便;具有高血压;具有高血胆固醇;具有糖尿病或糖尿病前兆;超重或肥胖;具有妊娠期先兆子痫病史;具有不受控制的压力和/或愤怒;绝经后;具有不健康的饮食例如高盐、饱和脂肪、反式脂肪、胆固醇和/或精制糖的饮食;年龄在55岁或以上;具有睡眠呼吸暂停;具有贫血症;或者这些的组合。因此,所述方法可以针对例如年轻但具有心脏病家族史的对象,或者吸烟但没有高血压的对象。在某些实施方案中,所述方法可以针对先前经历心脏事件的对象。

[0056] 在一些实施方案中,本发明的方法可以是在患有杂合性家族性高胆固醇血症的对象中降低LDL-C和/或预防心血管事件,所述方法包括施用有效量例如预防有效量或治疗有效量的RNAi剂。在一些实施方案中,本发明的方法可以是在患有ASCVD的对象中降低LDL-C和/或预防心血管事件,所述方法包括施用有效量例如预防有效量或治疗有效量的RNAi剂。在一些实施方案中,本发明的方法可以是具有ASCVD等同风险的对象中降低LDL-C和/或预防心血管事件,所述方法包括施用有效量例如预防有效量或治疗有效量的RNAi剂。在一些实施方案中,本发明的方法可以是在患有纯合性家族性高胆固醇血症的对象中降低LDL-C和/或预防心血管事件,所述方法包括施用有效量例如预防有效量或治疗有效量的RNAi剂。在一些实施方案中,本发明的方法可以是治疗患有杂合性家族性高胆固醇血症的对象,所述方法包括施用有效量例如预防有效量或治疗有效量的RNAi剂。在一些实施方案中,本发明的方法可以是治疗患有ASCVD的对象,该方法包括施用有效量例如预防有效量或治疗有效量的RNAi剂。在一些实施方案中,本发明的方法可以是治疗具有ASCVD等同风险的对象,所述方法包括施用有效量例如预防有效量或治疗有效量的RNAi剂。在一些实施方案中,本

发明的方法可以是治疗患有纯合性家族性高胆固醇血症的对象,所述方法包括施用有效量例如预防有效量或治疗有效量的RNAi剂。在这些实施方案中,所述RNAi剂可以是包含形成双链区的有义链和反义链的双链核糖核酸,其中所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:4的核苷酸序列。所述对象可以是其饮食设计为改善脂质水平,和/或处于降低LDL的治疗中,例如他汀类药物、依泽替米贝或LDL分离术。在一些实施方案中,所述对象可以接受最大耐受的他汀类药物治疗。此外,所述对象可能需要额外降低LDL-C。

[0057] 在某些实施方案中,与基线LDL-C水平相比,施用RNAi剂可以将LDL-C水平降低超过大约20%、或者超过大约25%、或者超过大约30%、或者超过大约35%、或者超过大约40%、或者超过大约45%、或者超过大约50%、或者超过大约55%、或者超过大约60%。

[0058] 在一些实施方案中,在施用RNAi剂后,LDL-C水平的降低可以维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约15天或更长,或者大约20天或更长,或者大约30天或更长,或者大约40天或更长,或者大约50天或更长,或者大约60天或更长,或者大约70天或更长,或者大约80天或更长,或者大约90天或更长,或者大约100天或更长,或者大约110天或更长,或者大约120天或更长,或者大约130天或更长,或者大约140天或更长,或者大约150天或更长,或者大约160天或更长,或者大约170天或更长,或者大约180天或更多,或者大约190天或更长,或者大约200天或更长,或者大约210天或更长,或者大约220天或更长,或者大约230天或更长,或者大约240天或更长,或者大约250天或更多,或者大约260天或更长,或者大约270天或更长,或者大约280天或更长,或者大约290天或更长,或者大约300天或更长,或者大约310天或更长,或者大约320天或更长,或者大约330天或更长,或者大约340天或更长,或者大约350天或更长,或者大约360天或更长。

[0059] 施用大约100mg剂量的RNAi剂,在第15天,可以使LDL-C水平与基线LDL-C水平相比降低超过大约15%或超过大约20%。这种LDL-C的降低可以维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约30天,或者大约60天,或者大约90天或更长。在一些实施方案中,在第30天,与基线LDL-C水平相比,LDL-C的降低超过大约40%且维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约60天、大约90天或更长。

[0060] 施用大约200mg剂量的RNAi剂,在第15天,可以使LDL-C水平与基线LDL-C水平相比降低超过大约15%,或超过大约20%,或超过大约25%,或超过大约30%。这种LDL-C的降低可维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约30天,或者大约60天,或者大约90天,或者大约120天,或者大约150天,或者大约180天,或者大约210天,或者大约240天,或者大约270天,或者大约300天,或者大约330天,或者大约360天,或更长。在一些实施方案中,在第30天,与基线LDL-C水平相比,LDL-C的降低超过大约40%且维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约60天,大约90天或更长。在某些实施方案中,在第15天,与基线LDL-C水平相比,LDL-C的降低超过大约30%且维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约30天,大约60天,大约90天,大约120天,大约150天或更长。在一些实施方案中,在第180天或直至第180天,LDL-C与基线LDL-C水平相比降低超过大约5%。在某些实施方案中,在第15天,与基线LDL-C水平相比,LDL-C的降低超过大约20%且维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约30天,或者大约60天,或者大约90天,或者大约120天,或者大约150天,或者大约180天,或者大约210天,或者大约240天,或者大约270

天,或者大约300天,或者大约330天,或者大约360天。在某些实施方案中,与基线LDL-C水平相比,LDL-C的降低可在第180天超过大约25%,或在第270天超过大约25%,或在第360天超过大约30%。

[0061] 施用大约300mg剂量的RNAi剂,在第15天,与基线LDL-C水平相比,可以使LDL-C水平降低超过大约15%,或超过大约20%,或超过大约25%,或超过大约30%,或超过大约40%。这种LDL-C的降低可维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约30天,或者大约60天,或者大约90天,或者大约120天,或者大约150天,或者大约180天,或者大约210天,或者大约240天,或者大约270天,或者大约300天,或者大约330天,或者大约360天,或更长时间。在一些实施方案中,在第30天,与基线LDL-C水平相比,LDL-C的降低可以超过大约45%,且维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约60天,大约90天或更长时间。在某些实施方案中,在第15天,与基线LDL-C水平相比,LDL-C的降低可超过大约40%且维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约30天,大约60天,大约90天,大约120天,大约150天,或更长时间。在一些实施方案中,在第15天,与基线LDL-C水平相比,LDL-C的降低可超过大约35%,且维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约30天,或者大约60天,或大约90天,或大约120天,或大约150天,或大约180天,或大约210天,或更长。在一些实施方案中,在第15天,与基线LDL-C水平相比,LDL-C的降低可以超过大约30%,且维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约30天,或者大约60天,或者大约90天,或者大约120天,或者大约150天,或者大约180天,或者大约210天,或者大约240天,或者大约270天,或者大约300天,或者大约330天,或者大约360天或更长时间。在某些实施方案中,与基线LDL-C水平相比,LDL-C的降低可在第180天超过大约35%,或在第270天超过大约30%,或在第360天超过大约30%。

[0062] 施用大约500mg剂量的RNAi剂,在第15天,可以使LDL-C水平与基线LDL-C水平相比降低超过大约15%,或超过大约20%,或超过大约25%,或超过大约30%,或超过大约40%。这种LDL-C的降低可维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约30天,或者大约60天,或者大约90天,或者大约120天,或者大约150天,或者大约180天,或者大约210天,或者大约240天,或者大约270天,或者大约300天,或者大约330天,或者大约360天,或更长时间。在一些实施方案中,在第30天,与基线LDL-C水平相比,LDL-C的降低可超过大约50%,且维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约60天,大约90天或更长时间。在某些实施方案中,在第15天,与基线LDL-C水平相比,LDL-C的降低可超过大约40%,且维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约30天,大约60天,大约90天,大约120天,大约150天,大约180天或更长时间。在一些实施方案中,在第15天,与基线LDL-C水平相比,LDL-C的降低可超过大约35%,且维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约30天,或者大约60天,或者大约90天,或者大约120天,或者大约150天,或者大约180天,或者大约210天,或者大约240天,或更长时间。在一些实施方案中,在第15天,与基线LDL-C水平相比,LDL-C的降低可超过大约30%,且维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约30天,或者大约60天,或者大约90天,或者大约120天,或者大约150天,或者大约180天,或者大约210天,或者大约240天,或者大约270天,或者大约300天,或更长时间。在某些实施方案中,与基线LDL-C水平相比,LDL-C的降低可在第180天超过大约40%,或在第270天超过大约30%,或在第360天超过大约30%。

[0063] 在第90天施用第二剂RNAi剂,与基线LDL-C水平相比可以进一步降低LDL-C的水平。例如,在第1天施用大约100mg剂量的RNAi剂后,在第90天施用大约100mg剂量的RNAi剂,与基线LDL-C水平相比,可以降低LDL-C水平,在第104天至第120天和/或第150天超过大约40%,在第104天至第120天、第150天和/或第180天超过大约35%,在第104天至第120天、第150天、第180天和/或第210天超过大约30%,在第104天至第120天、第150天、第180天、第210天、第240天和/或第270天超过大约25%,在第104天至第120天、第150天、第180天、第210天、第240天、第270天、第300天和/或第330天超过大约20%,和/或在第104天至第120天、第150天、第180天、第210天、第240天、第270天、第300天、第330天和/或第360天超过大约10%。在某些实施方案中,与基线LDL-C水平相比,LDL-C的降低可在第180天超过大约35%,或在第270天超过大约25%,或在第360天超过大约10%。

[0064] 在第1天施用大约200mg剂量的RNAi剂后,在第90天施用大约200mg剂量的RNAi剂,可以使LDL-C水平与基线LDL-C水平相比在第104天至第120天和/或第150天降低超过大约45%;在第104天至第120天、第150天、第180天、第210天和/或第240天超过大约40%;在第104天至第120天、第150天、第180天、第210天、第240天、第270天和/或第300天超过大约35%;和/或在第104天至第120天、第150天、第180天、第210天、第240天、第270天、第300天、第330天和/或第360天超过大约30%或更少。在某些实施方案中,与基线LDL-C水平相比,LDL-C的降低可在第180天超过大约40%,或在第270天超过大约35%,或在第360天超过大约30%。

[0065] 在第1天施用大约300mg剂量的RNAi剂后,在第90天施用大约300mg剂量的RNAi剂可以使LDL-C水平与基线LDL-C水平相比在第104天至第120天、第150天、第180天和/或第210天降低超过大约50%;在第104天至第120天、第150天、第180天、第210天、第240天、第270天和/或第300天超过大约40%;在第104天至第120天、第150天、第180天、第210天、第240天、第270天、第300天和/或第310天超过大约35%;和/或在第104天至第120天、第150天、第180天、第210天、第240天、第270天、第300天、第330天和/或第360天超过大约30%或更少。在某些实施方案中,与基线LDL-C水平相比,LDL-C的降低可在第180天超过大约50%,或在第270天超过大约40%,或在第360天超过大约30%。

[0066] 在某些实施方案中,施用RNAi剂可以使PCSK9水平与基线PCSK9水平相比降低超过大约25%,或者超过大约30%,或者超过大约35%,或者超过大约40%,或者超过大约45%,或者超过大约50%,或者超过大约55%,或者超过大约60%,或者超过大约65%,或者超过大约70%,或者超过大约75%,或者超过大约80%,或者超过大约85%,或者超过大约90%,或者超过大约95%。

[0067] 在一些实施方案中,在施用RNAi剂后,PCSK9水平的降低可以维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约15天或更长,或者大约20天或更长,或者大约30天或更长,或者大约40天或更长,或者大约50天或更长,或者大约60天或更长,或者大约70天或更长,或者大约80天或更长,或者大约90天或更长,或者大约100天或更长,或者大约110天或更多,或者大约120天或更长,或者大约130天或更长,或者大约140天或更长,或者大约150天或更长,或者大约160天或更长,或者大约170天或更长,或者大约180天或更多,或者大约190天或更长,或者大约200天或更长,或者大约210天或更长,或者大约220天或更长,或者大约230天或更长,或者大约240天或更长,或者大约250天或更多,或者大约260天或更

长,或者大约270天或更长,或者大约280天或更长,或者大约290天或更长,或者大约300天或更长,或者大约310天或更长,或者大约320天或更多,或大约330天或更多,或者大约340天或更长,或者大约350天或更长,或者大约360天或更长。

[0068] 施用100mg剂量的RNAi剂在第15天可使PCSK9水平与基线PCSK9水平相比降低超过大约20%,或超过大约25%,或超过大约35%,或超过大约40%。PCSK9的这种降低可以维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约30天,或者大约60天,或者大约90天或者更长时间。

[0069] 施用200mg剂量的RNAi剂在第15天可使PCSK9水平与基线PCSK9水平相比降低超过大约20%,或超过大约25%,或超过大约30%,或超过大约35%,或超过大约40%,或超过大约45%,或超过大约50%。PCSK9的这种降低可维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约30天,或者大约60天,或者大约90天或更长时间。在一些实施方案中,与基线PCSK9水平相比,PCSK9的降低可在第30天超过大约60%,且维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约60天,大约90天或更长时间。在某些实施方案中,与基线PCSK9水平相比,PCSK9的降低至第300天可超过大约30%。

[0070] 施用大约300mg剂量的RNAi剂在第15天可使PCSK9水平与基线PCSK9水平相比降低超过大约20%,或超过大约25%,或超过大约30%,或超过大约35%,或超过大约40%,或超过大约45%,或超过大约50%,或超过大约55%,或超过大约60%。这种PCSK9的降低可维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约30天,或者大约60天,或者大约90天或更长时间。在一些实施方案中,与基线PCSK9水平相比,PCSK9的降低在第30天可超过大约60%,且维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约60天,大约90天或更长时间。在某些实施方案中,与基线PCSK9水平相比,PCSK9的降低在第300天可超过大约30%。

[0071] 施用大约500mg剂量的RNAi剂在第15天可使PCSK9水平与基线PCSK9水平相比降低超过大约20%,或超过大约25%,或超过大约30%,或超过大约35%,或超过大约40%,或超过大约45%,或超过大约50%,或超过大约55%,或超过大约60%。PCSK9的这种降低可维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约30天,或者大约60天,或者大约90天或更长时间。在一些实施方案中,与基线PCSK9水平相比,PCSK9的降低在第30天可超过大约70%,且维持如下时间、在如下时间维持或维持直至如下时间:大约60天,大约90天或更长时间。在一些实施方案中,与基线PCSK9水平相比,PCSK9的降低在第300天可超过大约30%。

[0072] 在第1天施用大约100mg剂量的RNAi剂,然后在第90天施用大约100mg剂量的RNAi剂在第104天可以使PCSK9水平与基线PCSK9水平相比降低超过大约20%,或者超过大约25%,或超过大约30%,或超过大约35%,或超过大约40%。PCSK9的这种降低可维持大约120天、在大约120天维持或维持直至大约120天。在一些实施方案中,与基线PCSK9水平相比,PCSK9的降低在第104天可超过大约30%,且维持大约15天、在大约150天维持或维持直至大约150天。

[0073] 在第1天施用大约200mg剂量的RNAi剂,然后在第90天施用大约200mg剂量的RNAi剂在第104天可以使PCSK9水平与基线PCSK9水平相比降低超过大约20%,或者超过大约25%,或超过大约30%,或超过大约35%,或超过大约40%,或超过45%,或超过50%。PCSK9的这种降低可维持大约120天、在大约120天维持或维持直至大约120天。在一些实施方案中,与基线PCSK9水平相比,PCSK9的降低在第104天可超过大约40%,且维持大约1250天、在

大约150天维持或维持直至大约150天。

[0074] 在第1天施用大约300mg剂量的RNAi剂,然后在第90天施用大约300mg剂量的RNAi剂在第104天可以使PCSK9水平与基线PCSK9水平相比降低超过大约20%,或者超过大约25%,或超过大约30%,或超过大约35%,或超过大约40%,或超过45%,或超过50%。PCSK9的这种降低可维持大约120天、在大约120天维持或维持直至大约120天或直至150天。在一些实施方案中,与基线PCSK9水平相比,PCSK9的降低在第120天可超过大约50%或者超过大约55%,且维持大约150天、在大约150天维持或维持直至大约150天。

[0075] 施用大约100mg剂量的RNAi剂在第90天可以使总胆固醇水平与基线总胆固醇水平相比降低超过大约5%,或超过大约10%,或超过大约15%,或超过大约20%;在第90天可使非HDL-C水平与基线非HDL-C水平相比降低超过大约5%,或超过大约10%,或超过大约15%,或超过大约20%,或超过大约25%,或超过大约30%;在第90天可使Apo-B水平与基线Apo-B水平相比降低超过大约5%,或超过大约10%,或超过大约15%,或超过大约20%,或超过大约25%;和/或在第90天可使Lp(a)水平与基线Lp(a)水平相比降低超过大约5%,或超过大约10%,或超过大约15%。

[0076] 施用大约200mg剂量的RNAi剂在第90天可以使总胆固醇水平与基线总胆固醇水平相比降低超过大约5%,或超过大约10%,或超过大约15%,或超过大约20%,或超过大约25%;在第90天可使非HDL-C水平与基线非HDL-C水平相比降低超过大约5%,或超过大约10%,或超过大约15%,或超过大约20%,或超过大约25%,或超过大约30%,或超过大约35%;在第90天可使Apo-B水平与基线Apo-B水平相比降低超过大约5%,或超过大约10%,或超过大约15%,或超过大约20%,或超过大约25%,或超过大约30%;和/或在第90天可使Lp(a)水平与基线Lp(a)水平相比降低超过大约5%,或超过大约10%,或超过大约15%,或超过大约20%。在一些实施方案中,在第180天,总胆固醇的降低超过大约15%,非HDL-C降低超过大约25%,以及Apo-B降低超过大约20%。

[0077] 施用大约300mg剂量的RNAi剂在第90天可使总胆固醇水平与基线总胆固醇水平相比降低超过大约5%,或超过大约10%,或超过大约15%,或超过大约20%,或超过大约25%;在第90天可使非HDL-C水平与基线非HDL-C水平相比降低超过大约5%,或超过大约10%,或超过大约15%,或超过大约20%,或超过大约25%,或超过大约30%,或超过大约35%,或超过大约40%;在第90天可使Apo-B水平与基线Apo-B水平相比降低超过大约5%,或超过大约10%,或超过大约15%,或超过大约20%,或超过大约25%,或超过大约30%,或超过大约35%;和/或在第90天可使Lp(a)水平与基线Lp(a)水平相比降低超过大约5%,或超过大约10%,或超过大约15%,或超过大约20%。

[0078] 施用大约500mg剂量的RNAi剂在第90天可使总胆固醇水平与基线总胆固醇水平相比降低超过大约5%,或超过大约10%,或超过大约15%,或超过大约20%,或超过大约25%,或超过大约30%;在第90天可使非HDL-C水平与基线非HDL-C水平相比降低超过大约5%,或超过大约10%,或超过大约15%,或超过大约20%,或超过大约25%,或超过大约30%,或超过大约35%,或超过大约40%;在第90天可使Apo-B水平与基线Apo-B水平相比降低超过大约5%,或超过大约10%,或超过大约15%,或超过大约20%,或超过大约25%,或超过大约30%,或超过大约35%,或超过大约40%;和/或在第90天可使Lp(a)水平与基线Lp(a)水平相比降低超过大约5%,或超过大约10%,或超过大约15%,或超过大约20%。在一

些实施方案中,在第180天,总胆固醇的降低超过大约25%,以及Apo-B的降低超过大约30%。

[0079] 在第1天施用大约100mg剂量的RNAi剂,然后在第90天施用大约100mg剂量的RNAi剂在第180天可以使总胆固醇水平与基线总胆固醇水平相比降低超过大约5%,或者超过大约10%,或超过大约15%,或超过大约20%;在第180天可使非HDL-C水平与基线非HDL-C水平相比降低超过大约5%,或超过大约10%,或超过大约15%,或超过大约20%,或超过大约25%,或超过大约30%;在第180天可使Apo-B水平与基线Apo-B水平相比降低超过大约5%,或超过大约10%,或超过大约15%,或超过大约20%,或超过大约25%;和/或在第180天可使Lp(a)水平与基线Lp(a)水平相比降低超过大约5%或超过大约10%。

[0080] 在第1天施用大约200mg剂量的RNAi剂,然后在第90天施用大约200mg剂量的RNAi剂在第180天可使总胆固醇水平与基线总胆固醇水平相比降低超过大约5%,或者超过大约10%,或超过大约15%,或超过大约20%,或超过大约25%;在第180天可使非HDL-C水平与基线非HDL-C水平相比降低超过大约5%,或超过大约10%,或超过大约15%,或超过大约20%,或超过大约25%,或超过大约30%,或超过35%;在第180天可使Apo-B水平与基线Apo-B水平相比降低超过大约5%,或超过大约10%,或超过大约15%,或超过大约20%,或超过大约25%,或超过30%,或超过35%;和/或在第180天可使Lp(a)水平与基线Lp(a)水平相比降低超过大约5%,或超过大约10%,或超过15%。

[0081] 在第1天施用大约300mg剂量的RNAi剂,然后在第90天施用大约300mg剂量的RNAi剂在第180天可使总胆固醇水平与基线总胆固醇水平相比降低超过大约5%,或者超过大约10%,或超过大约15%,或超过大约20%,或超过大约25%,或超过30%;在第180天可使非HDL-C水平与基线非HDL-C水平相比降低超过大约5%,或超过大约10%,或超过大约15%,或超过大约20%,或超过大约25%,或超过大约30%,或超过35%,或超过40%,或超过45%;在第180天可使Apo-B水平与基线Apo-B水平相比降低超过大约5%,或超过大约10%,或超过大约15%,或超过大约20%,或超过大约25%,或超过30%,或超过35%,或超过40%;和/或在第180天可使Lp(a)水平与基线Lp(a)水平相比降低超过大约5%,或超过大约10%,或超过15%,或超过20%,或超过25%。

[0082] 在某些实施方案中,所述方法可以进一步包括在施用RNAi剂之前评估对象。评估可以在同一天但在施用RNAi剂之前进行,或者可以在之前一天、或之前两天、或之前三天、或之前五天、或之前六天、或之前七天、或之前八天、或之前九天、或之前十天、或之前11天、或之前12天、或之前13天、或之前14天进行。在一些实施方案中,可以在施用RNAi剂之前一天以上进行评估。

[0083] 在一些实施方案中,评估可以包括测量对象的一或多个生理参数或特征,包括但不限于年龄、身高、体重、体重指数、种族、性别、对象是否正在经历任何其它治疗(例如降脂治疗如他汀类药物治疗)、心血管疾病的诊断、糖尿病的诊断、心率、血压、心电图参数等。

[0084] 在某些实施方案中,评估可包括测量对象的一或多种生化参数。在一些实施方案中,在施用RNAi剂之前进行的测量可以被认为是“基线”测量。包括脂质参数的生化参数的实例可以是但不限于LDL-C、HDL-C、PCSK9、总胆固醇、甘油三酯、非HDL-C、VLDL-C、Apo-A1、Apo-B、Lp(a)、CRP、糖化血红蛋白A1c、丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸氨基转移酶、碱性氨基转移酶、肌酸激酶和总胆红素的水平。在一些实施方案中,在施用RNAi剂之前对对象的评估

可以提供生化参数的基线测量。在某些实施方案中,在施用RNAi剂之前对对象的评估可以确定和/或影响RNAi剂的施用,例如RNAi剂的量、RNAi剂的施用时间等。

[0085] 在某些实施方案中,所述方法可包括在一或多次给药RNAi剂之间评估对象。所述评估可包括在给药之间对一或多个生化参数进行测量,包括脂质参数,例如在施用RNAi剂后1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、20天、21天、28天、30天、35天、40天、42天、45天、49天、50天、56天、60天、63天、70天、77天、80天、84天和/或90天评估。生化测量可包括但不限于LDL-C、HDL-C、PCSK9、总胆固醇、甘油三酯、非HDL-C、VLDL-C、Apo-A1、载脂蛋白B、Lp(a)、CRP、糖化血红蛋白A1c、丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸氨基转移酶、碱性氨基转移酶、肌酸激酶和总胆红素的水平。

[0086] 在一些实施方案中,在一或多次给药RNAi剂之间的评估可以测量对象的生理参数或特征,包括但不限于体重、体重指数、心率、血压、心电图参数等。

[0087] 在一些实施方案中,评估结果可以确定和/或影响RNAi剂的后续施用,例如RNAi剂的量、RNAi剂的施用时间等。例如,得自测量的一或多个结果可以将RNAi剂的后续剂量增加或减少大约5%,或者大约10%,或者大约20%,或者大约30%,或者大约40%,或者大约50%,或者大约60%,或者大约70%,或者大约80%,或者大约90%,或更高。

[0088] 多种生化参数可以确定/影响待施用的RNAi剂的剂量。例如,测量丙氨酸氨基转移酶或天冬氨酸氨基转移酶超过ULN的2倍,和/或总胆红素超过ULN的1.5倍,可以导致降低随后施用RNAi剂的剂量。作为另一个例子,测量糖化血红蛋白A1c超过10%可能导致降低随后施用RNAi剂的剂量。测量LDL-C比基线测量值降低小于大约1%、或小于大约5%、或小于大约10%、或小于大约15%可导致增加后续施用RNAi剂的剂量。所述剂量可以降低或增加,例如大约1%,或者大约5%,或者大约10%,或者大约15%,或者大约20%,或者大约25%,或者大约30%,或者大约35%,或者大约40%,或者大约45%,或者大约50%,或更多。

[0089] 在某些实施方案中,在如上所述在施用RNAi剂之前评估对象后,可以给所述对象施用降脂疗法。降脂疗法可以是一种治疗方案,其中以规律间隔给对象施用降脂疗法。在一些实施方案中,所述对象先前未经历降脂治疗。在某些实施方案中,在施用降脂治疗方案后,可以对所述对象进行另外评估,以测量对象的一或多种生化参数,包括脂质参数,如上所述。然后可以给对象施用如本文所述RNAi剂。

[0090] RNAi剂的施用

[0091] 本发明的方法包括给对象施用有效量例如预防有效量或治疗有效量的RNAi剂。

[0092] “预防有效量”可以包括当给尚未经历或显示病症症状但有发病倾向的对象施用时,足以预防或改善所述病症或所述病症的一或多个症状的RNAi剂的量。改善病症包括减缓病症进程或减轻后发病症的严重程度。“预防有效量”可以根据RNAi剂、如何施用RNAi剂、病症的风险程度、病史、年龄、体重、家族史、基因组成、先前或伴随治疗的类型(如果有的话)以及待治疗患者的其它个体特征而变化。

[0093] “治疗有效量”可包括当给对象施用时足以实现治疗病症(例如减少、改善或维持现有病症或病症的一或多个症状)的RNAi剂的量。“治疗有效量”可以根据RNAi剂、如何施用RNAi剂、病情及其严重程度以及病史、年龄、体重、家族史、基因组成、病理进展阶段、先前或伴随治疗类型(如果有的话)以及待治疗患者的其它个体特征而变化。

[0094] “基线”是指未治疗的病症,如在施用治疗之前的病症。

[0095] RNAi剂可以固定剂量给对象施用。“固定剂量”(例如以mg计的剂量)是用于所有对象的剂量,而不管任何特定的对象相关因素例如体重。或者,RNAi剂可以作为基于体重的剂量(例如以mg/kg计的剂量)给对象施用,这是根据对象的体重而改变的RNAi剂的剂量。在对象接受多剂量的实施方案中,RNAi剂可以以固定剂量和基于体重的剂量的组合施用。

[0096] 在某些实施方案中,RNAi剂以大约50mg至大约800mg,大约100mg至大约800mg,大约150mg至大约800mg,大约200mg至大约800mg,大约250mg至大约800mg,大约300mg至大约800mg,大约350mg至大约800mg,大约400mg至大约800mg,大约450mg至大约800mg,大约500mg至大约800mg,大约550mg至大约800mg,大约600mg至大约800mg,大约650mg至大约800mg,大约700mg至大约800mg,大约750mg至大约800mg,大约50mg至大约750mg,大约100mg至大约750mg,大约150mg至大约750mg,大约200mg至大约750mg,大约250mg至大约750mg,大约300mg至大约750mg,大约350mg至大约750mg,大约400mg至大约750mg,大约450mg至大约750mg,大约500mg至大约750mg,大约550mg至大约750mg,大约600mg至大约750mg,大约650mg至大约750mg,大约700mg至大约750mg,大约50mg至大约700mg,大约100mg至大约700mg,大约150mg至大约700mg,大约200mg至大约700mg,大约250mg至大约700mg,大约300mg至大约700mg,大约350mg至大约700mg,大约400mg至大约700mg,大约450mg至大约700mg,大约500mg至大约700mg,大约550mg至大约700mg,大约600mg至大约700mg,大约650mg至大约700mg,大约50mg至大约650mg,大约100mg至大约650mg,大约150mg至大约650mg,大约200mg至大约650mg,大约250mg至大约650mg,大约300mg至大约650mg,大约350mg至大约650mg,大约400mg至大约650mg,大约450mg至大约650mg,大约500mg至大约650mg,大约550mg至大约650mg,大约600mg至大约650mg,大约50mg至大约600mg,大约100mg至大约600mg,大约150mg至大约600mg,大约200mg至大约600mg,大约250mg至大约600mg,大约300mg至大约600mg,大约350mg至大约600mg,大约400mg至大约600mg,大约450mg至大约600mg,大约500mg至大约600mg,大约550mg至大约600mg,大约50mg至大约550mg,大约100mg至大约550mg,大约150mg至大约550mg,大约200mg至大约550mg,大约250mg至大约550mg,大约300mg至大约550mg,大约350mg至大约550mg,大约400mg至大约550mg,大约450mg至大约550mg,大约500mg至大约550mg,大约50mg至大约500mg,大约100mg至大约500mg,大约150mg至大约500mg,大约200mg至大约500mg,大约250mg至大约500mg,大约300mg至大约500mg,大约350mg至大约500mg,大约400mg至大约500mg,大约450mg至大约500mg,大约50mg至大约450mg,大约100mg至大约450mg,大约150mg至大约450mg,大约200mg至大约450mg,大约250mg至大约450mg,大约300mg至大约450mg,大约350mg至大约450mg,大约400mg至大约450mg,大约50mg至大约400mg,大约100mg至大约400mg,大约150mg至大约400mg,大约200mg至大约400mg,大约250mg至大约400mg,大约300mg至大约400mg,大约350mg至大约400mg,大约50mg至大约350mg,大约100mg至大约350mg,大约150mg至大约350mg,大约200mg至大约350mg,大约250mg至大约350mg,大约300mg至大约350mg,大约50mg至大约300mg,大约100mg至大约300mg,大约150mg至大约300mg,大约200mg至大约300mg,or大约250mg至大约300mg的固定剂量,例如以大约50mg,大约75mg,大约100mg,大约125mg,大约150mg,大约175mg,大约200mg,大约225mg,大约250mg,大约275mg,大约300mg,大约325mg,大约350mg,大约375mg,大约400mg,大约425mg,大约450mg,大约475mg,大约500mg,大约525mg,大约550mg,大约575mg,大约600mg,大约625mg,大约650mg,大约675mg,大约700mg,大约725mg,大约

750mg,大约775mg或者大约800mg的固定剂量给对象施用。介于前述数值之间的数值和范围也是本发明的一部分。

[0097] RNAi剂可以多次剂量施用,例如以规律间隔重复。例如可以以如下间隔给对象施用RNAi剂:大约1天,大约2天,大约3天,大约4天,大约5天,大约6天,大约1周,大约2周,大约3周,大约4周,大约1个月,大约2个月,大约3个月,大约4个月,大约5个月,大约6个月,大约7个月,大约8个月,大约9个月,大约10个月,大约11个月,大约12个月,大约1年,大约13个月,大约14个月,大约15个月,大约16个月,大约17个月,大约18个月,大约19个月,大约20个月,大约21个月,大约22个月,大约23个月,大约24个月或更长时间,例如长期施用。在某些实施方案中,所述固定剂量可以每年一次或多次给对象施用,即2次,3次,4次,5次,6次,7次,8次,9次,10次,11次,12次,13次,14次,15次,16次,17次,18次,19次,20次,21次,22次,23次,24次或更多次。在一些实施方案中,所述固定剂量可以每大约4周,每大约5周,每大约6周,每大约7周,每大约8周,每大约9周,每大约10周,每大约11周,每大约12周,每大约13周,每大约14周,每大约15周,每大约16周,每大约17周,每大约18周,每大约19周,每大约20周,每次大约22周,每大约24周,每大约26周,每大约28周,每大约30周,每大约32周,每大约34周,每大约36周,每大约38周,每大约40周,每次大约42周,每大约44周,每大约46周,每大约48周,每大约50周,每大约52周或更长时间一次给对象施用。在某些实施方案中,所述固定剂量可以每天一次,每大约2天给予一次,每大约3天一次,每大约4天一次,每大约5天一次,每大约6天一次,每次大约7天一次,每大约8天一次,每大约9天一次,每大约10天一次,每大约11天一次,每12天一次,每大约13天一次,每大约14天一次,每大约15天一次,每大约16天一次,每大约17天一次,每大约18天一次,每大约19天一次,每大约20天一次,每大约30天一次,每大约40天一次,每大约50天一次,一次每大约60天,每大约70天一次,每大约80天一次,每大约90天一次,每大约100天一次,每大约110天一次,每大约120天一次,每大约130天一次,每次大约140天一次,每大约150天一次,每大约160天一次,每大约170天一次,每大约180天一次,每大约190天一次,每大约200天一次,每大约210天一次,每大约220天一次,每大约230天一次,每大约240天一次,每大约250天一次,每大约260天一次,每大约270天一次,每大约280天一次,每大约290天一次,每大约300天一次,每大约310天一次,每大约320天一次,每大约330天一次,每大约340天一次,每大约350天一次,每大约360天一次,每大约365天一次或更长时间一次给对象施用。

[0098] 在某些实施方案中,RNAi剂可以在这样的给药方案施用,所述给药方案包括以较短间隔施用的“负荷(loading)阶段”,及其后以更长间隔施用RNAi剂的“维持阶段”。例如,在每周或每两周一次施用一个月后,施用可以重复每月一次,持续六个月或一年或更长时间,例如长期施用。

[0099] 在一些实施方案中,负荷阶段可包括在第一周、前两周、前三周、第一个月等期间施用RNAi剂。

[0100] 在某些实施方案中,可以在负荷阶段期间施用一或多剂。负荷阶段可包括在第1天首次施用RNAi剂,然后在大约1天、大约2天、大约3天、大约4天、大约5天、大约6天、大约7天、大约8天、大约9天、大约10天、大约11天、大约12天、大约13天、大约14天、大约15天、大约16天、大约17天、大约18天、大约19天、大约20天、大约30天、大约40天、大约50天、大约60天、大约70天、大约80天、大约90天、大约100天、大约110天、大约120天、大约130天、大约140天、大

约150天、大约160天、大约170天、大约180天、大约190天、大约200天、大约210天、大约220天、大约230天、大约240天、大约250天、大约260天、大约270天、大约280天、大约290天、大约300天、大约310天、大约320天、大约330天、大约340天、大约350天、大约360天、大约365天或更长时间之后施用一或多次RNAi剂。在一些实施方案中,负荷阶段可包括在第1天施用RNAi剂,然后在大约1周、大约2周、大约3周、大约4周、大约5周、大约6周、大约7周、大约8周、大约9周、大约10周、大约13周、大约15周、大约20周、大约25周、大约26周、大约30周、大约35周、大约40周、大约45周、大约50周、大约52周或更长时间之后第二次施用RNAi剂。在某些实施方案中,负荷阶段可以包括在第1天施用RNAi剂,然后在大约1个月、大约2个月、大约3个月、大约4个月、大约5个月、大约6个月、大约7个月、大约8个月、大约9个月、大约10个月、大约11个月、大约12个月或更长时间之后第二次施用RNAi剂。在一些实施方案中,负荷阶段可以包含额外剂量的RNAi剂(即超过两剂),且每次施用之间的间隔时间可以不同。

[0101] 在某些实施方案中,RNA剂可以在第1天施用及在大约第90天再次施用。

[0102] 在某些实施方案中,在负荷阶段期间将RNAi剂以如下固定剂量给对象施用:大约50mg至大约800mg,大约100mg至大约800mg,大约150mg至大约800mg,大约200mg至大约800mg,大约250mg至大约800mg,大约300mg至大约800mg,大约350mg至大约800mg,大约400mg至大约800mg,大约450mg至大约800mg,大约500mg至大约800mg,大约550mg至大约800mg,大约600mg至大约800mg,大约650mg至大约800mg,大约700mg至大约800mg,大约750mg至大约800mg,大约50mg至大约750mg,大约100mg至大约750mg,大约150mg至大约750mg,大约200mg至大约750mg,大约250mg至大约750mg,大约300mg至大约750mg,大约350mg至大约750mg,大约400mg至大约750mg,大约450mg至大约750mg,大约500mg至大约750mg,大约550mg至大约750mg,大约600mg至大约750mg,大约650mg至大约750mg,大约700mg至大约750mg,大约50mg至大约700mg,大约100mg至大约700mg,大约150mg至大约700mg,大约200mg至大约700mg,大约250mg至大约700mg,大约300mg至大约700mg,大约350mg至大约700mg,大约400mg至大约700mg,大约450mg至大约700mg,大约500mg至大约700mg,大约550mg至大约700mg,大约600mg至大约700mg,大约650mg至大约700mg,大约50mg至大约650mg,大约100mg至大约650mg,大约150mg至大约650mg,大约200mg至大约650mg,大约250mg至大约650mg,大约300mg至大约650mg,大约350mg至大约650mg,大约400mg至大约650mg,大约450mg至大约650mg,大约500mg至大约650mg,大约550mg至大约650mg,大约600mg至大约650mg,大约50mg至大约600mg,大约100mg至大约600mg,大约150mg至大约600mg,大约200mg至大约600mg,大约250mg至大约600mg,大约300mg至大约600mg,大约350mg至大约600mg,大约400mg至大约600mg,大约450mg至大约600mg,大约500mg至大约600mg,大约550mg至大约600mg,大约50mg至大约550mg,大约100mg至大约550mg,大约150mg至大约550mg,大约200mg至大约550mg,大约250mg至大约550mg,大约300mg至大约550mg,大约350mg至大约550mg,大约400mg至大约550mg,大约450mg至大约550mg,大约500mg至大约550mg,大约50mg至大约500mg,大约100mg至大约500mg,大约150mg至大约500mg,大约200mg至大约500mg,大约250mg至大约500mg,大约300mg至大约500mg,大约350mg至大约500mg,大约400mg至大约500mg,大约450mg至大约500mg,大约50mg至大约450mg,大约100mg至大约450mg,大约150mg至大约450mg,大约200mg至大约450mg,大约250mg至大约450mg,大约300mg至大约450mg,大约350mg至大约450mg,大约400mg至大约450mg,大约50mg至大约

400mg,大约100mg至大约400mg,大约150mg至大约400mg,大约200mg至大约400mg,大约250mg至大约400mg,大约300mg至大约400mg,大约350mg至大约400mg,大约50mg至大约350mg,大约100mg至大约350mg,大约150mg至大约350mg,大约200mg至大约350mg,大约250mg至大约350mg,大约300mg至大约350mg,大约50mg至大约300mg,大约100mg至大约300mg,大约150mg至大约300mg,大约200mg至大约300mg,or大约250mg至大约300mg,例如如下固定剂量:大约50mg,大约75mg,大约 100mg,大约125mg,大约150mg,大约175mg,大约200mg,大约225mg,大约250mg,大约275mg,大约300mg,大约325mg,大约350mg,大约375mg,大约400mg,大约425mg,大约450mg,大约475mg,大约500mg,大约525mg,大约550mg,大约575mg,大约600mg,大约 625mg,大约650mg,大约675mg,大约700mg,大约725mg,大约750mg,大约 775mg或者大约800mg。介于前述数值之间的数值和范围也是本发明的一部分。

[0103] 在一些实施方案中,在负荷阶段期间施用的每剂RNAi剂是相同剂量,或者可以不同。

[0104] 在某些实施方案中,RNAi剂可以在第1天以大约300mg剂量施用,及在大约第90天或在第90天以大约300mg剂量施用。

[0105] 在某些实施方案中,维持阶段可包括给对象施用一或多剂RNAi剂。所述施用可以是每1个月一次,每2个月一次,每3个月一次,每4个月一次,每5个月一次,每6个月一次,每7个月一次,每8个月一次,每9个月一次,每10个月一次,每11个月一次,每12个月一次,每13个月一次,每14个月一次,每15个月一次,每16个月一次,每17个月一次,每18个月一次,每19个月一次,每20个月一次,每21个月一次,每22个月一次,每23个月一次,每24个月一次,每25个月一次,每26个月一次,每27个月一次,每28个月一次,每29个月一次月,每30个月一次,每31个月一次,每32个月一次,每33个月一次,每34个月一次,每35个月一次,每36个月一次,每37个月一次,每38个月一次,每39个月一次月,每40个月一次,每41个月一次,每42个月一次,每43个月一次,每44个月一次,每45个月一次,每46个月一次,每47个月一次,每48个月一次或更长时间一次。在一个特定的实施方案中,所述维持剂量给对象每3个月一次,或每6个月一次,或每9个月一次,或每年一次施用。

[0106] 在本发明的实施方案中,维持阶段可以包括以多剂施用RNAi剂,例如以规律间隔重复。例如,可以将RNAi剂以如下间隔给对象施用:大约1天,大约2天,大约3天,大约4天,大约5天,大约6天,大约1周,大约2周,大约3周,大约4周,大约1个月,大约2个月,大约3个月,大约4个月,大约5个月,大约6个月,大约7个月,大约8个月,大约9个月,大约10个月,大约11个月,大约12个月,大约1年,大约13个月,大约14个月,大约15个月,大约16个月,大约17个月,大约18个月,大约19个月,大约20个月,大约21个月,大约22个月,大约23个月,大约24个月或更长时间,例如长期施用。在某些实施方案中,所述固定剂量可以每年一或多次给对象施用,即2次,3次,4次,5次,6次,7次,8次,9次,10次,11次,12次,13次,14次,15次,16次,17次,18次,19次,20次,21次,22次,23次,24次或更多次。在一些实施方案中,所述固定剂量可以每大约4周,每大约5周,每大约6周,每大约7周,每大约8周,每大约9周,每大约10周,每大约11周,每大约12周,每大约13周,每大约14周,每大约15周,每大约16周,每大约17周,每大约18周,每大约19周,每大约20周,每大约22周,每大约24周,每大约26周,每大约28周,每大约30周,每大约32周,每大约34周,每大约36周,每大约38周,每大约40周,每大约42周,每大约44周,每大约46周,每大约48周,每大约50周,每大约52周或更长时间一次给对象施用。在

某些实施方案中,所述固定剂量可以每天1次,每大约2天一次,每大约3天一次,每大约4天一次,每大约5天一次,每大约6天一次,每大约7天一次,每大约8天一次,每大约9天一次,每大约10天一次,每大约11天一次,每大约12天一次,每大约13天一次,每大约14天一次,每大约15天一次,每大约16天一次,每大约17天一次,每大约18天一次,每大约19天一次,每大约20天一次,每大约30天一次,每大约40天一次,每大约50天一次,每大约60天一次,每大约70天一次,每大约80天一次,每大约90天一次,每大约100天一次,每大约110天一次,每大约120天一次,每大约130天一次,每大约140天一次,每大约150天一次,每大约160天一次,每大约170天一次,每大约180天一次,每大约190天一次,每大约200天一次,每大约210天一次,每大约220天一次,每大约230天一次,每大约240天一次,每大约250天一次,每大约260天一次,每大约270天一次天,每大约280天一次,每大约290天一次,每大约300天一次,每大约310天一次,每大约320天一次,每大约330天一次,每大约340天一次,每大约350天一次,每大约360天一次,每大约365天或更长时间一次给对象施用。

[0107] 在某些实施方案中,维持阶段可包括每大约3个月,每大约4个月,每大约6个月,每大约9个月或大约每年给对象施用一剂RNAi剂。

[0108] 一或多次的维持剂量与一或多次的加载剂量可相同或不同。例如,维持剂量可以是给对象施用大约25mg至大约800mg,例如大约25mg,大约50mg,大约75mg,大约100mg,大约125mg,大约150mg,大约175mg,大约200mg,225mg,大约250mg,大约275mg,大约300mg,325mg,大约350mg,大约375mg,大约400mg,425mg,大约450mg,大约475mg,大约500mg,525mg,大约550mg,大约575mg,大约600mg,大约625mg,大约650mg,大约675mg,大约700mg,725mg,大约750mg,大约775mg,或大约800mg。介于前述数值之间的数值和范围也是本发明的一部分。

[0109] 在某些实施方案中,维持阶段可包括每3个月,每4个月,每6个月,每9个月或每年给对象施用300mg剂量的RNAi剂。

[0110] 在某些实施方案中,RNAi剂可以在如下给药方案中施用,所述给药方案包括(1)负荷阶段,其中RNAi剂在第1天和大约第90天以300mg剂量施用;和(2)维持阶段,其中在大约第90天施用后每大约6个月施用300mg的RNAi剂。

[0111] 可以使用本领域已知的任何施用方式将RNAi剂给对象施用,包括但不限于通过皮下、静脉内、肌肉内、眼内、支气管内、胸膜内、腹膜内、动脉内、淋巴、脑脊髓及其任何组合。在优选的实施方案中,皮下施用RNAi剂。

[0112] 在一些实施方案中,通过积存注射施用。积存注射可包括皮下注射或肌内注射。在某些实施方案中,所述积存注射是皮下注射。

[0113] 在一些实施方案中,通过泵施用。所述泵可以是外部泵或手术植入的泵。在某些实施方案中,所述泵是皮下植入的渗透泵。在其它实施方案中,所述泵是输液泵。输液泵可用于静脉内、皮下、动脉或硬膜外输注。在某些实施方案中,输注泵是皮下输注泵。在其它实施方案中,所述泵是手术植入的泵,其将RNAi剂输送至肝脏。

[0114] 其它施用方式包括硬膜外、脑内、脑室内、鼻内、动脉内、心内、骨内输注、鞘内和玻璃体内、肺、口腔、表面、气管内、表皮或透皮。可以基于是否需要局部或全身治疗及基于待治疗的区域选择施用方式。可以选择施用途径和部位以增强靶向。

[0115] RNAi剂可以在如下时间期间通过静脉内输注施用,例如在大约1、2、3、4、5、6、7、8、

9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50、55或60分钟或更长时间。例如,可以定期重复施用,例如每周一次、2周一次(即每两周)共1个月、2个月、3个月、4个月或更长时间。在初始治疗方案之后,可以不太频繁地施用治疗。例如,在每周一次或2周一次施用三个月后,可以每月一次重复施用,持续6个月或一年或更长时间。

[0116] RNAi剂可以与一或多种其它预防剂或治疗剂组合施用。RNAi剂可以与一或多种其它预防剂或治疗剂在相同的制剂中,或者RNAi剂可以与一或多种其它预防剂或治疗剂在不同的制剂中。RNAi剂和一或多种其它预防剂或治疗剂可以同时施用,或者彼此在短时间内施用,例如在大约1分钟,或者大约5分钟,或者大约15分钟,或者大约30分钟,或者大约60分钟,或者大约2小时,或者大约3小时,或者大约4小时,或者大约6小时,或者大约9小时,或者大约12小时,或者大约15小时,或者大约18小时,或者大约24小时内。

[0117] 所述一或多种其它预防剂或治疗剂包括已知治疗脂质失调的那些,所述脂质失调例如高胆固醇血症、动脉粥样硬化或血脂异常。例如,所述一或多种其它预防剂或治疗剂可以是HMG-CoA还原酶抑制剂,纤维酸(fibrate),胆汁酸螯合剂,烟酸,抗血小板剂,血管紧张素转化酶抑制剂,血管紧张素II受体拮抗剂,酰基CoA胆固醇乙酰转移酶(ACAT)抑制剂,胆固醇吸收抑制剂,胆固醇酯转移蛋白(CETP)抑制剂,微粒体甘油三酯转移蛋白(MTTP)抑制剂,胆固醇调节剂,胆汁酸调节剂,过氧化物酶体增殖激活受体(PPAR)激动剂,基于基因的疗法,复合血管保护剂(例如来自Atherogenics的AGI-1067),糖蛋白IIb/IIIa抑制剂,阿司匹林或阿司匹林样化合物,IBAT抑制剂,角鲨烯合酶抑制剂或单核细胞趋化蛋白(MCP)-I抑制剂。作为进一步的实例,所述一或多种其它预防剂或治疗剂可以是抗PCSK9抗体,例如阿利库单抗(alirocumab)(Praluent),依伏库单抗(evolocumab)(Repatha),博科齐单抗(bococizumab),洛德昔单抗(lodelcizumab),拉潘昔单抗(ralpancizumab),RG7652,LY3015014,LPD1462,AX1,ALD306,或Ig1-PA4。

[0118] 施用RNAi剂的对象

[0119] 施用RNAi剂的对象可以是人或非人动物,在某些实施方案中是脊椎动物,在特定实施方案中是哺乳动物。在优选的实施方案中,所述对象是人。在某些实施方案中,所述对象是成年人。在一些实施方案中,所述对象是患者。

[0120] 所述对象的基线LDL-C水平是大约70mg/dl或更高。在某些实施方案中,基线LDL-C水平为大约80mg/dl或更高,或大约90mg/dl或更高,或大约100mg/dl或更高,或大约110mg/dl或更高,或大约120mg/dl或更高,或大约130mg/dl或更高,或大约140mg/dl或更高,或大约150mg/dl或更高,或大约160mg/dl或更高,或大约170mg/dl或更高,或大约180mg/dl或更高,或大约190mg/dl或更高,或大约200mg/dl或更高,或大约210mg/dl或更高,或大约220mg/dl或更高,或大约230mg/dl或更高,或大约240mg/dl或更高,或大约250mg/dl或更高,或大约260mg/dl或更高,或大约270mg/dl或更高,或大约280mg/dl或更高,或大约290mg/dl或更高,或大约300mg/dl或更高。

[0121] 在一些实施方案中,所述对象需要降低LDL-C。需要降低LDL-C的对象具有的LDL-C水平为大约50mg/dl或更高,或大约60mg/dl或更高,或大约70mg/dl或更高,或大约80mg/dl或更高,或大约90mg/dl或更高,或大约100mg/dl或更高,或大约110mg/dl或更高,或大约120mg/dl或更高,或大约130mg/dl或更高,或大约140mg/dl或更高,或大约150mg/dl或更

高,或大约160mg/dl或更高,或大约170mg/dl或更高,或大约180mg/dl或更高,或大约190mg/dl或更高,或大约200mg/dl或更高,或大约210mg/dl或更高,或大约220mg/dl或更高,或大约230mg/dl或更高,或大约240mg/dl或更高,或大约250mg/dl或更高,或大约260mg/dl或更高,或大约270mg/dl或更高,或大约280mg/dl或更高,或大约290mg/dl或更高,或大约300mg/dl或更高。

[0122] 在一些实施方案中,所述对象没有活动性肝病。活动性肝病可通过测量丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸氨基转移酶和总胆红素的一或多个生化参数而确定。可以在基线测量所述生化参数。在某些实施方案中,所述对象的丙氨酸氨基转移酶水平可不高于ULN的两倍(2×)。在一些实施方案中,所述对象的丙氨酸氨基转移酶水平可为ULN的大约1.5倍,或与ULN大约相同或低于ULN。

[0123] 在一些实施方案中,所述对象的天冬氨酸氨基转移酶水平可不高于ULN的两倍(2×)。在某些实施方案中,所述对象的天冬氨酸氨基转移酶水平可为ULN的大约1.5倍,或与ULN大约相同或低于ULN。

[0124] 在一些实施方案中,所述对象的总胆红素水平可不高于ULN的1.5倍。在某些实施方案中,所述对象的总胆红素水平可与ULN大约相同或低于ULN。

[0125] 或者,所述对象可能患有活动性肝病。在某些实施方案中,所述对象的丙氨酸氨基转移酶水平可高于ULN的两倍(2×),例如是ULN的大约2.5倍,或ULN的大约3倍,或ULN的大约3.5倍,或ULN的大约4倍,或更高。在一些实施方案中,所述对象的天冬氨酸氨基转移酶水平可高于ULN的两倍(2×),例如是ULN的大约2.5倍,或ULN的大约3倍,或ULN的大约3.5倍,或ULN的大约4倍,或更高。在某些实施方案中,所述对象的总胆红素水平可高于ULN的1.5倍,例如是ULN的大约2倍,或ULN的大约2.5倍,或ULN的大约3倍,或ULN的大约3.5倍,或者ULN的大约4倍,或更高。

[0126] 本领域技术人员了解丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸氨基转移酶和总胆红素的ULN。

[0127] 在一些实施方案中,所述对象可处于背景降脂治疗。所述对象可以在施用RNAi剂的同时继续接受背景降脂治疗,或者对象可以停止背景降脂治疗。在某些实施方案中,背景降脂治疗可以是他汀类药物治疗,例如包括但不限于阿托伐他汀、普伐他汀、辛伐他汀、洛伐他汀、氟伐他汀、西立伐他汀、罗舒伐他汀和匹伐他汀。所述对象可接受最大耐受的他汀类药物治疗,他汀类药物的最大剂量为本领域已知。

[0128] 在一些实施方案中,所述对象可处于另一类型的降脂治疗,例如依泽替米贝、LDL分离术、胆汁酸螯合剂、烟酸和纤维酸类药物治疗。

[0129] 在其它实施方案中,所述对象未处于背景降脂治疗中。

[0130] 在某些实施方案中,对象可处于其饮食例如设计为改善脂质水平的状况中。这种饮食为本领域中已知。例如,设计为改善脂质水平的饮食可包括吃瘦肉块,去除肉类中的脂肪,不吃油炸食品或高脂酱汁,不吃蛋黄,使用低脂乳制品如脱脂牛奶或1%牛奶、低脂冷冻酸奶、低脂冰淇淋和低脂奶酪,吃纤维来源食物如水果和蔬菜。

[0131] 所述对象的甘油三酯水平可不高于大约400mg/dl。例如,所述对象的基线甘油三酯水平可为大约380mg/dl,或大约360mg/dl,或大约340mg/dl,或大约320mg/dl,或大约300mg/dl,或大约280mg/dl,或大约260mg/dl,或大约240mg/dl,或大约220mg/dl,或大约200mg/dl,或大约180mg/dl,或大约160mg/dl,或大约140mg/dl,或大约120mg/dl,或大约

100mg/dl,或大约80mg/dl,或大约60mg/dl。

[0132] 在其它实施方案中,所述对象的甘油三酯水平可高于大约400mg/dl。例如,所述对象的基线甘油三酯水平可为大约420mg/dl,或大约440mg/dl,或大约460mg/dl,或大约480mg/dl,或大约500mg/dl,或大约520mg/dl,或大约540mg/dl,或大约560mg/dl,或大约580mg/dl,或大约600mg/dl。

[0133] 在一些实施方案中,甘油三酯水平是在基线测量的。

[0134] 所述对象的的估计肾小球滤过率(eGFR)可为至少大约30ml/min。例如,eGFR可以是大约30ml/min,或大约35ml/min,或大约40ml/min,或大约45ml/min,或大约50ml/min,或更高。

[0135] 在一些实施方案中,所述对象患有高脂血症,例如高胆固醇血症。在某些实施方案中,所述对象患有杂合性家族性高胆固醇血症。在其它实施方案中,所述对象患有纯合性家族性高胆固醇血症。

[0136] 或者,所述对象的eGFR可为小于大约30ml/min,例如eGFR为大约25ml/min,或大约20ml/min,或大约15ml/min。

[0137] 在一些实施方案中,在基线测量eGFR。

[0138] 所述对象可未患有控制不良的2型糖尿病,例如未正确治疗或解决的2型糖尿病,或根本没有。控制不良的糖尿病可通过糖化血红蛋白A1c水平至少大约10%而鉴定。因此,所述对象的糖化血红蛋白A1c水平可小于大约10%,例如大约9%,或者大约8%,或者大约7%,或者大约6%,或者大约5%或更低。

[0139] 在其它实施方案中,所述对象可患有控制不良的2型糖尿病,这可通过至少大约10%如大约15%,或大约20%,或大约25%,或大约30%或更高的糖化血红蛋白A1c水平证实。

[0140] 在一些实施方案中,在基线测量糖化血红蛋白A1c水平。

[0141] 所述对象可未患有根据纽约心脏病学会(NYHA)分级为II、III或IV级为特征的心力衰竭。或者,所述对象可患有心力衰竭,其特征在于根据纽约心脏病学会(NYHA)分级为II、III或IV级。

[0142] 所述对象可具有30%或更高,如大约35%或者大约40%,或者大约45%,或者大约50%或更高的心室射血分数。在其它实施方案中,所述对象可具有小于30%的心室射血分数,例如大约25%,或者大约20%,或者大约15%或更小的心室射血分数。可以测量心室射血分数作为基线测量值,或者可以是先前测量的最近已知的心室射血分数。

[0143] 所述对象在施用RNAi剂的六个月内可未经历过重大不良心脏事件。重大不良心脏事件包括但不限于死亡、非致死性心肌梗塞、严重复发性缺血、卒中、症状性肺栓塞和出血。在一些实施方案中,重大不良心脏事件在施用RNAi剂的大约7个月、大约8个月、大约9个月、大约10个月、大约11个月、大约12个月、大约18个月、大约24个月、大约30个月、大约36个月或更长时间内未发生,包括没有发生过重大心脏事件。在另一实施方案中,所述对象可在施用RNAi剂的六个月内经历了重大心脏事件,包括在大约5个月、或者大约4个月、或者大约3个月、或者大约2个月、或者大约1个月、或者大约4周、或者大约3周、或者大约2周、或者大约1周、或更早时间内。

[0144] 所述对象可未患有严重的高血压。在一些实施方案中,严重的高血压可以通过超

过大约180mmHg的收缩压和/或超过大约110mmHg的舒张压而确定,例如收缩压为大约190mmHg,或者大约200mmHg,或者大约220mmHg,或者大约240mmHg,或者大约260mmHg,或者大约280mmHg,或者大约300mmHg,或更高;例如舒张压为大约120mmHg,或者大约140mmHg,或者大约160mmHg,或者大约180mmHg,或者大约200mmHg,或者大约220mmHg,或者大约240mmHg或更高。在某些实施方案中,所述对象可能没有不受控制的严重高血压。不受控制的严重高血压可以通过尽管进行了抗高血压治疗,但收缩压超过大约180mmHg和/或者舒张压超过大约110mmHg而鉴定。或者,所述对象可能患有严重的高血压和/或不受控制的严重高血压。

[0145] 在一些实施方案中,在基线测量血压。

[0146] 所述对象可没有任何出血性卒中病史。或者,所述对象可经历了出血性卒中。

[0147] 所述对象在施用RNAi剂后3个月内可没有心律失常,包括在大约4个月内,或大约5个月内,或大约6个月内,或大约7个月内,或大约8个月内,或大约9个月内,或大约10个月内,或大约11个月内,或大约12个月内,或更长时间内。在其它实施方案中,所述对象在施用RNAi剂的3个月内患有心律失常,但心律失常例如通过药物治疗或通过消融而控制。或者,所述对象在三个月内可患有例如未通过药物治疗或通过消融控制的心律失常。

[0148] 在某些实施方案中,所述对象患有以下一或多种:心肌梗塞史,稳定或不稳定型心绞痛史,冠状动脉或其它动脉血管再生史,卒中史,短暂性脑缺血发作史或动脉粥样硬化源的外周动脉疾病史;男性;有心脏病、ASCVD或ASCVD风险等同的家族史;有吸烟的习惯;身体不活动;有高血压;有高血胆固醇;患有糖尿病和糖尿病前兆;超重或肥胖;妊娠期间有先兆子痫病史;有不受控制的压力和/或愤怒;绝经后;不健康的饮食,例如高盐、饱和脂肪、反式脂肪、胆固醇和/或精制糖的饮食;年龄在55岁或以上;有睡眠呼吸暂停;有贫血;或这些的组合。

[0149] 在一些实施方案中,所述对象可具有认知缺损,例如阿尔茨海默病、痴呆、记忆丧失等。在其它实施方案中,所述对象不具有任何认知缺损。

[0150] RNAi剂

[0151] RNAi剂是双链核糖核酸,其包含有义链和反义链,形成双链区。所述反义链包含SEQ ID NO:1的核苷酸序列,即5'-ACAAAAGCAAAACAGGUCUAGAA-3'。所述有义链包含SEQ ID NO:2的核苷酸序列,即5'-CUAGACCUGUTUUGCUUUUGU-3'。

[0152] 在本发明的实施方案中,反义链上的至少一个核苷酸、有义链上的至少一个核苷酸、或者反义链和有义链二者上的至少一个核苷酸是修饰的核苷酸。在一些实施方案中,反义链的基本上所有核苷酸、有义链的基本上所有核苷酸、或反义链和有义链二者的基本上所有核苷酸都是修饰的核苷酸。在某些实施方案中,反义链的所有核苷酸、有义链的所有核苷酸、或反义链和有义链二者的所有核苷酸都是修饰的核苷酸。

[0153] 可以使用本领域已知的技术和方法对核苷酸进行修饰。所述修饰可包括在2016年8月25日提交的PCT申请PCT/US2016/048666和2015年6月5日提交的美国专利申请序列号14/650,128中描述的那些修饰,所述专利并入本文作参考。

[0154] 在一些实施方案中,反义链或有义链的一或多个核苷酸可以是2'-O-甲基(2'-OMe)或2'-氟(2'-F)修饰的。在某些实施方案中,反义链或有义链的一或多个核苷酸可通过3'-5'磷酸二酯键连接。

[0155] 在一些实施方案中,双链核糖核酸包含配体。在某些实施方案中,配体与双链核糖

核酸的有义链的3′末端缀合。配体的实例在2016年8月25日提交的PCT申请PCT/US2016/048666和2015年6月5日提交的美国申请序列号14/650,128中描述,所述专利并入本文作参考。在某些实施方案中,配体是N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)衍生物。

[0156] 在某些实施方案中,RNAi剂是双链核糖核酸,其包含5'-asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa-3'所示核苷酸序列的反义链(SEQ ID NO:3)和5'-csusagacCfuGfudTuugcuuuugu-3'所示核苷酸序列的有义链(SEQ ID NO:4),其中a、g、c和u是2′-O-甲基(2′-OMe)A、G、C或U;Af、Gf、Cf或Uf是2′-氟A、G、C或U;dT是2′-脱氧胸苷;s是硫代磷酸酯键。双链核糖核酸具有共价附着的三触角GalNAc配体。

[0157] 在一些实施方案中,RNAi剂如图1所示。

[0158] RNAi剂可以是"裸"形式,或者是"游离RNA"。"裸"形式是指不存在药物组合物。例如,裸RNAi剂可以在合适的缓冲溶液中,所述缓冲液可包括例如乙酸盐、柠檬酸盐、谷醇溶蛋白、碳酸盐或磷酸盐,或其任何组合。在一些实施方案中,缓冲溶液是磷酸盐缓冲盐水(PBS)。可以调节含有RNAi剂的缓冲溶液的pH和渗透压,使其适合于给对象施用。在某些实施方案中,RNAi剂可以在注射用水中。

[0159] 或者,可以将RNAi剂配制成包含RNAi剂和一或多种药学可接受载体的药物组合物。可以基于输送模式配制药物组合物。例如,组合物可以配制成通过肠胃外输送进行全身施用,例如通过静脉内、动脉内、皮下、腹膜内或肌内注射或输注;或者可以将组合物配制成直接输送到脑实质中,例如通过输注到脑中如通过连续泵输注;或者可以配制组合物。或者,可以将组合物配制成经口服;表面(例如通过透皮贴剂);肺部例如通过吸入或吹入粉末或气溶胶包括通过喷雾器;气管内;鼻内;表皮或透皮施用。

[0160] 用于肠胃外、实质内(进入脑)、鞘内、心室内或肝内施用的组合物和制剂可包括但不限于无菌水溶液,其也可含有缓冲剂、稀释剂和其它合适的添加剂例如渗透促进剂、载体化合物和其它药学可接受的载体或赋形剂。用于口服施用的组合物和制剂可包括但不限于粉末或颗粒、微粒、纳米微粒、悬浮液或水或非水介质中的溶液、胶囊、凝胶胶囊、小药囊、片剂或小片剂。还可以使用增稠剂、调味剂、稀释剂、乳化剂、分散助剂或粘合剂。用于表面施用的药物组合物和制剂可包括但不限于透皮贴剂、软膏、洗剂、乳膏、凝胶、滴剂、栓剂、喷雾剂、液体和粉末。本发明的药物组合物还可包括但不限于溶液、乳液和含脂质体的制剂。组合物可以配制成各种形式,包括但不限于片剂、胶囊、凝胶胶囊、液体糖浆、软凝胶、栓剂和灌肠剂。

[0161] 药学可接受的载体和特定组合物的实例在2016年8月25日提交的PCT申请PCT/US2016/048666和2015年6月5日提交的美国申请序列号14/650,128中描述,所述专利并入本文作参考。

[0162] 在某些实施方案中,RNAi剂可以合适浓度配制,由此施用输送如下固定剂量:大约50mg至大约800mg,大约100mg至大约800mg,大约150mg至大约800mg,大约200mg至大约800mg,大约250mg至大约800mg,大约300mg至大约800mg,大约350mg至大约800mg,大约400mg至大约800mg,大约450mg至大约800mg,大约500mg至大约800mg,大约550mg至大约800mg,大约600mg至大约800mg,大约650mg至大约800mg,大约700mg至大约800mg,大约750mg至大约800mg,大约50mg至大约750mg,大约100mg至大约750mg,大约150mg至大约750mg,大约200mg至大约750mg,大约250mg至大约750mg,大约300mg至大约750mg,大约

350mg至大约750mg,大约400mg至大约750mg,大约450mg至大约750mg,大约500mg至大约750mg,大约550mg至大约750mg,大约600mg至大约750mg,大约650mg至大约750mg,大约700mg至大约750mg,大约50mg至大约700mg,大约100mg至大约700mg,大约150mg至大约700mg,大约200mg至大约700mg,大约250mg至大约700mg,大约300mg至大约700mg,大约350mg至大约700mg,大约400mg至大约700mg,大约450mg至大约700mg,大约500mg至大约700mg,大约550mg至大约700mg,大约600mg至大约700mg,大约650mg至大约700mg,大约50mg至大约650mg,大约100mg至大约650mg,大约150mg至大约650mg,大约200mg至大约650mg,大约250mg至大约650mg,大约300mg至大约650mg,大约350mg至大约650mg,大约400mg至大约650mg,大约450mg至大约650mg,大约500mg至大约650mg,大约550mg至大约650mg,大约600mg至大约650mg,大约50mg至大约600mg,大约100mg至大约600mg,大约150mg至大约600mg,大约200mg至大约600mg,大约250mg至大约600mg,大约300mg至大约600mg,大约350mg至大约600mg,大约400mg至大约600mg,大约450mg至大约600mg,大约500mg至大约600mg,大约550mg至大约600mg,大约50mg至大约550mg,大约100mg至大约550mg,大约150mg至大约550mg,大约200mg至大约550mg,大约250mg至大约550mg,大约300mg至大约550mg,大约350mg至大约550mg,大约400mg至大约550mg,大约450mg至大约550mg,大约500mg至大约550mg,大约50mg至大约500mg,大约100mg至大约500mg,大约150mg至大约500mg,大约200mg至大约500mg,大约250mg至大约500mg,大约300mg至大约500mg,大约350mg至大约500mg,大约400mg至大约500mg,大约450mg至大约500mg,大约50mg至大约450mg,大约100mg至大约450mg,大约150mg至大约450mg,大约200mg至大约450mg,大约250mg至大约450mg,大约300mg至大约450mg,大约350mg至大约450mg,大约400mg至大约450mg,大约50mg至大约400mg,大约100mg至大约400mg,大约150mg至大约400mg,大约200mg至大约400mg,大约250mg至大约400mg,大约300mg至大约400mg,大约350mg至大约400mg,大约50mg至大约350mg,大约100mg至大约350mg,大约150mg至大约350mg,大约200mg至大约350mg,大约250mg至大约350mg,大约300mg至大约350mg,大约50mg至大约300mg,大约100mg至大约300mg,大约150mg至大约300mg,大约200mg至大约300mg,or大约250mg至大约300mg,例如如下固定剂量:大约50mg,大约75mg,大约100mg,大约125mg,大约150mg,大约175mg,大约200mg,大约225mg,大约250mg,大约275mg,大约300mg,大约325mg,大约350mg,大约375mg,大约400mg,大约425mg,大约450mg,大约475mg,大约500mg,大约525mg,大约550mg,大约575mg,大约600mg,大约625mg,大约650mg,大约675mg,大约700mg,大约725mg,大约750mg,大约775mg或者大约800mg。介于前述数值之间的数值和范围也是本发明的一部分。

[0163] 在一些实施方案中,可以将RNAi剂配制成合适的浓度,由此给对象施用合适体积的组合物,例如大约1.0ml,大约1.1ml,大约1.2ml,大约1.3ml,大约1.4ml,大约1.5ml,大约1.6ml,大约1.7ml,大约1.8ml,大约1.9ml,或大约2.0ml的药物组合物。例如,在一个实施方案中,将RNAi剂以大约200mg/ml配制在合适的药物制剂中,由此给对象施用大约1.5ml的制剂提供300mg固定剂量的RNAi剂。

[0164] 除非另外说明,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技术人员通常理解的含义相同的含义。本文提及的所有出版物、专利申请、专利和其它参考文献以及序列表和附图均以其全部内容并入作参考。如果发生冲突,将以本说明书包括定义为准。另外,所述材料、方法和实施例仅是说明性的而不意图是限制性的。

实施例

[0165] 进行一项安慰剂对照、双盲随机试验,以比较单次或多次皮下注射不同剂量的RNAi剂对高心血管病风险和高LDL-C患者的效果。

[0166] 方法

[0167] RNAi剂是双链核糖核酸,其包含5'-asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa-3'(SEQ ID NO:3)核苷酸序列的反义链和5'-csusagacCfuGfudTuugcuuuugu-3'核苷酸序列的有义链(SEQ ID NO:4),其中a、g、c和u是2'-O-甲基(2'-OMe)A、G、C或U;Af、Gf、Cf或Uf是2'-氟A、G、C或U;dT是2'-脱氧胸苷;s是硫代磷酸酯键。双链核糖核酸具有共价连接的三触角GalNAc配体。

[0168] 本项试验的主要目是评估在第180天RNAi剂治疗对LDL-C水平的影响。次要目的是评估RNAi剂对以下的影响:(i)第90天的LDL-C水平;(ii)其它时间点的LDL-C水平;(iii)PCSK9水平随时间的变化;(iv)其它脂类,脂蛋白,载脂蛋白;(v)达到预先指定的全球脂质指南的患者比例;(vi)个体对不同剂量的应答性;(vii)不同剂量的降脂作用持续时间;和(viii)RNAi剂的安全性和耐受性。这项研究还收集/评估了RNAi剂对以下的影响:(a)心血管事件,如心血管死亡,非致死性心肌梗塞,复苏心脏骤停和非致死性卒中(缺血性和出血性);和(b)RNAi剂的抗药抗体。

[0169] 这项研究包含具有ASCVD或ASCVD等同风险(例如糖尿病和家族性高胆固醇血症)和LDL-C升高的501名患者。如果患者在随机化之前符合以下所有入选标准,则纳入患者:

[0170] (a)≥18岁的男性或女性患者;

[0171] (b)ASCVD或ASCVD等同风险病史(症状性动脉粥样硬化,2型糖尿病,家族性高胆固醇血症,包括通过Framingham风险评分*或等效评估其心血管事件10年风险的目标LDL-C是<100mg/dl的患者);

[0172] (c)在筛选时ASCVD患者血清LDL-C≥1.8mmol/l(≥70mg/dl),或ASCVD等同风险患者血清LDL-C≥2.6mmol/l(≥100mg/dl);

[0173] (d)筛选时空腹甘油三酯<4.52mmol/l(<400mg/dl);

[0174] (e)使用标准化局部临床方法,通过估计的肾小球滤过率(eGFR)计算肾小球滤过率>30ml/min;

[0175] (f)服用他汀类药物的患者应接受最大耐受剂量(研究人员自行决定);

[0176] (g)接受降脂治疗的患者(如他汀类药物和/或依泽替米贝)应在稳定剂量下持续≥30天,然后在研究参与期间无计划药物治疗或剂量变化筛选;及

[0177] (h)愿意且能在启动任何与研究相关的程序之前给予知情同意,并愿意遵守所有必需的研究程序。

[0178] *Framingham风险评分>20%

[0179] 如果在随机化之前立即具有以下任何排除标准,患者将被排除在研究之外:

[0180] (a)任何不受控制的或严重的疾病,或者可能干扰参与临床研究和/或如果患者参加临床研究则处于重大风险中(根据研究人员[或代表]的判断)的任何内科或外科状况;

[0181] (b)研究人员(或代表)认为可能干扰临床研究结果的解读的潜在已知疾病或者外科、身体或内科状况;

[0182] (c)纽约心脏病学会(NYHA)的II级、III级或IV级心力衰竭或最近已知的左心室射

血分数<30%;

[0183] (d)随机化之前3个月内的未受药物控制或消融控制的心律失常;

[0184] (e)任何出血性卒中病史;

[0185] (f)随机化之前6个月内的重大不良心脏事件;

[0186] (g)未受控制的严重高血压:尽管进行了抗高血压治疗,但随机化前收缩压>180mmHg或者舒张压>110mmHg;

[0187] (h)控制不良的2型糖尿病,即随机化前糖化血红蛋白A1c(HbA1c)>10.0%;

[0188] (i)在筛选时通过间隔至少一周重复测量确认的活动性肝病,定义为肝脏的任何已知的当前感染、肿瘤或代谢病变或者不明原因的丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸氨基转移酶升高超过ULN的2倍,或总胆红素升高超过1.5倍ULN;

[0189] (j)严重的合并症,其中患者的预期寿命短于试验的持续时间(例如急性全身感染,癌症或其它严重疾病);这包括筛选前发生5年以上的经治疗的基底细胞癌之外的所有癌症;

[0190] (k)怀孕或哺乳的女性,或具有生育潜力且不愿使用至少两种避孕方法(口服避孕药,屏障方法,批准的避孕植入物,长期注射避孕药,宫内避孕器或输卵管结扎)的女性**;绝经后2年以上的女性,定义为自上次月经期后≥1年,以及如果年龄小于55岁在随机化24小时内阴性妊娠或手术不育的女性,可免除此项排除;

[0191] (l)在整个研究期间不愿使用可接受的节育方法(即含有杀精子剂的避孕套)的男性;

[0192] (m)已知的酒精和/或药物滥用史;

[0193] (n)在30天或5个半衰期内使用其它研究性医药产品或装置治疗,以较长者为准;

[0194] (o)在研究过程中使用其它研究性医药产品或装置;

[0195] (p)研究人员认为可能干扰该研究的任何状况,例如但不限于:

[0196] (i)不适合本研究,包括无法与研究人员沟通或合作的患者;

[0197] (ii)无法理解方案要求、说明和研究相关的限制、研究的性质、范围和可能的后果(包括因药物滥用或酒精依赖而疑似合作的患者);

[0198] (iii)不太可能遵守方案要求、说明和与研究相关的限制(例如不合作的态度,无法返回进行随访,以及完成研究的可能性不大);

[0199] (iv)具有研究人员认为会使参与研究的患者风险增加的任何内科或外科状况;

[0200] (v)与直接进行研究的人士或其亲属有关;

[0201] (vi)任何已知的认知障碍(例如阿尔茨海默病);及

[0202] (q)针对PCSK9的单克隆抗体的先前或当前治疗(筛选90天内)。

[0203] **整个研究期间。

[0204] 筛选患者并随机分成6个RNAi剂组和安慰剂组。治疗分配根据国家和目前使用他汀类药物或其它脂质修复疗法进行分层。每个患者:(i)在第1天接受仅RNAi剂或安慰剂的一次或两次注射,或(ii)第1天的单次注射和第90天第二次注射RNAi剂或安慰剂。

[0205] 此项研究设计的总结在图2中示出。在第1天,所有符合条件的患者被随机化及接受第一次皮下施用RNAi剂或安慰剂。作为通过单次皮下注射(剂量:200mg,300mg)或两次注射(剂量:500mg)施用RNAi剂。随机接受第二剂的患者在第90天接受第二次注射RNAi剂或安

慰剂。

[0206] 通过一次或两次皮下注射盐水溶液施用安慰剂。安慰剂体积与每剂和注射方案内的RNAi剂体积匹配,但在注射方案之间不匹配。例如,200mg剂量的安慰剂组接受1.0ml安慰剂,而300mg剂量的安慰剂组接受1.5mL安慰剂。

[0207] 患者参与研究的持续时间约为224天,包括筛选、研究药物施用、单次或多次注射的过程以及至第210天的随访期。如果需要额外的随访,则参与最长持续时间是374天。在第210天进行研究结束时的评估,除了其LDL-C水平未恢复到起始水平的20%逆差内的那些患者;在第210天对这些患者进行评估,随后在每30天进行一次随访,直到第360天,或者LDL-C恢复到起始水平的20%逆差内(以先发生者为准)。

[0208] 对于单一剂量组(第1天进行一次或两次注射),患者遵循以下时间表:

[0209] (a)筛选:第-14天至第-1天,

[0210] (b)随机化,药物研究开始:第1天

[0211] (c)治疗阶段:第1天

[0212] (d)随访:

[0213] (i)随访:第2天至第210天;在第210天EOS

[0214] (ii)额外随访(对于LDL-C水平尚未恢复至基线值的80%以上的患者;患者将每月返回以进行随访直至达到这个水平或直至第360天):第240、270、300、330和360天。

[0215] 对于两剂量组(第1天和第90天各一次注射),患者遵循以下时间表:

[0216] (a)筛选:第-14天至第-1天,

[0217] (b)随机化,药物研究开始:第1天

[0218] (c)治疗阶段:第1天至第90天

[0219] (d)随访:

[0220] (i)随访:第91天至第210天;在第210天EOS

[0221] (ii)额外随访(对于LDL-C水平尚未恢复至基线值的80%以上的患者;患者将每月返回以进行随访直至达到这个水平或直至第360天):第240、270、300、330和360天。

[0222] 通过确定至第180天LDL-C相对于基线的变化百分比评估主要终点。

[0223] 通过确定如下评估次要终点:(i)至第90天LDL-C相对于基线的变化百分比;(ii)至第14、30、60、120、150和210天LDL-C相对于基线的变化百分比;(iii)在第180天和第210天,每组中LDL-C大于基线值80%的患者比例;(iv)患者LDL-C或PCSK9蛋白恢复至基线的80%或更高水平的治疗持续时间;(v)个体应答性定义为在第90天、第120天和第180天达到治疗LDL-C水平为<25mg/dl、<50mg/dl、<70mg/dl和<100mg/dl的患者数目;(vi)在第90、120和180天,每组中LDL-C水平相对于基线降低大于或等于50%的患者比例;(vii)至第14、30、60、90、104、120、150、180和210天,PCSK9水平相对于基线的变化百分比;(viii)至第210天的每次随访时其它脂质、脂蛋白、载脂蛋白相对于基线的变化百分比;及(ix)每组中ASCVD风险水平达到全球血脂修复目标的患者比例。

[0224] 功效评估包括测量RNAi剂对LDL-C脂质和脂蛋白水平的影响,包括总胆固醇、甘油三酯、HDL-C、非HDL-C、VLDL-C、Apo-A1、Apo-B、Lp(a)、CRP和PCSK9。

[0225] 通过EOS访问(第210天),在指定回访时收集不良事件、严重不良事件、生命体征、临床实验室数值(血液学,凝血测试,化学分析和尿液分析)以及心电图(ECG)。在额外的每

月随访期间(对于LDL-C水平尚未恢复至＞80％基线值的患者),继续评估不良事件、严重不良事件和临床实验室数值。心血管事件报告为汇集的心血管事件信息的不良事件,如心血管死亡、非致死性心肌梗塞、重大冠状动脉事件(CHD死亡,复苏心脏骤停,非致死性心肌梗塞)、缺血性卒中和出血性卒中。

[0226] 此外,评估RNAi剂的抗药抗体。在第1天(注射前和注射后4小时)和第30、60、90、120、150、180天(第150天和第180天仅在接受第二剂RNAi剂的患者中)和第210天评估抗药抗体的形成或者直至任何抗药抗体应答在研究持续时间内变为阴性。对于LDL-C水平未恢复至＞80％基线值的患者,当LDL-C恢复到正常限度或者在1年随访时评估抗药抗体的形成。

[0227] 独立数据监测委员会(DMC)审查了在首批40名患者接受首次注射RNAi剂或安慰剂之后开始及完成第14天随访的安全性数据。此后,DMC每两个月审查一次安全数据,直到试验结束。

[0228] 以从基线至第180天的最小均方平均百分比变化分析主要终点。这是通过重复测量线性效应模型而计算的,包括研究组、基线值、预定的随访及研究组与计划随访的相互作用。使用具有自回归方差结构的SAS软件中的PROC MIXED程序进行分析,每次就诊时的治疗掺入作为固定效应,患者作为随机效应。对于主要和次要终点,在六个RNAi剂组和安慰剂对照组中使用Dunnett检验进行多重比较以调整P值。对于每种给药方案(即单剂量和两剂量)进行单独分析。对于双侧检验,I型误差显著水平为0.05。

[0229] 接受至少一剂RNAi剂或安慰剂的所有患者均包含在安全性分析中(安全性群体)。预定的修改意向治疗群体被定义为所有随机分配的患者,其接受至少一剂研究药物以及可获得基线和180天随访LDL-C水平测量值。对于缺失数据的患者使用设算进行意向治疗分析。

[0230] 时程数据表示为具有95％置信区间的平均值。用瀑布图以图形方式描绘患者之间应答的变化。使用SAS软件9.2版及更高版本(SAS Institute)进行分析。

[0231] 结果

[0232] 表1和表2示出基线人口统计学和历史表明患者均衡良好。在研究中,73％的患者接受他汀类药物治疗,31％的患者接受依泽替米贝治疗。

[0233] 在第1天单次施用所有剂量RNAi剂导致在第30天LDL-C的平均降低范围低于基线的44.5％-51.5％(参见图3和4),在大约第60天具有最低点。单次施用200mg剂量的RNAi剂使LDL-C水平在第30、60和90天比基线降低40％以上,至第270天降低25％,如图3所示。单次施用300mg剂量和500mg剂量的RNAi剂使LDL-C降低,从第15天至第150天低于基线40％以上,至第270天降低低于基线30％(图3)。对于每种RNAi剂剂量强度,LDL-C至第360天保持低于基线20％以上(图3)。给予单次剂量的RNAi剂(降低27.9％-41.9％)后的最小均方降低显著大于安慰剂组(增加2.1％)(所有剂量P<0.001)(表4)。给予200mg、300mg和500mg剂量,使LDL-C在第270天较基线的平均降低为26％-34.3％,在第360天为30.2％-32.2％。此外,对于200mg、300mg和500mg剂量,基线与第360天之间LDL-C的随着时间的变化百分比(即在基线和第360天之间测量LDL-C的每个时间点LDL-C变化百分比的平均值)分别为-31.6％、-38.1％和-39.8％(参见图4)。对于200mg、300mg和500mg剂量,在基线与第360天之间随着时间的LDL-C绝对变化(即在基线和第360天之间测量的LDL-C在每个时间点的LDL-C绝对变化

的平均值)分别为-39.1mg/d、-43.6mg/dl和-53.0mg/dl(参见图5)。转变为个体患者应答,给予200mg、300mg和500mg的个体患者中LDL-C变化的变异系数从基线至第270天分别为45.2%、60.8%和50.7%,从基线至第360天分别为45.1%、56.8%和50.2%(参见图6A-6B)。

[0234] 在第90天施用第二剂RNAi剂使得LDL-C与基线相比进一步降低。在所有剂量中,LDL-C的平均降低范围在第90天是34.2%-44.1%,在第120天是41.1%-54.6%(参见图7)。两次剂量方案与安慰剂之间的差异显著:在第180天,接受两次剂量的RNAi剂的患者的LDL-C水平自基线的最小均方降低范围为35.5%-52.6%,而安慰剂组从基线增加1.8%(与安慰剂所有比较的P<0.001)(见表4)。第二次施用100mg剂量和200mg剂量的RNAi剂使LDL-C水平在第210天维持低于基线30%和40%以上(参见图7)。第二次施用300mg剂量使LDL-C水平从第120天至第210天维持在低于基线50%以上(图7)。给予100mg、200mg和300mg剂量使LDL-C水平在第270天从基线的平均降低范围是25.6%-43.4%,在第360天为13.3%(100mg剂量)-33.3%(300mg剂量)。此外,对于200mg、300mg和500mg剂量,在基线与第360天之间LDL-C的随着时间的变化百分比分别为-31.0%、-41.2%和-46.8%(见图4)。对于200mg、300mg和500mg剂量,基线与第360天之间LDL-C的随着时间的绝对变化分别为-39.6mg/dl、-39.1mg/dl和-57.7mg/dl(见图5)。个体患者应答在图8和9示出。在第180天,LDL-C水平从基线的平均降低为52.6%,最大为81%(参见图8)。给予100mg、200mg和300mg的患者中LDL-C变化的变异系数从基线至第270天分别为45.7%、82.3%和73.7%,从基线至第360天分别为46.0%、77.5%和74.2%(参见图9A-9B)。

[0235] 对抗最大可能剂量他汀类药物背景的接受安慰剂的患者中,第180天LDL胆固醇水平较基线水平有相当大的变化(平均值[±SD]绝对差异,-0.7±25.6mg/dl[-0.02±0.66mmol/L](见图10A)。相反,接受两次300mg剂量RNAi剂的所有患者在第180天LDL-C水平下降(LDL胆固醇水平的平均绝对变化,-64.2±20.7mg/dl[-1.66±0.54mmol/L])(见图10B),54%的患者降低50%或更多。在这个RNAi剂剂量组中,5%、48%和66%的患者在第180天的LDL-C水平分别低于25mg/dl(0.65mmol/L)、低于50mg/dl(1.3mmol/L)和低于70mg/dl(1.8mmol/L)。在第240天,在相同患者组中,个体胆固醇水平保持低于基线水平(参见图10C)。

[0236] 施用300mg单剂量和300mg双剂量的个体患者数据的比较表明,在第1天、第90天、第270天和之后每6个月施用300mgRNAi剂应该降低患者内可变性,及使LDL-C持续降低约50%(见图11A-11B)。

[0237] 随机分配接受RNAi剂的患者中,非HDL-C和Apo-B的水平也显著降低,高敏感性C-反应蛋白水平没有显著变化。表3-5中示出其它脂质测量值相对于基线的变化百分比。

[0238] 如图12和13所示,在第1天施用RNAi剂后,在100mg-500mg的RNAi剂剂量范围内,PCSK9水平从基线水平降低59.6%和68.7%。在第30天,PCSK9水平进一步降低至基线水平以下66.2%-74.0%之间,以及在第60天和第90天发生相似的降低。在接受单次施用RNAi剂的患者中,在第180天PCSK9水平平均降低范围为47.9%-59.3%(每个剂量与安慰剂相比P<0.001)(参见表4)。对于接受单剂量300mg或500mg的患者,到第150天PCSK9水平仍然低于基线60%以上。相比之下,在接受两次剂量RNAi剂的患者中,在给予第二剂之后观察到PCSK9水平进一步降低。在第90天,这些患者PCSK9水平降低47.0%-62.8%,第120天PCSK9水平降

低60.4%-74.5%。在第180天,接受两次剂量RNAi剂的患者中PCSK9水平从基线平均降低范围是53.2%-69.1%(每个剂量与安慰剂相比P<0.001)(参见表4)。对于接受200mg或300mg两次剂量的患者,至第240天PCSK9水平仍然低于基线60%以上。与单剂量和两次剂量RNAi剂给药方案相关,PCSK9水平在第270天的降低仍大于大约40%(见图12和13)。

[0239] 当每年两次或三次施用300mg的RNAi剂时,开发及验证了模型以投射随时间的LDL-C水平。所述模型根据在第210天的观察数据和预期数据之间的最小差异验证。在第270天的结果通过药效学模型使用来自患者随访至第210天的数据正确预测。图14示出至22个月的建模LDL-C水平。

[0240] 在第210天,在76%的接受RNAi剂的患者和76%接受安慰剂的患者中报告了不良事件(表7;也见表6)。大多数这些事件(95%)的严重程度为轻度或中度(1级或2级)。接受RNAi剂的患者中严重不良事件的发生率为11%,接受安慰剂的患者中为8%。两名患者由于不良事件而停止参与试验:一名患者因为带状疱疹感染(安慰剂组),另一名因流感或鼻咽炎(两次剂量100mg RNAi剂组)。最常见的不良事件(发生在>2%的患者中)是肌痛、头痛、疲劳、鼻咽炎、背痛、高血压、腹泻和头晕,这些事件的发生率在接受RNAi剂组和接受安慰剂组之间没有显著差异。

[0241] 接受单剂量RNAi剂的患者中有4%发生注射部位反应,接受两次剂量(一次或两次剂量后)RNAi剂的患者中有7%发生注射部位反应(组合发生率为5%);接受安慰剂的患者未发生注射部位反应(表7;也参见表8和9)。

[0242] 两名患者的肝天冬氨酸氨基转移酶水平升高(>正常范围上限的3倍),单剂量安慰剂组1例,单剂量300mgRNAi剂组1例;300mgRNAi剂组患者的肝丙氨酸氨基转移酶水平也升高。另外两名患者(一名在两剂量100mgRNAi剂组,一名在两剂量300mg RNAi剂组)也有丙氨酸氨基转移酶水平升高。所有氨基转移酶水平升高均是暂时的。在基线时胆红素水平正常的患者中,不存在与RNAi剂或安慰剂相关而发生的胆红素水平增加,及没有病例符合Hy's法规的定义,该法规指出如果给予药物导致黄疸性肝细胞损伤(非胆汁淤积性损伤),则患者处于致命的药物引起的肝损伤高风险中。一名患者在第一次注射之前抗药抗体是阳性的;未报道其它抗药抗体病例(见表10)。

[0243] 在从第210天至第360天的随访中,没有其它安全性发现(见表11)。

[0244] 在试验后期发生两例死亡事件。第一例发生在随机分配到单剂量500mg RNAi剂组的患者,其患有长期血管病变和频繁的心绞痛。他现场发生心脏骤停,并在104天死亡。第二例死亡发生在两次剂量200mg RNAi剂组中男性患者,其在进入研究后经历经皮修复胸主动脉瘤,随后发生瘘管和败血症,其在进入试验第198天死亡。

[0245] 结论

[0246] 这些结果表明RNAi剂在多个月内显著降低患者的LDL-C。施用RNAi剂其它脂质参数中降低Lp(a)和总胆固醇,以及增高HDL-C。RNAi剂示出对PCSK9、LDL-C、非HDL-C和Apo-B的剂量反应效应。实际上消除了个体患者内LDL-C变异性,且在不常用的施用之间存在持续的效果。

[0247] 此外,患者对施用RNAi剂良好耐受,没有主要的安全性问题。TEAE很少见,为轻度至中度事件,注射负荷很小。

[0248] 总体而言,RNAi剂提供了改善患者依从性的机会。

[0249] 1.一种降低对象中低密度脂蛋白胆固醇的方法,所述方法包括给对象施用治疗有效量的干扰核糖核酸(RNAi)剂,

[0250] 其中所述RNAi是双链核糖核酸,其包含形成双链区的有义链和反义链,所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:4的核苷酸序列。

[0251] 2.一种预防对象中心脏事件的方法,所述方法包括给对象施用治疗有效量的干扰核糖核酸(RNAi)剂,

[0252] 其中所述RNAi是双链核糖核酸,其包含形成双链区的有义链和反义链,所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:4的核苷酸序列。

[0253] 3.一种降低对象中心血管死亡率和发病率的方法,所述方法包括给对象施用治疗有效量的干扰核糖核酸(RNAi)剂,

[0254] 其中所述RNAi是双链核糖核酸,其包含形成双链区的有义链和反义链,所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:4的核苷酸序列。

[0255] 4.方案1-3任一项的方法,其中所述对象具有动脉粥样硬化性心血管疾病(ASCVD)、ASCVD等同风险、升高的心血管疾病风险、杂合性家族性高胆固醇血症或纯合性家族性高胆固醇血症,或者需要降低LDL-C,或者其组合。

[0256] 5.方案1-4任一项的方法,其中所述对象具有大约70mg/dl或更高的基线低密度脂蛋白(LDL-C)水平。

[0257] 6.方案1-5任一项的方法,其中所述对象不患有活动性肝病。

[0258] 7.方案1-6任一项的方法,其中活动性肝病通过以下一或多个特征鉴定:丙氨酸氨基转移酶(ALT)大于正常上限(ULN)的两倍,天冬氨酸氨基转移酶(AST)大于ULN的两倍,和总胆红素大于ULN的1.5倍。

[0259] 8.方案1-7任一项的方法,其中所述对象患有活动性肝病。

[0260] 9.方案8任一项的方法,其中活动性肝病通过以下一或多个特征鉴定:丙氨酸氨基转移酶(ALT)大于正常上限(ULN)的两倍,天冬氨酸氨基转移酶(AST)大于ULN的两倍,和总胆红素大于ULN的1.5倍。

[0261] 10.方案1-9任一项的方法,其中所述对象正处于背景降脂治疗中。

[0262] 11.方案10的方法,其中所述背景降脂治疗选自他汀类药物、依泽替米贝和LDL分离术。

[0263] 12.方案10或11的方法,其中所述背景降脂治疗是他汀类药物。

[0264] 13.方案10-12任一项的方法,其中所述对象处于最大耐受的他汀类药物治疗。

[0265] 14.方案10-13任一项的方法,其中维持所述背景降脂治疗,同时给对象施用所述RNAi剂。

[0266] 15.方案1-9任一项的方法,其中所述对象未处于背景降脂治疗中。

[0267] 16.方案1-15的方法,其中所述对象具有不高于大约400mg/dl的基线甘油三酯水平。

[0268] 17.方案1-16任一项的方法,其中所述对象具有至少大约30ml/min的基线估算的肾小球滤过率(eGFR)。

[0269] 18.方案1-17任一项的方法,其中所述对象不具有控制不佳的2型糖尿病。

[0270] 19.方案18的方法,其中控制不佳的2型糖尿病通过至少大约10%的基线糖化血红

蛋白A1c水平鉴定。

[0271] 20.方案1-19任一项的方法,其中所述对象不患有纽约心脏学会(NYHA)II、III或IV级心力衰竭。

[0272] 21.方案1-20任一项的方法,其中所述对象的最新已知心室射血分数为30%或更高。

[0273] 22.方案1-21任一项的方法,其中所述对象在施用所述RNAi剂的六个月内未经历过重大的不良心脏事件。

[0274] 23.方案1-22任一项的方法,其中所述对象未经历出血性卒中。

[0275] 24.方案1-23任一项的方法,其中所述对象在施用所述RNAi剂的三个月内没有心律失常。

[0276] 25.方案1-24任一项的方法,其中所述对象在施用所述RNAi剂的三个月内不患有未通过药物或通过消融控制的心律失常。

[0277] 26.方案1-25任一项的方法,其中所述对象没有心律失常。

[0278] 27.方案1-26任一项的方法,其中所述对象是成年人。

[0279] 28.方案1-27任一项的方法,其中所述对象患有杂合性家族性高胆固醇血症或纯合性家族性高胆固醇血症。

[0280] 29.方案1-28任一项的方法,其中所述对象需要降低LDL-C。

[0281] 30.方案1-29任一项的方法,其中施用所述RNAi剂使LDL-C水平与基线LDL-C水平相比降低大于大约20%。

[0282] 31.方案1-30任一项的方法,其中在施用所述RNAi剂后,LDL-C水平与基线水平相比大于大约20%的降低维持15天或更长。

[0283] 32.方案1-31任一项的方法,其中施用所述RNAi剂使PCSK9的水平与PCSK9基线水平相比降低大于大约25%,其中所述PCSK9基线水平是在施用所述RNAi剂之前测量的。

[0284] 33.方案1-32任一项的方法,其中在施用所述RNAi剂后,PCSK9水平与基线水平相比大于大约25%的降低维持30天或更长。

[0285] 34.方案2或4-33任一项的方法,其中所述心脏事件选自死亡、非致死性心肌梗塞、严重复发性缺血、卒中、症状性肺栓塞以及出血。

[0286] 35.方案1-34任一项的方法,其中施用所述RNAi剂包括负荷阶段和维持阶段。

[0287] 36.方案35的方法,其中所述负荷阶段包括以一或多次剂量施用所述RNAi剂。

[0288] 37.方案36的方法,其中所述负荷阶段包括以至少两次剂量施用所述RNAi剂。

[0289] 38.方案37的方法,其中所述至少两次剂量以时间间隔分开。

[0290] 39.方案38的方法,其中所述时间间隔为大约1天至大约180天。

[0291] 40.方案38或39的方法,其中所述时间间隔为大约60至大约120天。

[0292] 41.方案38-40任一项的方法,其中所述至少两次剂量以大约90天的时间间隔分开。

[0293] 42.方案36-41任一项的方法,其中所述剂量包含大约50mg至大约800mg的所述RNAi剂。

[0294] 43.方案42的方法,其中所述剂量包含大约100mg至大约500mg的所述RNAi剂。

[0295] 44.方案42或43的方法,其中所述剂量包含大约300mg的所述RNAi剂。

[0296] 45.方案35-44任一项的方法,其中所述维持阶段包括以一或多次剂量施用所述RNAi剂。

[0297] 46.方案45的方法,其中所述加载阶段包括以至少两次剂量施用所述RNAi剂。

[0298] 47.方案46的方法,其中所述至少两次剂量以时间间隔分开。

[0299] 48.方案47的方法,其中所述至少两次剂量以规律的时间间隔分开。

[0300] 49.方案48的方法,其中所述规律的时间间隔是大约1个月至大约12个月。

[0301] 50.方案48或49的方法,其中所述规律的时间间隔是大约3个月至大约9个月。

[0302] 51.方案48-50任一项的方法,其中所述规律的时间间隔为大约6个月。

[0303] 52.方案45-51任一项的方法,其中所述剂量包含大约50mg至大约800mg的所述RNAi剂。

[0304] 53.方案52的方法,其中所述剂量包含大约100mg至大约500mg的所述RNAi剂。

[0305] 54.方案52或53的方法,其中所述剂量包含大约300mg的所述RNAi剂。

[0306] 55.一种预防对象中动脉粥样硬化性心血管疾病发展的方法,所述方法包括给对象施用治疗有效量的干扰核糖核酸(RNAi)剂,

[0307] 其中所述RNAi是双链核糖核酸,其包含形成双链区的有义链和反义链,所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:4的核苷酸序列。

[0308] 56.一种治疗具有ASCVD、ASCVD等同风险、杂合性家族性高胆固醇血症、纯合性家族性高胆固醇血症,需要降低LDL-C,或其组合的对象的方法,所述方法包括给所述对象施用治疗有效量的干扰核糖核酸(RNAi)剂,

[0309] 其中所述RNAi是双链核糖核酸,其包含形成双链区的有义链和反义链,所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:4的核苷酸序列。

[0310] 57.方案55或56的方法,其中所述对象具有大约70mg/dl或更高的基线LDL-C水平。

[0311] 58.方案55-57任一项的方法,其中所述对象患有活动性肝病。

[0312] 59.方案58的方法,其中活动性肝病通过以下一或多个特征鉴定:丙氨酸氨基转移酶(ALT)大于正常上限(ULN)的两倍,天冬氨酸氨基转移酶(AST)大于ULN的两倍,和总胆红素大于ULN的1.5倍。

[0313] 60.方案55-57任一项的方法,其中所述对象患有活动性肝病。

[0314] 61.方案60的方法,其中活性性肝病通过以下一或多个特征鉴定:丙氨酸氨基转移酶(ALT)大于正常上限(ULN)的两倍,天冬氨酸氨基转移酶(AST)大于ULN的两倍,和总胆红素大于ULN的1.5倍。

[0315] 62.方案55-61任一项的方法,其中所述对象正处于背景降脂治疗中。

[0316] 63.方案62的方法,其中所述背景降脂治疗选自他汀类药物、依泽替米贝和LDL分离术。

[0317] 64.方案62或63的方法,其中维持所述背景降脂治疗,同时给对象施用所述RNAi剂。

[0318] 65.方案55-61任一项的方法,其中所述对象不处于背景降脂治疗中。

[0319] 66.方案55-65任一项的方法,其中所述对象具有大于大约400mg/dl的基线甘油三酯水平。

[0320] 67.方案55-66任一项的方法,其中所述对象具有小于大约30ml/min的基线估算的

肾小球滤过率(eGFR)。

[0321] 68.方案55-67任一项的方法,其中所述对象患有控制不良的2型糖尿病。

[0322] 69.方案68的方法,其中控制不良的2型糖尿病通过至少大约10%的基线糖化血红蛋白A1c水平鉴定。

[0323] 70.方案55-69任一项的方法,其中所述对象患有纽约心脏学会(NYHA)II、III或IV级心力衰竭。

[0324] 71.方案55-70任一项的方法,其中所述对象的心室射血分数小于30%。

[0325] 72.方案55-71任一项的方法,其中所述对象在施用所述RNAi剂的六个月内经历了重大的不良心脏事件。

[0326] 73.方案55-72任一项的方法,其中所述对象经历过至少一次出血性卒中。

[0327] 74.方案55-73任一项的方法,其中所述对象在施用所述RNAi剂的三个月内患有心律失常。

[0328] 75.方案55-74任一项的方法,其中所述对象在施用所述RNAi剂的三个月内不具有未通过药物或通过消融控制的心律失常。

[0329] 76.方案55-75任一项的方法,其中所述对象不具有心律失常。

[0330] 77.方案55-76任一项的方法,其中所述对象是成年人。

[0331] 78.方案55-77任一项的方法,其中所述对象患有杂合性家族性高胆固醇血症或纯合性家族性高胆固醇血症。

[0332] 79.方案55-78任一项的方法,其中所述对象需要降低LDL-C。

[0333] 80.方案55-79任一项的方法,其中施用所述RNAi剂之后,低密度脂蛋白与基线水平相比大于大约20%的降低维持15天或更长。

[0334] 81.方案55-80任一项的方法,其中施用所述RNAi剂使PCSK9水平与PCSK9基线水平相比降低大于大约25%,其中所述PCSK9基线水平是在施用所述RNAi剂之前测量的。

[0335] 82.方案81的方法,其中在施用所述RNAi剂后,PCSK9水平与基线水平相比大于大约25%的降低维持30天或更长。

[0336] 83.方案55-82任一项的方法,其中施用所述RNAi剂包括负荷阶段和维持阶段。

[0337] 84.方案83的方法,其中所述负荷阶段包括以一或多次剂量施用所述RNAi剂。

[0338] 85.方案84的方法,其中所述负荷阶段包括以至少两次剂量施用所述RNAi剂。

[0339] 86.方案85的方法,其中所述至少两次剂量以时间间隔分开。

[0340] 87.方案86的方法,其中所述时间间隔为大约1天至大约180天。

[0341] 88.方案86或87的方法,其中所述时间间隔为大约60至大约120天。

[0342] 89.方案86-88任一项所述的方法,其中所述时间间隔为大约90天。

[0343] 90.方案83-89任一项的方法,其中所述剂量包含大约50mg至大约800mg的所述RNAi剂。

[0344] 91.方案90的方法,其中所述剂量包含大约100mg至大约500mg的所述RNAi剂。

[0345] 92.方案90或91的方法,其中所述剂量包含大约300mg的所述RNAi剂。

[0346] 93.方案83-92任一项的方法,其中所述维持阶段包括以一或多次剂量施用所述RNAi剂。

[0347] 94.方案93的方法,其中所述加载阶段包括以至少两次剂量施用所述RNAi剂。

[0348] 95.方案94的方法,其中所述至少两次剂量以时间间隔分开。

[0349] 96.方案95的方法,其中所述至少两次剂量以规律的时间间隔分开。

[0350] 97.方案96的方法,其中所述规律的时间间隔是大约1个月至大约12个月。

[0351] 98.方案96或97的方法,其中所述规律的时间间隔是大约3个月至大约9个月。

[0352] 99.方案96-98任一项的方法,其中所述规律的时间间隔是大约6个月。

[0353] 100.方案93-99任一项的方法,其中所述剂量包含大约50mg至大约800mg的所述RNAi剂。

[0354] 101.方案100的方法,其中所述剂量包含大约100mg至大约500mg的所述RNAi剂。

[0355] 102.方案100或101的方法,其中所述剂量包含大约300mg的所述RNAi剂。

[0356] 103.一种预防对象中心脏事件的方法,所述对象的饮食为改善血脂水平而设计并处于最大耐受的他汀类药物治疗,其中所述对象患有杂合性家族性高胆固醇血症并需要额外降低低密度脂蛋白胆固醇,

[0357] 所述方法包括施用预防有效量的RNAi剂,

[0358] 其中所述RNAi剂是双链核糖核酸,其包含形成双链区的有义链和反义链,其中所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:4的核苷酸序列。

[0359] 104.一种预防对象中心脏事件的方法,所述对象的饮食为改善脂质水平而设计并处于最大耐受的他汀类药物治疗,其中所述对象患有动脉粥样硬化性心血管疾病并需要额外降低低密度脂蛋白胆固醇,

[0360] 所述方法包括施用预防有效量的RNAi剂,

[0361] 其中所述RNAi剂是双链核糖核酸,其包含形成双链区的有义链和反义链,其中所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:4的核苷酸序列。

[0362] 105.一种预防对象中心脏事件的方法,所述对象的饮食为改善脂质水平而设计并处于降低低密度脂蛋白的治疗中,其中所述对象患有纯合性家族性高胆固醇血症并需要额外降低低密度脂蛋白胆固醇,

[0363] 所述方法包括施用预防有效量的RNAi剂,

[0364] 其中所述RNAi剂是双链核糖核酸,其包含形成双链区的有义链和反义链,其中所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:4的核苷酸序列。

[0365] 106.一种治疗对象的方法,所述对象的饮食为改善脂质水平而设计并处于最大耐受的他汀类药物治疗中,其中所述对象患有杂合性家族性高胆固醇血症并需要额外降低低密度脂蛋白胆固醇,

[0366] 所述方法包括施用治疗有效量的RNAi剂,

[0367] 其中所述RNAi剂是双链核糖核酸,其包含形成双链区的有义链和反义链,其中所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:4的核苷酸序列。

[0368] 107.一种治疗对象的方法,所述对象的饮食为改善脂质水平而设计并处于最大耐受的他汀类药物治疗中,其中所述对象患有动脉粥样硬化性心血管疾病并需要额外降低低密度脂蛋白胆固醇,

[0369] 所述方法包括施用治疗有效量的RNAi剂,

[0370] 其中所述RNAi剂是双链核糖核酸,其包含形成双链区的有义链和反义链,其中所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:4的核苷酸序列。

[0371] 108.一种治疗对象的方法,所述对象的饮食为改善脂质水平而设计并处于降低低密度脂蛋白的治疗中,其中所述对象患有纯合性家族性高胆固醇血症并需要额外降低低密度脂蛋白胆固醇,

[0372] 所述方法包括施用治疗有效量的RNAi剂,

[0373] 其中所述RNAi剂是双链核糖核酸,其包含形成双链区的有义链和反义链,其中所述反义链包含SEQ ID NO:3的核苷酸序列,所述有义链包含SEQ ID NO:4的核苷酸序列。

[0374]

表 1：基线人口统计学和临床特征*

		单剂量 RNAi 剂 vs.安慰剂				两次剂量 RNAi 剂 vs.安慰剂			
		安慰剂	200mg	300mg	500mg	安慰剂	100mg	200mg	300mg
		n = 65	n = 60	n = 61	n = 65	n = 62	n = 61	n = 62	n = 61
年龄	岁	62.0±11.4	63.9±10.8	63.9±12.8	62.1±12.5	62.8±10.3	65.2±9.4	62.3±10.9	64.1±9.4
种族 白人 其它	n (%)	59 (92)[a] 5 (8)[a]	53 (90)[b] 6 (10)[b]	55 (90) 6 (10)	62 (95) 3 (5)	58 (94) 4 (6)	56 (92) 5 (8)	60 (97) 2 (3)	58 (95) 3 (5)
男性	n (%)	42 (65)	39 (65)	41 (67)	46 (71)	33 (53)	38 (62)	39 (63)	45 (74)
BMI	kg/m^2	30.1±5.1	28.2±5.5	28.1±4.2	27.9±4.2	29.2±4.8	29.2±6.0	30.5±5.0	29.2±6.7
吸烟，当前[c]	n (%)	7 (10.8)	9 (15.0)	11 (18.0)	8 (12.3)	8 (12.9)	7 (11.5)	9 (14.5)	7 (11.5)
高血压	n (%)	43 (66.2)	38 (63.3)	42 (68.9)	38 (59.4)	44 (72.1)	45 (73.8)	47 (75.8)	43 (70.5)
ACSVD 前	n (%)	45 (69)	43 (72)	48 (77)	36 (55)	46 (74)	43 (69)	41 (65)	43 (70)
家族性高胆固醇血症	n (%)	1 (2)	6 (10)	2 (3)	7 (11)	3 (5)	3 (5)	3 (5)	3 (5)
糖尿病	n (%)	15 (23)	12 (20)	11 (18)	11 (17)	14 (23)	20 (33)	21 (34)	14 (23)
初级预防	n (%)	12 (18)	7 (12)	7 (11)	11 (17)	6 (10)	6 (10)	9 (14)	7 (11)
任何脂质修复治疗[d]	n (%)	50 (78)	52 (87)	50 (83)	48 (80)	51 (84)	48 (81)	49 (82)	50 (85)
他汀类药物治疗	n (%)	45 (70)	50 (83)	45 (75)	39 (65)	47 (77)	42 (71)	40 (67)	43 (73)
高强度他汀类药物治疗	n (%)	26 (41)	31 (52)	23 (38)	20 (33)	22 (36)	28 (48)	23 (38)	20 (34)
依泽替米贝[d]	n (%)	21 (33)	23 (38)	17 (28)	21 (35)	17 (28)	18 (31)	20 (33)	15 (25)
总胆固醇	mg/dl[e]	207.7±59.0	200.0±49.4	201.4±47.8	218.3±52.8	208.4±54.7	207.7±62.8	219.1±84.9	221.7±65.5
LDL-C	mg/dl[e]	128.5±51.3	122.8±35.9	117.8±40.5[b]	136.9±45.3	125.2±44.3[b]	128.5±49.5[f]	138.8±76.9[b]	131.3±60.3[f]
非-HDL-C	mg/dl[e]	157.8±55.2	149.9±44.7	150.4±49.0	169.2±53.3	157.1±53.7	160.9±63.7	170.5±85.3	165.4±61.0
HDL-C	mg/dl[e]	49.9±13.6	50.0±11.7	51.0±13.3	49.1±15.4	51.2±16.1	46.8±14.0	48.6±13.0	47.4±13.6
甘油三酯 中位数 **(IQR)**[e]	mg/dl[e]	125 (95–170)	115 (84–149)	134 (92–179)	130 (94–193)	137 (103–187)	126 (91–198)	127 (90–200)	132 (105–185)
VLDL-C	mg/dl[e]	23.9±18.6	27.1±19.7	31.5±19.6	32.4±19.2	30.8±17.0[b]	33.7±22.9[f]	31.7±19.8[b]	32.8±16.0[f]
Apo-B	mg/dl[e]	102.4±29.6	100.7±23.6	99.2±27.8	109.7±28.4	104.6±31.5	107.6±36.3	108.3±45.4	107.4±32.1
Apo-A1	mg/dl[e]	149.7±27.0	150.6±24.5	153.6±24.1	149.7±28.1	154.4±30.1	145.0±27.1	147.3±23.0	146.9±26.1

[0375]

脂蛋白(a)	nmol/dl[e]	27 (8–121)[g]	42 (11–129)	35 (17–141)	28 (12–149)	50 (11–154)	33 (12–128)	36 (7–144)	49 (12–161)
PCSK9	ng/ml[e]	404.7±131.3	460.3±142.5	408.9±115.2	416.7±143.7	431.3±132.3	394.2±128.9[h]	437.4±141.8[i]	416.3±127.3[j]
高敏感性 C 反应蛋白中位数 (IQR)[e]	mg/dl[e]	1.6 (0.7–3.1)	1.0 (0.5–2.0)	1.6 (0.7–3.5)	1.9 (0.9–3.4)	1.6 (0.8–4.4)	1.3 (0.5–2.6)	1.6 (0.7–3.0)	1.8 (0.7–3.8)

*正负值是平均值±SD

BMI =体重指数；LDL-C =低密度脂蛋白胆固醇；HDL-C =高密度脂蛋白胆固醇；VLDL-C =极低密度脂蛋白胆固醇；Apo-B =载脂蛋白 B；Apo-A1 =载脂蛋白 A1；PSCK9 =前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9 型

[a]n = 64

[b]n = 59

[c]30 天内

[d]mITT 群(单剂量：安慰剂，n=64；200mg、300mg 和 500mg，n=60；两次剂量：安慰剂，n=61；100mg 和 300mg，n= 59；200mg，n=60)

[e]mITT 群筛选测量(单剂量：安慰剂，n=64；200mg、300mg 和 500mg，n=60；两次剂量：安慰剂，n=61；100mg、200mg、300mg，n= 59)

[f]n=56

[g]n=63

[h]n=58

[i]n=60

[j]n=57

[0376]

表 2：基线人口统计学和临床特征(混合的接受 RNAi 剂患者)

		单剂量 RNAi 剂 vs.安慰剂		两次剂量 RNAi 剂 vs.安慰剂	
		安慰剂	RNAi 剂	安慰剂	RNAi 剂
		n = 65	n = 186	n = 62	n = 184
年龄	平均岁数	62	63	63	64
男性	%	64.6	67.7	53.2	66.3
ACSVD 前	%	69.2	67.9	74.2	68.3
他汀类药物治疗	%	70.3	74.4	77.0	70.2
LDL-C	平均值 mg/dl	128.5	125.9	125.2	133.0
非-HDL-C	平均值 mg/dl	157.8	156.5	157.1	165.6
Apo-B	平均值 mg/dl	102.4	103.2	104.6	107.7
脂蛋白(a)	中位数 nmol/dl	27.0	34.0	50.5	40.0
PCSK9	平均值 ng/ml	404.7	428.7	431.3	416.2

[0377]

表 3：在给予一次剂量在第 90 天 RNAi 剂对脂质参数的功效，以相对于基线的变化百分比示出[1]

		安慰剂	RNAi 剂				
			100mg	200mg	300mg	500mg	
		n = 124	n = 61	n = 122	n = 122	n = 65	
总胆固醇	平均值(SD)	-0.5% (16)	-22% (12)	-26% (14)	-28% (15)	-30% (11)	
甘油三酯	中位数	4% (32)	-1% (20)	-6% (30)	-5% (25)	-3% (32)	
HDL-C	平均值(SD)	-2% (14)	5% (11)	8% (12)	9% (16)	8% (15)	
非-HDL-C	平均值(SD)	-0.2% (20)	-30% (13)	-37% (18)	-40% (19)	-42% (15)	
Apo-B	平均值(SD)	-2% (16)	-28% (12)	-34% (15)	-37% (16)	-40% (13)	
Lp(a)	中位数	-0.4% (31)	-18% (19)	-21% (23)	-14% (114)	-25% (27)	

[1]包括对于所有参数具有基线和第 90 天测量值的患者

HDL-C =高密度脂蛋白胆固醇

Apo-B = 载脂蛋白 B

Lp(a) = 脂蛋白(a)

[0378]

*表 4：在第 180 天 RNAi 试剂对脂质参数的功效，以相对于基线的变化百分比示出。

	单剂量 RNAi 剂 vs.安慰剂				两次剂量 RNAi 剂 vs.安慰剂			
	安慰剂	200mg	300mg	500mg	安慰剂	100mg	200mg	300mg
	n = 64	n = 60	n = 60	n = 60	n = 61	n = 59	n = 60	n = 59
LDL-C[a]	2.1 (-2.9-7.2)	-27.9 (-33.1-22.7)[b]	-38.4 (-43.6--33.2)[b]	-41.9 (-47.2--36.7)[b]	1.8 (-2.6-6.3)	-35.5 (-40.0--31.0)[b]	-44.9 (-49.3--40.4)[b]	-52.6 (-57.1--48.1)[b]
总胆固醇	1.8±12.1	-17.6±19.0[b]	-23.7±15.7[b]	-26.6±10.7[b]	0.7±12.3	-22.4±12.4[b]	-26.8±13.0[b]	-33.2±11.3[b]
非-HDL-C	1.5±16.7	-25.1±26.2[b]	-35.2±20.2[b]	-36.9±14.0[b]	1.3±16.9	-31.7±15.1[b]	-38.9±16.8[b]	-46.0±14.6[b]
HDL-C	3.8±15.6	4.4±14.8	8.8±11.1[c]	6.9±14.0	0.5±12.5	7.6±12.2[c]	10.3±15.3[b]	8.6±14.9[d]
甘油三酯[e]	6.4 (-15.9-21.9)	1.1 (-18.5-17.8)	-12.8 (-27.8-7.8)[d]	-12.2 (-25.6-7.7)[c]	-3.0 (-17.2-22.6)	-6.3 (-17.6-10.9)	0.7 (-22.4-11.3)	-14.2 (-26.4-5.4)[c]
VLDL-C[e]	2.4 (-30.7-30.5)	-11.6 (-35.8-23.3)	-23.8 (-43.0--6.4)[d]	-14.6 (-34.8-3.5)[c]	2.7 (-20.0-26.7)	-16.4 (-31.3-0)[d]	-21.2 (-38.5-13.2)	-16.0 (-38.2-9.1)[d]
Apo-B	1.7±14.7	-22.9±21.0[b]	-30.8±18.0[b]	-33.1±12.7[b]	0.9±13.0	-27.8±13.4[b]	-35.0±15.8[b]	-40.9±14.8[b]
Apo-A1	3.6±10.6	2.9±9.3	3.8±8.9	4.1±10.9	0.8±8.3	5.5±10.6	8.6±11.5[d]	6.2±11.9
脂蛋白(a)[e]	0.5 (-13.9-14.8)	-14.3 (-29.5--3.5)	-14.3 (-25.4--5.6)	-18.2 (-35--1.6)	0.0 (-10.0-12.4)	-14.9 (-26.6--1.9)	-17.3 (-31.9--7.7)	-25.6 (-38.5--15.2)
PCSK9	2.2±23.4	-47.9±21.0[b]	-56.0±19.2[b]	-59.3±18.0[b]	-1.2±20.7	-53.2±20.9[b]	-66.2±15.6[b]	-69.1±12.1[b]
高敏感性 C 反应蛋白[e]	-5.3 (-40.8-28.4)	7.1 (-30.7-70.9)	-16.2 (-45.8-50)	-19.8 (-50-32.7)	-20 (-50-30)	-12.5 (-42.9-29.4)	-16.3 (-34.6-24.3)	-16.7 (-50.9--33.3)[c]

*正负值是平均值±SD。数据是代表修改的意向治疗人群的数据，所述人群包括进行随机化的所有患者，接受至少一剂研究药物的患者，以及可获得所述患者的基线和第 180 天 LDL-C 测量值。由于在第 180 天缺失数据而被排除的患者数目如下：对于单剂量方案，安慰剂组 1 例(2%)，300mg RNAi 剂组 2 例(3%)，500mg RNAi 剂组 6 例(9%)；对于两次剂量方案，安慰剂组 1 例(2%)，100mg RNAi 剂组 3 例(5%)，200mg RNAi 剂组 3 例(5%)，300 mgRNAi 剂组 6 例(10%)。治疗-随访相互作用对于单剂量方案的 P 值为 0.11，对于双剂量方案 P 值为 0.07。这个分析基于至第 180 天，治疗、计划随访从基线的变化百分比、治疗-随访相互作用及基线 LDL-C 水平建模。

[0379]

[a] 数据是最小均方平均值和 95%置信区间

[b] 与安慰剂组的变化比较表明存在显著差异(Dunnett 调整检验 P <0.001)

[c] 与安慰剂组的变化比较表明存在显著差异(Dunnett 调整检验 P <0.05)

[d] 与安慰剂组的变化比较表明存在显著差异(Dunnett 调整检验 P <0.01)

[e] 是中位数和四分位数范围

LDL-C =低密度脂蛋白胆固醇；HDL-C=高密度脂蛋白胆固醇；VLDL-C =极低密度脂蛋白胆固醇； Apo-B =载脂蛋白 B；Apo-A1 =载脂蛋白 A1；PSCK9 =前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9 型

[0380]

表 5：在给予两次剂量后在第 210 天 RNAi 剂对脂质参数的功效，以从基线的变化示出

		安慰剂	RNAi 剂			
			100mg	200mg	300mg	
		n = 61	n = 59	n = 60	n = 59	
总胆固醇	平均(SD)	0% (14)	-21% (11)	-26% (12)	-31% (13)	
甘油三酯	中位数	2%	-10%	-10%	-9%	
HDL-C	平均(SD)	-1% (15)	7% (15)	11% (14)	9% (15)	
Non-HDL-C	平均(SD)	0% (18)	-29% (14)	-38% (15)	-43% (17)	
Apo-B	平均(SD)	1% (14)	-24% (13)	-33% (14)	-39% (15)	
Lp(a)	中位数	-4%	-18%	-20%	-26%	

HDL-C = 高密度脂蛋白胆固醇；Apo-B = 载脂蛋白 B；Lp(a) =脂蛋白(a)；

[0381]

表 6：至第 90 天的治疗中突发不良事件(TEAE)[1] 及其它安全性参数

	安慰剂	RNAi 剂				
		总计	100mg	200mg	300mg	500mg
	n = 127	n = 370	n = 61	n = 122	n = 122	n = 65
任何 TEAE	69 (54%)	198 (54%)	38 (62%)	64 (52%)	68 (56%)	28 (43%)
严重	5 (4%)	22 (6%)	8 (13%)	6 (5%)	6 (5%)	2 (3%)
重大	5 (4%)	12 (3%)	3 (5%)	3 (2%)	4 (3%)	2 (3%)
相关	24 (19%)	67 (18%)	11 (18%)	20 (16%)	27 (22%)	9 (14%)
死亡	0 (0%)	1 (0.3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (1.5%)
ALT > 3x ULN	0	1 (0.3%)	0	0	1 (0.8%)	0
AST > 3x ULN	0	1 (0.3%)	0	0	1 (0.8%)	0
ALP > 2x ULN	0	3 (0.8%)	1 (1.6%)	0	2 (1.6%)[2]	0
胆红素> 2x ULN[3]	0	0	0	0	0	0
CK > 5x ULN	0	2 (0.6%)	0	1 (0.8%)[4]	1 (0.8%)	0
肌痛	6 (4.7%)	21 (5.7%)	5 (8.2%)	7 (5.7%)	8 (6.6%)	1 (1.5%)

[1] 无论基线如何，在随机化后任何时间的显著性高于阈值

[2] 一名患者基线高于 ULN

[3] 没有患者符合 Hy's 法规标准

[4] 患者基线 CK > 3x ULN

ALT =丙氨酸氨基转移酶；AST =天冬氨酸氨基转移酶；ALP =碱性氨基转移酶；ULN =正常上限；CK =肌酸激酶

[0382]

表 7：至第 210 天的治疗中突发不良事件(TEAE)[1]及其它安全参数*

	单剂量 RNAi 剂 vs.安慰剂				两次剂量 RNAi 剂 vs.安慰剂			
	安慰剂	200mg	300mg	500mg	安慰剂	100mg	200mg	300mg
	n = 65	n = 60	n = 61	n = 65	n = 62	n = 61	n = 62	n = 61
在治疗期间发生的任何事件	46 (71)	47 (78)	44 (72)	49 (75)	50 (81)	48 (79)	47 (76)	47 (77)
严重	3 (5)	6 (10)	5 (8)	6 (9)	6 (10)	11 (18)	6 (10)	7 (11)
重大	2 (3)	2 (3)	4 (7)	5 (8)	7 (11)	5 (8)	6 (10)	8 (13)
死亡	0	0	0	1 (2)[a]	0	0	1 (2)[b]	0
注射部位反应[c]	0	2 (3)	2 (3)	3 (5)	0	3 (5)	5 (8)	4 (7)
ALT 水平> 3x ULN	0	0	1 (2)[d]	0	0	1 (2)	0	1 (2)
AST 水平> 3x ULN	1 (2)	0	1 (2)[d]	0	0	0	0	0
ALP 水平> 2x ULN	0	0	2 (3)	1 (2)	0	2 (3)	0	0
胆红素水平> 2x ULN[3]	1 (2)	0	0	0	0	1 (2)	0	0
CK 水平> 5x ULN	1 (2)[e]	0	3 (5)[f]	0	0	0	2 (3)[g]	0
肌痛	3 (5)	2 (3)	5 (8)	3 (5)	3 (5)	7 (11)	5 (8)	5 (8)
糖化血红蛋白[h]	-0.2±7.0	-0.1±6.1	-0.1±3.3	0±6.9	0.3±13.7	0.6±10.4	0.5±5.4	-1.0±6.4
血小板[i]	1.7±12.0	4.8±12.6	0.7±12.5	1.4±15.6	5.6±20.3	-0.1±10.9	4.3±17.5	0.7±15.6

*正负值是平均值±SD。每组完成随访至第 210 天的患者数目如下：在单剂量组中：安慰剂组 63 名患者，200mg RNAi 剂组 60 名患者，300mg RNAi 剂中 61 名患者，500mg RNAi 剂组中的 61 名患者；在两次剂量组中：安慰剂组 60 名患者，100mg RNAi 剂组 59 名患者，200mg RNAi 剂组 60 名患者，300mg RNAi 剂组 59 名患者。

[a] 死亡是由于心肌梗塞引起名患者

[b] 死亡是由于主动脉疾病手术后并发症引起的败血症和肺炎所致

[c] 这个类别包括皮疹、红斑和瘙痒

[d] 升高的 ALT 和 AST 水平在同一患者中

[0383]

[e]这名患者的肌酸激酶水平超过基线正常范围上限的 73 倍

[f]一名患者的肌酸激酶水平超过基线正常范围上限的 8 倍

[g]一名患者的肌酸激酶水平超过基线正常范围上限的 4 倍

[h]糖化血红蛋白在血浆中测量并在第 180 天评估

[i]血小板计数在全血中测量

ALP =碱性磷酸酶；ALT =丙氨酸氨基转移酶；AST =天冬氨酸氨基转移酶；ULN =正常上限；CK =肌酸激酶

[0384]

表 8：在第一次注射后至第 90 天的注射部位治疗突发不良事件 [1,2]

	安慰剂	RNAi 剂				
		总计	100mg	200mg	300mg	500mg
	n = 127	n = 370	n = 61	n = 122	n = 122	n = 65
注射部位红斑	0	4 (1.1%)	0	2 (1.6%)	1 (0.8%)	1 (1.5%)
注射部位瘙痒	0	1 (0.3%)	0	0	1 (0.8%)	0
注射部位皮疹	0	0	0	0	0	0
注射部位反应	0	7 (1.9%)	1 (1.6%)	1 (0.8%)	3 (2.5%)	2 (3.1%)
总计(任何时间观测的)	0	12 (3.2%)	1 (1.6%)	3 (2.5%)	5 (4.1%)	3 (4.6%)
总计(> 4 小时观测的)	0	9 (2.4%)	1 (1.6%)	3 (2.5%)	4 (3.3%)	1 (1.5%)

[1] 通过优选术语分类的具有不良事件的患者数目-每个患者仅计数一次

[2] 预定义的组胺/过敏类型不良事件

[0385]

表 9：在两次注射后从第 90 天至第 210 天的注射部位治疗突发不良事件 [1,2]

	安慰剂	RNAi 剂			
		总计	100mg	200mg	300mg
	n = 60	n = 178	n = 57	n = 61	n = 60
注射部位红斑	0	1 (0.6%)	0	1 (1.6%)	0
注射部位瘙痒	0	4 (2.2%)	1 (1.8%)	3 (4.9%)	0
注射部位皮疹	0	3 (1.7%)	2 (3.5%)	0	1 (1.7%)
注射部位反应	0	2 (1.1%)	0	2 (3.3%)	0
总计(在任何时间观测的)	1 (1.7%)	13 (7.3%)	4 (7.0%)	3 (4.9%)	6 (10.0%)

[1] 通过优选术语分类的具有不良事件的患者数目-每个患者仅计数一次

[2] 预定义的组胺/过敏类型不良事件

[0386]

表 10：在给予两剂之后至第 210 天的抗药抗体

	安慰剂	RNAi 剂			
		总 RNAi 剂	100mg	200mg	300mg
	n = 62	n = 184	n = 61	n = 62	n = 61
基线	0	1 (0.5%)	0	1 (1.6%)[1]	0
第 90 天	0	1 (0.5%)	0	1 (1.6%)[1]	0
第 210 天	0	0	0	0	0

[1] 具有预先存在的/交叉反应性抗体的临界阳性样品

[0387]

表 11：至第 360 天的治疗突发不良事件(TEAE)及其它安全性参数

	单一剂量 RNAi 剂 vs.安慰剂		两次剂量 RNAi 剂 vs.安慰剂	
	安慰剂	RNAi 剂	安慰剂	RNAi 剂
	n = 65	n = 186	n = 62	N=184
任何 TEAE	51 (78.5%)	155 (81.3%)	51 (82.3%)	153 (83.2%)
严重 TEAE	3 (4.6%)	30 (16.1%)	7 (11.3%)	31 (16.8%)
重大 TEAE	2 (3.1%)	18 (9.7%)	7 (11.3%)	22 (12.0%)
相关 TEAE	12 (18.5%)	39 (21.0%)	19 (30.6%)	52 (28.3%)
不良事件中止	0	0	1 (1.6%)	1 (0.5%)
注射部位反应	0	7 (3.8%)	0	12 (6.5%)

单剂量起始方案：鼻咽炎，肌痛，背痛，咳嗽，关节痛，头痛

两次剂量起始方案：肌痛，头痛，腹泻，鼻咽炎，关节痛，背痛

[0388] 已经如此详细描述了本发明的实施方案,应理解由以上段落限定的本发明不限于在以上描述中阐述的特定细节,在不偏离本发明精神或范围的前提下可以有许多其明显的变化。

[0389] 序列表

[0390] SEQ ID NO:1

[0391] 5’-ACAAAAGCAAAACAGGUCUAGAA-3’

[0392] SEQ ID NO:2

[0393] 5’-CUAGACCUGUTUUGCUUUUGU-3’

[0394] SEQ ID NO:3

[0395] 5’-asCfsaAfAfAfgCfaAfaAfcAfgGfuCfuagsasa-3’,其中a、g、c和u是2’-O-甲基(2′-OMe)A、G、C或U;Af、Gf、Cf或Uf是2′-氟代A、G、C或U;dT是2’-脱氧胸苷;s是硫代磷酸酯键。

[0396] SEQ ID NO:4

[0397] 5’-csusagacCfuGfudTuugcuuuugu-3’,其中a、g、c和u是2’-O-甲基(2′-OMe)A、G、C或U;Af、Gf、Cf或Uf是2’-氟代A、G、C或U;dT是2’-脱氧胸苷,s是硫代磷酸酯键。

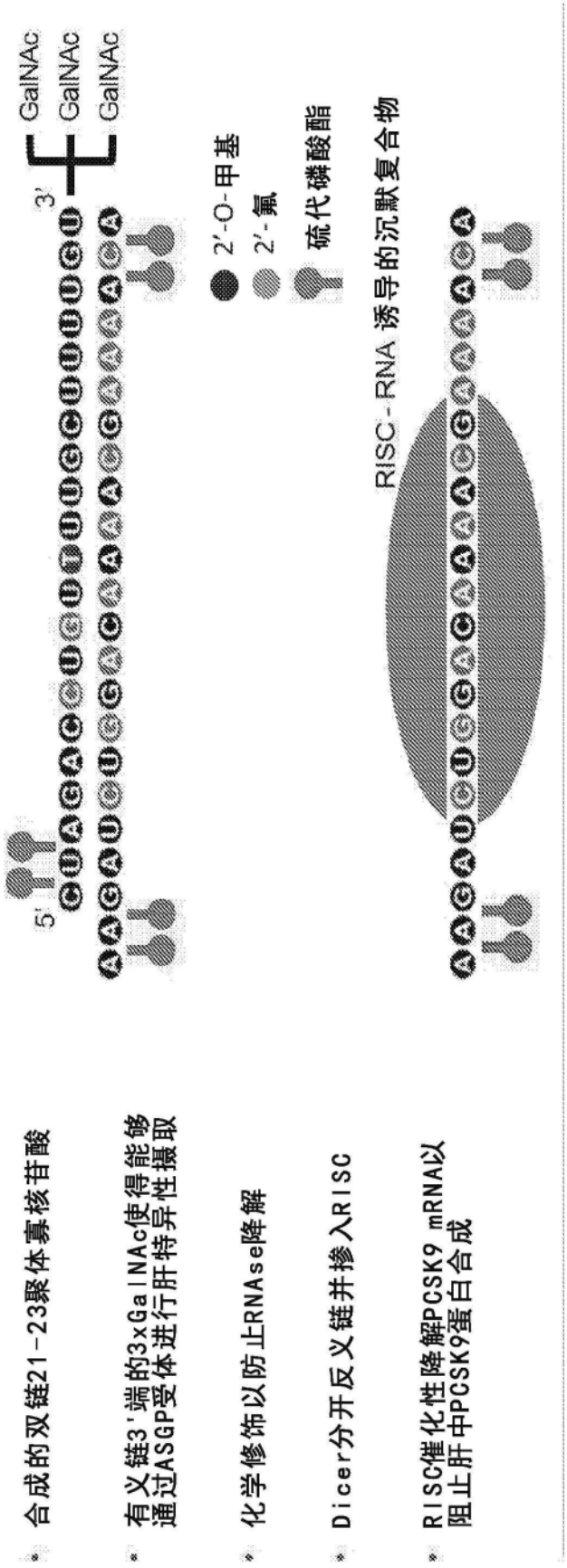

合成的双链21-23聚体寡核苷酸
有义链3'端的3xGalNAc使得能够通过ASGP受体进行肝特异性摄取
化学修饰以防止RNAse降解
Dicer分开反义链并掺入RISC
RISC催化性降解PCSK9 mRNA以阻止肝中PCSK9蛋白合成
5'
3'
GalNAc
GalNAc
GalNAc
2'-O-甲基
2'-氟
硫代磷酸酯
RISC-RNA 诱导的沉默复合物

图1

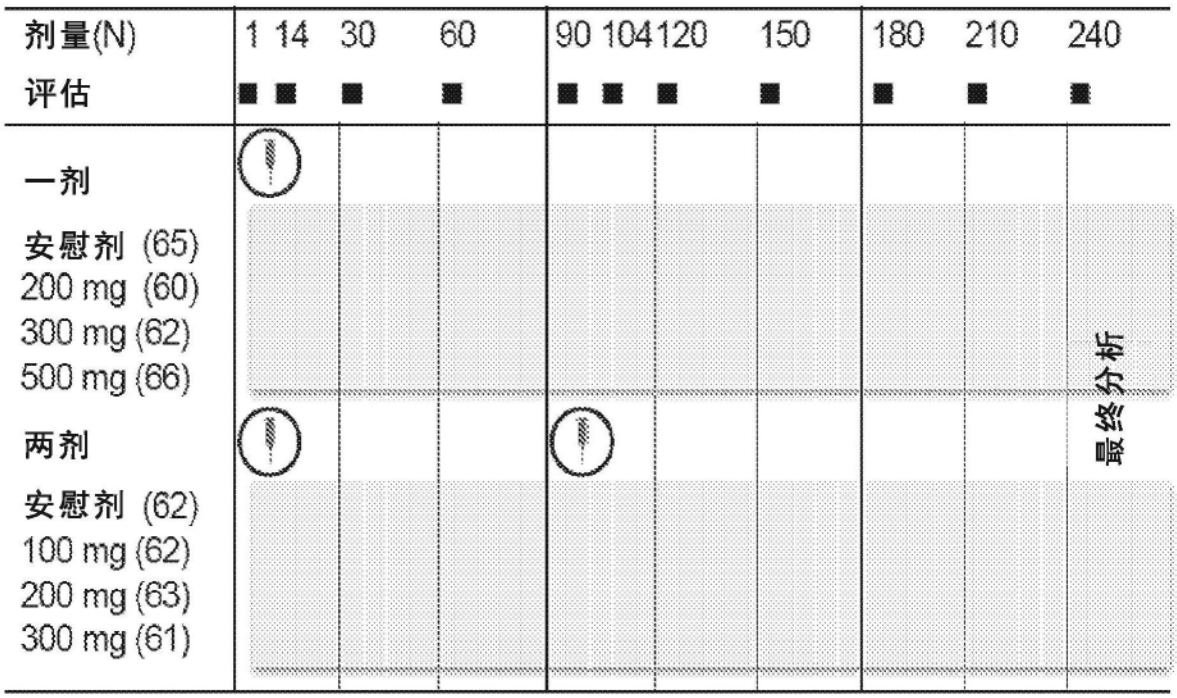

研究天数
剂量(N)
1 14 30 60 90 104 120 150 180 210 240
评估
一剂
安慰剂 (65)
200 mg (60)
300 mg (62)
500 mg (66)
两剂
安慰剂 (62)
100 mg (62)
200 mg (63)
300 mg (61)
最终分析

图2

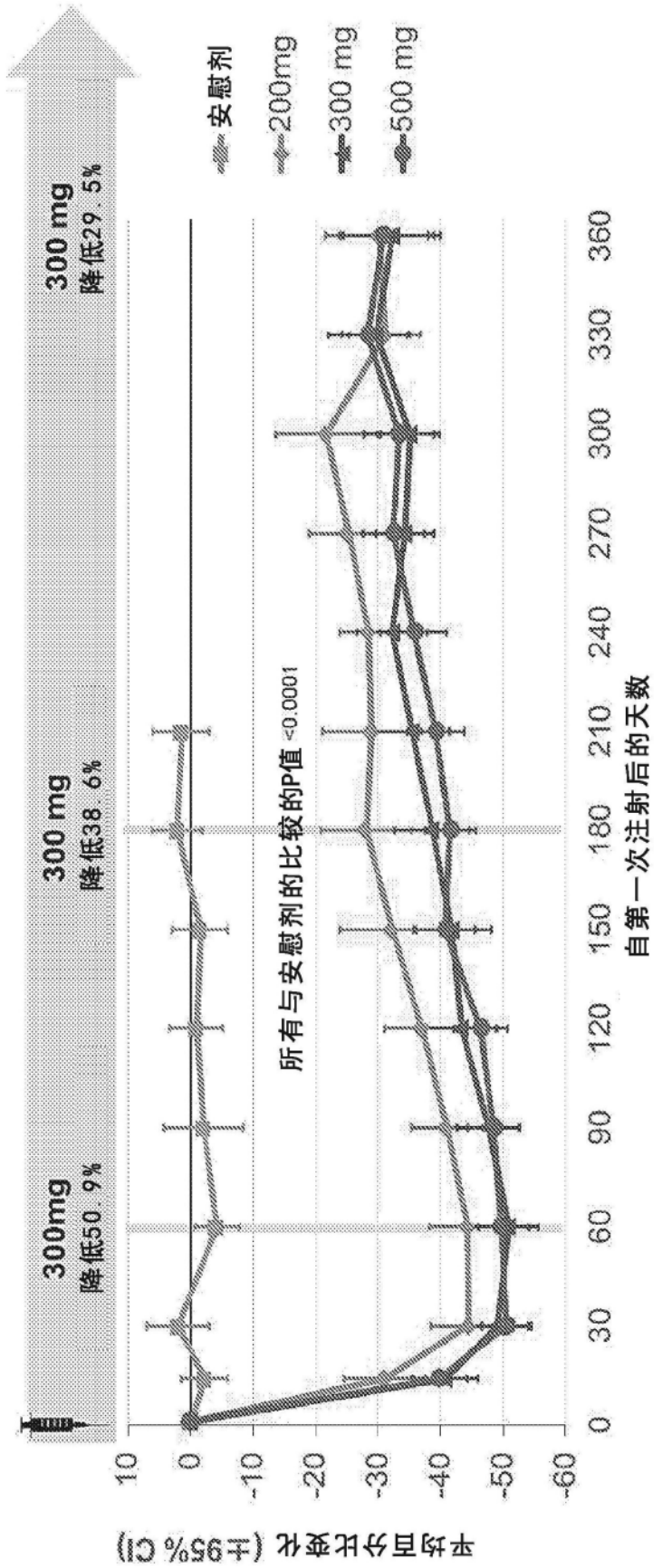

300mg
降低50.9%
300 mg
降低38.6%
300 mg
降低29.5%
安慰剂
200mg
300 mg
500 mg
所有与安慰剂的比较的P值 <0.0001
平均百分比变化 (±95% CI)
自第一次注射后的天数
10
0
-10
-20
-30
-40
-50
-60
0
30
60
90
120
150
180
210
240
270
300
330
360

图3

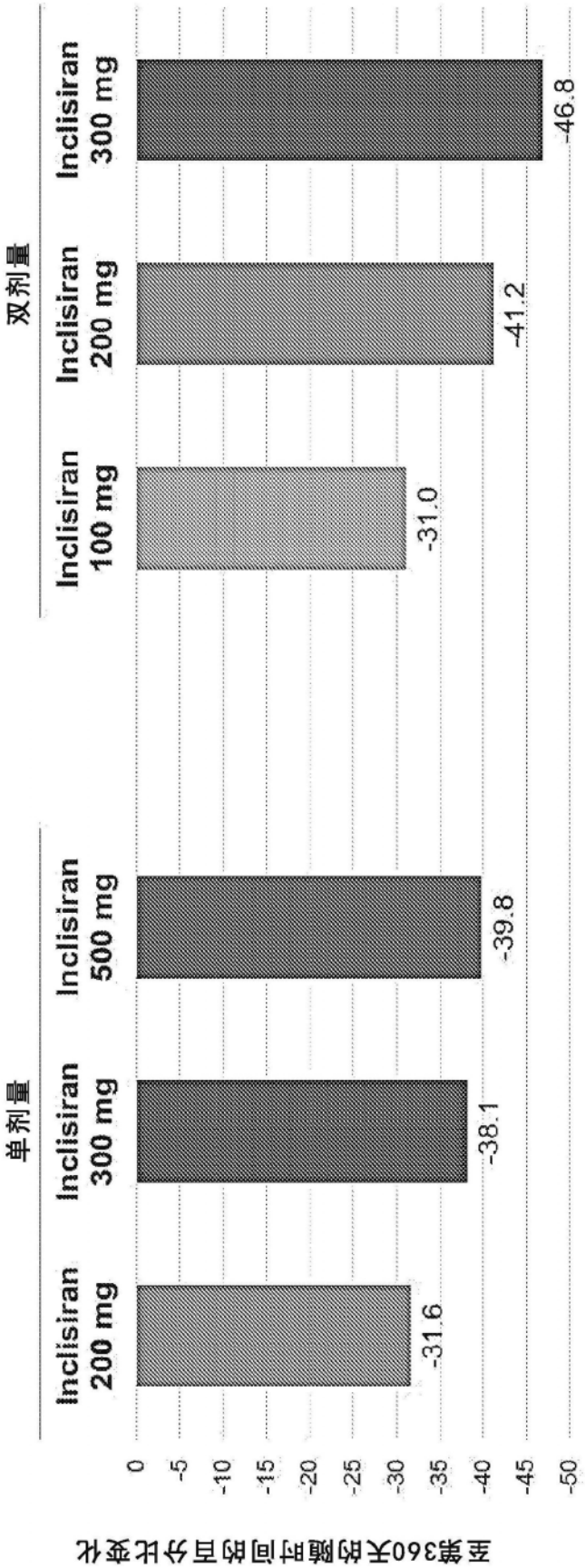

至第360天的随时间的百分比变化
0
-5
-10
-15
-20
-25
-30
-35
-40
-45
-50
单剂量
双剂量
Inclisiran 200 mg
-31.6
Inclisiran 300 mg
-38.1
Inclisiran 500 mg
-39.8
Inclisiran 100 mg
-31.0
Inclisiran 200 mg
-41.2
Inclisiran 300 mg
-46.8

图4

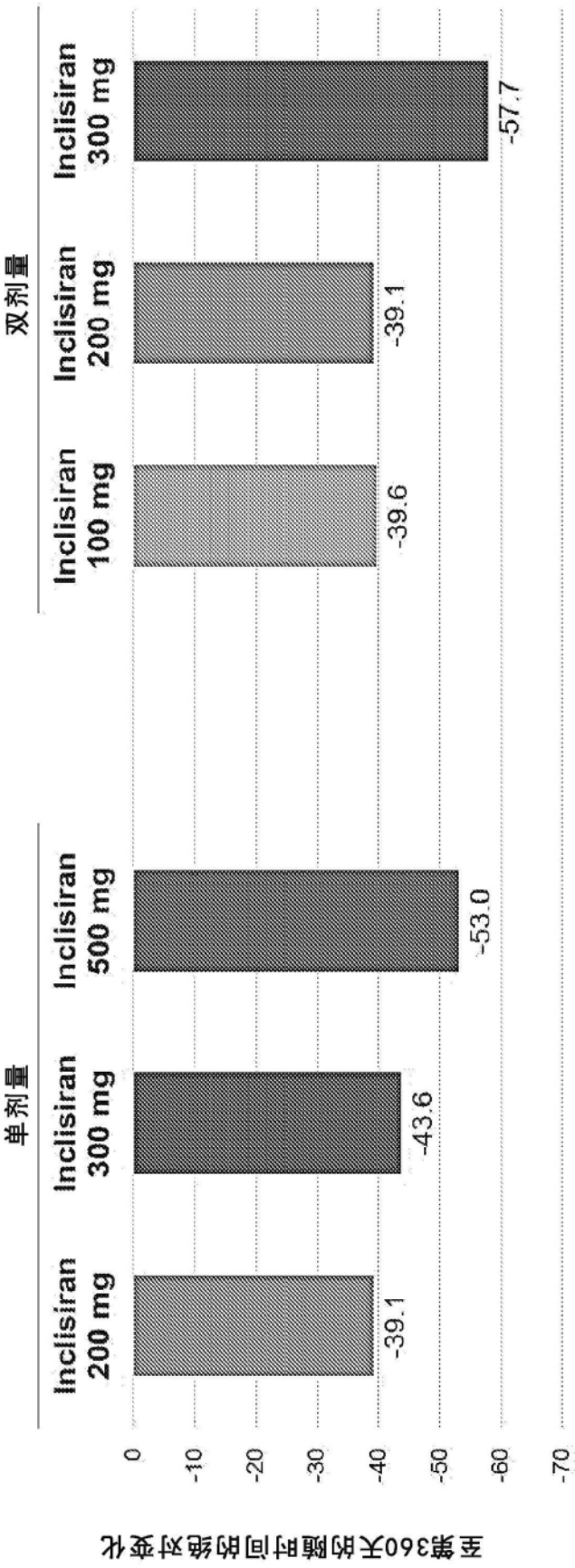

至第360天的随时间的绝对变化
0
-10
-20
-30
-40
-50
-60
-70
单剂量
Inclisiran 200 mg
-39.1
Inclisiran 300 mg
-43.6
Inclisiran 500 mg
-53.0
双剂量
Inclisiran 100 mg
-39.6
Inclisiran 200 mg
-39.1
Inclisiran 300 mg
-57.7

图5

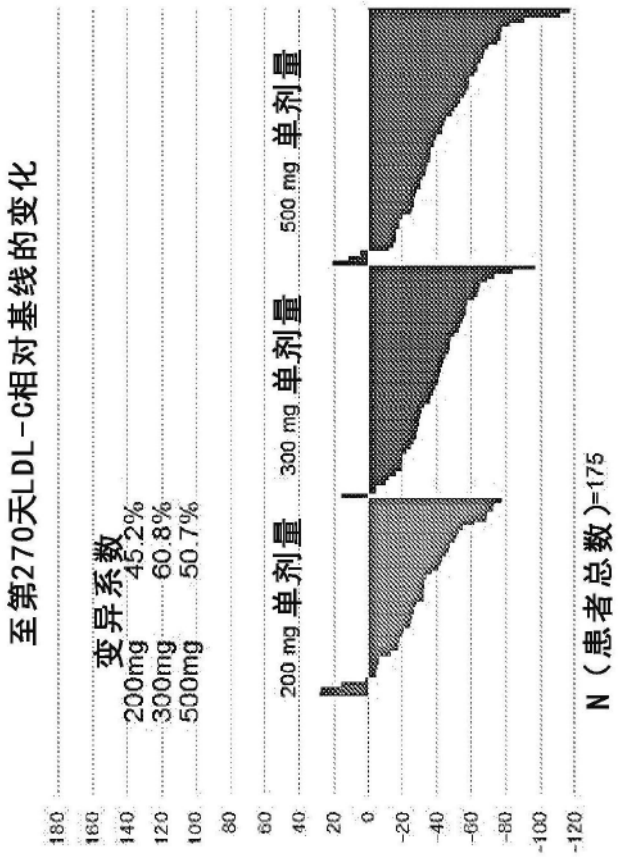

至第270天LDL-C相对基线的变化
变异系数
200mg 45.2%
300mg 60.8%
500mg 50.7%
200 mg 单剂量
300 mg 单剂量
500 mg 单剂量
N（患者总数）=175
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
-120

图6A

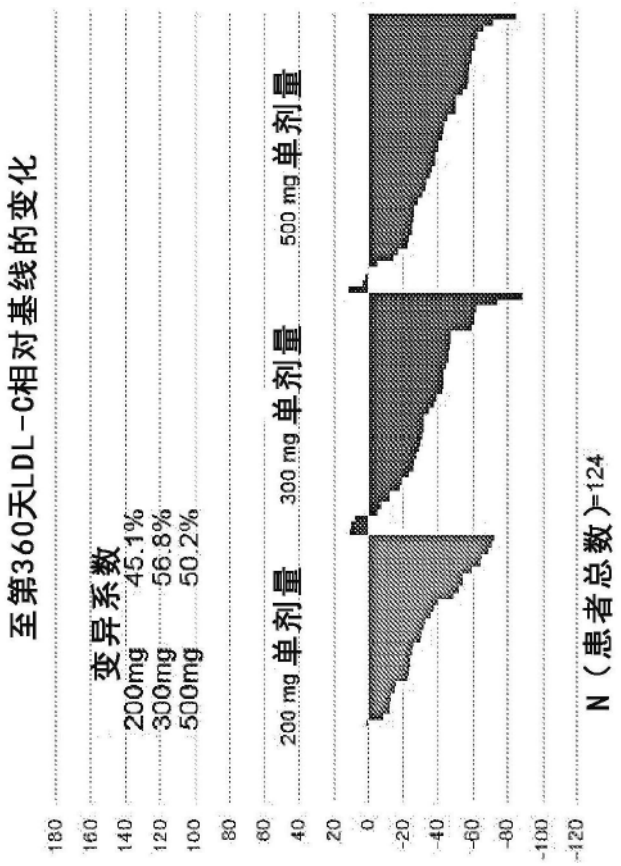

至第360天LDL-C相对基线的变化
变异系数
200mg 45.1%
300mg 56.8%
500mg 50.2%
200 mg 单剂量
300 mg 单剂量
500 mg 单剂量
N（患者总数）=124
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
-120

图6B

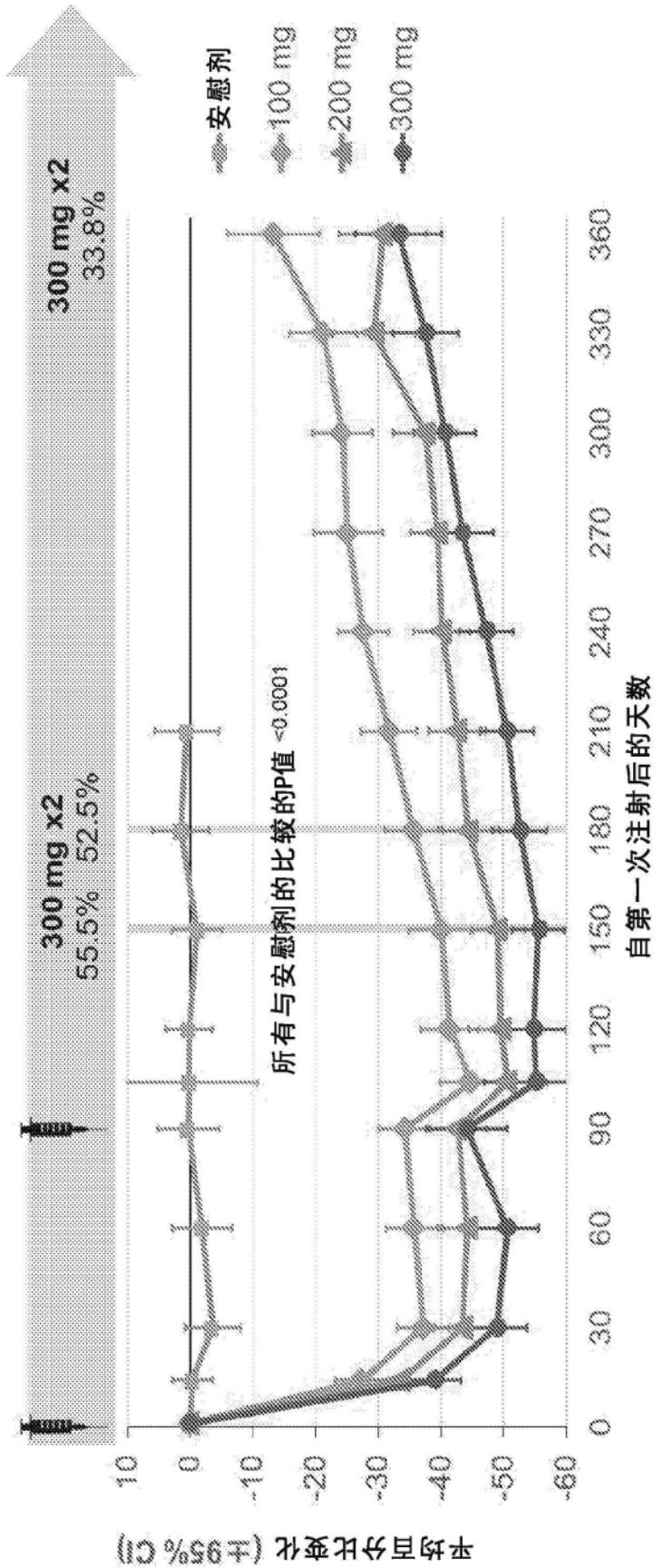

300 mg x2
33.8%
300 mg x2
55.5% 52.5%
安慰剂
100 mg
200 mg
300 mg
所有与安慰剂的比较的P值 <0.0001
平均百分比变化 (±95% CI)
自第一次注射后的天数
10
0
-10
-20
-30
-40
-50
-60
0
30
60
90
120
150
180
210
240
270
300
330
360

图7

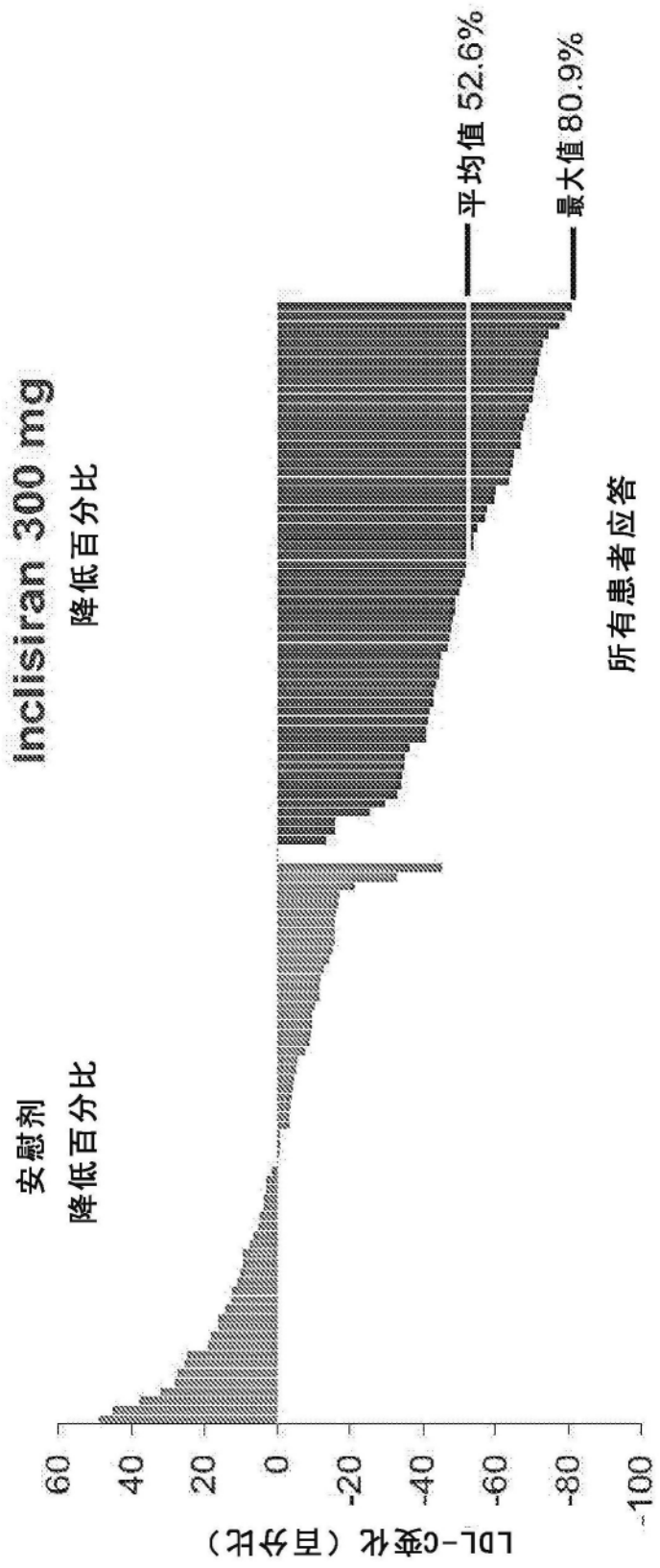

平均值 52.6%
最大值 80.9%
Inclisiran 300 mg
降低百分比
所有患者应答
安慰剂
降低百分比
60
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
LDL-c变化（百分比）

图8

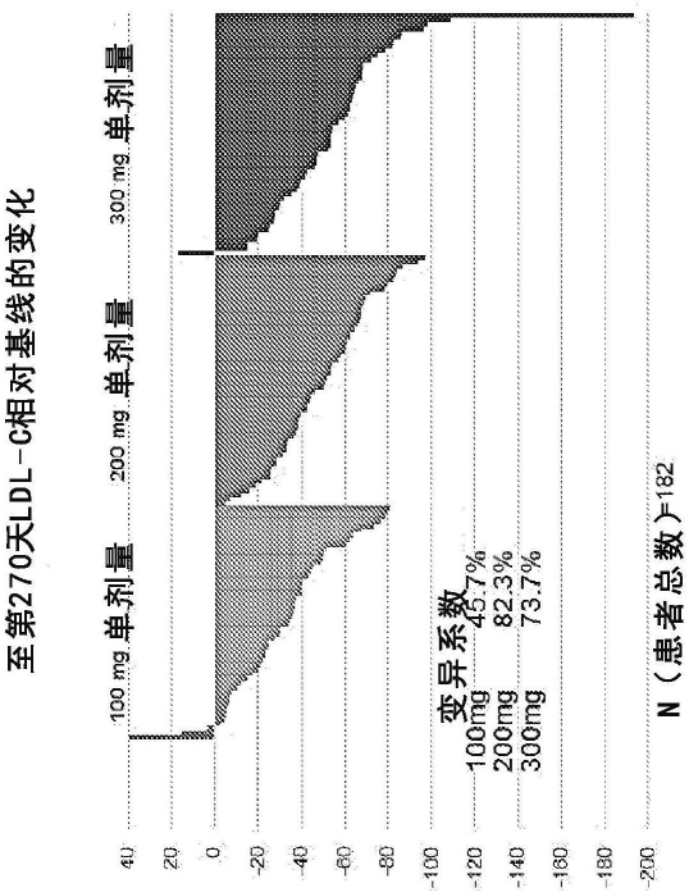

至第270天LDL-C相对基线的变化
100 mg 单剂量
200 mg 单剂量
300 mg 单剂量
变异系数
100mg 45.7%
200mg 82.3%
300mg 73.7%
N（患者总数）=182
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
-120
-140
-160
-180
-200

图9A

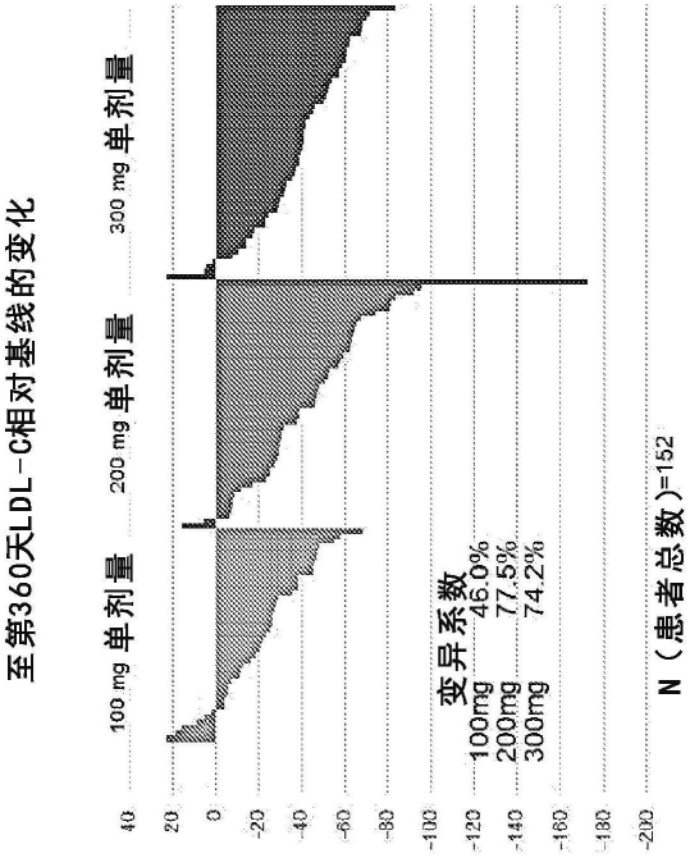

至第360天LDL-C相对基线的变化
100 mg 单剂量
200 mg 单剂量
300 mg 单剂量
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
-120
-140
-160
-180
-200
变异系数
100mg 46.0%
200mg 77.5%
300mg 74.2%
N（患者总数）=152

图9B

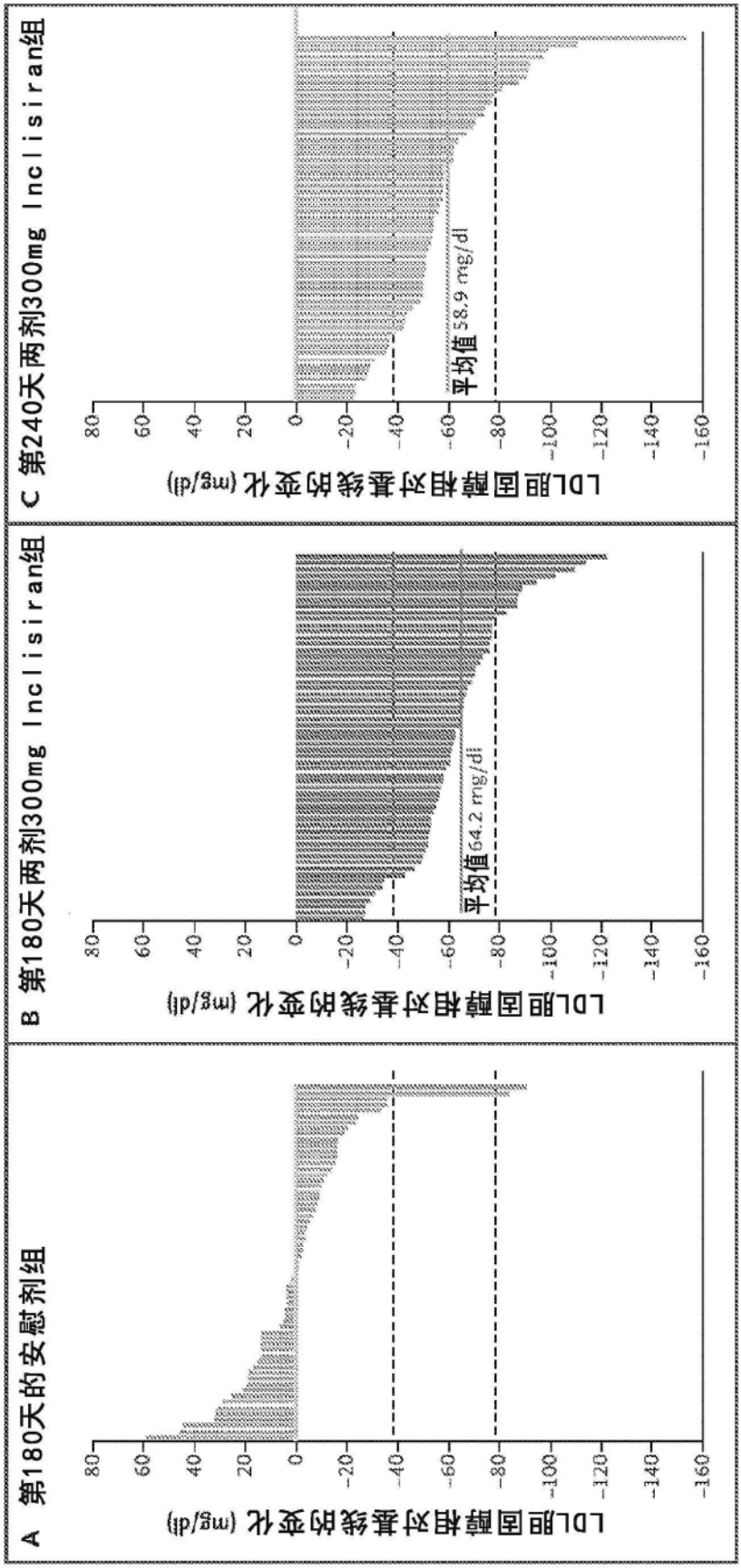


图10A 图10B 图10C

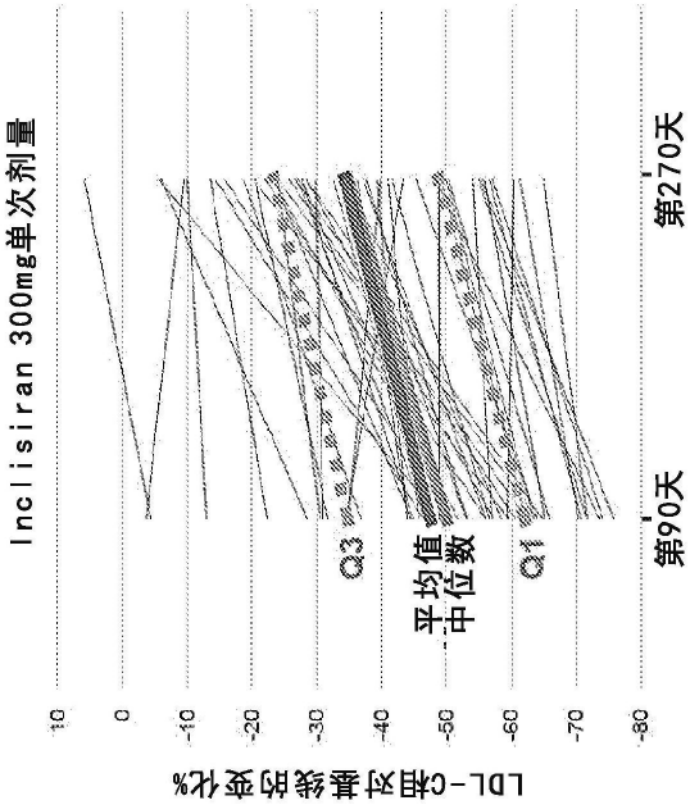

Inclisiran 300mg单次剂量
LDL-C相对基线的变化%
10
0
-10
-20
-30
-40
-50
-60
-70
-80
第90天
第270天
Q3
平均值
中位数
Q1

图11A

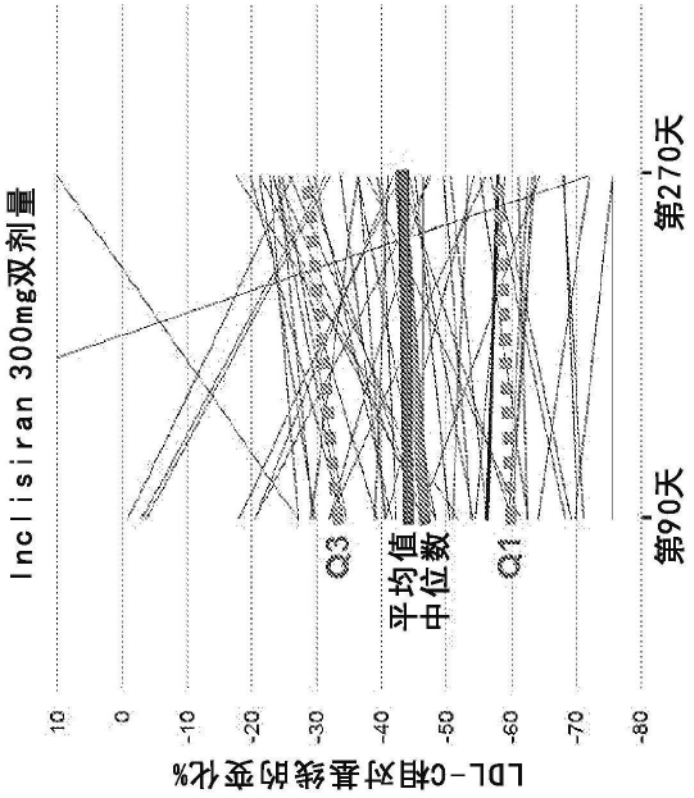

Inclisiran 300mg双剂量
LDL-C相对基线的变化%
10
0
-10
-20
-30
-40
-50
-60
-70
-80
第90天
第270天
Q3
平均值
中位数
Q1

图11B

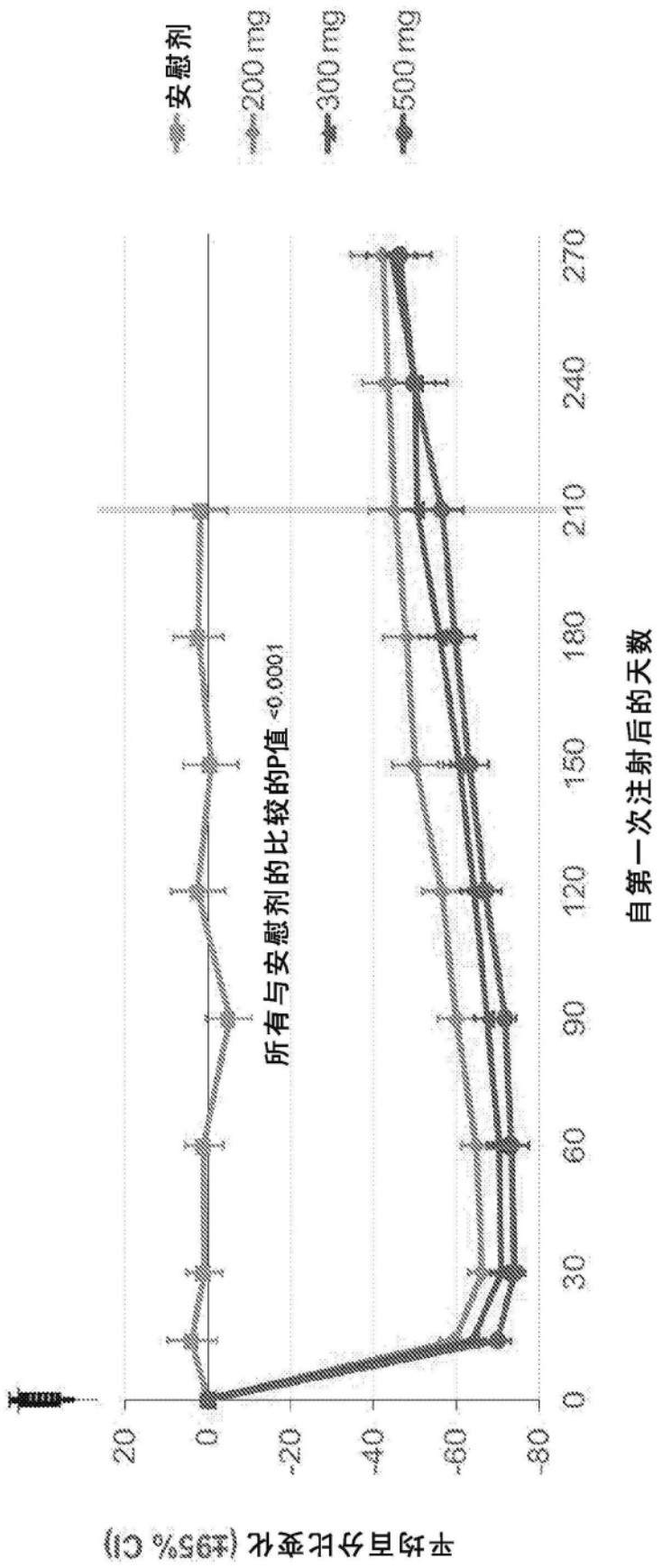

安慰剂
200 mg
300 mg
500 mg
所有与安慰剂的比较的P值 <0.0001
平均百分比变化 (±95% CI)
20
0
-20
-40
-60
-80
0
30
60
90
120
150
180
210
240
270
自第一次注射后的天数

图12

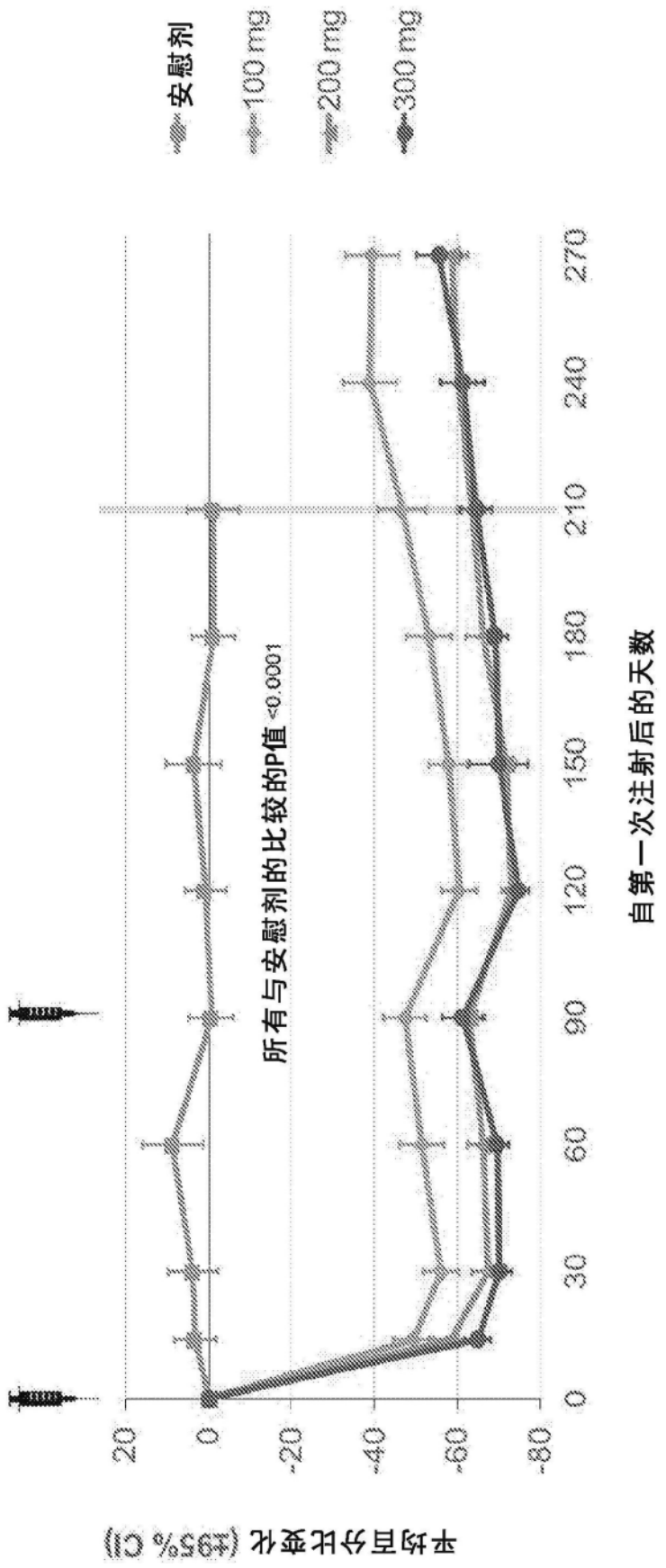

安慰剂
100 mg
200 mg
300 mg
所有与安慰剂的比较的P值 <0.0001
平均百分比变化 (±95% CI)
20
0
-20
-40
-60
-80
0
30
60
90
120
150
180
210
240
270
自第一次注射后的天数

图13

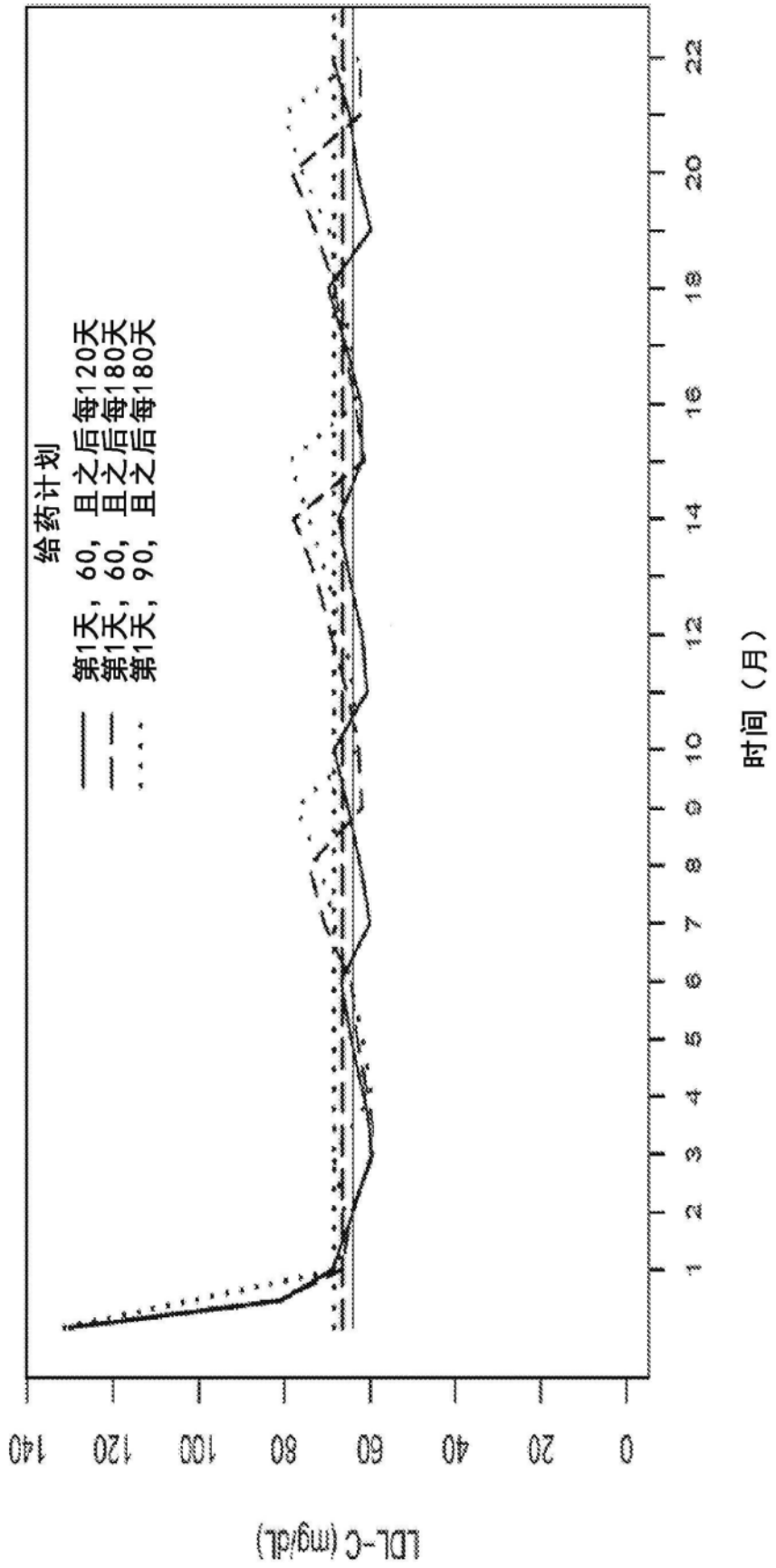

给药计划
第1天，60，且之后每120天
第1天，60，且之后每180天
第1天，90，且之后每180天
LDL-C (mg/dL)
0
20
40
60
80
100
120
140
时间（月）
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
12
14
16
18
20
22

图14