

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】令和 2 年 12 月 17 日 (2020.12.17)

【公表番号】特表 2020-500852 (P2020-500852A)

【公表日】令和 2 年 1 月 16 日 (2020.1.16)

【年通号数】公開・登録公報 2020-002

【出願番号】特願 2019-526287 (P2019-526287)

【国際特許分類】

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 P 3/04 (2006.01)

A 6 1 P 3/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 3/06 (2006.01)

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/28 (2006.01)

A 6 1 K 31/155 (2006.01)

A 6 1 K 31/64 (2006.01)

A 6 1 K 31/4439 (2006.01)

A 6 1 K 31/7034 (2006.01)

A 6 1 K 38/26 (2006.01)

A 6 1 K 31/403 (2006.01)

A 6 1 K 31/133 (2006.01)

A 6 1 K 31/4706 (2006.01)

C 0 7 K 16/22 (2006.01)

C 1 2 N 15/13 (2006.01)

【 F I 】

A 6 1 K 39/395 Z N A N

A 6 1 K 39/395 D

A 6 1 P 3/04

A 6 1 P 3/00

A 6 1 P 43/00 1 1 1

A 6 1 P 3/06

A 6 1 K 45/00

A 6 1 P 43/00 1 2 1

A 6 1 K 38/28

A 6 1 K 31/155

A 6 1 K 31/64

A 6 1 K 31/4439

A 6 1 K 31/7034

A 6 1 K 38/26

A 6 1 K 31/403

A 6 1 K 31/133

A 6 1 K 31/4706

C 0 7 K 16/22

C 1 2 N 15/13

【手続補正書】

【提出日】令和 2 年 11 月 2 日 (2020.11.2)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0102

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0102】

【図1】図1Aおよび1Bは、H4H15341Pの単回皮下用量を投与されたヒト化ANGPTL8マウスにおける血清トリグリセリド(1A)および全コレステロール(1B)濃度の平均 \pm SEM。投与された用量は研究0日目に1、5、10、または25mg/kgであった。統計的比較は対照Abからの差の二元配置分散分析により行った。 $* p < 0.05$ 、 $** p < 0.01$ 、 $*** p < 0.001$ 、 $**** p < 0.0001$ 。

【図2】図2は1、5、10、または25mg/kgの用量でのH4H15341Pの一回皮下用量の投与後の循環抗ヒト抗体のレベルを示している。

【図3】図3Aおよび3Bは、対照抗体と比べたANGPTL8マウスにおける血清リポタンパク質リパーゼ(LPL)(3A)および肝性リパーゼ(3B)に対するH4H15341P mAbの効果を示している。統計は対応のないスチューデントt検定により行った； $** p < 0.01$ 。

【図4】図4は、ANGPTL8マウスにおける脂質負荷試験でのmAb H4H15341Pの効果を示している。H4H15341P mAbの投与は、対照抗体と比べた急性脂肪負荷後のトリグリセリドレベルの低下について評価した。統計はボンフェローニの事後検定を用いた二元配置分散分析により行った； $**** p < 0.0001$ 。

【図5-1】図5A、5B、5C、5D、5E、および5Fは、mAb H4H15341PがANGPTL8^{hum/hum}マウスにおいて血清トリグリセリドを低減することを示している。血清サンプルは非絶食オスANGPTL8^{hum/hum}マウス($n = 5$ /群)から7日前に(ベースライン)およびH4H15341Pまたは対照抗体の単回皮下注射(10mg/kg)に続く指定された日に収集した。血清トリグリセリド(5A)およびコレステロール(5B)は酵素的に測定した。H4H15341Pまたは対照抗体を用いた処置の7日後に収集されたそれぞれのマウス由来の血清(20 μ l)はHPLCによりサイズ分画した。トリグリセリド(5C)およびコレステロール(5D)はそれぞれの画分で測定した。(5E)ヒトANGPTL8の全(遊離プラス抗体結合)血清レベルはELISAにより測定した。(5F)固形飼料給餌のANGPTL8^{hum/hum}マウスにおけるH4H15341Pによる血清トリグリセリドの用量依存性低下は、抗体投与の7および14日後に測定した。値は平均値のみが示されるクロマトグラムを除いて平均 \pm SEMである。統計解析はサイダックの補正事後検定を用いて二元配置分散分析により行った； $** p < 0.01$ 、 $*** p < 0.001$ 、 $**** p < 0.0001$ 。

【図5-2】図5-1の続き。

【図6】図6Aおよび6B。H4H15341PはANGPTL8^{hum/hum}マウスにおいてLPL活性を増加しトリグリセリドクリアランスを改善する。(6A)H4H15341Pまたは対照抗体を用いて処置した固形飼料給餌のANGPTL8^{hum/hum}マウス(10mg/kg、 $n = 5$ /群)のヘパリン後血漿LPLおよびHL活性。ヘパリン後血漿はプールし、ヘパリンカラム上で分画して、HLとLPLを分離し、トリグリセリドヒドロラーゼ活性を測定した。(6B)脂質負荷試験に続く血漿トリグリセリドレベルに対するH4H15341P処置の効果。オスANGPTL8^{hum/hum}マウスは、イントラリピッド(2.5 μ l/gの20%イントラリピッド)の静脈内投与の4日前にH4H15341Pまたは対照抗体を用いて処置した(10mg/kg、 $n = 5$ /群)。値は平均 \pm SEMである。統計解析はウェルチのt検定(A)およびボンフェローニの事後検定を用いた反復測定二元配置分散分析(B)により行った。 $** p < 0.01$ 、 $**** p < 0.0001$ 。HL = 肝性リパーゼ、LPL = リポタンパク質リパーゼ。

【図7-1】図7A、7B、7C、7D、7E、7F、および7G。H4H15341Pを多回投与するとANGPTL8^{hum/hum}マウスにおいて血清トリグリセリド、体重および脂肪含量を低減し、エネルギー消費を増やす。血清サンプルは、非絶食状態のオ

スANGPTL8^{hum/hum}マウス(n = 8/群、生後7週間)から収集した。その後、マウスは高脂肪、高コレステロールの食事(HFHC)をさせた。7日後、マウスはH4H15341Pまたは対照抗体(10mg/kg)の毎週皮下注射を受けた。血清サンプルはそれぞれの注射の非絶食6日後に収集した。TGの変化は研究の経過にわたり測定した(7A)。体重は毎週モニターした(7B)。身体組成は15週目に測定した(7C)。呼吸交換率(RES)(7D)、エネルギー消費(7E)、食物摂取量(7F)および自発運動活性(7G)はH4H15341Pおよび対照抗体処置マウスにおいて明暗周期中に測定した。値はすべて平均±SEMである。統計解析はおよびボンフェローニの補正事後検定を用いた反復測定二元配置分散分析(7Aおよび7B)またはウェルチのt検定(7C~7G)により行った。^{*}p < 0.05、^{**}p < 0.01、^{***}p < 0.001、^{****}p < 0.0001。

【図7-2】図7-1の続き。

【図8-1】図8A、8B、8C、8D、8E、および8F。自然発生高トリグリセリド血症のカニクイザルにH4H15341Pを単回投与すると、血漿トリグリセリドが減少し、HDL-Cが増加する。ベースライン血清サンプルは、非絶食動物から-15、-7および0日目に収集した。18頭のサルを3つの群に分けH4H15341P(3、7または10mg/kg)を投与した。生理食塩水は6頭のサルに投与した。血清サンプルは複数日に収集し、トリグリセリド(8A)、HDL-C(8B)およびLDL-C(8C)について分析し、ベースラインからのパーセンテージ変化としても表した：トリグリセリド(8D)、HDL-C(8E)およびLDL-C(8F)。値はすべて平均±SEMである。統計はサイダックの事後検定を用いて反復測定二元配置分散分析により実施した；^{*}p < 0.05、^{**}p < 0.01、^{***}p < 0.001、^{****}p < 0.0001。

【図8-2】図8-1の続き。

【図8-3】図8-2の続き。

【図9】図9Aおよび9B。hANGPTL8-mFcおよびmfANGPTL8-mFcへのH4H15341P結合についてのセンサーグラム。約30RUのhANGPTL8-mFc(9A)およびmfANGPTL8-mFc(9B)を先ずヤギ抗マウスIgG2aポリクローナル抗体固定化HCA表面で捕捉した。HBS-ETランニングバッファで3倍に連続希釈した異なる濃度のH4H15341Pを後に4分間注射し、10分間の解離工程が続いた。結合センサーグラムは黒色で示され、動態学値を計算するための作成されたグローバルフィットは灰色で示されている。結合データを適合させるのに使用される最高抗原濃度も提供され、動態学解析の結果は表20に作表している。

【図10】図10A、10B、10C、および10D。H4H15341Pおよび対照抗体処置HFHC給餌ANGPTL8^{hum/hum}マウスの代謝パラメータ。循環脂質レベルは、オスANGPTL8^{hum/hum}マウスおよびその野生型同腹仔から収集した血清から評価した。(10A)全コレステロール、(10B)トリグリセリド、(10C)LDL-C、および(10D)HDL-Cが示されている。値はすべて平均±SEMである。統計解析はウェルチのt検定により行った。^{*}p < 0.01。

【図11-1】図11A、11B、11C、および11D。H4H15341Pを多回投与すると、HFHC給餌ANGPTL8^{hum/hum}マウスにおいてエネルギー消費、O₂消費、およびCO₂生成が増加する。O₂消費(11A)およびCO₂生成(11B)の変化を、図7A~7Gに記載される研究においてH4H15341Pおよび対照抗体処置マウスで明暗周期中に評価した。共分散分析を使用して、図11Cに記載される研究において、H4H15341Pおよび対照抗体処置マウスについてエネルギー消費と体重の間の相関関係を示している明暗周期中散布図として、ならびに0.03688kgの調整平均体重について明暗周期中の調整平均エネルギー消費として(11D)表される間接的热量測定。値はすべて平均±SEMである。統計解析はウェルチのt検定により行った。^{*}p < 0.05；^{**}p < 0.01；^{***}p < 0.001；^{****}p < 0.0001。

【図 1 1 - 2】図 1 1 - 1 の続き。

【図 1 2 - 1】図 1 2 A、1 2 B、1 2 C、1 2 D、1 2 E、および 1 2 F。H 4 H 1 5 3 4 1 P および対照 a b 処置 H F H C 給餌 A N G P T L 8 ^{h u m / h u m} マウスの代謝パラメータ。データは、V O₂ (1 2 A)、V C O₂ (1 2 B)、呼吸商 (R E R) (1 2 C)、食物摂取量 (1 2 E)、エネルギー消費 (1 2 D)、および自発運動活性 (1 2 F) について明暗周期中の 7 2 時間にわたる連続測定値として表す。群はすべて 8 頭の動物を有する。値は平均 ± S E M である。

【図 1 2 - 2】図 1 2 - 1 の続き。

【図 1 2 - 3】図 1 2 - 2 の続き。

【図 1 3 - 1】図 1 3 A、1 3 B、1 3 C、1 3 D、1 3 E、1 3 F、および 1 3 G。H F H C 食事で維持された A N G P T L 8 ^{h u m / h u m} マウスへの H 4 H 1 5 3 4 1 P 毎週投与は、体温にも組織 T G 貯蔵にも何の効果も及ぼさなかった。体温は、H F H C 給餌 A N G P T L 8 ^{h u m / h u m} マウスへの H 4 H 1 5 3 4 1 P の 1 0 週間の多回注射後直腸プローブを使用して評価した (1 3 A)。肝臓 (1 3 B)、心臓 (1 3 C)、腓腹筋 (G A 筋) (1 3 D)、精巣上体白色脂肪組織 (e p i W A T) (1 3 E)、皮下白色脂肪組織 (s c W A T) (1 3 F)、および褐色脂肪組織 (B A T) (1 3 G) の T G 含有量は研究の終了時に測定した。値はすべて平均 ± S E M である。統計解析はウェルチの t 検定により行った。

【図 1 3 - 2】図 1 3 - 1 の続き。

【図 1 4 - 1】図 1 4 A、1 4 B、および 1 4 C。H F H C 食餌で維持された A N G P T L 8 ^{h u m / h u m} マウスへの H 4 H 1 5 3 4 1 P 毎週投与は、血糖管理に何の効果も及ぼさなかった。非絶食グルコースの変化 (1 4 A) は図 7 A ~ 7 G に記載される研究において複数の時点で評価した。グルコース負荷 (1 4 B) およびインスリン負荷 (1 4 C) 試験はそれぞれ抗体の 9 および 1 0 の多回用量後に行った。値はすべて平均 ± S E M である。統計解析はおよびボンフェローニの事後検定を用いた反復測定二元配置分散分析により行った。

【図 1 4 - 2】図 1 4 - 1 の続き。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

対象において体重の減少を達成するための方法で使用するための、A N G P T L 8 阻害剤を含む医薬組成物であって、前記 A N G P T L 8 阻害剤は、A N G P T L 8 に特異的な抗体もしくはその抗原結合断片であり、前記方法は前記対象に前記医薬組成物を投与することを含み、A N G P T L 8 の少なくとも 1 つの活性が低減または減少する、前記医薬組成物。

【請求項 2】

対象において体脂肪量の低減を達成するための方法で使用するための、A N G P T L 8 阻害剤を含む医薬組成物であって、前記 A N G P T L 8 阻害剤は、A N G P T L 8 に特異的な抗体もしくはその抗原結合断片であり、前記方法は前記対象に前記医薬組成物を投与することを含み、A N G P T L 8 の少なくとも 1 つの活性が低減または減少する、前記医薬組成物。

【請求項 3】

対象においてエネルギー消費を増加するための方法で使用するための、A N G P T L 8 阻害剤を含む医薬組成物であって、前記 A N G P T L 8 阻害剤は、A N G P T L 8 に特異的な抗体もしくはその抗原結合断片であり、前記方法は前記対象に前記医薬組成物を投与することを含み、A N G P T L 8 の少なくとも 1 つの活性が低減または減少する、前記医

薬組成物。

【請求項 4】

対象において HDL - C を増加するための方法で使用するための、ANGPTL8 阻害剤を含む医薬組成物であって、前記 ANGPTL8 阻害剤は、ANGPTL8 に特異的な抗体もしくはその抗原結合断片であり、前記方法は前記対象に前記医薬組成物を投与することを含み、ANGPTL8 の少なくとも 1 つの活性が低減または減少する、前記医薬組成物。

【請求項 5】

ANGPTL8 に特異的な抗体またはその抗原結合断片が、配列番号 162 / 170 または 314 / 322 に示される重鎖可変領域 / 軽鎖可変領域 (HCV R / LCV R) 配列対を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

ANGPTL8 に特異的な抗体またはその抗原結合断片が、それぞれ配列番号 164 / 166 / 168 / 172 / 174 / 176 または 316 / 318 / 320 / 324 / 326 / 328 のアミノ酸配列を有する HCD R 1 / HCD R 2 / HCD R 3 / LCD R 1 / LCD R 2 / LCD R 3 ドメインを含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

前記対象における循環トリグリセリド (TG) が、ANGPTL8 阻害剤の前記投与 1 日後、少なくとも 50 % 低減される、請求項 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

肥満に関連する状態または疾患、または前記状態または疾患に関連する少なくとも 1 つの症状または合併症を処置するための方法で使用するための、ANGPTL8 阻害剤を含む医薬組成物であって、前記 ANGPTL8 阻害剤は、ANGPTL8 に特異的な抗体もしくはその抗原結合断片であり、前記方法はそれを必要とする患者に前記医薬組成物を投与することを含み、それにより、前記状態または疾患が治療される、または前記状態または疾患に関連する少なくとも 1 つの症状または合併症が軽減されるかもしくはその頻度または重症度が低減される、前記医薬組成物。

【請求項 9】

第 2 の治療薬の投与をさらに含む、請求項 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

第 2 の治療薬が、アンジオポエチン様タンパク質 3 (ANGPTL3)、アンジオポエチン様タンパク質 4 (ANGPTL4)、アンジオポエチン様タンパク質 5 (ANGPTL5)、アンジオポエチン様タンパク質 6 (ANGPTL6)、ヒトプロタンパク質転換酵素スプチリシン / ケキシン 9 型 (PCSK9) に特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合断片からなる群から選択される、請求項 9 に記載の医薬組成物。

【請求項 11】

第 2 の治療薬が、インスリン、ピグアナイド (メトホルミン)、スルホニル尿素 (例えば、グリブライド、グリピジド)、PPAR ガンマアゴニスト (例えば、ピオグリタゾン、ロシグリタゾン)、アルファグルコシダーゼ阻害剤 (例えば、アカルボース、ボグリボース)、グルカゴン様ペプチド 1 (GLP - 1) アゴニスト (例えば、BYETTA (登録商標) (エキセナチド)、TRULICITY (商標) (デュラグルチド)、VICTOZA (登録商標) (リラグルチド)、LYXUMIA (登録商標) (リキシセナチド)、TANZEUM (商標) (アルビグルチド)、または前述のもののいずれかの類似体、ジペプチジルペプチダーゼ IV (DPP - 4) 阻害剤 (例えば、サキサグリブチン (ONGLYZA (登録商標))、シタグリブチン (JANUVIA (登録商標))、およびビルダグリブチン (GALVUS (登録商標))、ナトリウムグルコース共輸送体 2 (SGLT2) 阻害剤 (例えば、INVOKANA (商標) (カナグリフロジン)、FORXIGA (登録商標) (ダパグリフロジン)、エンパグリフロジン、イブラグリフロジン、トホグリフロジン)、SYMLIN (登録商標) (ブラムリンチド)、グルカゴン受容体アン

タゴニスト、非スルホニル尿素分泌促進物質、インスリン類似体（例えば、速効性リスプロ、アスパルト、グルリジンおよび持効性、デテミルインスリン、デグルデクインスリン、またはグラルギンインスリン）、エキセンディン - 4 ポリペプチド、ベータ3アドレノセプターアゴニスト、コレステロール取込みおよび/または胆汁酸再吸収の阻害剤、LDL - コレステロールアンタゴニスト、コレステリルエステル輸送タンパク質アンタゴニスト（例えば、トルセトラピブ、アナセトラピブ、ダルセトラピブ、またはエバセトラピブ）、エンドセリン受容体アンタゴニスト、成長ホルモンアンタゴニスト、インスリン感受性改善薬、アミリン模倣物またはアゴニスト、カンナビノイド受容体アンタゴニスト、メラノコルチン、メラニン凝集ホルモン受容体アゴニスト、SNRI、線維芽細胞成長因子21（FGF21）模倣物、線維芽細胞成長因子受容体1c（FGFR1c）アゴニスト、最終糖化産物形成の阻害剤（例えば、アミノグアニジン）、およびタンパク質チロシンホスファターゼ阻害剤からなる群から選択される、請求項9に記載の医薬組成物。