

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6549102号  
(P6549102)

(45) 発行日 令和1年7月24日(2019.7.24)

(24) 登録日 令和1年7月5日(2019.7.5)

(51) Int.Cl.

F 1

A 61 K 39/395	(2006.01)	A 61 K 39/395	Z N A N
A 61 K 45/00	(2006.01)	A 61 K 45/00	
A 61 K 31/4418	(2006.01)	A 61 K 31/4418	
A 61 K 31/40	(2006.01)	A 61 K 31/40	
A 61 K 31/366	(2006.01)	A 61 K 31/366	

請求項の数 17 (全 41 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2016-517031 (P2016-517031)
(86) (22) 出願日	平成26年5月30日 (2014.5.30)
(65) 公表番号	特表2016-520616 (P2016-520616A)
(43) 公表日	平成28年7月14日 (2016.7.14)
(86) 國際出願番号	PCT/US2014/040163
(87) 國際公開番号	W02014/194168
(87) 國際公開日	平成26年12月4日 (2014.12.4)
審査請求日	平成29年5月17日 (2017.5.17)
(31) 優先権主張番号	61/828,753
(32) 優先日	平成25年5月30日 (2013.5.30)
(33) 優先権主張国	米国(US)
(31) 優先権主張番号	61/901,705
(32) 優先日	平成25年11月8日 (2013.11.8)
(33) 優先権主張国	米国(US)

(73) 特許権者	597160510 リジエネロン・ファーマシューティカルズ ・インコーポレイテッド REGENERON PHARMACEUTICALS, INC. アメリカ合衆国10591-6707ニューヨーク州タリータウン、オールド・ソーミル・リバー・ロード777番
(74) 代理人	100127926 弁理士 結田 純次
(74) 代理人	100140132 弁理士 竹林 則幸

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】プロタンパク質変換酵素スプチリシンケキシン-9 (P C S K 9) の阻害剤を投与することによるレムナントコレステロールおよび他のリポタンパク質画分を減少させるための方法

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

患者における血清 I D L - C を減少させ、心血管疾患または障害を治療または予防するための方法で使用するための P C S K 9 阻害剤を含む医薬組成物であって、該方法が、垂直型自動プロファイル試験により測定して 1 0 m g / d L よりも大きいレベルの血清 I D L - C を有し、心血管疾患または障害を有すると診断され、または発症する危険性があると認定される患者を選択すること、および該医薬組成物を患者に投与することを含み、前記 P C S K 9 阻害剤が、配列番号 9 0 のアミノ酸配列を有する H C V R と、配列番号 9 2 のアミノ酸配列を有する L C V R とを含む、抗体またはその抗原結合断片である、前記医薬組成物。

10

## 【請求項 2】

血清 I D L - C が、患者において医薬組成物の投与後にベースラインから少なくとも約 5 0 % ~ 約 5 6 % 減少する、請求項 1 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 3】

患者が、1 1 m g / d L 、1 2 m g / d L 、1 3 m g / d L 、1 4 m g / d L 、1 5 m g / d L 、1 6 m g / d L 、1 7 m g / d L 、1 8 m g / d L 、1 9 m g / d L 、2 0 m g / d L 、2 5 m g / d L 、3 0 m g / d L 、3 5 m g / d L 、4 0 m g / d L 、4 5 m g / d L 、または 5 0 m g / d L より大きな血清 I D L - C レベルを有する、請求項 1 または 2 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 4】

20

血清 I D L - C が、食後の、または絶食期間後の患者において測定される、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

**【請求項 5】**

心血管疾患または障害が、冠動脈疾患、急性心筋梗塞、無症候性アテローム性頸動脈硬化症、脳卒中、及び、末梢動脈閉塞性疾患からなる群から選択される、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】**

患者が、高コレステロール血症を有し、または発症する危険性を有する、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】**

高コレステロール血症がヘテロ結合家族性高コレステロール血症 ( h e F H ) であるか、または、非家族性高コレステロール血症 ( n o n F H ) である、請求項 6 に記載の医薬組成物。

**【請求項 8】**

医薬組成物が 2 0 m g ~ 2 0 0 m g の P C S K 9 阻害剤を含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

**【請求項 9】**

医薬組成物が 5 0 m g ~ 1 5 0 m g の P C S K 9 阻害剤を含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

**【請求項 10】**

医薬組成物が 5 0 m g の P C S K 9 阻害剤を含む、請求項 9 に記載の医薬組成物。

**【請求項 11】**

医薬組成物が 7 5 m g の P C S K 9 阻害剤を含む、請求項 9 に記載の医薬組成物。

**【請求項 12】**

医薬組成物が 1 0 0 m g の P C S K 9 阻害剤を含む、請求項 9 に記載の医薬組成物。

**【請求項 13】**

医薬組成物が 1 5 0 m g の P C S K 9 阻害剤を含む、請求項 9 に記載の医薬組成物。

**【請求項 14】**

患者が、医薬組成物の投与の時点で、またはその直前に治療的スタチンレジメン上有る、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

**【請求項 15】**

治療的スタチンレジメンが、セリバスタチン、アトルバスタチン、シンバスタチン、ピタバスタチン、ロスバスタチン、フルバスタチン、ロバスタチンおよびプラバスタチンからなる群から選択されるスタチンを含む、請求項 1 4 に記載の医薬組成物。

**【請求項 16】**

スタチンがアトルバスタチンである、請求項 1 4 に記載の医薬組成物。

**【請求項 17】**

患者が、医薬組成物の投与の時点で治療的スタチンレジメン上にない、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

**【発明の詳細な説明】**

**【技術分野】**

**【0 0 0 1】**

本発明は、リポタンパク質レベルの上昇と関連する疾患および障害の治療処置の分野に関する。より特には、本発明は、患者における血清レムナントコレステロールおよび他のリポタンパク質サブ画分 ( s u b f r a c t i o n ) のレベルを減少させるための P C S K 9 阻害剤の投与に関する。

**【背景技術】**

**【0 0 0 2】**

レムナントコレステロール ( レムナントリポタンパク質とも呼ばれる ) は、非 H D L および非 L D L コレステロールを含むコレステロールのカテゴリーである。レムナントリポ

10

20

30

40

50

タンパク質は、VLDL脂肪分解の生成物であり、VLDL<sub>3</sub>および中間密度リポタンパク質（IDL、LDL形成の直接前駆体）を含む。血清レムナントコレステロールレベルは、冠動脈疾患の予測危険因子として同定されている。レムナントコレステロールに加えて、心血管の健康との関連性を有してもよい低密度リポタンパク質コレステロール（LDL-C）のいくつかのサブ画分が存在する。特に、LDL-Cは、異なる密度および脂質化状態のLDL粒子の連続体から構成される。血清レムナントコレステロールおよび他のリポタンパク質サブ画分レベルの治療的減少は、心血管障害の危険性を処置または低下させるための手段であってもよい。

#### 【0003】

PCSK9は、分泌スプチラーゼファミリーのプロテイナーゼKサブファミリーに属するプロタンパク質変換酵素である。血清総コレステロール、LDLコレステロールおよび血清トリグリセリドを減少させるためのPCSK9阻害剤（抗PCSK9抗体）の使用は、特許文献1、特許文献2および特許文献3に記載されている。

10

#### 【先行技術文献】

##### 【特許文献】

##### 【0004】

【特許文献1】米国特許第8,062,640号

【特許文献2】米国特許第8,357,371号

【特許文献3】米国特許出願公開第2013/0064834号

#### 【発明の概要】

20

#### 【発明が解決しようとする課題】

##### 【0005】

本発明は、患者の血清中の様々なリポタンパク質およびリポタンパク質画分を減少させるための方法を提供する。患者は、高コレステロール血症を有するか、もしくは高コレステロール血症を発症する危険性がある患者、または心血管疾患を有するか、もしくはそれを発症する危険性がある患者であってよい。

#### 【課題を解決するための手段】

##### 【0006】

本発明の方法は、特定のリポタンパク質またはリポタンパク質画分の血清レベルが上昇した患者を選択すること、およびプロタンパク質変換酵素スプチリシンケキシン-9（PCSK9）の阻害剤を含む医薬組成物を患者に投与することを含む。本発明のある特定の態様によれば、患者は、血清レムナントコレステロールレベルの上昇を有することに基づいて選択される。本発明のある特定の他の態様によれば、患者は、血清超低密度リポタンパク質コレステロールレベルの上昇（例えば、血清VLDL-C、VLDL<sub>1</sub>-C、VLDL<sub>2</sub>-C、VLDL<sub>1+2</sub>-C、VLDL<sub>3</sub>-Cなどの上昇）を有することに基づいて選択される。本発明のさらに他の態様によれば、患者は、血清中間密度リポタンパク質コレステロール（IDL-C）レベルの上昇を有することに基づいて選択される。本発明のある特定の他の態様によれば、患者は、1つまたはそれ以上の低密度リポタンパク質コレステロール（LDL-C）サブ画分の血清レベルの上昇（例えば、血清LDL<sub>1</sub>-C、LDL<sub>2</sub>-C、LDL<sub>3</sub>-C、LDL<sub>4</sub>-C、LDL<sub>3+4</sub>-Cなどの上昇）を有することに基づいて選択される。本発明のある特定の態様によれば、患者は、さらにまたはあるいは、Lp(a)の血清レベルの上昇を有することに基づいて選択される。

30

##### 【0007】

また、患者を、リポタンパク質レベルの減少が有益であるか、または危険性を低下させるような疾患および障害に関するさらなる危険因子を示すことにに基づいて選択することができる。例えば、高コレステロール血症（例えば、h e F H、非 F Hなど）を有する患者は、本発明の治療方法を用いる処置のための良好な候補であってもよい。

##### 【0008】

本発明の方法に従って投与することができるPCSK9阻害剤としては、例えば、抗PCSK9抗体またはその抗原結合断片が挙げられる。本発明の方法の実施において用いる

40

50

ことができる抗 P C S K 9 抗体の特定例としては、米国特許第 8,062,640 号に記載された、および / またはそこに開示された任意の抗体または抗原結合断片が挙げられる。

【 0 0 0 9 】

P C S K 9 阻害剤を、皮下的または静脈内的に対象に投与することができる。さらに、P C S K 9 阻害剤を、治療的介入の時点で治療的スタチンレジメンにある患者に投与することができる。

【 0 0 1 0 】

本発明の他の実施形態は、以下の詳細な説明の概説から明らかとなる。

【 図面の簡単な説明 】

10

【 0 0 1 1 】

【 図 1 】バックグラウンドスタチン療法を受けていない健康な対象における m A b 3 1 6 P 150 mg の単回用量後の m A b 3 1 6 P、遊離（未結合）P C S K 9、および L D L - C レベルの間の動的関係を示す図である。

【 図 2 】 m A b 3 1 6 P 50、100、または 150 mg S C + アトルバスタチンまたは m A b 3 1 6 P 150 mg S C + 食事のみを受けている H e F H および非 F H 患者における遊離 m A b 3 1 6 P の平均濃度を示す図である。点線は遊離 P C S K 9 の定量限界（0.0312 mg / d L）を示す。

【 図 3 】患者におけるベースライン対平均総 m A b 3 1 6 P 濃度（mg / d L）からの L D L - C の平均パーセンテージ変化を示す図である（H e F H と非 F H の組合せ；試験 1 日目、29 日目および 43 日目に m A b 3 1 6 P 150 mg S C を受ける n = 21）。点は、サンプリング時間；h、時間；d、日を示す。ヒステリシス曲線は、矢印により示される通り、時間と共に時計回りの方向に移動し、これは、m A b 3 1 6 P 濃度と、L D L - C の変化との間の時間的関係を示している。

20

【 図 4 】アトルバスタチンまたは食事のみ（スタチンなし）を受ける非 F H 患者における平均ベースライン遊離 P C S K 9 レベルを示す図である。

【 図 5 】 m A b 3 1 6 P 150 mg S C またはプラセボ ± アトルバスタチンを受ける患者に関する L D L - C 効能曲線を示す図である。

【 図 6 】 m A b 3 1 6 P 50 mg、100 mg、もしくは 150 mg Q 2 W、200 mg もしくは 300 mg Q 4 W、またはプラセボの投与後、同時スタチン療法上にある高コレステロール血症患者における経時的なベースラインからの L D L - C の平均パーセンテージ変化を示す図である。デルタ記号（Δ）は、L O C F 平均に対応する。

30

【 図 7 】3つの異なる臨床試験（本明細書の表 1 にまとめられる A、B および C）におけるプラセボおよび m A b 3 1 6 P 150 mg Q 2 W に関する処置の前後での V L D L および血清レムナントリポタンパク質サブ画分およびトリグリセリド中のコレステロールの平均（S D）レベルを示す図である。図 7 は試験 A の結果を示す。

【 図 8 】3つの異なる臨床試験（本明細書の表 1 にまとめられる A、B および C）におけるプラセボおよび m A b 3 1 6 P 150 mg Q 2 W に関する処置の前後での V L D L および血清レムナントリポタンパク質サブ画分およびトリグリセリド中のコレステロールの平均（S D）レベルを示す図である。図 8 は試験 B の結果を示す。

40

【 図 9 】3つの異なる臨床試験（本明細書の表 1 にまとめられる A、B および C）におけるプラセボおよび m A b 3 1 6 P 150 mg Q 2 W に関する処置の前後での V L D L および血清レムナントリポタンパク質サブ画分およびトリグリセリド中のコレステロールの平均（S D）レベルを示す図である。図 9 は試験 C の結果を示す。

【 図 1 0 】3つの異なる臨床試験（本明細書に表 1 にまとめられる A、B および C）におけるプラセボおよび m A b 3 1 6 P 150 mg Q 2 W に関する処置の前後での L D L サブ画分中のコレステロールの平均（S D）レベルを示す図である。図 1 0 は試験 A の結果を示す。

【 図 1 1 】3つの異なる臨床試験（本明細書に表 1 にまとめられる A、B および C）におけるプラセボおよび m A b 3 1 6 P 150 mg Q 2 W に関する処置の前後での L D L

50

サブ画分中のコレステロールの平均 ( S D ) レベルを示す図である。図 1 1 は試験 B の結果を示す。

【図 1 2】3 つの異なる臨床試験 ( 本明細書に表 1 にまとめられる A 、 B および C ) におけるプラセボおよび m A b 3 1 6 P 1 5 0 m g Q 2 W に関する処置の前後での L D L サブ画分中のコレステロールの平均 ( S D ) レベルを示す図である。図 1 2 は試験 C の結果を示す。

【図 1 3】パネル A および B は、試験 A ( 本明細書の表 1 にまとめられる ) における全用量に関する、それぞれ、 a p o C I I および a p o C I I I の用量応答変化を示す図である。

【発明を実施するための形態】

10

【 0 0 1 2 】

本発明を説明する前に、本発明が記載される特定の方法および実験条件に限定されず、そのようなものとして方法および条件が変化してもよいことが理解されるべきである。また、本発明の範囲は添付の特許請求の範囲によってのみ限定されるため、本明細書で用いられる用語は特定の実施形態だけを説明するためのものであり、限定を意図するものではないことも理解されるべきである。

【 0 0 1 3 】

別途定義しない限り、本明細書で用いられる全ての技術用語および科学用語は、本発明が属する当業界の通常の知識を有する者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書で用いられる用語「約」は、特定の記載される数値を参照して用いられる場合、その値が記載された値から 1 % 以下で変化してもよいことを意味する。例えば、本明細書で用いられる場合、「約 1 0 0 」という表現は、 9 9 および 1 0 1 ならびにその間の全ての値 ( 例えば、 9 9 . 1 、 9 9 . 2 、 9 9 . 3 、 9 9 . 4 など ) を含む。

20

【 0 0 1 4 】

本明細書に記載のものと類似するか、または等価である任意の方法および材料を本発明の実施において用いることができるが、好ましい方法および材料をここで説明する。本明細書に記載の全ての刊行物は、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。

【 0 0 1 5 】

レムナントコレステロールおよび他のリポタンパク質画分を減少させるための方法

本発明は、患者における血清レムナントコレステロールおよび他のリポタンパク質画分を減少させるための方法を提供する。本発明の方法は、レムナントコレステロール ( 「レムナントリポタンパク質コレステロール」 、 「レムナントリポタンパク質」 もしくは R L P - C とも呼ばれる ) 、超低密度リポタンパク質コレステロール ( V L D L - C ) 、中間密度リポタンパク質コレステロール ( I D L - C ) 、トリグリセリド ( T G ) 、および / または L p ( a ) のうちの 1 つまたはそれ以上の血清レベルの上昇を示す患者を選択することを含む。ある特定の実施形態においては、本発明の方法は、血清 V L D L <sub>1</sub> 、 V L D L <sub>2</sub> 、 V L D L <sub>1 + 2</sub> 、 V L D L <sub>3</sub> 、 L D L <sub>1</sub> 、 L D L <sub>2</sub> 、 L D L <sub>3</sub> 、 L D L <sub>4</sub> 、 L D L <sub>3 + 4</sub> 、および / またはその他の組合せの上昇を示す患者を選択することを含む。本発明の方法は、 P C S K 9 阻害剤を含む医薬組成物を患者に投与することをさらに含む。

30

【 0 0 1 6 】

本明細書で用いられる場合、「レムナントコレステロール」、「レムナントリポタンパク質」、「R L P」などの表現は、空腹状態では V L D L と I D L とから構成される、非空腹状態ではカイロミクロンレムナントと一緒にこれらの 2 つのリポタンパク質から構成される、トリグリセリドに富むリポタンパク質のコレステロール含量を意味する。レムナントコレステロールを、総コレステロール - H D L - C - L D L - C ( すなわち、非 [ H D L - C + L D L - C ] ) として算出することができる。レムナントコレステロールは、 V L D L <sub>3</sub> および I D L を含む。

40

【 0 0 1 7 】

他のリポタンパク質画分としては、例えば、 L D L <sub>1 - C</sub> ( 「大浮遊」 L D L ) 、 L D L <sub>2 - C</sub> 、 L D L <sub>3 - C</sub> および L D L <sub>4 - C</sub> ( 「小型」 L D L ) が挙げられる。これらの

50

リポタンパク質の血清レベルを、例えば、垂直型自動プロファイル（V A P）試験、イオン移動度などのような標準的なリポタンパク質サブ分画技術により確認することができる。

#### 【 0 0 1 8 】

本発明の文脈において、「血清リポタンパク質の上昇」（例えば、血清レムナントコレステロールの上昇、血清V L D L - Cの上昇、血清V L D L<sub>1</sub> - Cの上昇、血清V L D L<sub>2</sub> - Cの上昇、血清V L D L<sub>1 + 2</sub> - Cの上昇、血清V L D L<sub>3</sub> - Cの上昇、血清I D L - Cの上昇、血清L D L<sub>1</sub> - Cの上昇、血清L D L<sub>2</sub> - Cの上昇、血清L D L<sub>3</sub> - Cの上昇、血清L D L<sub>4</sub> - Cの上昇、血清L D L<sub>3 + 4</sub> - Cの上昇など）は、約8 mg / d Lよりも高い対応するリポタンパク質の血清レベルを意味する。ある特定の実施形態においては、患者の血清中で測定される特定のリポタンパク質のレベルが約9 mg / d L、10 mg / d L、11 mg / d L、12 mg / d L、13 mg / d L、14 mg / d L、15 mg / d L、16 mg / d L、17 mg / d L、18 mg / d L、19 mg / d L、20 mg / d L、25 mg / d L、30 mg / d L、35 mg / d L、40 mg / d L、45 mg / d L、50 mg / d Lよりも高い場合、前記患者は血清リポタンパク質の上昇を示すと考えられる。血清リポタンパク質レベルを、食事後に患者において測定することができる。いくつかの実施形態においては、リポタンパク質レベルは、空腹の期間の後（例えば、6 h、8 h、10 h、12 hまたはそれ以上の空腹の後）に測定される。任意の臨床的に許容される診断方法を、本発明の文脈において用いて、患者における血清リポタンパク質を測定することができる。

#### 【 0 0 1 9 】

本発明によれば、血清レムナントコレステロールまたは他のリポタンパク質サブ画分（例えば、V L D L - C、V L D L<sub>1</sub> - C、V L D L<sub>2</sub> - C、V L D L<sub>1 + 2</sub> - C、V L D L<sub>3</sub> - C、I D L - C、I D L<sub>1</sub> - C、I D L<sub>2</sub> - C、I D L<sub>1 + 2</sub> - C、L D L<sub>1</sub> - C、L D L<sub>2</sub> - C、L D L<sub>2 a</sub> - C、L D L<sub>2 b</sub> - C、L D L<sub>1 + 2 a</sub> - C、L D L<sub>3</sub> - C、L D L<sub>3 a</sub> - C、L D L<sub>3 b</sub> - C、L D L<sub>4</sub> - C、L D L<sub>4 a</sub> - C、L D L<sub>4 b</sub> - C、L D L<sub>4 c</sub> - C、L D L<sub>4 a + 4 b + 4 c + 3 b</sub> - C、L D L<sub>3 + 4</sub> - Cなど）の減少は、本発明の医薬組成物を受けた後の患者における血清リポタンパク質／リポタンパク質サブ画分レベルが、ベースラインから、約5%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%またはそれ以上減少することを意味する。本明細書で用いられる「ベースラインレベル」は、特定のリポタンパク質またはリポタンパク質サブ画分を言う場合、本発明の医薬組成物を受ける前に対象の血清中で測定されるリポタンパク質／リポタンパク質サブ画分のレベルを意味する。本発明の医薬組成物の投与の結果生じる血清リポタンパク質／リポタンパク質サブ画分の減少を、P C S K 9 阻害剤を含む医薬組成物の1またはそれ以上の用量の投与を含む治療レジメンの開始後、1日、2日、3日、4日、5日、6日、1週間、2週間、4週間、6週間、8週間、10週間、12週間、14週間、16週間、18週間、20週間、22週間、またはそれ以上で達成および／または観察することができ、その例は本明細書の他の場所に開示される。

#### 【 0 0 2 0 】

例えば、本発明は、血清レムナントコレステロールが上昇した患者を選択すること、およびP C S K 9 阻害剤を含む医薬組成物を患者に投与することにより患者における血清レムナントコレステロールを減少させるための方法であって、血清レムナントコレステロールが、患者において医薬組成物の投与後にベースラインから少なくとも約35%～約45%減少する、前記方法を含む。

#### 【 0 0 2 1 】

本発明はまた、血清V L D L - Cが上昇した患者を選択すること、およびP C S K 9 阻害剤を含む医薬組成物を患者に投与することにより患者における血清V L D L - Cを減少させるための方法であって、血清V L D L - Cが、患者において医薬組成物の投与後にベースラインから少なくとも約20%～約28%減少する、前記方法を含む。

10

20

30

40

50

## 【0022】

本発明はまた、血清VLDL<sub>1+2</sub>-Cが上昇した患者を選択すること、およびPCSK9阻害剤を含む医薬組成物を患者に投与することにより患者における血清VLDL<sub>1+2</sub>-Cを減少させるための方法であって、血清VLDL<sub>1+2</sub>-Cが、患者において医薬組成物の投与後にベースラインから少なくとも約20%～約32%減少する、前記方法を含む。

## 【0023】

本発明はまた、血清VLDL<sub>3</sub>-Cが上昇した患者を選択すること、およびPCSK9阻害剤を含む医薬組成物を患者に投与することにより患者における血清VLDL<sub>3</sub>-Cを減少させるための方法であって、血清VLDL<sub>3</sub>-Cが、患者において医薬組成物の投与後にベースラインから少なくとも約20%～約27%減少する、前記方法を含む。

10

## 【0024】

本発明はまた、血清IDL-Cが上昇した患者を選択すること、およびPCSK9阻害剤を含む医薬組成物を患者に投与することにより患者における血清IDL-Cを減少させるための方法であって、血清IDL-Cが、患者において医薬組成物の投与後にベースラインから少なくとも約50%～約56%減少する、前記方法を含む。

## 【0025】

本発明はまた、血清LDL<sub>1</sub>-Cが上昇した患者を選択すること、およびPCSK9阻害剤を含む医薬組成物を患者に投与することにより患者における血清LDL<sub>1</sub>-Cを減少させるための方法であって、血清LDL<sub>1</sub>-Cが、患者において医薬組成物の投与後にベースラインから少なくとも約65%～約78%減少する、前記方法を含む。

20

## 【0026】

本発明はまた、血清LDL<sub>2</sub>-Cが上昇した患者を選択すること、およびPCSK9阻害剤を含む医薬組成物を患者に投与することにより患者における血清LDL<sub>2</sub>-Cを減少させるための方法であって、血清LDL<sub>2</sub>-Cが、患者において医薬組成物の投与後にベースラインから少なくとも約75%～約85%減少する、前記方法を含む。

## 【0027】

本発明はまた、血清LDL<sub>3+4</sub>-Cが上昇した患者を選択すること、およびPCSK9阻害剤を含む医薬組成物を患者に投与することにより患者における血清LDL<sub>3+4</sub>-Cを減少させるための方法であって、血清LDL<sub>3+4</sub>-Cが、患者において医薬組成物の投与後にベースラインから少なくとも約45%～約70%減少する、前記方法を含む。

30

## 【0028】

本発明はまた、高コレステロール血症を有する患者を選択すること、およびPCSK9阻害剤を含む医薬組成物を患者に投与することにより、患者におけるアポリポタンパク質(apo)CIIおよび/またはCIIIIを減少させるための方法を含む。ある特定の実施形態によれば、患者は、非家族性高コレステロール血症(非FH)を有する；ある特定の他の実施形態においては、患者は、ヘテロ接合性家族性高コレステロール血症(heterozygous FH)を有する。本発明のこの態様のある特定の実施形態によれば、apoCIIは、患者において医薬組成物の投与後にベースラインから少なくとも約9%～約30%減少し、apoCIIIIは、患者において医薬組成物の投与後に少なくとも約20%～約25%減少する。

40

## 【0029】

本発明はまた、血清Lp(a)が上昇した患者を選択すること、およびPCSK9阻害剤を含む医薬組成物を患者に投与することにより、患者における血清Lp(a)を減少させるための方法であって、血清Lp(a)が、患者において医薬組成物の投与後にベースラインから少なくとも約10%～約40%（例えば、約25%、約30%または約35%）減少する前記方法を含む。

## 【0030】

本発明はまた、高コレステロール血症を有する患者および/または血清リポタンパク質粒子濃度が上昇した患者を選択すること、ならびにPCSK9阻害剤を含む医薬組成物を

50

患者に投与することにより、患者におけるリポタンパク質粒子濃度を減少させるための方法を含む。本発明のこの態様による方法は、特に、低密度リポタンパク質粒子 (LDL-P)、中間密度リポタンパク質粒子 (IDL-P)、および超低密度リポタンパク質粒子 (VLDL-P) の濃度を減少させるのに有用であり、例えば、小型 VLDL-P (直径 29 ~ 42 nm)；中型 VLDL-P (直径 42 ~ 60 nm)；大型 VLDL-P (直径 > 60 nm)；小型 LDL-P (直径 18 ~ 20.5 nm)；大型 LDL-P (直径 20.5 ~ 23 nm)；および IDL-P (直径 23 ~ 29 nm) の血清濃度を減少させるための方法を含む。

### 【0031】

#### 患者集団

本発明の方法は、患者における血清レムナントコレステロールおよび他のリポタンパク質画分（例えば、VLDL-C、VLDL<sub>1</sub>-C、VLDL<sub>2</sub>-C、VLDL<sub>1+2</sub>-C、VLDL<sub>3</sub>-C、IDL-C、LDL<sub>1</sub>-C、LDL<sub>2</sub>-C、LDL<sub>3</sub>-C、LDL<sub>4</sub>-C、LDL<sub>3+4</sub>-Cなど）を減少させるのに有用である。いくつかの例においては、患者は、上記の血清リポタンパク質の1つまたはそれ以上のレベルの上昇を示す以外は別段健康である。例えば、患者は、処置の時点で心血管、血栓症または他の疾患もしくは障害の任意の他の危険因子を示さなくてもよい。しかしながら、他の例においては、患者は、血清レムナントコレステロールの上昇または他のリポタンパク質もしくはリポタンパク質画分の血清レベルの上昇により引き起こされるか、またはそれと関連する疾患または障害を有する、またはそれを発症する危険性があると診断されることに基づいて選択される。例えば、本発明の医薬組成物の投与の時点で、またはその前に、患者を、例えば、冠動脈疾患、急性心筋梗塞、無症状性アテローム性頸動脈硬化症、脳卒中、末梢動脈閉塞疾患などのような、心血管疾患または障害を有すると診断するか、またはそれを発症する危険性があると同定することができる。心血管疾患または障害は、いくつかの例においては、高コレステロール血症である。例えば、患者が、例えば、ヘテロ接合性家族性高コレステロール血症 (heterozygous familial hypercholesterolemia, FH)、ホモ接合性家族性高コレステロール血症 (homozygous familial hypercholesterolemia, FH)、常染色体優性高コレステロール血症 (ADH、例えば、PCSK9 遺伝子中の1つまたはそれ以上の機能獲得突然変異と関連する ADH)、ならびに家族性高コレステロール血症とは異なる高コレステロール血症 (non-FH) の発生のような、高コレステロール血症状態を有すると診断されるか、またはそれを発症する危険性があると同定される場合、本発明の方法を用いる処置のために患者を選択することができる。

### 【0032】

他の例においては、本発明の医薬組成物の投与の時点で、またはその前に、患者を、脳血管閉塞疾患、末梢血管疾患、末梢動脈障害などのような動脈障害を有すると診断するか、またはそれを発症する危険性があると同定することができる。ある特定の実施形態においては、患者は、上記の疾患または障害の2つ以上の組合せを有するか、またはそれを発症する危険性があると診断されることに基づいて選択される。

### 【0033】

さらに他の例においては、本発明の方法を用いて処置される患者は、年齢（例えば、40、45、50、55、60、65、70、75、または80歳を超える年齢）、人種、性別（男性または女性）、運動習慣（例えば、規則的に運動する人、運動しない人）、他の元々存在する医学的状態（例えば、II型糖尿病、高血圧など）、および現在の投薬状態（例えば、スタチン [ 例えば、セリバスタチン、アトルバスタチン、シンバスタチン、ピタバスタチン、ロスバスタチン、フルバスタチン、ロバスタチン、プラバスタチンなど ]、ベータ遮断薬、ナイアシンなどを現在摂取している ] からなる群から選択される1つまたはそれ以上の因子に基づいて選択される。本発明はまた、従来のスタチン療法を受け付けない、非応答性である、または十分に応答しない患者における血清レムナントコレステロールおよび / または他のリポタンパク質画分レベルを減少させるための方法も含む。本発明の方法を用いて処置する前に、潜在的な患者をこれらの因子の1つまたはそれ以上に基づいて選択 / スクリーニングすることができる（例えば、質問票、診断評価などによ

る)。

【0034】

P C S K 9 阻害剤

本発明の方法は、P C S K 9 阻害剤を含む治療組成物を患者に投与することを含む。本明細書で用いられる場合、「P C S K 9 阻害剤」は、ヒトP C S K 9に結合するか、またはそれと相互作用し、in vitroまたはin vivoでP C S K 9の正常な生物学的機能を阻害する任意の薬剤である。P C S K 9 阻害剤のカテゴリーの非限定例としては、低分子P C S K 9アンタゴニスト、ペプチドに基づくP C S K 9アンタゴニスト(例えば、「ペプチボディ」分子)、およびヒトP C S K 9に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片が挙げられる。

10

【0035】

本明細書で用いられる用語「ヒトプロタンパク質変換酵素スブチリシン/ケキシン9型」または「ヒトP C S K 9」または「h P C S K 9」とは、配列番号754に示される核酸配列および配列番号755に記載のアミノ酸配列を有するP C S K 9、またはその生物活性断片を指す。

【0036】

本明細書で用いられる用語「抗体」は、ジスルフィド結合により相互接続された4つのポリペプチド鎖、2つの重鎖(H)および2つの軽鎖(L)を含む免疫グロブリン分子、ならびにその多量体(例えば、IgM)を指すことが意図される。それぞれの重鎖は、重鎖可変領域(H C V RまたはV<sub>H</sub>と省略される)および重鎖定常領域を含む。重鎖定常領域は、3つのドメイン、C<sub>H</sub>1、C<sub>H</sub>2およびC<sub>H</sub>3を含む。それぞれの軽鎖は、軽鎖可変領域(L C V RまたはV<sub>L</sub>と省略される)および軽鎖定常領域を含む。軽鎖定常領域は、1つのドメイン(C<sub>L</sub>1)を含む。V<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>領域は、フレームワーク領域(F R)と呼ばれる、より保存された領域が散在する、相補性決定領域(C D R)と呼ばれる超可変領域にさらに細分することができる。それぞれのV<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>は、アミノ末端からカルボキシ末端に向かって以下の順序：F R 1、C D R 1、F R 2、C D R 2、F R 3、C D R 3、F R 4で配置された、3つのC D Rおよび4つのF Rを含む。本発明の異なる実施形態においては、抗P C S K 9抗体(またはその抗原結合部分)のF Rは、ヒト生殖系列配列と同一であってもよく、または天然であるか、もしくは人工的に改変されていてもよい。アミノ酸コンセンサス配列を、2つ以上のC D Rの比較分析に基づいて定義することができる。

20

【0037】

本明細書で用いられる用語「抗体」はまた、完全な抗体分子の抗原結合断片も含む。本明細書で用いられる、抗体の「抗原結合部分」、抗体の「抗原結合断片」などの用語は、抗原と特異的に結合して複合体を形成する、任意の天然の、酵素的に取得可能な、合成の、または遺伝子工学的に操作されたポリペプチドまたは糖タンパク質を含む。抗体の抗原結合断片を、例えば、タンパク質分解的消化または抗体可変ドメインおよび場合により定常ドメインをコードするD N Aの操作および発現を含む組換え遺伝子工学技術のような任意の好適な標準的技術を用いて、完全な抗体分子から誘導することができる。そのようなD N Aは公知であり、および/または例えば、商業的供給源、D N Aライブラリー(例えば、ファージ-抗体ライブラリーなど)から容易に入手可能であるか、または合成することができる。D N Aを配列決定し、化学的に、または分子生物学技術を用いることにより操作して、例えば、1つもしくはそれ以上の可変および/もしくは定常ドメインを好適な構成に配置するか、またはコドンを導入する、システイン残基を作出する、改変する、アミノ酸を付加するか、もしくは欠失させることなどができる。

30

【0038】

抗原結合断片の非限定例としては、(i) F a b 断片；(i i) F (a b')<sub>2</sub>断片；(i i i) F d 断片；(i v) F v 断片；(v)一本鎖F v (s c F v)分子；(v i) d A b 断片；および(v i i)抗体(例えば、C D R 3ペプチドのような単離された相補性決定領域(C D R))、または拘束されたF R 3 - C D R 3 - F R 4ペプチドの超可変

40

50

領域を模倣するアミノ酸残基からなる最小認識単位が挙げられる。他の操作された分子、例えば、ドメイン特異的抗体、單一ドメイン抗体、ドメイン欠失抗体、キメラ抗体、CDR移植抗体、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ミニボディ、ナノボディ（例えば、一価ナノボディ、二価ナノボディなど）、小モジュラー免疫薬（SMIP）、およびサメ可変IgNARドメインも、本明細書で用いられる表現「抗原結合断片」に包含される。

#### 【0039】

抗体の抗原結合断片は、典型的には、少なくとも1つの可変ドメインを含む。可変ドメインは、任意のサイズまたはアミノ酸組成のものであってもよく、一般には1つまたはそれ以上のフレームワーク配列に隣接するか、またはそれと読み枠が一致する少なくとも1つのCDRを含む。 $V_L$ ドメインと会合した $V_H$ ドメインを有する抗原結合断片においては、 $V_H$ および $V_L$ ドメインは任意の好適な配置中に互いに相対的に位置してもよい。例えば、可変領域は、二量体であってもよく、 $V_H - V_H$ 、 $V_H - V_L$ または $V_L - V_L$ 二量体を含有してもよい。あるいは、抗体の抗原結合断片は、単量体 $V_H$ または $V_L$ ドメインを含有してもよい。

#### 【0040】

ある特定の実施形態においては、抗体の抗原結合断片は、少なくとも1つの定常ドメインに共有的に連結された少なくとも1つの可変ドメインを含有してもよい。本発明の抗体の抗原結合断片内に見出すことができる可変および定常ドメインの非限定的な例示的構成としては、(i)  $V_H - C_H 1$ ；(ii)  $V_H - C_H 2$ ；(iii)  $V_H - C_H 3$ ；(iv)  $V_H - C_H 1 - C_H 2$ ；(v)  $V_H - C_H 1 - C_H 2 - C_H 3$ ；(vi)  $V_H - C_H 2 - C_H 3$ ；(vii)  $V_H - C_L$ ；(viii)  $V_L - C_H 1$ ；(ix)  $V_L - C_H 2$ ；(x)  $V_L - C_H 3$ ；(xi)  $V_L - C_H 1 - C_H 2$ ；(xii)  $V_L - C_H 1 - C_H 2 - C_H 3$ ；(xiii)  $V_L - C_H 2 - C_H 3$ ；および(xiv)  $V_L - C_L$ が挙げられる。上記に列挙された例示的構成のいずれかなどの、可変および定常ドメインの任意の構成において、可変および定常ドメインは、互いに直接連結されていてもよく、または完全もしくは部分的なヒンジもしくはリンカー領域によって連結されていてもよい。ヒンジ領域は、単一のポリペプチド分子中の隣接する可変および/または定常ドメイン間の可撓性または半可撓性連結をもたらす少なくとも2個（例えば、5、10、15、20、40、60個以上）のアミノ酸からなっていてもよい。さらに、本発明の抗体の抗原結合断片は、互いに、および/または1つもしくはそれ以上の $V_H$ もしくは $V_L$ ドメインとの非共有的会合（例えば、ジスルフィド結合による）にある上記に列挙された可変および定常ドメインの構成のいずれかのホモ二量体またはヘテロ二量体（または他の多量体）を含んでよい。

#### 【0041】

完全な抗体分子と同様、抗原結合断片は一特異的または多特異的（例えば、二特異的）であってもよい。抗体の多特異的抗原結合断片は、典型的には、少なくとも2つの異なる可変ドメインを含み、ここで、それぞれの可変ドメインは別々の抗原に、または同じ抗原上の異なるエピトープに特異的に結合することができる。本明細書に開示される例示的な二特異的抗体形式を含む、任意の多特異的抗体形式を、当業界で利用可能な日常的な技術を用いて、本発明の抗体の抗原結合断片の文脈における使用のために適合させることができる。

#### 【0042】

抗体の定常領域は、抗体が補体を固定し、細胞依存的細胞傷害性を媒介する能力において重要である。かくして、抗体のアイソタイプを、それが細胞傷害性を媒介する抗体にとって望ましいかどうかに基づいて選択することができる。

#### 【0043】

本明細書で用いられる用語「ヒト抗体」は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列から誘導される可変および定常領域を有する抗体を含むことが意図される。それにも拘らず、本発明のヒト抗体は、例えば、CDRおよび特定のCDR3中に、ヒト生殖系列免疫グロブリ

10

20

30

40

50

ン配列によってコードされないアミノ酸残基（例えば、*in vitro*で無作為もしくは部位特異的突然変異誘発によって、または*in vivo*で体細胞突然変異によって導入された突然変異）を含んでもよい。しかしながら、本明細書で用いられる用語「ヒト抗体」は、マウスのような別の哺乳動物種の生殖系列から誘導されるCDR配列がヒトフレームワーク配列上に移植された抗体を含むことは意図されない。

#### 【0044】

本明細書で用いられる用語「組換えヒト抗体」は、宿主細胞中にトランスフェクトされた組換え発現ベクターを用いて発現される抗体（以下でさらに説明される）、組換えコンビナトリアルヒト抗体ライブラリーから単離される抗体（以下でさらに説明される）、ヒト免疫グロブリン遺伝子についてトランスジェニックである動物（例えば、マウス）から単離される抗体（例えば、Taylorら（1992）Nucl. Acids Res. 20: 6287~6295頁）、または他のDNA配列へのヒト免疫グロブリン遺伝子配列のスプライシングを含む任意の他の手段によって製造、発現、作出もしくは単離される抗体のような、組換え手段によって製造、発現、作出または単離される全てのヒト抗体を含むことが意図される。そのような組換えヒト抗体は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列から誘導される可変および定常領域を有する。しかしながら、ある特定の実施形態においては、そのような組換えヒト抗体は*in vitro*突然変異誘発（または、ヒトIg配列についてトランスジェニックである動物を用いる場合、*in vivo*体細胞突然変異）にかけられ、かくして、組換え抗体のV<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖系列V<sub>H</sub>およびV<sub>L</sub>配列から誘導され、それと関連するが、*in vivo*でヒト抗体生殖系列レパートリー内に天然には存在しなくてもよい配列である。

#### 【0045】

ヒト抗体は、ヒンジ異種性と関連する2つの形態で存在してもよい。1つの形態においては、免疫グロブリン分子は、二量体が鎖間重鎖ジスルフィド結合により一緒に保持される、およそ150~160kDaの安定な4鎖構築物を含む。第2の形態においては、二量体は鎖間ジスルフィド結合を介して連結されず、共有的に共役した軽鎖と重鎖を含む約75~80kDaの分子が形成される（半抗体）。これらの形態は、親和性精製後であっても分離するのが極めて困難であった。

#### 【0046】

様々な無傷のIgGアイソタイプにおける第2の形態の出現頻度は、限定されるものではないが、抗体のヒンジ領域アイソタイプと関連する構造的相違に起因する。ヒトIgG4ヒンジのヒンジ領域中の單一アミノ酸置換は、典型的には、ヒトIgG1ヒンジを用いた場合に観察されるレベルにまで、第2の形態の出現を有意に減少させることができる（Angalら（1993）Molecular Immunology 30: 105）。本発明は、例えば、所望の抗体型の収率を改善するために、生産において望ましいものであり得るヒンジ、C<sub>H</sub>2またはC<sub>H</sub>3領域中に1つまたはそれ以上の突然変異を有する抗体を包含する。

#### 【0047】

本明細書で用いられる場合、「単離された抗体」は、その天然の環境の少なくとも1つの構成要素から同定ならびに分離および/または回収された抗体を意味する。例えば、抗体が天然に存在するか、もしくは天然に生産される、生物の少なくとも1つの構成要素から、または組織もしくは細胞から分離または除去された抗体は、本発明の目的のための「単離された抗体」である。単離された抗体はまた、組換え細胞内の*in situ*の抗体も含む。単離された抗体は、少なくとも1つの精製または単離工程にかけられた抗体である。ある特定の実施形態によれば、単離された抗体は、他の細胞材料および/または化学物質を実質的に含まなくてもよい。

#### 【0048】

用語「特異的に結合する」などは、抗体またはその抗原結合断片が、生理的条件下で比較的安定である抗原と複合体を形成することを意味する。抗体が抗原に特異的に結合するかどうかを決定するための方法は、当業界で周知であり、例えば、平衡透析、表面プラズ

10

20

30

40

50

モン共鳴などが挙げられる。例えば、本発明の文脈において用いられる場合、P C S K 9 に「特異的に結合する」抗体は、表面プラズモン共鳴アッセイにおいて測定された場合、約 1 0 0 0 n M 未満、約 5 0 0 n M 未満、約 3 0 0 n M 未満、約 2 0 0 n M 未満、約 1 0 0 n M 未満、約 9 0 n M 未満、約 8 0 n M 未満、約 7 0 n M 未満、約 6 0 n M 未満、約 5 0 n M 未満、約 4 0 n M 未満、約 3 0 n M 未満、約 2 0 n M 未満、約 1 0 n M 未満、約 5 n M 未満、約 4 n M 未満、約 3 n M 未満、約 2 n M 未満、約 1 n M 未満または約 0 . 5 n M 未満の K<sub>D</sub> で P C S K 9 またはその部分に結合する抗体を含む。しかしながら、ヒト P C S K 9 に特異的に結合する単離された抗体は、他の（非ヒト）種に由来する P C S K 9 分子のような、他の抗原に対する交叉反応性を有してもよい。

## 【 0 0 4 9 】

10

本発明の方法にとって有用な抗 P C S K 9 抗体は、抗体が誘導される対応する生殖系列配列と比較した場合、重鎖および軽鎖可変ドメインのフレームワークおよび / または C D R 領域中に 1 つまたはそれ以上のアミノ酸置換、挿入および / または欠失を含んでもよい。本明細書に開示されるアミノ酸配列を、例えば、公共の抗体配列データベースから入手可能な生殖系列配列と比較することにより、そのような突然変異を容易に確認することができる。本発明は、本明細書に開示されるアミノ酸配列のいずれかから誘導される抗体、およびその抗原結合断片の使用を含む方法であって、1 つまたはそれ以上のフレームワークおよび / または C D R 領域内の 1 つまたはそれ以上のアミノ酸が、抗体が誘導された生殖系列配列の対応する残基に、または別のヒト生殖系列配列の対応する残基に、または対応する生殖系列残基の保存的アミノ酸置換に突然変異された、前記方法を含む（そのような配列の変化を、本明細書では集合的に「生殖系列突然変異」と呼ぶ）。当業者であれば、本明細書に開示される重鎖および軽鎖可変領域配列から出発して、1 つまたはそれ以上の個体の生殖系列突然変異またはその組合せを含むいくつかの抗体および抗原結合断片を容易に生産することができる。ある特定の実施形態においては、V<sub>H</sub> および / または V<sub>L</sub> ドメイン内の全てのフレームワークおよび / または C D R 残基を、抗体が誘導された元の生殖系列配列中に見出される残基に復帰変異させる。他の実施形態においては、ある特定の残基のみ、例えば、F R 1 の最初の 8 個のアミノ酸内もしくは F R 4 の最後の 8 個のアミノ酸内に見出される突然変異した残基のみ、または C D R 1、C D R 2 もしくは C D R 3 内に見出される突然変異した残基のみを元の生殖系列配列に復帰変異させる。他の実施形態においては、1 つまたはそれ以上のフレームワークおよび / または C D R 残基を、異なる生殖系列配列（すなわち、抗体が元々誘導された生殖系列配列とは異なる生殖系列配列）の対応する残基に突然変異させる。さらに、本発明の抗体は、フレームワークおよび / または C D R 領域内の 2 つ以上の生殖系列突然変異の任意の組合せを含有してもよく、例えば、ある特定の個々の残基を特定の生殖系列配列の対応する残基に突然変異させるが、元の生殖系列配列とは異なるある特定の他の残基を維持するか、または異なる生殖系列配列の対応する残基に突然変異させる。一度得られたら、1 つまたはそれ以上の生殖系列突然変異を含有する抗体および抗原結合断片を、改善された結合特異性、増大した結合親和性、改善または増強された拮抗または作動生物特性（場合によっては）、低下した免疫原性などの 1 つまたはそれ以上の所望の特性について容易に試験することができる。この一般的様式で得られた抗体および抗原結合断片の使用は、本発明に包含される。

20

30

40

## 【 0 0 5 0 】

本発明はまた、1 つまたはそれ以上の保存的置換を有する本明細書に開示される H C V R、L C V R および / または C D R アミノ酸配列のいずれかの変異体を含む抗 P C S K 9 抗体の使用を含む方法も含む。例えば、本発明は、本明細書に開示される H C V R、L C V R および / または C D R アミノ酸配列のいずれかと比較して、例えば、1 0 個以下、8 個以下、6 個以下、4 個以下の保存的アミノ酸置換を含む H C V R、L C V R および / または C D R アミノ酸配列を有する抗 P C S K 9 抗体の使用を含む。

## 【 0 0 5 1 】

本明細書で用いられる用語「表面プラズモン共鳴」とは、例えば、B I A c o r e (商標) システム (B i a c o r e L i f e S c i e n c e s d i v i s i o n o f

50

G E Health care、Piscataway、N J )を用いる、バイオセンサマトリックス内のタンパク質濃度の変化の検出によりリアルタイムの相互作用の分析を可能にする光学的現象を指す。

【0052】

本明細書で用いられる用語「 $K_D$ 」は、特定の抗体 - 抗原相互作用の平衡解離定数を指すと意図される。

【0053】

用語「エピトープ」とは、パラトープとして知られる抗体分子の可変領域中の特定の抗原結合部位と相互作用する抗原決定基を指す。単一の抗原が、1つより多いエピトープを有してもよい。かくして、異なる抗体は抗原上の異なる領域に結合し、異なる生物学的效果を有し得る。エピトープは立体構造または直線状であってもよい。立体構造エピトープは、直線状ポリペプチド鎖の異なるセグメントに由来する空間的に並置されたアミノ酸により生産される。直線状エピトープは、ポリペプチド鎖中の隣接するアミノ酸残基により生産されるものである。ある特定の環境においては、エピトープは、抗原上にサッカリドの部分、ホスホリル基、またはスルホニル基を含んでもよい。

10

【0054】

ある特定の実施形態によれば、本発明の方法において用いられる抗 P C S K 9 抗体は、p H 依存的結合特性を有する抗体である。本明細書で用いられる場合、「p H 依存的結合」の表現は、抗体またはその抗原結合断片が「中性 p H と比較して酸性 p H において P C S K 9 への結合の減少」を示すことを意味する（本開示の目的のために、両表現は互換的に用いることができる）。例えば、「p H 依存的結合特性を有する」抗体は、酸性 p H よりも中性 p H においてより高い親和性で P C S K 9 に結合する抗体およびその抗原結合断片を含む。ある特定の実施形態においては、本発明の抗体およびその抗原結合断片は、酸性 p H よりも中性 p H において、少なくとも 3、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100 倍以上高い親和性で P C S K 9 に結合する。

20

【0055】

本発明のこの態様によれば、p H 依存的結合特性を有する抗 P C S K 9 抗体は、親抗 P C S K 9 抗体と比較して1つまたはそれ以上のアミノ酸変化を有してもよい。例えば、p H 依存的結合特性を有する抗 P C S K 9 抗体は、例えば、親抗 P C S K 9 抗体の1つまたはそれ以上の C D R 中に、1つまたはそれ以上のヒスチジン置換または挿入を含有してもよい。かくして、本発明のある特定の実施形態によれば、親抗体の1つまたはそれ以上の C D R の1つまたはそれ以上のアミノ酸の、ヒスチジン残基との置換について以外は、親抗 P C S K 9 抗体の C D R アミノ酸配列と同一である C D R アミノ酸配列（例えば、重鎖および軽鎖 C D R ）を含む抗 P C S K 9 抗体を投与することを含む方法が提供される。p H 依存的結合を有する抗 P C S K 9 抗体は、親抗体の単一の C D R 内に、または親抗 P C S K 9 抗体の複数（例えば、2、3、4、5 もしくは 6 個）の C D R にわたって分布した、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9 個以上のヒスチジン置換を有してもよい。例えば、本発明は、親抗 P C S K 9 抗体の、H C D R 1 中に1つもしくはそれ以上のヒスチジン置換、H C D R 2 中に1つもしくはそれ以上のヒスチジン置換、H C D R 3 中に1つもしくはそれ以上のヒスチジン置換、L C D R 1 中に1つもしくはそれ以上のヒスチジン置換、L C D R 2 中に1つもしくはそれ以上のヒスチジン置換、および / または L C D R 3 中に1つもしくはそれ以上のヒスチジン置換を含む p H 依存的結合を有する抗 P C S K 9 抗体の使用を含む。

30

【0056】

本明細書で用いられる場合、「酸性 p H」の表現は、6.0 またはそれ未満の p H（例えば、約 6.0、約 5.5 未満、約 5.0 未満など）を意味する。「酸性 p H」の表現は、約 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、またはそれ未満の p H 値を含む。本明細書で用いら

40

50

れる場合、「中性pH」の表現は、約7.0～約7.4のpHを意味する。「中性pH」の表現は、約7.0、7.05、7.1、7.15、7.2、7.25、7.3、7.35、および7.4のpH値を含む。

【0057】

ヒト抗体の製造

トランスジェニックマウス中でヒト抗体を生成させる方法は当業界で公知である。任意のそのような公知の方法を本発明の文脈において用いて、ヒトPCK9に特異的に結合するヒト抗体を作製することができる。

【0058】

VELOCIMMUNE(商標)技術(例えば、米国特許第6,596,541号、Regeneron Pharmaceuticals)またはモノクローナル抗体を作成するための任意の他の公知の方法を用いて、ヒト可変領域とマウス定常領域とを有するPCK9に対する高親和性キメラ抗体を最初に単離する。VELOCIMMUNE(登録商標)技術は、マウスが抗原刺激に応答してヒト可変領域とマウス定常領域とを含む抗体を生産するように、内因性マウス定常領域遺伝子座に作動可能に連結されたヒト重鎖および軽鎖可変領域を含むゲノムを有するトランスジェニックマウスの作成を含む。抗体の重鎖および軽鎖の可変領域をコードするDNAを単離し、ヒト重鎖および軽鎖定常領域をコードするDNAに作動可能に連結する。次いで、そのDNAを、完全ヒト抗体を発現することができる細胞中で発現させる。

【0059】

一般に、VELOCIMMUNE(登録商標)マウスに、対象となる抗原をチャレンジし、リンパ系細胞(B細胞など)を、抗体を発現するマウスから回収する。リンパ系細胞を、ミエローマ細胞系と融合して、不死化ハイブリドーマ細胞系を製造することができ、そのようなハイブリドーマ細胞系をスクリーニングおよび選択して、対象となる抗原に特異的な抗体を生産するハイブリドーマ細胞系を同定する。重鎖および軽鎖の可変領域をコードするDNAを単離し、重鎖および軽鎖の望ましいアイソタイプ定常領域に連結することができる。そのような抗体タンパク質を、CHO細胞のような細胞中で生産させることができる。あるいは、抗原特異的キメラ抗体または軽鎖および重鎖の可変ドメインをコードするDNAを、抗原特異的リンパ球から直接単離することができる。

【0060】

最初に、ヒト可変領域とマウス定常領域とを有する高親和性キメラ抗体を単離する。当業者には公知の標準的な手順を用いて、親和性、選択性、エピトープなどの望ましい特徴について抗体を特性評価し、選択する。マウス定常領域を、所望のヒト定常領域と置き換えて、本発明の完全ヒト抗体、例えば、野生型または変型IgGまたはIgG4を作成する。選択される定常領域は特定の使用に従って変化してもよいが、高親和性抗原結合および標的特異性特性は可変領域中に存在する。

【0061】

一般に、本発明の方法において用いることができる抗体は、固相上または液相中に固定された抗原への結合によって測定された場合、上記のように高親和性を有する。マウス定常領域を、所望のヒト定常領域と置き換えて、本発明の完全ヒト抗体を作成する。選択される定常領域は特定の使用に応じて変化してもよいが、高親和性抗原結合および標的特異性特性は可変領域中に存在する。

【0062】

本発明の方法の文脈において用いることができるPCK9に特異的に結合するヒト抗体または抗体の抗原結合断片の特定例としては、配列番号2、18、22、26、42、46、50、66、70、74、90、94、98、114、118、122、138、142、146、162、166、170、186、190、194、210、214、218、234、238、242、258、262、266、282、286、290、306、310、314、330、334、338、354、358、362、378、382、386、402、406、410、426、430、434、450、454、

10

20

30

40

50

458、474、478、482、498、502、506、522、526、530、  
 546、550、554、570、574、578、594、598、602、618、  
 622、626、642、646、650、666、670、674、690、694、  
 698、714、718、722、738 および 742 からなる群から選択されるアミノ  
 酸配列、または少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98% もしくは少なく  
 とも 99% の配列同一性を有するその実質的に類似する配列を有する重鎖可変領域 (H C  
 V R) 内に含まれる 3 つの重鎖 C D R (H C D R 1、H C D R 2 および H C D R 3) を含む  
 任意の抗体または抗原結合断片が挙げられる。前記抗体またはその抗原結合断片は、配  
 列番号 10、20、24、34、44、48、58、68、72、82、92、96、1  
 06、116、120、130、140、144、154、164、168、178、1  
 88、192、202、212、216、226、236、240、250、260、2  
 64、274、284、288、298、308、312、322、332、336、3  
 46、356、360、370、380、384、394、404、408、418、4  
 28、432、442、452、456、466、476、480、490、500、5  
 04、514、524、528、538、548、552、562、572、576、5  
 86、596、600、610、620、624、634、644、648、658、6  
 68、672、682、692、696、706、716、720、730、740 およ  
 び 744 からなる群から選択されるアミノ酸配列、または少なくとも 90%、少なくとも  
 95%、少なくとも 98% もしくは少なくとも 99% の配列同一性を有するその実質的に  
 類似する配列を有する軽鎖可変領域 (L C V R) 内に含まれる 3 つの軽鎖 C D R (L C V  
 R 1、L C V R 2、L C V R 3) を含んでもよい。  
 20

## 【0063】

本発明のある特定の実施形態においては、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 2  
 /10、18/20、22/24、26/34、42/44、46/48、50/58、  
 66/68、70/72、74/82、90/92、94/96、98/106、114  
 /116、118/120、122/130、138/140、142/144、146  
 /154、162/164、166/168、170/178、186/188、190  
 /192、194/202、210/212、214/216、218/226、234  
 /236、238/240、242/250、258/260、262/264、266  
 /274、282/284、286/288、290/298、306/308、310  
 /312、314/322、330/332、334/336、338/346、354  
 /356、358/360、362/370、378/380、382/384、386  
 /394、402/404、406/408、410/418、426/428、430  
 /432、434/442、450/452、454/456、458/466、474  
 /476、478/480、482/490、498/500、502/504、506  
 /514、522/524、526/528、530/538、546/548、550  
 /552、554/562、570/572、574/576、578/586、594  
 /596、598/600、602/610、618/620、622/624、626  
 /634、642/644、646/648、650/658、666/668、670  
 /672、674/682、690/692、694/696、698/706、714  
 /716、718/720、722/730、738/740 および 742/744 から  
 なる群から選択される重鎖と軽鎖の可変領域アミノ酸配列 (H C V R / L C V R) に由  
 来する 6 つの C D R (H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、L C D R 1、L C D R 2 お  
 よび L C D R 3) を含む。  
 30

## 【0064】

本発明のある特定の実施形態においては、本発明の方法において用いることができる抗  
 P C S K 9 抗体、またはその抗原結合断片は、配列番号 76/78/80/84/86/  
 88 (m A b 316 P) および 220/222/224/228/230/232 (m A  
 b 300 N) から選択される H C D R 1 / H C D R 2 / H C D R 3 / L C D R 1 / L C D  
 R 2 / L C D R 3 アミノ酸配列を有する (米国特許出願公開第 2010/0166768  
 40

号を参照されたい)。

【0065】

本発明のある特定の実施形態においては、抗体またはその抗原結合断片は、2 / 10、18 / 20、22 / 24、26 / 34、42 / 44、46 / 48、50 / 58、66 / 68、70 / 72、74 / 82、90 / 92、94 / 96、98 / 106、114 / 116、118 / 120、122 / 130、138 / 140、142 / 144、146 / 154、162 / 164、166 / 168、170 / 178、186 / 188、190 / 192、194 / 202、210 / 212、214 / 216、218 / 226、234 / 236、238 / 240、242 / 250、258 / 260、262 / 264、266 / 274、282 / 284、286 / 288、290 / 298、306 / 308、310 / 312、314 / 322、330 / 332、334 / 336、338 / 346、354 / 356、358 / 360、362 / 370、378 / 380、382 / 384、386 / 394、402 / 404、406 / 408、410 / 418、426 / 428、430 / 432、434 / 442、450 / 452、454 / 456、458 / 466、474 / 476、478 / 480、482 / 490、498 / 500、502 / 504、506 / 514、522 / 524、526 / 528、530 / 538、546 / 548、550 / 552、554 / 562、570 / 572、574 / 576、578 / 586、594 / 596、598 / 600、602 / 610、618 / 620、622 / 624、626 / 634、642 / 644、646 / 648、650 / 658、666 / 668、670 / 672、674 / 682、690 / 692、694 / 696、698 / 706、714 / 716、718 / 720、722 / 730、738 / 740および742 / 744からなる群から選択されるHCVR / LCVRアミノ酸配列対を含む。

【0066】

医薬組成物および投与方法

本発明は、PCSK9阻害剤が医薬組成物内に含まれる、PCSK9阻害剤を患者に投与することを含む方法を含む。本発明の医薬組成物は、好適な担体、賦形剤、および好適な移動、送達、忍容性などを提供する他の薬剤と共に製剤化される。複数の適切な製剤を、あらゆる薬剤師に公知の処方集: Remington's Pharmaceutical Sciences、Mack Publishing Company、Easton、PAに見出すことができる。これらの製剤としては、例えば、粉末、ペースト、軟膏、ゼリー、ワックス、油、脂質、脂質(カチオン性またはアニオン性)含有小胞(LIPOFFECTIN(商標)など)、DNAコンジュゲート、無水吸収ペースト、水中油および油中水乳濁液、エマルジョンカルボワックス(様々な分子量のポリエチレングリコール)、半固体ゲル、およびカルボワックスを含有する半固体混合物が挙げられる。Powellら、「Compendium of excipients for parenteral formulations」、PDA(1998)J Pharm Sci Technol 52:238~311頁も参照されたい。

【0067】

様々な送達系が公知であり、本発明の医薬組成物を投与するために用いることができ、例えば、リボソーム中の封入、マイクロ粒子、マイクロカプセル、変異ウイルスを発現することができる組換え細胞、受容体媒介性エンドサイトーシスが挙げられる(例えば、Wuら、1987、J. Biol. Chem. 262:4429~4432頁を参照されたい)。投与方法としては、限定されるものではないが、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻内、硬膜外、および経口経路が挙げられる。前記組成物を、任意の都合の良い経路により、例えば、輸注またはボーラス注射により、上皮または粘膜皮膚系列(例えば、口腔粘膜、直腸および腸粘膜など)を介する吸収により投与してもよく、他の生物活性剤と一緒に投与してもよい。

【0068】

本発明の医薬組成物を、標準的な注射針および注射筒を用いて皮下的または静脈的に送達することができる。さらに、皮下送達に関して、ペン型送達デバイスが、本発明の医

薬組成物を送達するのに容易に適用可能である。そのようなペン型送達デバイスは、再使用可能であるか、または使い捨てであってもよい。再使用可能なペン型送達デバイスは一般に、医薬組成物を含有する交換式カートリッジを用いる。一度、カートリッジ内の全ての医薬組成物が投与され、カートリッジが空になったら、空のカートリッジを容易に廃棄し、医薬組成物を含有する新しいカートリッジと交換することができる。次いで、ペン型送達デバイスを再使用することができる。使い捨てのペン型送達デバイスにおいては、交換式カートリッジはない。むしろ、使い捨てのペン型送達デバイスは、デバイス内のリザーバ中に保持された医薬組成物を予め充填されるようになる。一度、リザーバの医薬組成物が空になったら、デバイス全体が廃棄される。

## 【0069】

10

いくつかの再使用可能なペン型および自己注射器型送達デバイスが、本発明の医薬組成物の皮下送達において適用可能である。例としては、限定されるものではないが、ほんの数例を挙げると、AUTOPEN(商標)(Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK)、DISETRONIC(商標)(Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland)、HUMALOG MIX 75/25(商標)ペン、HUMALOG(商標)ペン、HUMALIN 70/30(商標)ペン(Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN)、NOVOPEN(商標)I、IIおよびIII(Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、NOVOPEN JUNIOR(商標)(Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、BD(商標)ペン(Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)、OPTIPEN(商標)、OPTIPEN PRO(商標)、OPTIPEN STARLET(商標)、およびOPTICLICK(商標)(sanofi-aventis, Frankfurt, Germany)が挙げられる。本発明の医薬組成物の皮下送達において適用可能である使い捨てのペン型送達デバイスの例としては、限定されるものではないが、ほんの数例を挙げると、SOLOSTAR(商標)ペン(sanofi-aventis)、FLEXPEN(商標)(Novo Nordisk)、およびKWIKPEN(商標)(Eli Lilly)、SURECLICK(商標)自己注射器(Amgen, Thousand Oaks, CA)、PENLET(商標)(Haselmeier, Stuttgart, Germany)、EPIPEN(Dey, L.P.)、およびHUMIRA(商標)ペン(Abbott Labs, Abbott Park IL)が挙げられる。

20

## 【0070】

30

ある特定の状況においては、医薬組成物を制御放出系において送達することができる。一実施形態においては、ポンプを用いることができる(Langer, 上掲; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14: 201頁を参照されたい)。別の実施形態においては、ポリマー材料を用いることができる; Medical Applications of Controlled Release, LangerおよびWise(編), 1974, CRC Press., Boca Raton, Floridaを参照されたい。さらに別の実施形態においては、制御放出系を、組成物の標的の近くに配置し、かくして、全身用量のほんの一部を要するようにすることができる(例えば, Goodson, 1984, Medical Applications of Controlled Release, 上掲, vol. 2, 115~138頁を参照されたい)。他の制御放出系は, Langer, 1990, Science 249: 1527~1533頁による概説で考察されている。

40

## 【0071】

注射用調製物は、静脈内、皮下、皮内および筋肉内注射、点滴などのための剤形を含んでもよい。これらの注射用調製物を、公知の方法により製造することができる。例えば、注射用調製物を、例えば、注射のために従来用いられる滅菌水性媒体または油性媒体中に、上記の抗体またはその塩を溶解、懸濁または乳化することにより製造することができる

50

。注射のための水性媒体としては、例えば、アルコール（例えば、エタノール）、ポリアルコール（例えば、プロピレンギリコール、ポリエチレンギリコール）、非イオン性界面活性剤 [ 例えば、ポリソルベート 80、HCO-50（水素化ヒマシ油のポリオキシエチレン (50 mol) 付加物）] などの適切な可溶化剤と共に用いることができる、生理食塩水、グルコースおよび他の補助剤などを含有する等張溶液が存在する。油性媒体としては、例えば、安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどの可溶化剤と共に用いることができる、ゴマ油、大豆油などが用いられる。かくして製造された注射液を、適切なアンプル中に充填することが好ましい。

#### 【0072】

有利には、上記の経口または非経口使用のための医薬組成物を、活性成分の用量に適合するように合わせた単位用量中の剤形に製造する。単位用量中のそのような剤形としては、例えば、錠剤、丸剤、カプセル剤、注射液剤（アンプル剤）、坐剤などが挙げられる。

10

#### 【0073】

##### 用量

本発明の方法に従って対象に投与される PCSK9 阻害剤（例えば、抗 PCSK9 抗体）の量は、一般には、治療上有効量である。本明細書で用いられる場合、「治療有効量」の語句は、レムナントコレステロール (RLP-C)、VLDL-C、VLDL<sub>1</sub>-C、VLDL<sub>2</sub>-C、VLDL<sub>1+2</sub>-C、VLDL<sub>3</sub>-C、IDL-C、LDL<sub>1</sub>-C、LDL<sub>2</sub>-C、LDL<sub>3</sub>-C、LDL<sub>4</sub>-C、LDL<sub>3+4</sub>-C からなる群から選択される 1 つまたはそれ以上のパラメータにおける検出可能な減少（ベースラインからの少なくとも約 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75% 以上の減少）をもたらす PCSK9 阻害剤の用量を意味する。あるいは、動物モデルを用いて、候補 PCSK9 阻害剤の特定の量が治療有効量であるかどうかを確立することができる。

20

#### 【0074】

抗 PCSK9 抗体の場合、治療上有効量は、約 0.05 mg ~ 約 600 mg、例えば、約 0.05 mg、約 0.1 mg、約 1.0 mg、約 1.5 mg、約 2.0 mg、約 10 mg、約 20 mg、約 30 mg、約 40 mg、約 50 mg、約 60 mg、約 70 mg、約 75 mg、約 80 mg、約 90 mg、約 100 mg、約 110 mg、約 120 mg、約 130 mg、約 140 mg、約 150 mg、約 160 mg、約 170 mg、約 180 mg、約 190 mg、約 200 mg、約 210 mg、約 220 mg、約 230 mg、約 240 mg、約 250 mg、約 260 mg、約 270 mg、約 280 mg、約 290 mg、約 300 mg、約 310 mg、約 320 mg、約 330 mg、約 340 mg、約 350 mg、約 360 mg、約 370 mg、約 380 mg、約 390 mg、約 400 mg、約 410 mg、約 420 mg、約 430 mg、約 440 mg、約 450 mg、約 460 mg、約 470 mg、約 480 mg、約 490 mg、約 500 mg、約 510 mg、約 520 mg、約 530 mg、約 540 mg、約 550 mg、約 560 mg、約 570 mg、約 580 mg、約 590 mg、または約 600 mg の抗 PCSK9 抗体であってもよい。

30

#### 【0075】

個々の用量中に含まれる抗 PCSK9 抗体の量を、患者の体重 1 キログラムあたりの抗体のミリグラム数（すなわち、mg / kg）を単位として表すことができる。例えば、抗 PCSK9 抗体を、患者の体重 1 kg あたり約 0.0001 ~ 約 10 mg の用量で患者に投与することができる。

40

#### 【0076】

##### 組合せ療法

ある特定の実施形態によれば、本発明の方法は、本発明の医薬組成物の投与の時点で、またはその直前で高コレステロール血症の処置のための治療レジメン上にある患者に抗 PCSK9 抗体を含む医薬組成物を投与することを含んでもよい。例えば、高コレステロール血症と以前に診断されたことがある患者は、抗 PCSK9 抗体を含む医薬組成物の投与の前に、および / またはそれと同時に、別の薬物の安定な治療レジメンを処方されており

50

、それを摂取していてもよい。以前の、または同時的な治療レジメンは、例えば、(1)スタチン(例えば、セリバスタチン、アトルバスタチン、シンバスタチン、ピタバスタチン、ロスバスタチン、フルバスタチン、ロバスタチン、プラバスタチンなど)のような、3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル(HMG)-コエンザイムA(CoA)リダクターゼを阻害することによりコレステロール合成の細胞枯渴を誘導する薬剤；(2)コレステロール取り込みおよび／もしくは胆汁酸再吸収を阻害する薬剤；(3)リポタンパク質異化を増加させる薬剤(ナイアシンのような)；ならびに／または(4)22-ヒドロキシコレステロールのようなコレステロール除去において役割を果たすLXR転写因子のアクチベータを含んでもよい。ある特定の実施形態においては、患者は、抗PCK9抗体の投与の前、またはそれと同時に、エゼチミブ+シンバスタチンのような治療剤；胆汁樹脂(例えば、コレステラミン、コレステポール、コレセベラム)を含むスタチン；ナイアシン+スタチン(例えば、ナイアシンとロバスタチン)；またはオメガ-3-脂肪酸エチルエステル(例えば、オマコール)のような他の脂質低下剤との固定的組合せにある。

#### 【0077】

##### 投与レジメン

本発明のある特定の実施形態によれば、複数用量のPCK9阻害剤(すなわち、PCK9阻害剤を含む医薬組成物)を、規定の時間経過にわたって対象に投与することができる。本発明のこの態様による方法は、複数用量のPCK9阻害剤を対象に逐次的に投与することを含む。本明細書で用いられる場合、「逐次的に投与すること」とは、それぞれの用量のPCK9阻害剤を、異なる時点で、例えば、所定の間隔(例えば、時間、日、週または月)により隔てられた異なる日に対象に投与することを意味する。本発明は、単回初回用量のPCK9阻害剤、次いで、1つまたはそれ以上の第2の用量のPCK9阻害剤、場合により次いで、1つまたはそれ以上の第3の用量のPCK9阻害剤を患者に逐次的に投与することを含む方法を含む。

#### 【0078】

用語「初回用量」、「第2の用量」および「第3の用量」とは、PCK9阻害剤を含む医薬組成物の個々の用量の投与の時間的順序を指す。かくして、「初回用量」は、処置レジメンの開始時に投与される用量である(「ベースライン用量」とも呼ばれる)；「第2の用量」は初回用量の後に投与される用量である；「第3の用量」は第2の用量の後に投与される用量である。初回、第2の、および第3の用量は全て、同じ量のPCK9阻害剤を含有してもよいが、一般には、投与頻度に関して互いに異なっていてもよい。しかしながら、ある特定の実施形態においては、初回、第2の、および／または第3の用量に含有されるPCK9阻害剤の量は、処置の経過中に互いに異なる(例えば、必要に応じて上方または下方に調整される)。ある特定の実施形態においては、2つまたはそれ以上(例えば、2、3、4、または5)の用量を、「負荷用量」として処置レジメンの開始時に投与した後、その後の用量をより低い頻度ベースで投与する(例えば、「維持用量」)。

#### 【0079】

本発明の例示的実施形態によれば、それぞれの第2の、および／または第3の用量は、直前の用量の1～26週間(例えば、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、またはそれ以上)後に投与される。本明細書で用いられる語句「直前の用量」とは、複数の投与の順序において、介在する用量がない順序ですぐ次の用量の投与の前に患者に投与される抗原結合分子の用量を意味する。

#### 【0080】

本発明のこの態様による方法は、任意の数の第2および／または第3の用量のPCK

10

20

30

40

50

9 阻害剤を患者に投与することを含んでもよい。例えば、ある特定の実施形態においては、単一の第2の用量のみを患者に投与する。他の実施形態においては、2つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の第2の用量を患者に投与する。同様に、ある特定の実施形態においては、単一の第3の用量のみを患者に投与する。他の実施形態においては、2つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の第3の用量を患者に投与する。

#### 【0081】

複数の第2の用量を含む実施形態においては、それぞれの第2の用量を、他の第2の用量と同じ頻度で投与することができる。例えば、それぞれの第2の用量を、直前の用量の1～2、4、6、8週間またはそれ以上後に患者に投与することができる。同様に、複数の第3の用量を含む実施形態においては、それぞれの第3の用量を、他の第3の用量と同じ頻度で投与することができる。例えば、それぞれの第3の用量を、直前の用量の1～2、4、6、8週間またはそれ以上後に患者に投与することができる。あるいは、第2および／または第3の用量を患者に投与する頻度は、処置レジメンの経過にわたって変化してもよい。投与の頻度を、臨床検査後に個々の患者の必要性に応じて医師によって処置の経過中に調整することもできる。

#### 【0082】

本発明は、漸増（up-titration）オプション（本明細書では「用量改変」とも呼ばれる）を含む投与レジメンを含む。本明細書で用いられる場合、「漸増オプション」とは、特定数の用量のPCK9阻害剤を受けた後、患者が1またはそれ以上の規定の治療パラメータの特定の減少を達成しなかった場合、その後、PCK9阻害剤の用量を増加させることを意味する。例えば、2週間毎に1回の頻度での患者への75mg用量の抗PCK9抗体の投与を含む治療レジメンの場合、8週間後に（すなわち、第0週、第2週および第4週、第6週および第8週で投与された5つの用量）、患者が70mg/dL未満の血清LDL-C濃度を達成していなかった場合、抗PCK9抗体の用量を、その後、例えば、2週間毎に1回投与される（例えば、第10週もしくは第12週、またはそれ以降で開始する）、150mgに増加させる。

#### 【実施例】

#### 【0083】

以下の実施例は、本発明の方法および組成物を作製および使用する方法の完全な開示および説明を当業者に提供するために記載されるものであり、本発明者らがその発明と見なすものの範囲を限定することを意図するものではない。用いられる数（例えば、量、温度など）に関して正確性を確保するための努力が為されたが、いくらかの実験誤差および偏差もあるべきである。別途指摘しない限り、部は重量部であり、分子量は平均分子量であり、温度は摂氏であり、圧力は大気圧または大気圧近くである。

#### 【0084】

#### 【実施例1】

##### ヒトPCK9に対するヒト抗体の作成

ヒト抗PCK9抗体を、米国特許第7,608,693号に記載のように作成した。以下の実施例で用いられる例示的PCK9阻害剤は、「mAb316P」と命名されるヒト抗PCK9抗体である（科学文献では「アリロクマブ」とも呼ばれる）。mAb316Pは、以下のアミノ酸配列特性：配列番号90を含む重鎖可変領域（HCDR）；配列番号92を含む軽鎖可変ドメイン（LCDR）；配列番号76を含む重鎖相補性決定領域1（HCDR1）；配列番号78を含むHCDR2；配列番号80を含むHCDR3；配列番号84を含む軽鎖相補性決定領域1（LCDR1）；配列番号86を含むLCDR2；および配列番号88を含むLCDR3を有する。

#### 【0085】

#### 【実施例2】

抗PCK9抗体レベルと低密度リポタンパク質コレステロール（LDL-C）レベルとの間の動力学

10

20

30

40

50

## はじめに

$\text{mAb316P}$  の第 I 相および第 II 相試験に由来する薬物動態および薬力学データの記述分析を行って、 $\text{mAb316P}$ 、 $\text{PCSK9}$  および  $\text{LDL-C}$  レベルの間の関係を特徴付けた。3 つの異なる臨床試験を、この分析において含有させた。

### 【0086】

(1) 単回用量試験：バックグラウンドスタチン療法を受けていない健康な対象における第 I 相、単回用量試験において、対象は単回皮下 (SC) 用量の  $\text{mAb316P}$  50、100、150 および 250 mg、またはプラセボを受けた。

### 【0087】

(2) 複数用量試験：アトルバスタチン療法を受けているヘテロ接合性家族性高コレステロール血症 (HeFH) および非家族性高コレステロール血症 (FH) 患者ならびに食事のみを受ける非 FH 患者のコホートにおける第 I 相試験。アトルバスタチンを受ける患者を、1 日目、29 日目、および 43 日目に SC 投与される  $\text{mAb316P}$  (50、100、もしくは 150 mg) またはプラセボに無作為化した。食事のみを受ける非 FH 患者を、1 日目および 29 日目に SC 投与される  $\text{mAb316P}$  150 mg またはプラセボに無作為化した。

10

### 【0088】

(3) 第 II 相試験：アトルバスタチン療法を受ける高コレステロール血症患者における 12 週の試験：患者を、2 週間毎 (Q2W) に  $\text{mAb316P}$  50、100、もしくは 150 mg SC、4 週間毎 (Q4W) に 200 もしくは 300 mg SC、またはプラセボに無作為化した。

20

### 【0089】

#### 結果

$\text{mAb316P}$  150 mg SC の単回投与は、循環遊離  $\text{PCSK9}$  に迅速に結合し、そのレベルを迅速に減少させた；この後、 $\text{LDL-C}$  が低下した。出発レベルに向かう遊離  $\text{PCSK9}$  の回復は、 $\text{LDL-C}$  レベルの回復に先行することがわかった (図 1)。遊離  $\text{PCSK9}$  レベルは、HeFH または非 FH 患者における  $\text{mAb316P}$  50、100、または 150 mg SC の投与後 3 日目までに底に達した (図 2)。出発レベルへの遊離  $\text{PCSK9}$  の回復は、 $\text{mAb316P}$  とアトルバスタチンを受けた患者に対して  $\text{mAb316P}$  と食事のみを受けた患者においてより遅かった (図 2)。最大の平均  $\text{LDL-C}$  減少は、50 mg および 100 mg 用量については 8 日目に、150 mg 用量については 15 日目に記録された；遊離  $\text{PCSK9}$  濃度と比較したこの遅延は、おそらく新しい  $\text{LDL-C}$  受容体の生成にとって必要とされる時間に起因するものである。150 mg 用量の投与後の総  $\text{mAb316P}$  と  $\text{LDL-C}$  との関係を示す代表的なヒステリシス曲線を、図 3 に示す。

30

### 【0090】

食事のみと比較して、スタチンを摂取する患者において、より高いベースライン遊離  $\text{PCSK9}$  レベルが観察された (図 4)。 $\text{mAb316P}$  および食事療法のみと比較して、同時的スタチン療法に関して  $\text{mAb316P}$  の標的媒介性クリアランスの増加があった (生成速度の増大をおそらく反映する、より高い遊離  $\text{PCSK9}$  レベルに起因する)。これは、4 週間の投薬間隔 (1 日目～29 日目) にわたる  $\text{LDL-C}$  低下の持続期間に影響すると考えられ、これは、食事のみに対して同時的スタチン療法に関して減少した；しかしながら、この効果は、2 週間の投薬間隔にわたって見られなかった (29 日目～43 日目) (図 5)。

40

### 【0091】

同時的スタチン療法を受ける高コレステロール血症 (非 FH) 患者においては、 $\text{mAb316P}$  Q2W は、12 週で均一に強力な  $\text{LDL-C}$  低下をもたらした。Q2W 投薬レジメンにある患者は、Q4W 投薬に対して 12 週で  $\text{LDL-C}$  応答のより低い変動性を示した (図 6)；変動係数は、150 mg Q2W および 300 mg Q4W について、それぞれ、16 % および 49 % であった。

50

## 【0092】

## 結論

動力学は、mAb316P、遊離PCSK9およびLDL-Cレベルの間で明らかであった。mAb316P処置は、投与の3日以内に遊離PCSK9レベルの減少をもたらし、LDL-Cの減少のピークは投与後8～15日であった。

## 【0093】

mAb316Pのクリアランスは、遊離PCSK9へのその結合によって促進された（標的媒介性クリアランス）。より低レベルの遊離PCSK9は、より低い標的媒介性クリアランスを介してより長い効能の持続期間をもたらした。以前の試験により、スタチンの投与が遊離PCSK9の生成を増加させることが示された。ここで分析される試験においては、mAb316P+食事のみを受けた患者は、mAb316P+アトルバスタチン療法を受けた患者と比較して、より低いベースライン遊離PCSK9レベルおよびより高いmAb316P血中濃度を有していた。

## 【0094】

同時的スタチン療法を受ける患者においては、Q2Wで投与されたmAb316Pは、Q4W投薬レジメンと比較して、投薬間隔の終わりにLDL-C低下のより低い変化を達成した。Q4W投薬においては、標的媒介性クリアランスの患者間の相違（他の因子のうち）は、投与後第2週と第4週の間での最大LDL-Cの持続期間の相違、したがって、投与後4週間で達成された効能のより広い相違に寄与すると考えられた。これらの相違は、用量をQ2Wで投与した場合には観察されなかった。

## 【0095】

## 〔実施例3A〕

抗PCSK9抗体は血清レムナントリポタンパク質画分、超低密度リポタンパク質、トリグリセリド、およびリポタンパク質(a) [Lp(a)]のコレステロール濃度を減少させる

## はじめに

超低密度リポタンパク質(VLDL)レベルの増大は、早期アテローム性動脈硬化症の素因であるアテローム生成性脂質異常症のパターンの一部を形成する。レムナントリポタンパク質は、VLDL脂肪分解の生成物であり、VLDL<sub>3</sub>および中間密度リポタンパク質(IDL、LDL形成の直接的な前駆体)を含む。

## 【0096】

リポタンパク質(a) [Lp(a)]は、低密度リポタンパク質(LDL)粒子とほぼ同じサイズであるコレステロールに富むリポタンパク質のapoB成分に共有結合したアポリポタンパク質(a) [apo(a)]からなる。Lp(a)代謝は、多くは遺伝的調節下にあり、90%を超えるその血漿濃度は、apo(a)遺伝子(LPA)で定量的および定性的多型性によって影響される。Lp(a)レベルの上昇は、心血管疾患の独立した危険因子であると考えられ、その危険性はレベルが上昇するにつれて増大し続ける。Lp(a)の上昇はコレステロールの血管内膜への沈着によってアテローム性動脈硬化症を促進し得るが、それはプラスミノーゲンとの高い相容性のため血栓症をも促進するが、それはプロテアーゼ活性を欠く。冠動脈造影を受けている患者においては、30mg/dLを超えるLp(a)濃度は、血管造影による狭窄および主要冠動脈イベントの危険性の増大と関連することが示されている。さらに、Lp(a)レベルおよび遺伝子型は、大動脈弁石灰化と関連することが示されており、それは原因において役割を果たし得ることを示唆している。

## 【0097】

本実施例の目的は、プロタンパク質変換酵素スブチリシン/ケキシン9型(PCSK9)に対する完全ヒトモノクローナル抗体であるmAb316Pが、VLDLおよびリポタンパク質レムナントの血清レベルを減少させ、血清LDL-Cおよび非HDL-Cを減少させるその能力に寄与するという仮説を試験し、患者におけるmAb316PのLp(a)低下活性を確認することであった。

10

20

30

40

50

## 【0098】

3つの多施設、二重盲検、平行群、プラセボ対照試験を、原発性高コレステロール血症（試験A、n = 183；試験B、n = 92）またはヘテロ接合性家族性高コレステロール血症（試験C、n = 77）を有する患者において行った。3つの試験に関する設計および投薬の概要を、表1に示す。

## 【0099】

【表1】

表1. mAb316P臨床試験に関する設計および投与の概要

試験	A	B	C
期間	12週	8週	12週
患者	高コレステロール血症 (n = 183)	高コレステロール血症 (n = 92)	ヘテロ接合性家族性 高コレステロール血症 (n = 77)
mAb316P 用量	200-300 mg Q4W 50-100 mg Q2W 150 mg Q2W (n=31)	150 mg Q2W + ATV 10~80 mg 150 mg Q2W + ATV 10~80 mg (合計n=61)	150, 200, 300 mg Q4W 150 mg Q2W (n=16)
プラセボ	n = 31	プラセボ + ATV 10~80 mg (n = 31)	n = 15
プールされた分析集団	mAb316P 150 mg Q2W (n = 108)	プラセボ(n = 77)	

## 【0100】

試験Bにおいて、全ての患者は無作為化の前にアトルバスタチン（ATV）10 mgを受け、プラセボおよび1つのmAb316Pアームにおいて無作為化処置の開始時にATV 80 mgに漸増された。

## 【0101】

バックグラウンドアトルバスタチンまたはスタチン+/-エゼチミブにある患者は、試験に応じて、2または4週間毎（Q2W、Q4W）に皮下的（SC）に投与されるmAb316P 50~300 mgを受けた。mAb316P 150 mg Q2W用量は、3つ全ての試験に共通であった。

## 【0102】

ポストホック分析において、垂直型自動プロファイル（VAP）試験によりリポタンパク質をサブ分画化した。VAP法は、リポタンパク質画分を、垂直型ローター中でのその密度によって分離し、それぞれのリポタンパク質クラスおよびサブクラスの高い分解を可能にする單一直接超遠心分離試験である。チューブの底部を穿刺し、酵素的コレステロール試薬の添加後に分光光度計を用いてそれぞれの層中のコレステロールを測定した。mAb316P 150 mg Q2W対プラセボで処置された患者におけるVLDL-C、VLDL<sub>1+2</sub>-C（「大浮遊」VLDL粒子中のコレステロールの尺度）、トリグリセリド（TG）、VLDL<sub>3</sub>-C、IDL-Cおよび総レムナントリポタンパク質コレステロールレベル（RLP-C；VLDL<sub>3</sub>-C + IDL-C）のパーセント変化を、ANC0VAを用いて、12週（試験A）、8週（試験B）および6週（試験C）で分析した。

## 【0103】

さらに、ベースラインおよび処置上のLp(a)レベルを、mAb316P 150 mg Q2Wまたはプラセボを受ける3つの異なる第2相試験からの患者において評価した。全ての第2相試験において、Lp(a)レベルを、同じ実験室で、同じ方法を用いて測定した。3つの試験の改変包括解析（intention-to-treat）集団からのベースラインおよび処置の終わり（第8/12週での処置上の値または最後の利用可能

10

20

30

40

50

な処置上の繰越値)でのLp(a)レベルに関するデータをプールし、mAb316P 150mg Q2Wおよびプラセボに関するベースラインからのパーセンテージ変化を、処置群に関する共分散分析および固定効果としての試験および共変量としてのベースラインLp(a)を用いて比較した。これらの予備分析と関連するP値は、記述目的のためだけに提供されたものであり、多重度について調整されなかった。Lp(a)およびLDL-Cにおけるベースラインからのパーセンテージ変化間の関係を、線形回帰を用いて評価し、Spearmanの相関係数を算出した。

#### 【0104】

##### 結果 / 結論

3つの試験において、TG、VLDL-C、およびレムナントリポタンパク質のコレステロール含量の減少を、mAb316P対プラセボに関して観察した。その結果を、表2および図7~9にまとめる。

#### 【0105】

##### 【表2】

表2

	ベースライン (mg/dL)	終点(mg/dL)	パーセント変化	p値(s)
VLDL	23.24~26.31	16.62~18.12	-22.33~-27.95	0.0023~<0.0001
VLDL <sub>1+2</sub> -C	9.79~10.59	6.59~7.31	-21.87~-31.45	0.0178~<0.0001
VLDL <sub>3</sub>	13.55~15.62	10.03~10.88	-21.9~-26.66	0.0011~<0.0001
TG	135.72~157.19	99.9~124.44	-13.07~-21.19	0.6945~0.0003
IDL	15.38~22.06	6.79~8.62	-50.28~-55.75	<0.0001
RLPC	29.34~37.69	16.86~19.5	-37.05~-44.04	<0.0001

#### 【0106】

アテローム生成性リポタンパク質の全スペクトル(LDL-C、IDL-C、VLDL-CおよびRLPサブ画分)は、hFH/非FH患者において、脂質低下療法(スタチン±エゼチミブ)のバックグラウンドに対して、mAb316Pによって減少した。したがって、本実施例は、VLDL<sub>3</sub>-CおよびIDL-Cを含む、VAPにより分離可能なレムナントリポタンパク質画分のコレステロール濃度の有意な減少に加えて、mAb316Pが血清TGおよびVLDL-Cを有意に減少させたことを例示する。

#### 【0107】

ベースラインおよび処置上のLp(a)のデータは、プールされた分析集団中、mAb316P 150mg Q2Wを受けた108人の患者のうちの102人について利用可能であり、プラセボを受けた77人の患者のうちの74人について利用可能であった。ベースライン値を表3に示す。

#### 【0108】

10

20

30

## 【表3】

表3. プールされた分析に含まれる患者におけるベースラインLp(a)レベル

Lp(a)値(mg/dL)		mAb316P 150 mg Q2W (n=102)
	プラセボ (n=74)	
全集団、中央値(IQR)	19.0 (6.0-77.0)	29.5 (8.0-70.0)
範囲	1.5-299.0	1.5-181.0
ベースラインLp(a)により細分された患者数		
	プラセボ (n=74)	mAb316P 150 mg Q2W (n=102)
≤ 50 mg/dL, n (%)	49 (66.2)	68 (66.7)
> 50 mg/dL, n (%)	25 (33.8)	36 (35.3)

\*ベースラインおよび処置の終わりで利用可能なLp(a)データを有するmITT集団に由来する患者(第8/12週での処置上の値または最後の利用可能な処置上の繰越値)

## 【0109】

表3に示されたように、mAb316Pで処置された36人の患者(35%)およびプラセボで処置された25人の患者(33%)が、50 mg / dLを超えるベースラインLp(a)を有し、EASガイドラインにより高リスクカットポイントと考えられた。

## 【0110】

Lp(a)のベースラインからの絶対および中央減少パーセンテージを、表4にまとめる。

## 【0111】

## 【表4】

表4. ベースラインからのLp(a)の変化

全患者		ベースラインLp(a)により細分された患者			
		≤ 50 mg/dL	> 50 mg/dL		
プールされた プラセボ 処置 (n=74)	プールされた mAb316P処置 (n=102)	プールされた プラセボ処置 (n=49)	プールされた mAb316P処置 (n=68)	プールされた プラセボ処置 (n=25)	プールされた mAb316P処置 (n=34)
ベースラインからの中央Lp(a)変化, mg/dL (IQR; LOCF)					
-0.5 (-5.0-2.0)	-9.0 (-19.0--2.0)*	0.0 (-3.0-1.5)	-3.5 (-11.5--1.5)*	-5.0 (-11.0-6.0)	-26.5 (-39.0--16.0)*
ベースラインからの中央Lp(a)パーセント変化, (IQR; LOCF)					
-0.3% (-16.7-11.5)	-30.3% (-50.0--19.4)*	0.0% (-16.7-16.7)	-36.1% (-51.1--17.4)*	-4.4% (-9.4-7.1)	-27.0% (-32.6--19.6)*

\*プラセボに対するP<0.0001

## 【0112】

表4に示されたように、Lp(a)におけるベースラインからの中央パーセンテージ減少は、mAb316P 150 mg Q2Wに関しては30.3%であったのに対して、プラセボに関しては0.3%であった(P<0.0001)。ベースラインからのLp(a)の絶対中央減少は、より高いベースラインLp(a)を有する患者において実質的により高かった。まとめると、mAb316P 150 mg Q2Wを用いて行われた3つの第2相試験からプールされたデータの分析により、50 mg / dLを超えるベースラインLp(a)を有する患者におけるものを含む、プラセボに対するLp(a)の有意な減

10

20

30

40

50

少が示された。Lp(a)の上昇のため心血管疾患の危険性がより高いと考えられる患者において、Lp(a)のパーセンテージ減少は、Lp(a)のより大きい絶対減少をもたらす同様の規模のものであると考えられた。

【0113】

【実施例3B】

抗PCSK9抗体は血清中のアポリポタンパク質CIIおよびCIIIレベルを減少させる

はじめに

アポタンパク質(apo)CIIは、VLDLトリグリセリドのリポタンパク質リパーゼ(LPL)媒介性異化を阻害する。apoCIIは、ベースライントリグリセリドレベルに依存し得るVLDLおよびLPL活性とのより複雑な関係を有すると考えられる。apoCIIは、一般に、LPLの重要なアクチベータである。

【0114】

LPLはVLDLおよびそのレムナントのトリグリセリド塊を加水分解する。本実施例では、アポタンパク質CIIおよびCIIIの血清レベルに影響することによってVLDL-Cおよびレムナントを減少させる抗PCSK9抗体mAb316Pの能力を調査した。

【0115】

3つの多施設、二重盲検、平行群、プラセボ対照試験を、原発性(非家族性)高コレステロール血症(非FH)(試験A、n=183;試験B、n=92)またはヘテロ接合性家族性高コレステロール血症(hetFH)(試験C、n=77)を有する患者において行った。患者(アトルバスタチンまたはスタチン+/-エゼチミブを受けていた)を、試験に応じて、2週間毎(Q2W)にmAb316P 50~150mgまたは4週間毎(Q4W)に150~300mgで処置した。mAb316P 150mg Q2W用量は、3つ全部の試験に共通であった(実施例3A、表1を参照されたい)。

【0116】

ポストホック分析において、イムノアッセイによりapoCIIおよびCIII濃度を測定した(Randox Laboratories Limited、UKからの試薬キット[apoCII、カタログ番号LP3866; apoCIII、カタログ番号LP3865]およびArchitect Ci8200分析装置[Abbott Laboratories、IL]を用いる)。イムノアッセイ法は、340nmでの比濁分析により濃度を測定することができる不溶性複合体を形成する、ヒトapoCII(またはapoCIII)を含有する試料と、apoCII(またはCIII)に対する特異的抗血清との反応に基づくものであった。両アッセイを、分析性能について検証した。

【0117】

プラセボ群におけるapoCIIおよびapoCIIIにおけるベースラインからのパーセント変化を、mAb316Pで処置した患者と比較し、共分散分析を用いて第12週(試験A)、第8週(試験B)および第6週(試験C)で分析した。試験Cは、第12週で終点であったが、第6週(n=75)と比較して第12週(n=17)で利用可能な保存された試料を有する患者数が少なかったため、6週間のデータを用いた。

【0118】

結果

試験A、BおよびCにおけるmAb316P 150mg Q2Wに関する処置群によるベースラインからのapoCIIおよびCIIIのパーセント変化を、表5に示す。示される値は、中央値(IQR)であるapoCIIIについて以外は、平均(SD)である。データは、第12週(試験A)、第8週(試験B)および第6週(試験C)に由来するものである。図13は、試験Aに関するapoCII(パネルA)およびCIII(パネルB)における用量応答変化を示す。

【0119】

10

20

30

40

50

## 【表5】

表5

試験A	Apo CII %変化率	プラセボに 対するP値	Apo CIII %変化率	プラセボに 対するP値
プラセボ	12.0 (33.0)		3.76 (-5.5~27.6)	
mAb316P 150mg Q2W	-21.4 (26.5)	<0.00001	-24.7 (-28.4~-2.9)	<0.00001
試験B				
プラセボ	-10.6 (30.2)		-7.0 (29.8~7.3)	
mAb316P 150mg Q2W + アトルバスタチン 10 mg	-10.0 (22.7)	0.98	-4.9 (-24.4~1.0)	0.4426
mAb316P 150mg Q2W + アトルバスタチン 80 mg	-29.3 (19.29)	0.0067	-22.9 (-28~-14.0)	0.0165
試験C				
プラセボ	1.6 (15.5)		-3.3 (-15.3~5.6)	
mAb316P 150mg Q2W	-9.4 (28.1)	0.0794	-20.2 (-29.0~2.5)	0.019

10

20

30

40

## 【0120】

mAb316Pは、全用量でapo CIIおよびCIIIを減少させたが、明確な用量応答が観察された（表5、図13）。3つ全ての試験において、mAb316Pは、ベースラインから患者においてapo CIIを減少させた（表5）。第12週（試験A）、第8週（試験B）および第6週（試験C）でのベースラインからの平均減少は、それぞれ、21.4%（P < 0.00001）、29.3%（P = 0.0067）および9.4%（P = 0.08）であった（プラセボと比較したP値）。apo CIIIは、試験A、BおよびCについて、それぞれ、24.7%（P < 0.00001）、22.9%（P = 0.0165）および20.2%（P = 0.019）減少した（プラセボと比較したP値）。

## 【0121】

## 結論

抗PCSK9抗体mAb316Pを用いる療法は、血清apo CIIおよびCIIIの有意な減少と関連していた。非FHを有する患者においては、apo CIIとCIIIの両方ににおいてほぼ1:1の減少があった。heFHを有する患者においては、apo CIIには、apo CIIよりも約2倍より多く減少した。apo CIIおよびCIIIの減少は、これらのアポタンパク質の公知の担体であるVLDL粒子のクリアランスの増加または生成/分泌の減少を示すものであってもよい。

## 【0122】

## 〔実施例4〕

抗PCSK9抗体は、全血清低密度リポタンパク質画分のコレステロール濃度を減少させる

## はじめに

低密度リポタンパク質コレステロール（LDL-C）は、異なる密度および脂質化状態のLDL粒子の連続体から構成される。LDL粒子組成物に対する脂質改変療法の効果の分析は、処置の作用機序の理解を助けることができる。本実施例の目的は、プロタンパク質変換酵素スプチリシン/ケキシン9（PCSK9）に対する完全ヒトモノクローナル抗体であるmAb316Pは、複数のLDL画分を減少させることによってLDL-Cを減

50

少させるという仮説を試験することであった。

【0123】

3つの多施設、二重盲検、平行群、プラセボ対照試験を、原発性高コレステロール血症（試験A、n = 183；試験B、n = 92）またはヘテロ接合性家族性高コレステロール血症（試験C、n = 77）を有する患者において行った。患者（アトルバスタチンまたはスタチン+/-エゼチミブを受けていた）を、試験に応じて、2週間毎（Q2W）にmAb 316P 50~150mgまたは4週間毎（Q4W）に150~300mgで処置した。mAb 316P 150mg Q2W用量は、3つ全部の試験に共通であった（実施例3A、表1を参照されたい）。

【0124】

ポストホック分析において、垂直型自動プロファイル（VAP）試験によりリポタンパク質をサブ分画化した。ベースラインから、試験Aについては第12週まで、試験Bについては第8週まで、および試験Cについては第6週までの、mAb 316P 150mg Q2W対プラセボを受ける患者におけるLDL<sub>1</sub>-C（「大浮遊」LDL）、LDL<sub>2</sub>-C、LDL<sub>3</sub>-C、およびLDL<sub>4</sub>-C（「小型」LDL）レベルのパーセント変化を、ANCOVAを用いて評価した。LDL<sub>3</sub>-CおよびLDL<sub>4</sub>-C画分を、個別に、およびプールされた分析において分析した。LDL<sub>4</sub>-Cは、典型的にはLDL<sub>3</sub>-Cよりも実質的に低い濃度で存在するため、これを行った。LDL<sub>4</sub>-Cにおいてはパーセント減少におけるはるかにより実質的な変化があった。LDL<sub>3+4</sub>-Cの合計は、2つの最小および最高密度のLDL-C画分の合計である。

【0125】

結果 / 結論

VAPにより分離可能な全てのLDLサブ画分のコレステロール含量のベースラインからの有意な減少が、プラセボに対して、3つの試験におけるmAb 316P 150mg Q2Wを受ける患者において観察された。結果を、表6および図10~12にまとめる。

【0126】

【表6】

表6

	ベースライン(mg/dL)	終点(mg/dL)	パーセント変化	p値
LDL <sub>1</sub>	16.18~25.92	3.56~6.81	-68.87~-77.84	<0.0001
LDL <sub>2</sub>	20.29~31.46	3.04~7.84	-77.85~-84.17	<0.0001
LDL <sub>34</sub>	46.33~49.16	14.9~22.29	-48.77~-68.49	<0.0001

【0127】

したがって、本実施例は、PCSK9に対するモノクローナル抗体（mAb 316P）を用いる療法が、VAPにより分離可能なLDL画分中のコレステロール濃度を有意に減少させることを例示するものである。mAb 316Pを用いて以前に示されたLDL-Cの減少が、LDL-Cサブ画分のスペクトルにわたって確認された。

【0128】

【実施例5】

リポタンパク質粒子濃度に対する抗PCSK9抗体の効果

背景

低密度リポタンパク質粒子（LDL-P）および高密度リポタンパク質粒子（HDL-P）のコレステロール含量は、個体間で大きく変化し得る。例えば、ある個体はより大きい、コレステロールに富むLDL-Pを有するが、別の個体はより小さい、コレステロールが少ないLDL-Pを有する。したがって、低密度リポタンパク質コレステロール（LDL-C）および高密度リポタンパク質コレステロール（HDL-C）の血清レベルの測

10

20

30

40

50

定値は、循環LDL-PおよびHDL-Pの数と相関しないことが多い。

【0129】

疫学研究により、アテローム性動脈硬化性心血管疾患の危険性はLDL-CとLDL-Pの両方と関連することが示された。しかしながら、これらの尺度が一致しない患者集団（例えば、糖尿病または代謝症候群を有する患者）においては、危険性はLDL-CよりもLDL-Pとより一致して関連することが示された。結果として、複数の専門家パネルおよび合意声明は、高リスク患者の管理における療法の標的としてのLDL-Pの補助的使用を主張した。

【0130】

核磁気共鳴（NMR）技術は、療法の強化を必要とする不一致に高いLDL-Pレベルを有する患者を同定するために循環リポタンパク質粒子の数を正確に測定することができる。

10

【0131】

抗PCSK9抗体mAb316Pは、12週にわたって安定な用量のアトルバスタチンにある患者において、LDL-Cを最大で72.4%減少させ、プラセボとmAb316P処置群との間で同様の比率の有害事象を示すことが示された。mAb316Pは、LDL-Cの変化と比例してアポリポタンパク質Bを最大で56%減少させた。高コレステロール血症患者におけるリポタンパク質粒子数に対するmAb316Pの効果は、これまで報告されていない。

【0132】

20

本実施例は、リポタンパク質粒子の濃度およびサイズに対するmAb316Pの効果の評価を記載する。

【0133】

方法

安定な毎日のアトルバスタチン（毎日10、20または40mg）に加えて、プラセボ（n=31）または2週間毎（Q2W）に皮下（SC）投与されるmAb316P 150mg（n=28）を受けた、100mg/dL以上のLDL-Cを有する患者に関して、無作為化二重盲検第II相試験のサブ試験を実行した。脂質およびリポタンパク質試験を、12時間の一晩の絶食後に採取された試料を用いて実施した。リポタンパク質粒子プロファイルを、LipoScience, Inc. (Raleigh, NC)でのLipoProfile-3アルゴリズムを用いてNMR分光法により測定した。LDL-PおよびHDL-Pサブクラスを、分光的に異なる脂質メチル基のNMRシグナルの振幅から定量し、加重平均されたLDLおよびHDLサイズを、そのメチルNMRシグナルの振幅に基づくその相対質量パーセンテージを掛けた各サブクラスの直径の合計から誘導した。

30

【0134】

サブクラスに関する直径範囲見積もり値は、以下の通りであった：

【0135】

VLDL-P：小型VLDL-P = 29~42nm；中型VLDL-P = 42~60nm；大型VLDL-P > 60nm；

40

【0136】

LDL-P：小型LDL-P = 18~20.5nm；大型LDL-P = 20.5~23nm；中間密度リポタンパク質粒子（IDL-P）= 23~29nm；

【0137】

HDL-P：小型HDL-P = 7.3~8.2nm；中型HDL-P = 8.2~9.4nm；および大型HDL-P = 9.4~14nm。

【0138】

総VLDL-P、LDL-P、およびHDL-Pは、それぞれ、VLDL、LDL、およびHDLサブクラスの粒子数濃度の合計に等しい。分析の評価項目は、ベースラインから第12週までのLDL-P、VLDL-PおよびHDL-Pの濃度のパーセンテージ変化であった。

50

## 【0139】

正規分布しなかった変数を全ての統計試験について変換したが、未変換の変数を本明細書の表に提示する。連續正規分布変数については平均（標準偏差 [ S D ] ）を報告するが、任意の非正規分布変数については中央値（四分位範囲 [ I Q R ] ）を報告する。カテゴリー変数については、計数およびパーセンテージを報告する。処置群がプラセボと有意に異なるかどうかを決定するために、F i s h e r の直接確率検定を実施し、関連する P 値を報告する。処置群のそれぞれがプラセボと有意に異なるかどうかを決定するために、t 検定を実施し、関連する P 値を報告する。処置群と比較したプラセボについてベースラインと第 1 2 週との間のパーセント変化に有意差があったかどうかを決定するために、共分散分析を共変量としてベースライン値を用いて実施した。

10

## 【0140】

## 結果

表 7 は、プラセボと比較した m A b 3 1 6 P 1 5 0 m g S C Q 2 W の前後のリボタンパク質粒子濃度を示す。

## 【0141】

【表7】

表7. プラセボ(n=31)およびmAb316P 150mg Q2W(n=28)に関するリポタンパク質  
粒子濃度(nmol/L) \*P<0.05;† プラセボに対するP<0.0001

平均(sd)または中央(Q1:Q3) [合計の割合]		プラセボ		
		ベースライン	第12週	%変化率
LDL	総LDL	1422.5 (321.3)	1383.8 (327.9)	-1.0%
	中間密度リポタンパク質	110 (51:166.5)	57 (24.5:144.5)	-15.0%
	大型LDL	546.6 (205.3)	431.8 (217.4)	-21.8%
	小型LDL	755.3 (304.9)	847.6 (375.1)	17.8%
VLDL+カイロ ミクロン	総VLDL +カイロミクロン	61.9 (47.8:95.6)	83.9 (45:102.2)	33.4%
	大型VLDL +カイロミクロン	3.5 (2.1:8.5)	4.3 (1.8:9.4)	14.3%
	中型VLDL	19.3 (13.1:33.9)	33.1 (13.1:51.9)	24.0%
	小型VLDL	35.3 (28.2:47.8)	37.3 (23.4:56.3)	21.4%
HDL	総HDL	32.9 (6.4)	33.2 (7.4)	1.4%
	大型HDL	3.8 (2.0)	3.9 (2.2)	6.99%
	中型HDL	9.2 (5.9:14.4)	8 (5.4:10.2)	-13.9%
	小型HDL	18.8 (5.3)	21.3 (5.8)	18.4%
mAb316P 150 mg Q2W				
		ベースライン	第12週	%変化率
LDL	総LDL	1320 (304.0)	475.4 (167.3)†	-63.3%†
	中間密度リポタンパク 質	84.5 (33:115)	37 (12:66)*	-52.8%
	大型LDL	532.2 (212.9)	152.4 (107.6)†	-71.3%
	小型LDL	666.5 (333.8)	279.9 (191.0)†	-54.0%

【0142】

【表8】

VLDL+カイロミクロン	総VLDL +カイロミクロン	71.5 (36.9:94.1)	42.0 (30.5:54.1)†	-36.4%†
	大型VLDL +カイロミクロン	3.6 (1.8:8.5)	3.1 (1.7:6.9)	5.37%
	中型VLDL	18.3 (10.7:50)	14.4 (8.2:26.9)†	-38.92%
	小型VLDL	35.7 (25:49.5)	21.4 (19.9:26.7)*	-33.4%
HDL	総HDL	32.6 (6.3)	36.1 (6.5)*	11.2%*
	大型HDL	4.8 (3.1)	6.1 (3.5)*	44.6%
	中型HDL	7.8 (5.6:10.7)	9.8 (6.6:11.3)	17.65%
	小型HDL	19.4 (4.1)	20.0 (5.7)*	2.8%

## 【0143】

mAb316Pは、平均LDL-Pを63%減少させたのに対して、プラセボについては1%減少させ( $P < 0.0001$ )、中央VLDL-Pを36%減少させたのに対して、プラセボについては33%増加させた( $P < 0.0001$ )。HDL-Pレベルは、mAb316Pについては11%増加したのに対して、プラセボについては1%増加した( $P < 0.05$ )。全粒子サブクラスの変化は、方向的に類似していた。

## 【0144】

## 結論

mAb316Pは、LDL-Cおよびアポリポタンパク質Bに対するその以前に報告された効果と類似する様式でLDL-Pおよび他のリポタンパク質粒子を有意に減少させた。

## 【0145】

## [実施例6]

イオン移動度により決定されるリポタンパク質サブ画分に対する抗PCSK9抗体の効果

## バックグラウンド

mAb316P(アリロクマブとしても知られる)は、第2相臨床試験において低密度リポタンパク質コレステロール(LDL-C)の有意な減少を示した。LDL-Cは、心血管疾患(CVD)の危険性と共に密接に関連し、粒径および密度の差異によって定義される、LDLのサブ画分も、変化する程度のCVDの危険性と関連していた。リポタンパク質サブ画分の分析は、個々の患者において見られるCVD危険性評価および脂質低下処置の効果へのさらなる洞察を提供することができる。

## 【0146】

## 方法

安定なアトルバスタチン(毎日10~40mg)に加えて、1mLの皮下自己注射により、31人の患者がプラセボを受け、27人の患者が2週間毎(Q2W)にアリロクマブ150mgを受ける、高コレステロール血症を有し、LDL-Cレベルが100mg/dL以上である患者において、第2相無作為化二重盲検臨床試験を行った。本サブ試験において、リポタンパク質画分をイオン移動度を用いてベースラインおよび第12週で決定した。

## 【0147】

10

20

30

40

50

## 結果

ベースラインから第12週までのリポタンパク質サブ画分および脂質パラメータの変化を、表8A（プラセボ処置）および表8B（mAb316P処置）に記載する。

【0148】

【表9】

表8A: プラセボ

リポタンパク質サブ画分			
	ベースライン	第12週	パーセント変化
VLDL + IDL + 総LDL	1648.44 (453.5)	1728.88 (434.58)	8.25
VLDL (大型+ 中間 + 小型)	134.97 (109.01~152.85)	140.48 (106.18~193.49)	6.64
IDL (IDL 1+2)	314.28 (282.74~407.95)	303.35 (277.99~376.17)	-3.3
総LDL	1172.99 (362.85)	1233.76 (331.13)	8.8
大型LDL (LDL 1+2a)	448.23 (173.52)	419.36 (160.98)	-0.26
中型LDL (LDL 2b)	233.2 (105.34)	228.92 (88.12)	5.07
小型LDL (LDL 3a)	195.17 (85.53)	225.98 (105.1)	24.39
超小型LDL (LDL 4a+4b+4c+3b)	296.4 (91.75)	359.49 (136.92)	24.61
HDL (HDL 2b; HDL3+2a)	23532.48 (5392.57)	24400.97 (5798.21)	0.06

脂質パラメータ			
	ベースライン	第12週	パーセント変化
LDL-C, mg/dL	130.2 (27.3)	120.5 (27.0)	-5.1
HDL-C, mg/dL	49.0 (10.3)	48.9 (13.2)	-1.0
TG, mg/dL	124.0 (92.0~187.5)	127.0 (98.0~197.0)	9.7
Apo-B, mg/dL	108.3 (19.3)	109.2 (27.0)	2.2
Apo-A1, g/L	1.4 (1.3~1.6)	1.4 (1.3~1.7)	0.0
Lp(a), g/L	0.2 (0.1~0.9)	0.2 (0.07~0.85)	0.0

【0149】

10

20

30

【表10】

表8B: mAb316P 150 mg Q2W

リポタンパク質サブ画分			
	ベースライン	第12週	パーセント変化(p値)
VLDL + IDL + 総LDL	1542.82 (435.5)	767.78 (212.39)	-48.68 (<0.0001)
VLDL (大型+ 中間 + 小型)	138.17 (96.41~167.8)	77.2 (51.81~95.8)	-51.37 (<0.0001)
IDL (IDL 1+2)	309.64 (268.32~363.95)	155.19 (134.05~194.5)	-52.29 (<0.0001)
総LDL	1078.28 (347.61)	529.35 (171)	-49.84 (<0.0001)
大型LDL (LDL 1+2a)	421.08 (130.03)	152.66 (53.4)	-62.66 (<0.0001)
中型LDL (LDL 2b)	200.86 (91.4)	78.67 (40.76)	-58.69 (<0.0001)
小型LDL (LDL 3a)	172.02 (104.89)	79.24 (38.36)	-48.56 (<0.0001)
超小型LDL (LDL 4a+4b+4c+ 3b)	284.31 (101.87)	218.77 (55.66)	-17.91 (<0.0001)
HDL (HDL 2b; HDL3+2a)	23480.25 (5281.63)	21888.87 (4515.15)	-0.05 (0.0339)
脂質パラメータ			
	ベースライン	第12週	パーセント変化(p値)
LDL-C, mg/dL	123.9 (26.7)	34.2 (15.6)	-72.4 (<0.0001)*
HDL-C, mg/dL	53.3 (16.1)	55.1 (14.8)	5.5 (0.570)‡
TG, mg/dL	140.5 (92.5~177.5)	99.0 (79.0~139.0)	-18.9 (0.0006)‡
Apo-B, mg/dL	101.6 (26.6)	44.1 (14.1)	-56.1 (<0.0001)‡
Apo-A1, g/L	1.5 (1.3~1.7)	1.6 (1.4~1.7)	1.4 (0.1524)‡
Lp(a), g/L	0.3 (0.1~0.6)	0.1 (0.05~0.41)	-28.6 (<0.0001)‡

\*階層手順による統計的に有意なp値 ‡P値は多重度のために調整されず、記述目的のためだけのものである

【0150】

40

表8Aおよび表8Bは、ベースラインから第12週までの、それぞれ、プラセボおよびmAb316P 150 mg Q2W群におけるリポタンパク質サブ画分および脂質パラメータの変化を例示するものである。プラセボと比較して、mAb316Pは、超低密度リポタンパク質(VLDL) + 中間密度リポタンパク質(IDL) + 総IDLを、48.7% (p < 0.0001)、VLDLを51.4% (p < 0.0001)、IDLを52.3% (p < 0.0001)および総IDLを49.8% (p < 0.0001)減少させた；他のサブ画分の変化は方向的に類似していた。HDLについては有意な変化は見られなかった。他のLDL画分に対する超小型LDLレベルの減少のパーセント変化には高い有意差があった (p < 0.0001)。

【0151】

50

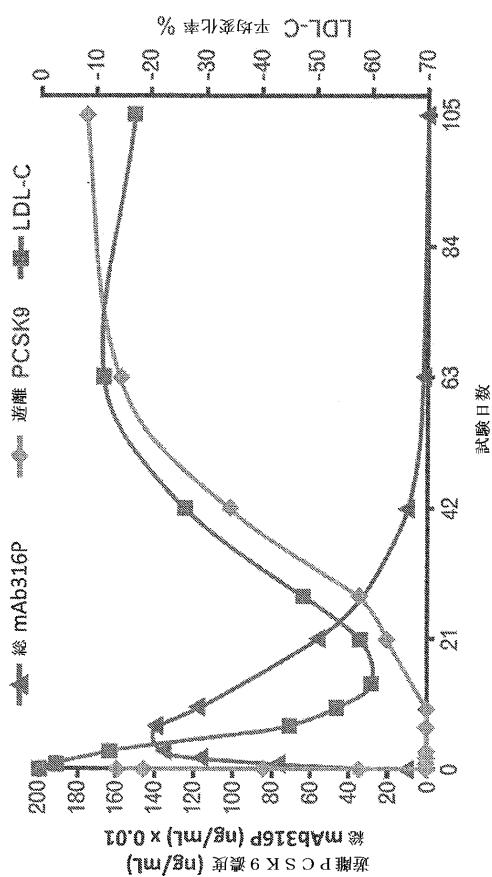
### 結論

イオン移動度により決定されるように、mAb316Pは、LDL-Cに対するその以前に報告された効果と同様、安定なアトルバスタチン療法に加えた場合、LDLサブ画分を有意に減少させた。

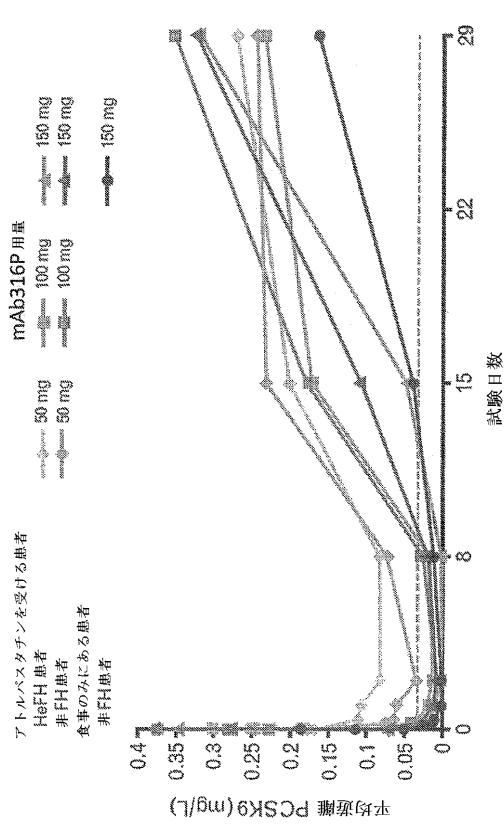
### 【0152】

本発明は、本明細書に記載の特定の実施形態によってその範囲を限定されるものではない。実際、本明細書に記載のものに加えて本発明の様々な改変が上記説明および添付の図面から当業者には明らかとなる。そのような改変は、添付の特許請求の範囲内にあることが意図される。

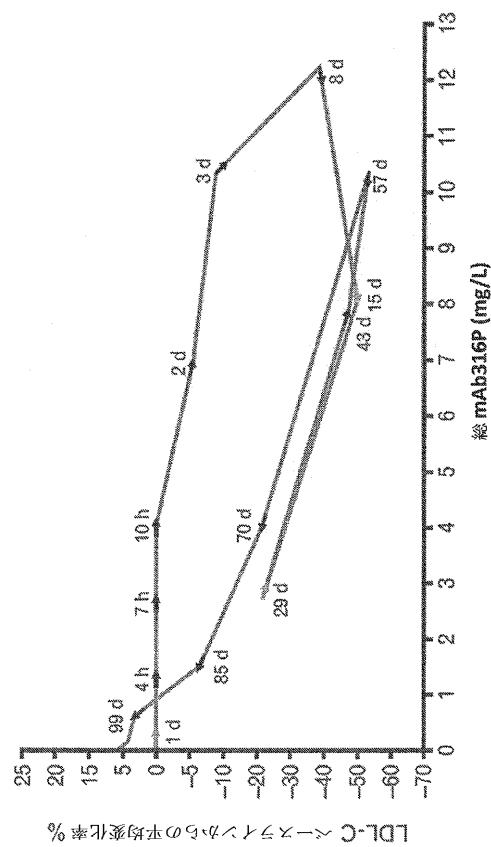
【図1】



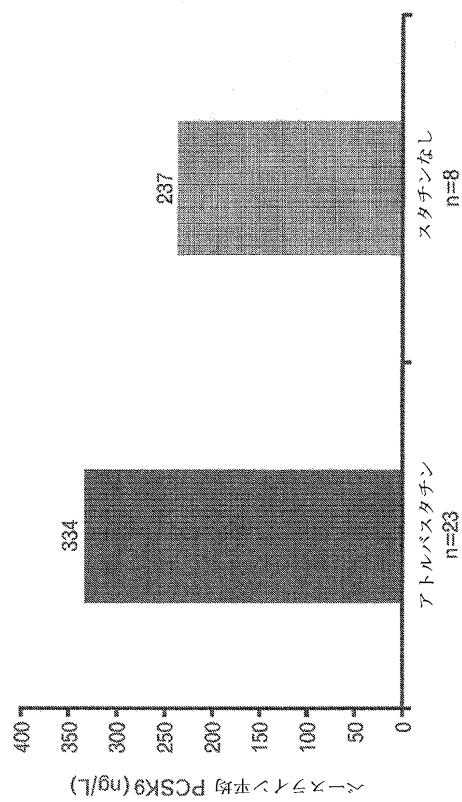
【図2】



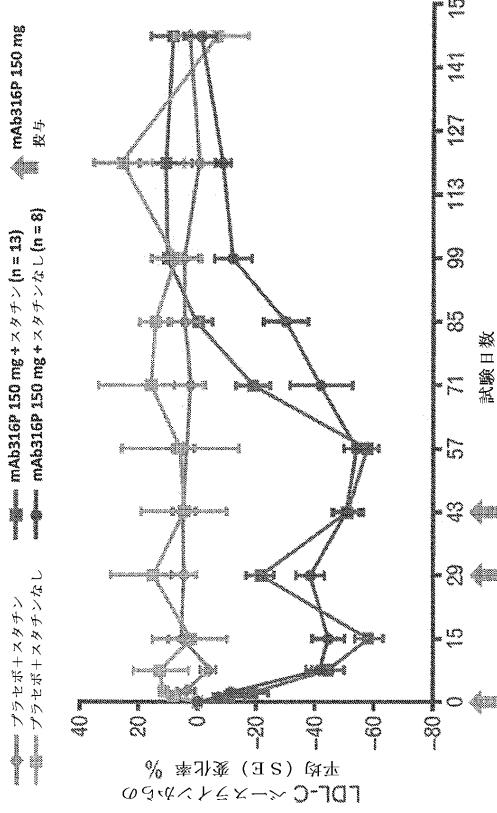
【図3】



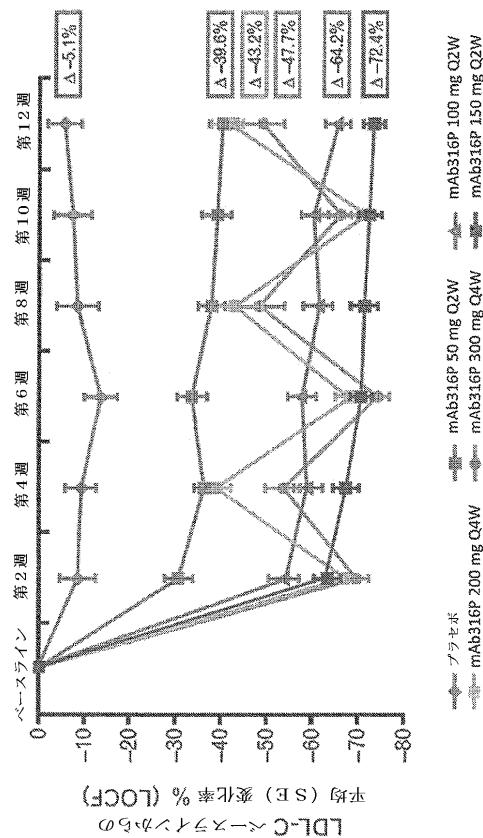
【図4】



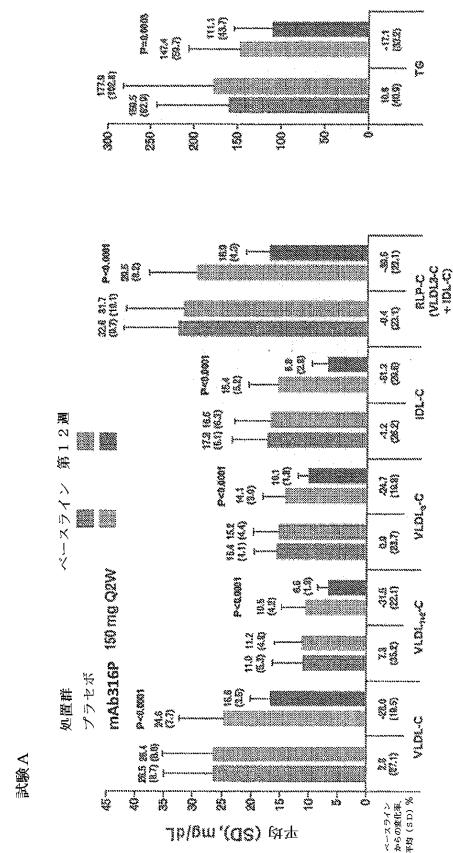
【図5】



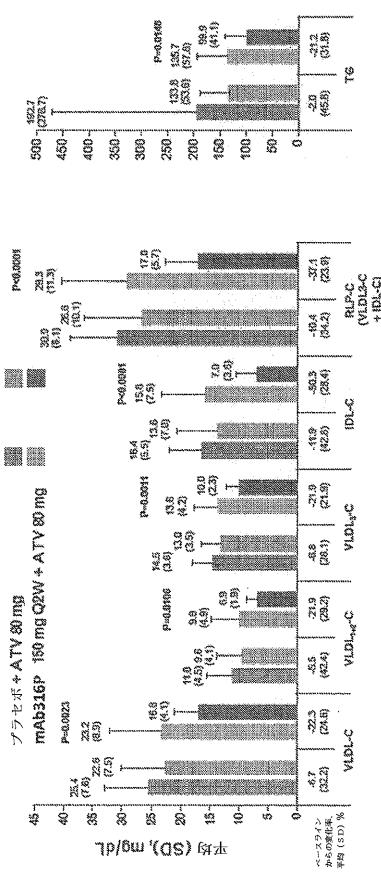
【図6】



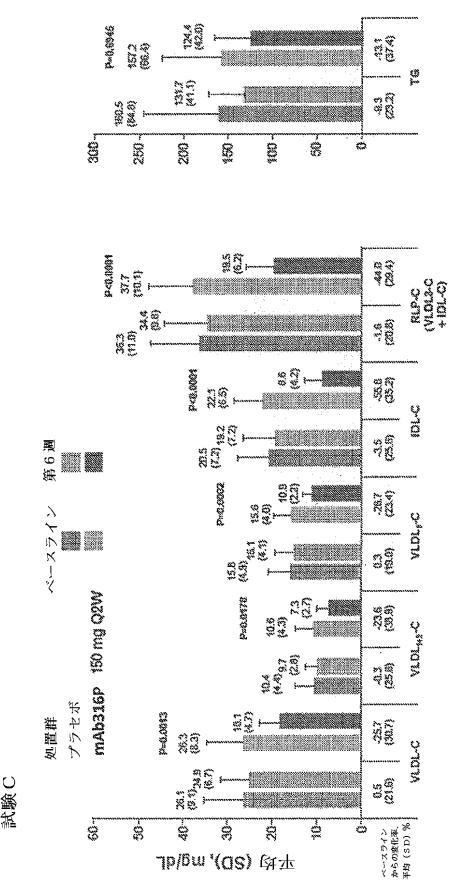
【図7】



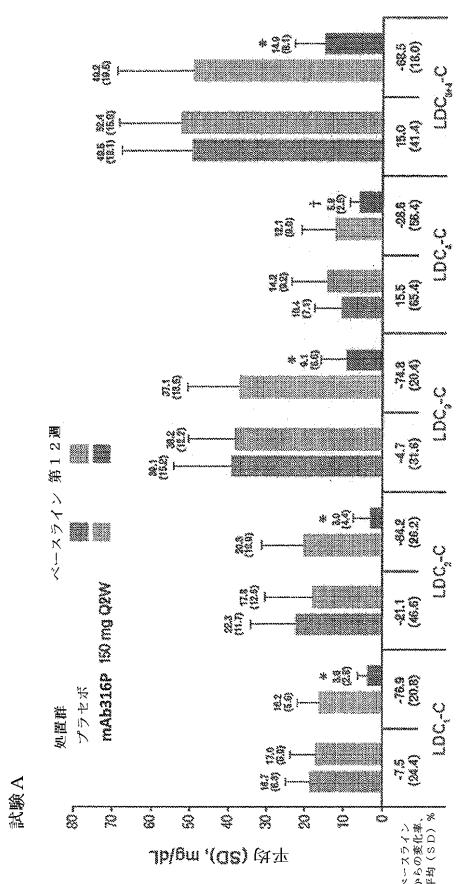
【図8】



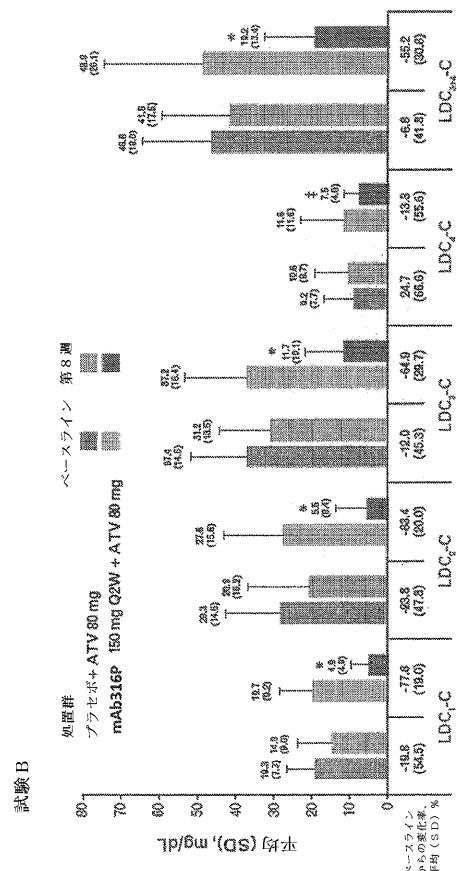
【図9】



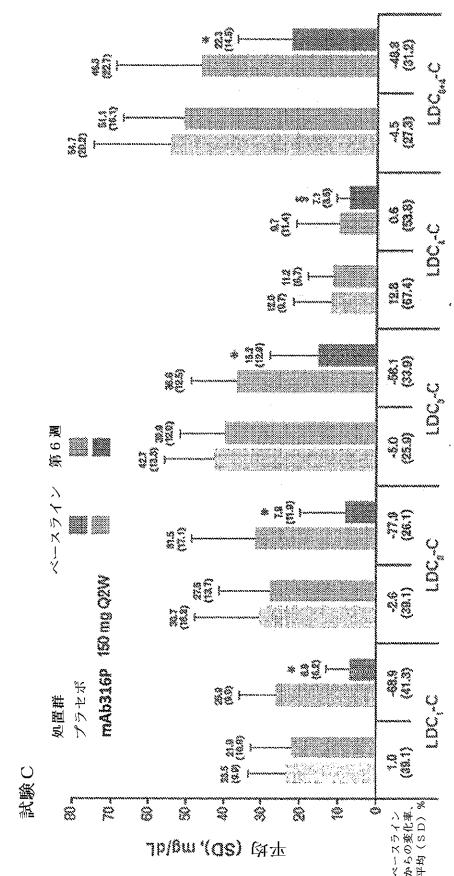
【図10】



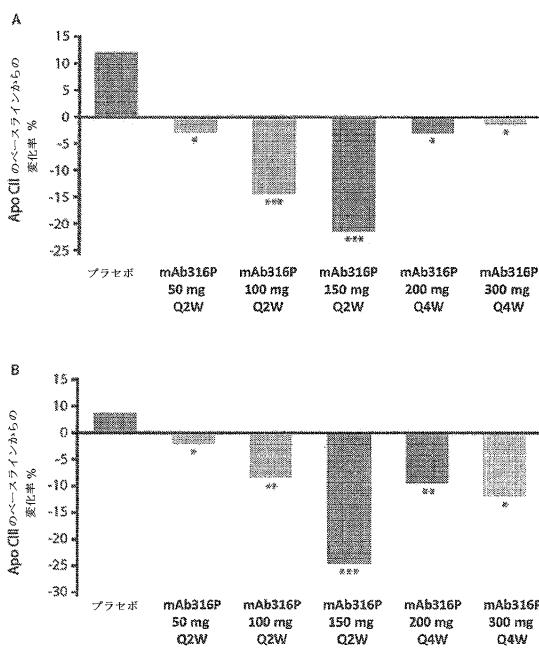
【図 1 1】



【図 1 2】



【図 1 3】



【配列表】

0006549102000001.app

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		
A 6 1 K	31/47	(2006.01)	A 6 1 K	31/47
A 6 1 K	31/505	(2006.01)	A 6 1 K	31/505
A 6 1 K	31/404	(2006.01)	A 6 1 K	31/404
A 6 1 K	31/22	(2006.01)	A 6 1 K	31/22
A 6 1 P	9/00	(2006.01)	A 6 1 P	9/00
A 6 1 P	3/06	(2006.01)	A 6 1 P	3/06
A 6 1 P	9/10	(2006.01)	A 6 1 P	9/10
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	9/10 1 0 1
C 0 7 K	16/40	(2006.01)	A 6 1 P	43/00 1 1 1
			A 6 1 P	43/00 1 2 1
			C 0 7 K	16/40

(31)優先権主張番号 61/919,836  
 (32)優先日 平成25年12月23日(2013.12.23)  
 (33)優先権主張国 米国(US)  
 (31)優先権主張番号 61/935,358  
 (32)優先日 平成26年2月4日(2014.2.4)  
 (33)優先権主張国 米国(US)  
 (31)優先権主張番号 61/991,738  
 (32)優先日 平成26年5月12日(2014.5.12)  
 (33)優先権主張国 米国(US)  
 (31)優先権主張番号 61/953,959  
 (32)優先日 平成26年3月17日(2014.3.17)  
 (33)優先権主張国 米国(US)  
 (31)優先権主張番号 14/290,544  
 (32)優先日 平成26年5月29日(2014.5.29)  
 (33)優先権主張国 米国(US)

(72)発明者 ゲイリー・スワーゴールド  
 アメリカ合衆国ニューヨーク州10804.ニューロシェル.シェルドレイクプレイス75  
 (72)発明者 ウィリアム・ジェイ・サシーラ  
 アメリカ合衆国ニューヨーク州10591-6706.タリータウン.オールドソーミルリバーロード777.リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド  
 (72)発明者 ロバート・シー・ポーディー  
 アメリカ合衆国ニューヨーク州10591-6706.タリータウン.オールドソーミルリバーロード777.リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド

審査官 春田 由香

(56)参考文献 國際公開第2013/039969 (WO, A1)  
 國際公開第2012/154999 (WO, A1)  
 特表2010-510807 (JP, A)  
 特表2009-536037 (JP, A)  
 Stein EA, et al., Effect of a monoclonal antibody to PCSK9, REGN727/SAR236553, to reduce low-density lipoprotein cholesterol in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia on stable statin dose with or without ezetimibe therapy: a phase 2 randomised controlled trial, Lancet, 2012年 5月26日, Vol.380, p.29-36

荒井 秀典, 糖尿病患者の脂質異常症 新しい『動脈硬化性疾患予防ガイドライン 2012年版』から, シーズナルポスト, 糖尿病ネットワーク編集部(創成社), 2012年 9月 1日, 第4巻, 第3号, p. 1-3

Brouwers MCGJ, et al., Plasma proprotein convertase subtilisin kexin type 9 levels are related to markers of cholesterol synthesis in familial combined hyperlipidemia, Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular diseases, 2013年 1月 18日, Vol.23, No.11, p.1115-1121

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 61K 45/00 - 45/08

A 61K 39/00 - 39/44

A 61K 31/00 - 31/80

A 61K 48/00

JSTPlus / JMEDPlus / JST7580 (JDreamIII)

PubMed

医中誌WEB