

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2017-206520

(P2017-206520A)

(43) 公開日 平成29年11月24日(2017.11.24)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 Z N A D	4 C 0 8 4
A 6 1 P 3/06 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N	4 C 0 8 5
A 6 1 K 38/16 (2006.01)	A 6 1 P 3/06	
	A 6 1 K 38/16 2 0 0	

審査請求 有 請求項の数 24 O L 外国語出願 (全 36 頁)

(21) 出願番号	特願2017-112371 (P2017-112371)	(71) 出願人	597160510
(22) 出願日	平成29年6月7日(2017.6.7)		リジェネロン・ファーマシューティカルズ
(62) 分割の表示	特願2014-530746 (P2014-530746) の分割		・インコーポレイテッド
原出願日	平成24年9月12日(2012.9.12)		REGENERON PHARMACEU
(31) 優先権主張番号	61/535,392		TICALS, INC.
(32) 優先日	平成23年9月16日(2011.9.16)		アメリカ合衆国10591-6707ニュ
(33) 優先権主張国	米国(US)		ーヨーク州タリータウン、オールド・ソー
(31) 優先権主張番号	61/641,321	(74) 代理人	100127926
(32) 優先日	平成24年5月2日(2012.5.2)		弁理士 結田 純次
(33) 優先権主張国	米国(US)	(74) 代理人	100140132
(31) 優先権主張番号	61/559,162		弁理士 竹林 則幸
(32) 優先日	平成23年11月14日(2011.11.14)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 プロタンパク質転換酵素サブチリシンケキシン-9 (PCSK9) の阻害剤を投与することによってリポタンパク質 (a) レベルを低下させる方法

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 上昇したリポタンパク質レベルと関連する疾患及び障害の治療処置の提供。

【解決手段】 経腸コレステロール排泄 (TICE) の低下を示す、冠動脈疾患、急性心筋梗塞、無症候性頸動脈硬化症、脳卒中及び末梢動脈閉塞性疾患から選択される心血管疾患または障害を有するか、又はそれらを発症するリスクがある患者にTICEを高めるのに使用するPCSK9を特異的に結合する抗体又はその抗原結合性フラグメントである、PCSK9阻害剤を含む医薬組成物。PCSK9阻外剤を20~200mg、好ましくは50~150mg、含有する医薬組成物。特定の配列を有する重鎖及び軽鎖CDRを含む、PCSK9に特異的に結合する抗体又は抗原結合性フラグメントを含む医薬組成物。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

リポタンパク質（a）（Lp（a））レベルを低下させる方法であって、上昇した血清 Lp（a）を示す患者を選択することと、PCSK9 阻害剤を含む医薬組成物を該患者に投与することを含む方法。

【請求項 2】

約 20mg/dL を超える血清 Lp（a）レベルに基づいて患者を選択する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

約 100mg/dL を超える血清 Lp（a）レベルに基づいて患者を選択する、請求項 2 に記載の方法。 10

【請求項 4】

医薬組成物を投与する前にまたは投与する時に、患者が心血管疾患または障害を有すると診断されるか、またはそれらを発症するリスクがあると確定される、請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【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、無症候性頸動脈硬化症、脳卒中およ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 4 に記載の方法。

【請求項 6】

心血管疾患または障害が高コレステロール血症である、請求項 4 に記載の方法。 20

【請求項 7】

高コレステロール血症がヘテロ接合家族性高コレステロール血症（heFH）である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

高コレステロール血症が家族性高コレステロール血症ではない（nonFH）、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 9】

医薬組成物を投与する前にまたは投与する時に、患者が血栓性閉塞性疾患または障害を有すると診断されるか、またはそれらを発症するリスクがあると確定される、請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の方法。 30

【請求項 10】

血栓性閉塞性疾患または障害が肺塞栓症および網膜中心静脈閉塞からなる群から選択される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

PCSK9 阻害剤が、PCSK9 を特異的に結合する抗体またはその抗原結合性フラグメントである、請求項 1～10 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 12】

医薬組成物が PCSK9 阻害剤 20mg～200mg を含む、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

医薬組成物が PCSK9 阻害剤 50mg～150mg を含む、請求項 12 に記載の方法。 40

【請求項 14】

医薬組成物が PCSK9 阻害剤 50mg を含む、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

医薬組成物が PCSK9 阻害剤 100mg を含む、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 16】

医薬組成物が PCSK9 阻害剤 150mg を含む、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 17】

抗体またはその抗原結合性フラグメントが、配列番号：90／92 および 218／22 50

6 からなる群から選択される H C V R / L C V R アミノ酸配列対の重鎖および軽鎖 C D R を含む、請求項 1 1 ～ 1 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 8】

抗体またはその抗原結合性フラグメントが、配列番号：2 2 0、2 2 2、2 2 4、2 2 8、2 3 0 および 2 3 2 を有する重鎖および軽鎖 C D R アミノ酸配列を含む、請求項 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 9】

抗体またはその抗原結合性フラグメントが、配列番号：2 1 8 のアミノ酸配列を有する H C V R および配列番号：2 2 6 のアミノ酸配列を有する L C V R を含む、請求項 1 8 に記載の方法。

10

【請求項 2 0】

抗体またはその抗原結合性フラグメントが、配列番号：7 6、7 8、8 0、8 4、8 6 および 8 8 を有する重鎖および軽鎖 C D R アミノ酸配列を含む、請求項 1 7 に記載の方法。

【請求項 2 1】

抗体またはその抗原結合性フラグメントが、配列番号：9 0 のアミノ酸配列を有する H C V R および配列番号：9 2 のアミノ酸配列を有する L C V R を含む、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 2】

抗体またはその抗原結合性フラグメントが、配列番号：2 2 0、2 2 2、2 2 4、2 2 8、2 3 0 および 2 3 2；または配列番号：7 6、7 8、8 0、8 4、8 6 および 8 8 を有する重鎖および軽鎖 C D R アミノ酸配列を含む抗体と同じ P C S K 9 上のエピトープに結合する、請求項 1 1 ～ 1 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 2 3】

抗体またはその抗原結合性フラグメントが、P C S K 9 への結合について、配列番号：2 2 0、2 2 2、2 2 4、2 2 8、2 3 0 および 2 3 2；または配列番号：7 6、7 8、8 0、8 4、8 6 および 8 8 を有する重鎖および軽鎖 C D R アミノ酸配列を含む抗体と競合する、請求項 1 1 ～ 1 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 4】

患者が、医薬組成物の投与時にまたはその直前に治療的スタチンレジメン中である、請求項 1 ～ 2 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 2 5】

治療的スタチンレジメンが、セリバスタチン、アトロバスタチン、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 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 6】

スタチンがアトロバスタチンである、請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 2 7】

患者が、医薬組成物の投与時に、治療的スタチンレジメン中でない、請求項 1 ～ 2 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 2 8】

上昇した血清 L p (a) レベルを示す患者においてリポタンパク質 (a) (L p (a)) レベルを低下させる際に使用するための P C S K 9 阻害剤を含む医薬組成物。

【請求項 2 9】

患者が約 2 0 m g / d L を超える血清 L p (a) レベルを示す、請求項 2 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 0】

患者が約 1 0 0 m g / d L を超える血清 L p (a) レベルを示す、請求項 2 9 に記載の医薬組成物。

【請求項 3 1】

50

患者が、心血管疾患または障害を有すると診断されるか、またはそれらを発症するリスクがあると確定される、請求項 28～30 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 32】

心血管疾患または障害が、冠動脈疾患、急性心筋梗塞、無症候性頸動脈硬化症、脳卒中およ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 31 に記載の医薬組成物。

【請求項 33】

心血管疾患または障害が高コレステロール血症である、請求項 31 に記載の医薬組成物。

【請求項 34】

高コレステロール血症がヘテロ接合家族性高コレステロール血症（h e F H）である、請求項 33 に記載の医薬組成物。

10

【請求項 35】

高コレステロール血症が家族性高コレステロール血症でない（n o n F H）、請求項 33 に記載の医薬組成物。

【請求項 36】

患者が、血栓性閉塞性疾患または障害を有すると診断されるか、またはそれらを発症するリスクがあると確定される、請求項 28～30 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 37】

血栓性閉塞性疾患または障害が、肺塞栓症および網膜中心静脈閉塞からなる群から選択される、請求項 36 に記載の医薬組成物。

20

【請求項 38】

P C S K 9 阻害剤が、P C S K 9 を特異的に結合する抗体またはその抗原結合性フラグメントである、請求項 28～37 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 39】

医薬組成物が P C S K 9 阻害剤 20 m g ～ 200 m g を含む、請求項 38 に記載の医薬組成物。

【請求項 40】

医薬組成物が P C S K 9 阻害剤 50 m g ～ 150 m g を含む、請求項 39 に記載の医薬組成物。

【請求項 41】

30

医薬組成物が P C S K 9 阻害剤 50 m g を含む、請求項 40 に記載の医薬組成物。

【請求項 42】

医薬組成物が P C S K 9 阻害剤 100 m g を含む、請求項 40 に記載の医薬組成物。

【請求項 43】

医薬組成物が P C S K 9 阻害剤 150 m g を含む、請求項 40 に記載の医薬組成物。

【請求項 44】

抗体またはその抗原結合性フラグメントが、配列番号：90／92 および 218／226 からなる群から選択される H C V R／L C V R アミノ酸配列対の重鎖および軽鎖 C D R を含む、請求項 38～43 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 45】

40

抗体またはその抗原結合性フラグメントが、配列番号：220、222、224、228、230 および 232 を有する重鎖および軽鎖 C D R アミノ酸配列を含む、請求項 44 に記載の医薬組成物。

【請求項 46】

抗体またはその抗原結合性フラグメントが、配列番号：218 のアミノ酸配列を有する H C V R および配列番号：226 のアミノ酸配列を有する L C V R を含む、請求項 45 に記載の医薬組成物。

【請求項 47】

抗体またはその抗原結合性フラグメントが、配列番号：76、78、80、84、86 および 88 を有する重鎖および軽鎖 C D R アミノ酸配列を含む、請求項 44 に記載の医薬

50

組成物。

【請求項 48】

抗体またはその抗原結合性フラグメントが、配列番号：90のアミノ酸配列を有するH C V Rおよび配列番号：92のアミノ酸配列を有するL C V Rを含む、請求項47に記載の医薬組成物。

【請求項 49】

抗体またはその抗原結合性フラグメントが、配列番号：220、222、224、228、230および232；または配列番号：76、78、80、84、86および88を有する重鎖および軽鎖C D Rアミノ酸配列を含む抗体と同じP C S K 9上のエピトープに結合する、請求項38～43のいずれか1項に記載の医薬組成物。

10

【請求項 50】

抗体またはその抗原結合性フラグメントが、P C S K 9に結合について、配列番号：220、222、224、228、230および232；または配列番号：76、78、80、84、86および88を有する重鎖および軽鎖C D Rアミノ酸配列を含む抗体と競合する、請求項38～43のいずれか1項に記載の医薬組成物。

【請求項 51】

患者が治療的スタチンレジメン中である、請求項28～50のいずれか1項に記載の医薬組成物。

【請求項 52】

治療的スタチンレジメンが、セリバスタチン、アトロバスタチン、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51に記載の医薬組成物。

20

【請求項 53】

スタチンがアトロバスタチンである、請求項52に記載の医薬組成物。

【請求項 54】

患者が治療的スタチンレジメン中でない、請求項28～50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】

【0001】

30

本発明は、上昇したりポタンパク質レベルと関連する疾患および障害の治療処置の分野に関する。より詳しくは、本発明は、患者の血清L p (a)レベルを低下させるP C S K 9阻害剤の投与に関する。

【背景技術】

【0002】

リポタンパク質(a) (L p (a))は、アポリポタンパク質(a) (アポ(a))とアポリポタンパク質B 1 0 0 (アポB 1 0 0)との会合によって形成される低密度リポタンパク質様の粒子である。アポ(a)成分は、集合したL p (a)粒子中でジスルフィド結合を介してアポB 1 0 0成分に共有結合している。上昇した血清L p (a)は、さまざまなアテローム硬化性および血栓性障害と関連づけるいくつかの研究で示されている。(たとえば、非特許文献1；非特許文献2；非特許文献3；非特許文献4；非特許文献5および非特許文献6を参照のこと)。したがって、血清L p (a)レベルを治療により低下させることは、心血管障害を治療する手段またはそのリスクを低減する手段として提案されている。血清L p (a)レベルを低下させる入手可能な治療選択肢はほとんどない。血清L p (a)を低下させるために試験および／または提案された処置の例としては、アセチルサリチル酸、L-カルニチン、ナイアシンもしくはアナセトラピブ、またはL D L アフェレーシスの投与が挙げられる。(たとえば、非特許文献7を参照のこと)。しかしながら、現在入手可能な処置によって、上昇したL p (a)に適しており、かつ実用的である療法が提供されることはない。

40

【0003】

50

プロタンパク質転換酵素サブチリシン／ケキシントイプ 9（PCSK9）は、分泌性サブリチナ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しているプロタンパク質転換酵素である。血清総コレステリン、LDLコレステロールおよび血清トリグリセリドを低下させるためのPCSK9阻害剤（抗PCSK9抗体）の使用は、特許文献1に記載されている。しかし、これまで、PCSK9阻害剤が患者のLp（a）レベルを低下させることは示されていなかった。したがって、当分野では血清Lp（a）レベルを低下させる治療方法が依然として必要とされている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

10

【特許文献1】米国特許出願公開第2010／0166768号

【非特許文献】

【0005】

【非特許文献1】Marcovina and Koschinsky (1998), Am. J. Cardiol. 82:57U-66U

【非特許文献2】Ignatescu et al. (1998), Thromb. Haemost. 80:231-232

【非特許文献3】Lippi and Guidi (2000), Q. J. Med. 93:75-84

【非特許文献4】Bennet et al. (2008), Arch. Intern. Med. 168:598-608

【非特許文献5】The Emerging Risk Factors Collaboration (2009), J. Am. Med. Assoc. 302:412-423

【非特許文献6】Lamon-Fava et al. (2011), J. Lipid Res. 52:1181-1187

20

【非特許文献7】Parhofer (2011), Curr. Pharm Des 17:871-876

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明は、個体の血清Lp（a）レベルを低下させる方法を提供することによって当分野における上記の必要性に対処する。本発明の方法は、上昇した血清Lp（a）を示す患者を選択することと、PCSK9阻害剤を含む医薬組成物を患者に投与することを含む。患者は、心血管性および／または血栓性閉塞性疾患および障害のリスク増大を示す上昇した血清Lp（a）レベルを有することに基づいて選択する。また、患者は、Lp（a）レベルの低下が有益であるか、またはリスクを低下させるこのような疾患および障害のさらなるリスクファクターを示すことに基づいて選択してもよい。たとえば、高コレステロール血症（たとえば、heFH、nonFH、など）の患者は、本発明の治療方法による処置の良好な候補となりうる。

30

【0007】

本発明の方法に従って投与されうるPCSK9阻害剤としては、たとえば、抗PCSK9抗体またはその抗原結合性フラグメントが挙げられる。本発明の方法の実施に用いてもよい具体例となる抗PCSK9抗体としては、米国特許出願公開第2010／0166768号に記載された、および／または本明細書に開示されたなんらかの抗体または抗原結合性フラグメントが挙げられる。

【0008】

40

PCSK9阻害剤は、対象に皮下または静脈内投与してもよい。さらにまた、PCSK9阻害剤は、治療介入時にスタチン治療レジメン中の患者に投与してもよい。

【0009】

本発明の他の実施態様は、次の詳細な説明の総括から明らかとなる。

【0010】

詳細な説明

本発明を記述する前に、本発明は記述した特定の方法および実験条件に限定されることなく、このような方法および条件は変化してもよいことを理解しておくこと。また、本発明の範囲は添付の請求項によってのみ限定されるため、本明細書に用いる専門用語は、特定の実施態様を記述するためだけにあり、かつ限定する意図がないことを理解しておくこ

50

と。

【0011】

特に明記しない限り、本明細書に用いるすべての技術および科学用語は、本発明が属する当業者によって一般に理解されるのと同じ意味を有する。本明細書に用いるように、「約」という用語は、具体的に列挙された数値的な値に関して用いるとき、この値が列挙された値から1%を超えずに変動してもよいことを意味する。たとえば、本明細書に用いるように、「約100」という表現は、99および101ならびに間のすべての値（たとえば、99.1、99.2、99.3、99.4、など）を包含する。

【0012】

本発明の実施においては、本明細書に記述したものと類似のまたは同等のなんらかの方法および物質を用いることができるが、好ましい方法および物質をここに記述する。本明細書に記載したすべての刊行物は、その全体として記述するため参照により本明細書に組み込まれている。

【0013】

上昇した血清Lp(a)レベル

本発明は、患者の血清Lp(a)レベルを低下させる方法を提供する。本発明の方法は、上昇した血清Lp(a)を示す患者を選択することと、患者にPCSK9阻害剤を含む医薬組成物を投与することを含む。本明細書に用いるように、「Lp(a)」または「リポタンパク質(a)」という表現とは、アポリポタンパク質(a)（アポ(a)）とアポリポタンパク質B100（アポB100）との結合によって形成された低密度リポタン

【0014】

本発明の文脈において、「上昇した血清Lp(a)」は、約14mg/dLを超える血清Lp(a)レベルを意味する。特定の実施態様において、患者において測定された血清Lp(a)レベルが、約15mg/dL、20mg/dL、25mg/dL、30mg/dL、35mg/dL、40mg/dL、45mg/dL、50mg/dL、60mg/dL、70mg/dL、80mg/dL、90mg/dL、100mg/dL、120mg/dL、140mg/dL、160mg/dL、180mg/dLまたは200mg/dLを超える場合、患者は上昇した血清Lp(a)を示すとみなされる。血清Lp(a)レベルは、食後の患者において測定することができる。いくつかの実施態様では、Lp(a)レベルを絶食期間後に測定する（たとえば、6時間、8時間、10時間、12時間またはそれを超える絶食の後）。患者の血清Lp(a)を測定する典型的な方法は、rate免疫比濁法（rate immune-nephelometry）によるものであるが、本発明の文脈では、任意の臨床的に許容される診断方法を用いることができる。

【0015】

患者集団

本発明の方法は、上昇した血清Lp(a)レベルを示すヒト対象において血清Lp(a)レベルを低下させるのに有用である。いくつかの例では、患者は、上昇した血清Lp(a)を示すことを除く他は健康である。たとえば、患者は、治療時に心血管の、血栓性のまたは他の疾患または障害のなんらかの他のリスクファクターを示さなくてもよい。しかし、他の例では、患者は、上昇した血清Lp(a)によって生じるかもしくはそれに関連する疾患もしくは障害を有するか、またはそれらを発症するリスクがあると診断されたことに基づいて選択される。たとえば、本発明の医薬組成物の投与時に、またはその前に、患者は、たとえば、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、末梢動脈閉塞性疾患などのような心血管疾患もしくは障害を有すると診断されるか、またはそれらを発症するリスクがあると確定されていてもよい。心血管疾患または障害は、いくつかの例において、高コレステロール血症である。たとえば、患者が、たとえば、ヘテロ接合家族性高コレステロール血症（heFH）、ホモ接合家族性高コレステロール血症（hoFH）のような高コレステロール血症状態、および家族性高コレステロール血症（nonFH）とは異なる高コレステロール血症の発生を有すると診断されるか、ま

たはそれらを発症するリスクがあると確定された場合、本発明の方法を用いる治療のため、患者を選択してもよい。

【0016】

他の例では、本発明の医薬組成物の投与時に、またはその前に、患者は、たとえば、肺塞栓症、網膜中心静脈閉塞などのような血栓性閉塞性の疾患または障害を有すると診断されるか、またはそれらを発症するリスクがあると確定されていてもよい。特定の実施態様において、患者は、上記の疾患または障害の2つもしくはそれ以上の組合せを有するか、またはそれらを発症するリスクがあると診断されたことに基づいて選択される。たとえば、本発明の医薬組成物の投与時に、またはその前に、患者は、冠動脈疾患および肺塞栓症を有すると診断されるか、またはそれらを発症するリスクがあると確定されていてもよい。また、他の診断上の組合せ（例えば、アテローム性動脈硬化症および網膜中心静脈閉塞、h e F Hおよび脳卒中、など）も、本発明の方法によって治療可能な患者集団の定義に包含される。

10

【0017】

さらに他の例において、本発明の方法で治療されることになっている患者は、年齢（たとえば、40、45、50、55、60、65、70、75または80歳よりも年長）、人種、性別（男性または女性）、運動習慣（たとえば、定期的に運動している人、運動していない人）、他の既存の医学的状态（たとえば、I I型糖尿病、高血圧症、など）、および現在の投薬状況（たとえば、現在スタチン〔たとえば、セリバスタチン、アトロバスタチン、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〕、ベータ遮断剤、ナイアシン、などを摂取している）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。また、本発明は、従来のスタチン療法に耐えられない、非反応性である、または反応性が不十分である患者において血清L p (a) レベルを低下させる方法を含む。潜在的患者は、本発明の方法で治療する前に1つまたはそれ以上のこれらの因子（たとえば、アンケート、診断評価、などによる）に基づいて選択／スクリーニングすることができる。

20

【0018】

また、本発明は、P C S K 9 阻害剤を対象に投与することによって対象における経腸コレステロール排泄 (T I C E) を高める方法を含む。たとえば、本発明は、抗P C S K 9 抗体、例えば「m A b 3 1 6 P」として本明細書に引用された抗体を対象に投与することによって対象におけるT I C E を高める方法を提供する。特定の実施態様によれば、本発明は、T I C E の増強が有益である対象を確定すること、またはT I C E の低下を示す対象を確定することと、P C S K 9 阻害剤（例えば、m A b 3 1 6 P）を対象に投与することとを含む方法を包含する。

30

【0019】

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。本明細書に用いるように、「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的な例としては、小分子P C S K 9 アンタゴニスト、ペプチドベースの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 を特異的に結合する抗体またはこの抗体の抗原結合性フラグメントが挙げられる。

40

【0020】

本明細書に用いる「ヒトプロタンパク質転換酵素サブチリシン／ケキシントイプ9」または「ヒトP C S K 9」または「h P C S K 9」という用語は、配列番号：754に示す核酸配列を有するP C S K 9 および配列番号：755のアミノ酸配列、またはその生物学的活性フラグメントのことをいう。

【0021】

本明細書に用いる「抗体」という用語は、ジスルフィド結合によって相互に連結された

50

4本のポリペプチド鎖、2本の重(H)鎖および2本の軽(L)鎖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)のことをいうものとする。各重鎖は、重鎖可変領域(本明細書ではHCVRまたは V_H と略する)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_H1 、 C_H2 および C_H3 を含む。各軽鎖は、軽鎖可変領域(本明細書ではLCVRまたは V_L と略する)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_L1)を含む。 V_H および V_L 領域は、フレームワーク領域(FR)と称する十分に保存される領域の間に散在する相補性決定領域(CDR)と称する超可変領域にさらに細かく分けることができる。 V_H および V_L は、それぞれ3つのCDRおよび4つのFRで構成されており、アミノ末端からカルボキシ末端まで以下の順序: FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4で配置されている。本発明の異なる実施態様において、抗PCSK9抗体(またはその抗原結合性部分)のFRは、ヒト生殖系列配列と同一あってもよいし、または自然にもしくは人工的に修飾されていてもよい。アミノ酸のコンセンサス配列は、2つまたはそれ以上のCDRの比較分析に基づいて定義してもよい。

【0022】

また、本明細書に用いる「抗体」という用語は、完全な抗体分子の抗原結合性フラグメントも包含する。本明細書に用いる抗体の「抗原結合性部分」、抗体の「抗原結合性フラグメント」などの用語は、抗原を特異的に結合して複合体を形成する、なんらかの天然の、酵素によって入手可能な、合成の、または遺伝子組換えのポリペプチドまたは糖タンパク質を包含する。抗体の抗原結合性フラグメントは、たとえば、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DNAの操作および発現を含むタンパク分解または組換え遺伝子工学技術のような任意の適した標準技術を用いて完全な抗体分子から誘導してもよい。このようなDNAは、知られており、かつ/または、たとえば、商業的な供給源(DNAライブラリー)(たとえば、ファージ抗体ライブラリーを含む)から容易に入手可能であり、または合成することができる。DNAを、化学的にまたは分子生物学的技術を用いることによって配列決定し、操作して、たとえば、1つもしくはそれ以上の可変および/または定常ドメインを適した配置に配置し、またはコドンを導入し、システイン残基を作製し、アミノ酸を修飾し、加え、または欠失させる、などしてもよい。

【0023】

抗原結合性フラグメントの非限定的な例としては、(i) Fabフラグメント; (ii) F(ab')₂フラグメント; (iii) Fdフラグメント; (iv) Fvフラグメント; (v) 単鎖Fv(scFv)分子; (vi) dAbフラグメント; および(vii) 抗体の超可変領域(たとえば、CDR3ペプチドのような単離された相補性決定領域(CDR))、または限定されたFR3-CDR3-FR4ペプチドを模倣するアミノ酸残基からなる最小限の認識単位が挙げられる。また、他の設計された分子、たとえばドメイン特異的抗体、単ドメイン抗体、ドメイン欠失抗体、キメラ抗体、CDR移植抗体(CDR-grafted antibodies)、二重特異性抗体、三重特性抗体、四重特異性抗体、ミニ抗体(minibodies)、ナノ抗体(nanobodies)(たとえば、一価のナノ抗体、二価のナノ抗体、など)、小モジュラー免疫医薬(small modular immunopharmaceuticals)(SMIP)、およびサメ可変IgNARドメイン(shark variable IgNAR domains)、は、本明細書に用いる「抗原結合性フラグメント」の表現に包含される。

【0024】

抗体の抗原結合性フラグメントは、少なくとも1つの可変ドメインを典型的に含む。可変ドメインは、任意の寸法またはアミノ酸組成であってもよく、1つもしくはそれ以上のフレームワーク配列に隣接するか、またはそれを有するフレーム中にある少なくとも1つのCDRを一般に含む。 V_L ドメインを伴って V_H ドメインを有する抗原結合性フラグメントにおいて、 V_H および V_L ドメインは、任意の適した配置で互いに相対した位置にあってもよい。たとえば、可変領域は、二量体であり、 V_H-V_H 、 V_H-V_L または V_L-V_L 二量体を含んでもよい。代わりに、抗体の抗原結合性フラグメントは、単量体の V_H または V_L ドメインを含んでもよい。

10

20

30

40

50

【0025】

特定の実施態様において、抗体の抗原結合性フラグメントは、少なくとも1つの定常領域に共有結合した少なくとも1つの可変ドメインを含んでもよい。本発明の抗体の抗原結合性フラグメントに見いだ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となる配置としては、(i) V_H-C_H1 ; (ii) V_H-C_H2 ; (iii) V_H-C_H3 ; (iv) $V_H-C_H1-C_H2$; (v) $V_H-C_H1-C_H2-C_H3$; (vi) $V_H-C_H2-C_H3$; (vii) V_H-C_L ; (viii) V_L-C_H1 ; (ix) V_L-C_H2 ; (x) V_L-C_H3 ; (xi) $V_L-C_H1-C_H2$; (xii) $V_L-C_H1-C_H2-C_H3$; (xiii) $V_L-C_H2-C_H3$; および (xiv) V_L-C_L が挙げられる。上記の例となる配置のいずれかを含む可変および定常ドメインの任意の配置において、可変ドメインと定常ドメインとは、互いに直接結合していてもよいし、または完全もしくは不完全なヒンジもしくはリンカー領域によって結合していてもよい。ヒンジ領域は、単一ポリペプチド分子中の隣接する可変ドメインおよび／または定常ドメイン間に柔軟性または半柔軟性の結合を生じる少なくとも2個（たとえば、5個、10個、15個、20個、40個、60個またはそれ以上）のアミノ酸からなってもよい。さらに、本発明の抗体の抗原結合性フラグメントは、上記記載の可変および定常領域配置のホモ二量体またはヘテロ二量体（または、他の多量体）を、互いにおよび／または1つもしくはそれ以上の単量体の V_H ドメインもしくは V_L ドメインとの非共有結合（たとえば、ジスルフィド結合によって）で含んでもよい。

10

【0026】

完全な抗体分子と同様に、抗原結合性フラグメントは、単一特異性または多重特異性（たとえば、二重特異性）であってもよい。抗体の多重特異性抗原結合性フラグメントは、典型的に少なくとも2つの異なる可変ドメインを含み、ここにおいて、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た例示的な二重特異性抗体フォーマットを含む任意の多重特異性抗体フォーマットは、当分野で利用可能な常用技術を用いて本発明の抗体の抗原結合性フラグメントに関する使用に合わせてもよい。

20

【0027】

抗体の定常領域は、補体を固定し、細胞依存性細胞毒性を仲介する抗体の能力において重要である。したがって、抗体のアイソタイプは、抗体が細胞毒性を仲介することが望ましいかどうかに基づいて選択してもよい。

30

【0028】

本明細書に用いる「ヒト抗体」という用語は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列から誘導された可変領域および定常領域を有する抗体を含むものとする。それにもかかわらず、本発明のヒト抗体は、たとえばCDR、特にCDR3中にヒト生殖系列免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基（たとえば、in vitroでのランダムもしくは部位特異的突然変異誘発によって、またはin vivoでの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、本明細書に用いる「ヒト抗体」という用語は、マウスのような他の哺乳動物種の生殖系列から誘導されたCDR配列をヒトフレームワーク配列に移植した抗体を包含しないものとする。

【0029】

本明細書に用いる「組換えヒト抗体」という用語は、組換え手段によって調製、発現、作製または単離されたすべてのヒト抗体、たとえば宿主細胞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た抗体（さらに下に記述する）、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て抗体（さらに下に記述する）、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）から単離された抗体（たとえば、Taylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295を参照のこと）または、ヒト免疫グロブリン遺伝子配列の他のDNA配列へのスプライシングを含むなんらかの他の手段によって調製、発現、作製もしくは単離された抗体を含むものとする。このような組換えヒト抗体は、ヒト免疫グロブリン生殖系列配列から誘導された可変および定常領域を有する。しかし、特定の実施態様では、このような組換えヒト抗体は、in vitro

40

50

で突然変異誘発（または、ヒト I g 配列についてトランスジェニックな動物を用いるときは、in vivoでの体細胞突然変異誘発）を受け、したがって、組換え抗体のV_HおよびV_L領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖系列V_HおよびV_L配列から誘導され、かつそれに関連すると同時に、in vivoでヒト抗体生殖系列レパートリー内に天然に存在しなくてもよい配列である。

【0030】

ヒト抗体は、ヒンジ不均一性（hinge heterogeneity）に伴って2つの形態で存在することができる。1つの形態では、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って共に保持されている、約150～160kDaの安定な4つの鎖構築物を含む。第2の形態では、二量体が鎖間ジスルフィド結合を介して結合されておらず、約75～80kDaの分子が共有結合された軽鎖および重鎖（半分の抗体）で構成され形成されている。これらの形態は、アフィニティー精製の後でさえ、分離するのが極めて困難である。

10

【0031】

さまざまな無傷の I g G アイソタイプにおける第2の形態の出現頻度（frequency of appearance）は、限定されるわけではないが、抗体のヒンジ領域アイソタイプに伴う構造の違いによるものである。ヒト I g G 4 ヒンジのヒンジ領域における単一アミノ酸置換は、第2の形態の出現（Angal et al. (1993) Molecular Immunology 30:105）を、ヒト I g G 1 ヒンジを用いて典型的に観察されるレベルに有意に低減することができる。本発明は、たとえば、産生において、所望の抗体形態の収率を改善するため、望ましいことである、ヒンジ、C_H2またはC_H3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。

20

【0032】

本明細書に用いる「単離された抗体」は、その天然環境の少なくとも1つの成分から同定され、かつ分離および／または回収された抗体を意味する。たとえば、生物の少なくとも1つの成分から、または抗体が自然に存在するもしくは自然に産生される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「単離された抗体」である。また、単離された抗体は、組換え細胞内の原位置の抗体を含む。単離された抗体は、少なくとも1つの精製または単離ステップにかけられた抗体である。特定の実施態様によれば、単離された抗体は、他の細胞物質および／または化学物質を実質的に含まなくてもよい。

30

【0033】

「特異的に結合する」などの用語は、抗体またはその抗原結合性フラグメントが生理学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方法は、当分野でよく知られており、たとえば、平衡透析、表面プラスモン共鳴などが挙げられる。たとえば、本発明の文脈に用いる、P C S K 9を「特異的に結合する」抗体としては、表面プラスモン共鳴アッセイで測定して、約1000nM未満、約500nM未満、約300nM未満、約200nM未満、約100nM未満、約90nM未満、約80nM未満、約70nM未満、約60nM未満、約50nM未満、約40nM未満、約30nM未満、約20nM未満、約10nM未満、約5nM未満、約4nM未満、約3nM未満、約2nM未満、約1nM未満または約0.5nM未満のKDを有するP C S K 9またはその一部を結合する抗体が挙げられる。しかし、ヒトP C S K 9を特異的に結合する単離された抗体は、他の（非ヒト）種からのP C S K 9分子のような他の抗原に対する交差反応性を有する。

40

【0034】

本発明の方法に有用な抗P C S K 9抗体は、抗体が誘導された対応する生殖系列配列と比較して、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の置換、挿入および／または欠失を含んでもよい。このような突然変異は、本明細書に開示されたアミノ酸配列を、たとえば公開された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って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たアミノ酸配列のいずれかから誘導された抗体およ

50

びその抗原結合性フラグメント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CDR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留物の同類アミノ酸置換に突然変異する（このような配列変化は、本明細書においてひとまとめにして「生殖細胞突然変異」と称する）方法を含む。当業者は、本明細書に開示された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々生殖系列突然変異またはその組合せを含む多くの抗体および抗原結合性フラグメントを容易に産生することができる。特定の実施態様において、V_Hおよび／またはV_Lドメイン内のフレームワークおよび／またはCDR残基のすべては、抗体が誘導された最初の生殖系列配列中に見いだされる残基に逆に突然変異する。別の実施態様では、特定の残基のみ、たとえば、FR1の最初の8つのアミノ酸内もしくはFR4の最後の8つのアミノ酸内に見いだされる突然変異残基のみ、またはCDR1、CDR2もしくはCDR3内に見いだされる突然変異残基のみ、最初の生殖系列配列に逆に突然変異する。別の実施態様では、1つまたはそれ以上のフレームワークおよび／またはCDR残基が、異なる生殖系列配列（すなわち、最初に抗体が誘導された生殖系列配列と異なる生殖系列配列）の対応する残基に突然変異する。さらにまた、本発明の抗体は、フレームワークおよび／またはCDR領域内に2つまたはそれ以上の生殖系列突然変異の任意の組合せを含んでもよく、たとえば、ここでは、ある特定の個々の残基が、特定の生殖系列配列の対応する残基に突然変異する一方で、最初の生殖系列配列と異なるある特定の他の残基が、維持されているか、または異なる生殖系列配列の対応する残基に突然変異する。1つまたはそれ以上の生殖系列突然変異を含む抗体および抗原結合性フラグメントは、一旦得られたら、改善された結合特異性、増加した結合親和性、改善または増強されたアンタゴニストまたはアゴニストの生物学的性質（場合によっては）、低減された免疫原性などのような1つまたはそれ以上の所望の性質について容易に試験することができる。この一般的なやり方で得られる抗体および抗原結合性フラグメントの使用は、本発明内に包含される。

【0035】

また、本発明は、1つまたはそれ以上の同類置換を有する、本明細書に開示されたHCV R、LCVRおよび／またはCDRアミノ酸配列のいずれかの変異体を含む抗PCSK9抗体の使用を含む方法を包含する。たとえば、本発明は、本明細書に開示されたHCV R、LCVRおよび／またはCDRアミノ酸配列のいずれかと比較して、たとえば、10またはそれより少ない、8またはそれより少ない、6またはそれより少ない、4またはそれより少ない、などの同類アミノ酸置換を有する、HCV R、LCVRおよび／またはCDRアミノ酸配列を有する抗PCSK9抗体の使用を包含する。

【0036】

本明細書に用いる「表面プラスモン共鳴」という用語は、たとえば、BIAcore™系（Biacore Life Sciences division of GE Healthcare, Piscataway, NJ）を用いて、バイオセンサーマトリックス内のタンパク質濃度変化の検出によってリアルタイム相互作用の分析を可能にする光学的現象のことをいう。

【0037】

本明細書に用いる「KD」という用語は、特定の抗体－抗原相互作用の平衡解離定数のことをいうものとする。

【0038】

「エピトープ」という用語は、パラトープとして知られている抗体分子の可変領域中の特異的抗原結合部位と相互作用する抗原決定基のことをいう。1つの抗原が複数のエピトープを有してもよい。したがって、異なる抗体が抗原上の異なる領域に結合してもよく、異なる生物学的作用を有してもよい。エピトープは、立体配置的または線状であってもよい。立体配置のエピトープは、線状ポリペプチド鎖の異なる部分からの空間的に並置されたアミノ酸によって生じる。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って生じたものである。特定の状況において、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。

ヒト抗体の調製

【0039】

トランスジェニックマウス中にヒト抗体を産生する方法は、当分野で知られている。ヒトにPCSK9を特異的に結合するヒト抗体を作製する本発明の文脈においては、なんらかのこのような知られている方法を用いることができる。

【0040】

VELOCIMMUNE™技術（たとえば、US 6, 596, 541 (Regeneron Pharmaceuticals) を参照のこと）またはモノクローナル抗体を生成するためのなんらかの他の知られている方法を用いて、ヒト可変領域およびマウス定常領域を有する、PCSK9に対する高いアフィニティーキメラ抗体を最初に単離する。VELOCIMMUNE™技術は、マウスが、抗原性刺激に反応するヒト可変領域およびマウス定常領域を含む抗体を産生するように、内因性マウス定常領域遺伝子座に作動可能に結合された (operably linked) 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生成を含む。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に作動可能に結合する。次いで、DNAを、完全なヒト抗体を発現することができる細胞中で発現させる。

【0041】

一般に、VELOCIMMUNE^(R)マウスに興味の抗原を挑戦させ、抗体を発現するマウスからリンパ細胞（たとえばB細胞）を回収する。リンパ細胞を骨髓腫細胞系統と融合させて不死ハイブリドーマ細胞系統を作ってもよく、このようなハイブリドーマ細胞系統をスクリーニングし、選択して興味のある抗原に特異的な抗体を産生するハイブリドーマ細胞系統を同定する。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結合してもよい。このような抗体タンパク質は、CHO細胞のような細胞中で産生してもよい。別法として、抗原特異的な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を抗原特異的なリンパ球から直接単離してもよい。

【0042】

最初に、ヒト可変領域およびマウス定常領域を有する高親和性キメラ抗体を単離する。当業者に知られている標準的な方法を用いて抗体を特徴づけし、親和性、選択性、エпитープ、などを含む望ましい特徴について選択する。マウス定常領域を所望のヒト定常領域で置き換えて本発明の完全ヒト抗体、たとえば野生型または修飾されたIgG1またはIgG4を生成する。選択された定常領域は、特定の使用に応じて変えてもよいが、高親和性抗原結合性およびターゲット特異性の特徴は、可変領域に存在する。

【0043】

一般に、本発明の方法に用いることができる抗体は、固相上または溶液相中のいずれかに固定化された抗原への結合によって測定したときに、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で置き換えて本発明の完全ヒト抗体を生成する。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、高親和性抗原結合性およびターゲット特異性の特徴は、可変領域に存在する。

【0044】

本発明の方法の文脈において用いることができる、PCSK9を特異的に結合するヒト抗体または抗体の抗原結合性フラグメントの具体例としては、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、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、または少なくとも

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した配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域（HCVR）内に含まれる 3つの重鎖 CDR（HC DR 1、HC DR 2および HC DR 3）を含む任意の抗体または抗原結合性フラグメントが挙げられる。抗体または抗原結合性フラグメントは、配列番号：10、20、24、34、44、48、58、68、72、82、92、96、106、116、120、130、140、144、154、164、168、178、188、192、202、212、216、226、236、240、250、260、264、274、284、288、298、308、312、322、332、336、346、356、360、370、380、384、394、404、408、418、428、432、442、452、456、466、476、480、490、500、504、514、524、528、538、548、552、562、572、576、586、596、600、610、620、624、634、644、648、658、668、672、682、692、696、706、716、720、730、740および 744、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した配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域（LCVR）内に含まれる 3つの軽鎖 CDR（LC VR 1、LC VR 2、LC VR 3）を含んでもよい。

10

【0045】

本発明の特定の実施態様において、抗体またはその抗原結合性フラグメントは、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および軽鎖可変領域アミノ酸配列対（HCVR/LCVR）から 6つの CDR（HC DR 1、HC DR 2、HC DR 3、LC DR 1、LC DR 2および LC DR 3）を含む。

20

30

40

【0046】

本発明の特定の実施態様において、本発明の方法に用いることができる抗 PCSK9 抗体またはその抗原結合性フラグメントは、配列番号：76/78/80/84/86/88（mAb 316P）および 220/222/224/228/230/232（mAb 300N）（米国特許出願公開第 2010/0166768号を参照のこと）から選択された HC DR 1/HC DR 2/HC DR 3/LC DR 1/LC DR 2/LC DR 3アミノ酸配列を有する。本発明の特定の実施態様において、抗体またはその抗原結合性フラグメントは、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、1

50

4 2 / 1 4 4、1 4 6 / 1 5 4、1 6 2 / 1 6 4、1 6 6 / 1 6 8、1 7 0 / 1 7 8、1
8 6 / 1 8 8、1 9 0 / 1 9 2、1 9 4 / 2 0 2、2 1 0 / 2 1 2、2 1 4 / 2 1 6、2
1 8 / 2 2 6、2 3 4 / 2 3 6、2 3 8 / 2 4 0、2 4 2 / 2 5 0、2 5 8 / 2 6 0、2
6 2 / 2 6 4、2 6 6 / 2 7 4、2 8 2 / 2 8 4、2 8 6 / 2 8 8、2 9 0 / 2 9 8、3
0 6 / 3 0 8、3 1 0 / 3 1 2、3 1 4 / 3 2 2、3 3 0 / 3 3 2、3 3 4 / 3 3 6、3
3 8 / 3 4 6、3 5 4 / 3 5 6、3 5 8 / 3 6 0、3 6 2 / 3 7 0、3 7 8 / 3 8 0、3
8 2 / 3 8 4、3 8 6 / 3 9 4、4 0 2 / 4 0 4、4 0 6 / 4 0 8、4 1 0 / 4 1 8、4
2 6 / 4 2 8、4 3 0 / 4 3 2、4 3 4 / 4 4 2、4 5 0 / 4 5 2、4 5 4 / 4 5 6、4
5 8 / 4 6 6、4 7 4 / 4 7 6、4 7 8 / 4 8 0、4 8 2 / 4 9 0、4 9 8 / 5 0 0、5
0 2 / 5 0 4、5 0 6 / 5 1 4、5 2 2 / 5 2 4、5 2 6 / 5 2 8、5 3 0 / 5 3 8、5
4 6 / 5 4 8、5 5 0 / 5 5 2、5 5 4 / 5 6 2、5 7 0 / 5 7 2、5 7 4 / 5 7 6、5
7 8 / 5 8 6、5 9 4 / 5 9 6、5 9 8 / 6 0 0、6 0 2 / 6 1 0、6 1 8 / 6 2 0、6
2 2 / 6 2 4、6 2 6 / 6 3 4、6 4 2 / 6 4 4、6 4 6 / 6 4 8、6 5 0 / 6 5 8、6
6 6 / 6 6 8、6 7 0 / 6 7 2、6 7 4 / 6 8 2、6 9 0 / 6 9 2、6 9 4 / 6 9 6、6
9 8 / 7 0 6、7 1 4 / 7 1 6、7 1 8 / 7 2 0、7 2 2 / 7 3 0、7 3 8 / 7 4 0 およ
び 7 4 2 / 7 4 4 からなる群から選択される H C V R / L C V R アミノ酸配列対を含む。

10

【0047】**医薬組成物および投与方法**

本発明は、P C S K 9 阻害剤が医薬組成物中に含まれている、P C S K 9 阻害剤を患者に投与することを含む方法を包含する。本発明の医薬組成物は、適した担体、賦形剤および適した伝達、送達、耐性などをもたらす他の薬剤と共に処方する。多くの適当な製剤は、すべて薬剤師に知られている処方集：Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PAに見いだすことができる。これらの製剤としては、たとえば、散剤、ペースト剤、軟膏剤、ゼリー、ロウ、油、脂質、ベシクルを含む脂質（カチオン性またはアニオン性）（たとえばLIPOFECTINTM）、DNA コンジュゲート（DNA conjugates）、無水吸収ペースト剤、水中油型および油中水型エマルジョン、エマルジョンカーボワックス（さまざまな分子量のポリエチレングリコール）、半固体ゲル、およびカーボワックスを含む半固体混合物が挙げられる。また、Powell et al. “Compendium of excipients for parenteral formulations” PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311を参照のこと。

20

30

【0048】

さまざまな送達系、たとえば、リポソーム中のカプセル化、微粒子、マイクロカプセル、突然変異体ウイルスを発現することができる組換え細胞、受容体介在性エンドサイトーシス（たとえば、Wu et al., 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432を参照のこと）が知られており、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る。投与方法としては、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻腔内、硬膜外および経口経路が挙げられるが、これらに限定されるわけではない。組成物は、任意の都合のよい経路によって、たとえば注入またはボラス注射によって、上皮または粘膜皮膚内層（たとえば、口腔粘膜、直腸及び腸粘膜、など）を通した吸収によって投与してもよく、他の生物学的に活性な薬剤と共に投与してもよい。

40

【0049】

本発明の医薬組成物は、標準ニードルおよびシリンジを用いて皮下または静脈内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は、本発明の医薬組成物の送達における用途を容易に有する。こ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ることができる。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む交換可能なカートリッジを利用する。カートリッジ内の医薬組成物のすべてが投与されてカートリッジが空になったら、空のカートリッジを直ちに捨てて医薬組成物を含む新たな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は、交換可能なカートリッジがない。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ー中に保

50

持された医薬組成物で予め充填されている。リザーバーから医薬組成物が空になったら、デバイス全体を捨てる。

【0050】

多くの再使用可能なペンおよび自己注射器送達デバイスは、本発明の医薬組成物の皮下送達における用途を有する。ほんの少し例を挙げれば、例としては、AUTOPENTM (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK)、DISETRONICTMペン (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, スイス)、HUMALOG MIX 75/25TMペン、HUMALOGTMペン、HUMALIN 70/30TMペン (Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN)、NOVOPENTM I, II および III (Novo Nordisk, コペンハーゲン, デンマーク)、NOVOPEN JUNIORTM (Novo Nordisk, コペンハーゲン, デンマーク)、BDTMペン (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)、OPTIPENTM、OPTIPEN PROTM、OPTIPEN STARLETTMおよびOPTICLIKTM (sanofi-aventis, フランクフルト, ドイツ) が挙げられるが、これらに限定されるわけではない。本発明の医薬組成物の皮下送達における用途を有する使い捨てのペン型送達デバイスの例としては、ほんの少し例を挙げれば、SOLOSTARTMペン (sanofi-aventis)、FLEXPENTM (Novo Nordisk)、およびKWIKPENTM (Eli Lilly)、SURECLICKTM Autoinjector (Amgen, Thousand Oaks, CA)、PENLETTM (Haselmeier, Stuttgart, ドイツ)、EPIPEN (Dey, L.P.)、およびHUMIRATM Pen (Abbott Labs, Abbott Park IL) が挙げられるが、これらに限定されるわけではない。

【0051】

特定の状況において、本医薬組成物は、制御放出系で送達することができる。一実施態様では、ポンプを用いてもよい (Langer, 前出; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201を参照のこと)。別の実施態様では、ポリマー物質を用いることができる; Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (編), 1974, CRC Press, Boca Raton, Floridaを参照のこと。さらに別の実施態様において、放出制御系は、組成物のターゲットの近くに配置することができるため、全身用量の画分のみを必要とする (たとえば、Goodson, 1984, Medical Applications of Controlled Release中, 前出, 第2巻, 第115-138頁を参照のこと)。他の放出制御系は、Langerによる総説, 1990, Science 249:1527-1533に議論されている。

【0052】

注射用製剤は、静脈内、皮下、皮内および筋肉内の注射、点滴注入などのための剤形を含んでもよい。これらの注射用製剤は、知られている方法によって製造してもよい。たとえば、注射用製剤は、たとえば、従来から注射に用いられる滅菌水性媒体または油性媒体に上述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って調製してもよい。注射用の水性媒体としては、たとえば、生理食塩水、グルコースおよび他の補助剤を含む等張性溶液、などがあり、これらを、適当な可溶化剤、たとえばアルコール (たとえば、エタノール)、ポリアルコール (たとえば、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール)、非イオン性界面活性剤 [たとえば、ポリソルベート 80、HCO-50 (水添ヒマシ油のポリオキシエチレン (50 mol) 付加物)]、などと組み合わせて用いてもよい。油性媒体としては、たとえば、ゴマ油、ダイズ油、などを用い、これらを、可溶化剤、たとえば安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどと組み合わせて用いてもよい。このように調製した注射剤を、適当なアンプル中に充填することが好ましい。

【0053】

上述の経口または非経口使用の医薬組成物は、活性成分の用量に合う適した単位用量の剤形に調製することが都合がよい。単位用量のこのような剤形は、たとえば、錠剤、丸剤、カプセル剤、注射剤 (アンプル)、坐剤などが挙げられる。

【0054】

投与量

本発明の方法に従って対象に投与されるPCSK9阻害剤 (たとえば、抗PCSK9抗体) の量は、一般に治療有効量である。本明細書に用いる「治療有効量」という成句は、血清Lp(a)における検出可能な低下を生じるPCSK9阻害剤の用量を意味する。たとえば、PCSK9阻害剤の「治療有効量」は、たとえば、本明細書において実施例2に

説明したように、ヒト患者に投与したときに、たとえば、Lp (a) レベルにおいて少なくとも2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%またはそれを超える低下を生じるPCSK9阻害剤の量が挙げられる。別法として、動物のモデルは、PCSK9阻害剤候補の特定量が治療有効量であるかどうかを確立するために用いることができる。

【0055】

抗PCSK9抗体の場合、治療有効量は、抗PCSK9抗体約0.05mgから約600mgまで、たとえば、約0.05mg、約0.1mg、約1.0mg、約1.5mg、約2.0mg、約10mg、約20mg、約30mg、約40mg、約50mg、約60mg、約70mg、約80mg、約90mg、約100mg、約110mg、約120mg、約130mg、約140mg、約150mg、約160mg、約170mg、約180mg、約190mg、約200mg、約210mg、約220mg、約230mg、約240mg、約250mg、約260mg、約270mg、約280mg、約290mg、約300mg、約310mg、約320mg、約330mg、約340mg、約350mg、約360mg、約370mg、約380mg、約390mg、約400mg、約410mg、約420mg、約430mg、約440mg、約450mg、約460mg、約470mg、約480mg、約490mg、約500mg、約510mg、約520mg、約530mg、約540mg、約550mg、約560mg、約570mg、約580mg、約590mgまたは約600mgであることができる。

【0056】

個々の用量内に含まれる抗PCSK9抗体の量は、患者体重のキログラム当たりの抗体のミリグラムの用語で表してもよい。たとえば、抗PCSK9抗体は、約0.0001～約10mg/kg患者体重の用量で、患者に投与してもよい。併用療法

【0057】

特定の実施態様による本発明の方法は、本発明の医薬組成物の投与時に、またはその直前に、高コレステロール血症治療の治療レジメン中にある患者に抗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。たとえば、高コレステロール血症であると以前に診断された患者は、抗PCSK9抗体を含む医薬組成物の投与の前におよび／またはそれと併用して別の薬物の安定な治療レジメンを処方されており、それにかかっている。以前のまたは併用の治療レジメンは、たとえば、(1) 3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル (HMG) -コエンザイムA (CoA) レダクターゼを阻害することによってコレステロール合成の細胞減損 (cellular depletion) を誘導する薬剤、たとえばスタチン (たとえば、セリバスタチン、アトロバスタチン、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) ; (2) コレステロール取込みおよびまたは胆汁酸再吸収を阻害する薬剤 ; (3) リポタンパク質異化作用を高める薬剤 (たとえばナイアシン) ; および／または (4) コレステロール除去において役割を果たすLXR転写因子の活性化剤、たとえば22-ヒドロキシコレステロールを含んでもよい。特定の実施態様において、患者は、抗PCSK9抗体の投与の前にはまたはそれと併用して、治療剤の固定された組合せ、たとえばエゼチミブ+シンバスタチン ; スタチンおよび胆汁樹脂 (たとえば、コレステラミン、コレステポール、コレセベラム) ; ナイアシン+スタチン (たとえば、ナイアシンおよびロバスタチン) ; または他の脂質低下剤、たとえばオメガ-3-脂肪酸エチルエステル (たとえば、オマコール) を摂取中である。

【0058】

投与レジメン

本発明の特定の実施態様によれば、複数用量 (multiple doses) のPCSK9阻害剤を所定の時間にわたって対象に投与してもよい。本発明のこの態様による方法は、複数用量のPCSK9阻害剤を対象に順次投与することを含む。本明細書に用いるように、「順次投与すること」とは、PCSK9阻害剤の各用量を、たとえば、所定の間隔を離れた異なる日 (たとえば時間、日、週または月) の異なる時点で対象に投与することを意味する。

本発明は、P C S K 9 阻害剤の 1 回の初回用量、続いて 1 回またはそれ以上の二次用量（secondary doses）の P C S K 9 阻害剤、場合により、続いて 1 回またはそれ以上の三次用量（tertiary doses）の P C S K 9 阻害剤を患者に順次投与することを含む方法を包含する。

【0059】

「初回用量」、「二次用量」および「三次用量」という用語は、P C S K 9 阻害剤投与の時間の順序のことをいう。したがって、「初回用量」は、治療レジメンの始めに投与する用量（「ベースライン用量」ともいう）であり；「二次用量」は、初回用量の後で投与する用量であり；そして「三次用量」は、二次用量の後に投与する用量である。初回、二次および三次用量は、すべて同量の P C S K 9 阻害剤を含んでもよいが、しかし、一般に投与頻度に関しては互いに異なることになる。しかし、特定の実施態様において、初回、二次および／または三次用量に含まれる P C S K 9 阻害剤の量は、治療の経過中に互いに（たとえば、必要に応じて上方または下方に調整して）変動することになる。

10

【0060】

本発明の一例となる実施態様において、二次および／または三次用量は、それぞれすぐ前の用量の 1～30（たとえば、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 またはそれ以上の）日後に投与する。本明細書に用いる「すぐ前の用量」という成句は、一連の複数の投与において、介在用量なしの順序で、すぐ次の用量を投与する前に患者に投与する P C S K 9 阻害剤の用量を意味する。

20

【0061】

本発明のこの態様による方法は、任意の回数の二次および／または三次用量の P C S K 9 阻害剤を患者に投与することを含んでもよい。たとえば、特定の実施態様では、1 回の二次用量のみを患者に投与する。別の実施態様では、2 回またはそれ以上の（たとえば、2、3、4、5、6、7、8 またはそれを超える）二次用量を患者に投与する。同様に、特定の実施態様では、1 回の三次用量のみを患者に投与する。別の実施態様では、2 回またはそれ以上の（たとえば、2、3、4、5、6、7、8 またはそれを超える）三次用量を患者に投与する。

【0062】

複数の二次用量を含む実施態様では、それぞれの二次用量を他の二次用量と同じ頻度で投与してもよい。たとえば、それぞれの二次用量を、すぐ前の用量の 1～29 日後に患者に投与してもよい。同様に、複数の三次用量を含む実施態様では、それぞれの三次用量は、他の三次用量と同じ頻度で投与してもよい。たとえば、それぞれの三次用量を、すぐ前の用量の 1～60 日後に患者に投与してもよい。別法として、二次および／または三次用量を患者に投与する頻度は、治療レジメンの経過にわたって変化することができる。投与の頻度は、臨床試験に従って個々の患者の必要性に応じて医師が治療の経過中に調整してもよい。

30

【実施例】

【0063】

以下の実施例は、当業者に本発明の方法および組成物を製造および使用方法の完全な開示および説明を提供するために記載するが、本発明者らが本発明とみなすものの範囲を限定しようとするものではない。使用した数（たとえば、量、温度、など）に関しては、正確さを確保するように努めたが、しかし、いくつかの実験的な誤差および偏差を考慮しなければならない。特に明記しない限り、部は重量部であり、分子量は平均分子量であり、温度は摂氏の度であり、そして圧力は大気圧またはその近くである。

40

【0064】

〔実施例 1〕

ヒト P C S K 9 に対するヒト抗体の生成

ヒト抗 P C S K 9 抗体は、米国特許出願公開第 2010/0166768 に記述されたように生成した。以下の実施例で用いた例となる P C S K 9 阻害剤は、m A b 316 P と

50

表されるヒト抗PCSK9抗体である。mAb316Pは、以下のアミノ酸配列の特徴：配列番号：90を含む重鎖可変領域（HCVR）；配列番号：92を含む軽鎖可変ドメイン（LCVR）；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。

【0065】

〔実施例2〕

ヘテロ接合家族性および非家族性の高コレステロール血症における単独または上乗せ療法として抗PCSK9モノクローナル抗体の臨床試験

10

序論

本実施例は、単一用量の抗PCSK9モノクローナル抗体mAb316Pを健常志願者に静脈内（IV）または皮下（SC）投与した2つの臨床試験、および安定用量のアトロバスタチンまたは食事介入のみ受けている、家族性高コレステロール血症（FH）またはnonFHのいずれかの対象における、mAb316Pの複数用量の臨床試験（multiple-dose clinical trial）からの結果を記述する。

【0066】

方法

A. 研究デザイン

3つの臨床試験は、ヒト患者に投与されたmAb316Pを用いて実施した。試験のうちの2つは、それぞれIVまたはSC投与された単一用量のmAb316Pのプラセボ対照試験であった。第3の試験は、FHまたはnonFHの対象にSC投与されたmAb316Pの第1b相二重盲式無作為化プラセボ対照上行性複数用量評価であった。第3の試験は、2つのパート：AパートおよびBパートで実施した。第3の試験のAパートでは、各対象は、mAb316P（50mg、100mgまたは150mg）またはマッチングプラセボの合計3回の投与を受けた。第3の試験のBパートでは、各対象に、mAb316P（200mg）またはマッチングプラセボの2回投与を受けた。複数SC用量試験の両パートでは、第1の用量を入院患者単位で投与し、ここで、投与後48時間、対象を閉じ込め、観察した。外来患者では、少なくとも2時間の投与後観察を設定して、その後の用量を投与した。

20

30

【0067】

B. 用量および用量漸増

単一用量IV研究は、一連の5コホート（mAb316Pの0.3、1.0、3.0、6.0、または12.0mg/kg）を含み、単一SC用量試験は、一連の4用量コホート（mAb316P 50、100、150および250mg）を含んだ。これらの試験からの最初の結果に基づいて、第3の試験では、FHまたはnonFHを有する対象の7群に対して1日目、29日目および43日目に投与したSC mAb316P用量50mg、100mg、150mgまたはプラセボ（Aパート）、ならびにFHまたはnonFHを有する対象の第8群に1日目および29日目に投与した200mgまたはプラセボ（Bパート）を評価した。3つの試験の投与レジメンおよび患者構成を、表1にまとめる。

40

【0068】

【表 1】

表 1

mAb 316 用量	患者群	総患者数 (mAb316:Pbo)	患者タイプ	LDL-C スク リーニング	アトロバスタ チン用量
単一 IV 用量					
0.3 mg/kg	1	8 (6:2)	健常志願者	> 100 mg/dL	なし
1.0 mg/kg	2				
3.0 mg/kg	3				
6.0 mg/kg	4				
12.0 mg/kg	5				
単一 SC 用量					
50 mg	1	8 (6:2)	健常志願者	> 100 mg/dL	なし
100 mg	2				
150 mg	3				
250 mg	4				
複数 SC 用量					
A パート					
50 mg	1	7 (5:2)	FH	> 100 mg/dL	10-40 mg OD
	2	10 (8:2)	nonFH		
100 mg	3	7 (5:2)	FH		
	4	10 (8:2)	nonFH		
150 mg	5	7 (5:2)	FH	> 130 mg/dL	なし
	6	10 (8:2)	nonFH		
	7	10 (8:2)	nonFH		
B パート					
200 mg	8	10 (8:2)	FH および nonFH	> 100 mg/dL	10-40 mg OD

【0069】

複数 SC 用量試験では、各用量レベルを、3 人（FH、non-FH または両方）対象の指標群で始め、少なくとも 1 人、しかし 2 人を超えない対象に mAb 316 P を投与する。最初の 3 人の対象が 3 日目の治療後評価を安全に完了した後にのみ、所定の用量レベルでさらなる対象の登録を進めた。10 人の対象が 15 日目の安全性評価を完了したら、次のより高い用量レベルの登録は開放した。一旦、各用量レベルで開始したら、用量漸増判定および 15 日目の安全性審査と関係なく登録を継続した。

【0070】

C. 対象

単一用量研究の対象は、血清 LDL-C > 100 mg/dL (2.59 mmol/L) の健常男性および女性（年齢 18～65 歳、体重 50～95 kg、ボディマス指数 [BMI] = 18～30 kg/m²）であった。脂質を変化させるすべての非被験薬の使用は、

本研究を通して禁止した。

【0071】

複数用量研究の対象は、ヘテロ接合FHまたはnonFH（年齢18～65歳、BMI = 18.0～35.0 kg/m²）を有し、LDLコレステロール>100 mg/dL（2.59 mmol/L）の安定なアトロバスタチン療法（日当たり10～40 mg）中またはnonFHであり、そしてLDLコレステロール>130 mg/dL（3.36 mmol/L）の食事制限単独中であつた（表1）。すべての対象は、なんらかの研究に関連する手続きの前に施設内倫理委員会によってあらかじめ承認されたインフォームドコンセントに確認し、署名した。FH群の対象は、明確なまたは可能なFHについてSimon Broome基準（Simon Broome Register Group (1991), BMJ 303:893-896; Neil et al., (2000) BMJ 321:148）を満たしたが、nonFH対象は、満たさなかつた。アトロバスタチンを摂取している対象は、ベースラインより前の少なくとも28日間、安定用量、1日10～40 mgを摂取中であり、本研究通じて同じ用量のままであつた。食事制限中のみのnonFH患者は、ベースラインより前の少なくとも28日間、一般に認められた脂質低下療法を受けていないはずであり、本研究を通じてこのような治療を受けないままであつた。潜在的に、アトロバスタチンを摂取してない適格患者は、4週の導入期間に入ることができ、この間に、患者の研究前のレベルおよび>100 mg/dL（2.59 mmol/L）付近にLDLコレステロールを維持する見込みがあるアトロバスタチン（日当たり10～40 mg）の用量に切り替えた。すべての対象は、トリグリセリド≤300 mg/dLを有し、3つより少ない抗高血圧剤で血圧コントロールされていた。脳血管性、心血管もしくは末梢血管性のアテローム硬化性疾患、糖尿病またはLDLコレステロールの二次的上昇を生じることが知られている障害の病歴がある患者は、肝トランスアミナーゼ（ALTまたはAST）>正常上限（×ULN）の1.2倍、>2+タンパク尿またはクレアチンキナーゼ（CK）>3×ULNを有する患者であつたため、CK<3 ULNで反復試験を行う必要があつた場合、明らかに運動が関係なければ、排除した。

【0072】

D. 実験室測定および方法

複数用量研究では、血清脂質（総コレステロール、HDLコレステロール、LDLコレステロール、non-HDLコレステロール、およびVLDLコレステロール）ならびにアポリポタンパク質（アポ）B、A1およびLp(a)、hs-CRPならびに安全性臨床検査を、スクリーニング（-21日目～-3日目）-2日目（アトロバスタチンの患者について）、-1日目、1日目、2日目、3日目、8日目、15日目、29日目、43日目、57日目、71日目、85日目、99日目、120日目、および研究の終わり（148日目）において、12時間一夜断食（水のみ）後に実施した。すべての実験室測定は、CDC Lipid Standardization ProgramによるパートIII証明（Part III certification）および米国臨床病理医協会（College of American Pathologists）による認可を維持した中央検査室によって実施した。トリグリセリドおよびコレステロールは、CDC参照法（CDC reference procedures）に直接帰する較正を用いて酵素比色試験（Olympus AU2700またはAU5400 Analyzer, Olympus, Center Valley, Pennsylvania, USA）で測定した。アポB含有リポタンパク質をデキストラン硫酸で沈澱させ、HDLコレステロールは上清において測定した。（Warnick et al., (1978), J. Lipid Res. 19:65-76）。LDLコレステロールおよびVLDLコレステロールは、分取超遠心分離（ベーター定量）の後に測定した。アポA1、B、Lp(a)およびhs-CRPは、rate免疫比濁法（Dade Behring BNII nephelometer, Siemens Healthcare Diagnostics, Deerfield, Illinois, USA）で測定した。すべての脂質、アポリポタンパク質およびhs-CRP値は、アトロバスタチン治療群について-2日目または食事制限のみの群について-1日目の後から、研究者、研究スタッフおよび患者に盲検化した。

【0073】

E. 統計的プラン

単一用量研究の脂質パラメータにおけるmAb 316Pの効果は、共分散分析（ANCOVA）

O V A) モデルを用いて評価した。治療群と併合プラセボ群との差の最小 2 乗平均、95%信頼区間、および通院による治療群対プラセボ間の比較についての p 値は、ANCOVA のフレームワーク内で得られた。すべての試験についての有意性を、0.05 で設定した。

【0074】

複数用量研究では、プラセボおよびアトロバスタチンを受けたすべての対象を、FH または non FH 対象のいずれかの 2 つのプラセボ群に併合した。FH および non FH (アトロバスタチン治療) プラセボ群の両方の 6 人の対象、ならびに各 FH および non FH mAb 316P 治療用量群のそれぞれの 5 人および 8 人の対象は、各用量を 5% 有意水準で両側検定によりプラセボと比較するとき、各研究通院の LDL コレステロールのベースラインからの平均パーセンテージ変化においてプラセボに対して 30% (SD = 15%) の治療差を検出する少なくとも 80% の検出力を提供した。多重比較では調整を行わなかった。群 7 の結果を治療およびプラセボによって別々にまとめ、2 つの群を個々に比較した。固定効果として治療群の ANCOVA および共変量として関連のベースライン値を用いて連続的な変数を分析した。欠測値は、最終観測値延長 (LOCF) 法によって補完した。共変量のランクベース分析 (Rank-based analysis) から誘導した、トリグリセリドおよび Lp (a) を除くすべての p 値を、ANCOVA モデルから描画した。

10

【0075】

脂質およびリポタンパク質効果をまとめるため、研究 57 日目から結果を選択し、ここにおいて、その後 2 回の 2 週間の投与期間の効果を観察することができた。本研究は、non FH 対象に FH 対象の反応の直接統計的比較について利用しなかった。

20

【0076】

結果

A. 研究集団

合計 40 人の対象を単一用量 IV 研究において無作為化し、32 人を単一用量 SC 研究において無作為化した。複数用量 SC 研究の A パートでは、合計 97 人の対象をスクリーニングし、62 人を無作為化した (21 人の FH および 41 人の non FH)。合計 10 人の対象が、複数用量 SC 研究の B パートに含まれた (4 人の FH および 6 人の non FH)。単一用量研究および複数用量研究の A パートにおける対象のベースライン特徴を表 2A に示す。複数用量研究の B パートにおける対象のベースライン特徴を表 2B に示す。

30

【0077】

【表 2】

表 2 A

	単一用量 IV	単一用量 SC	複数用量 SC - A パート		
			FH	nonFH	nonFH 食事制限単独(アトロバスタチンなし)
患者数	40	32	21	30	10
年齢の中央値	36	34	40	52	52
性別					
男性	65%	74%	81%	59%	56%
女性	35%	26%	19%	41%	44%
BMI の中央値 (kg/m ²)	26	25	27	27	27
人種 (%)					
白人	55%	44%	86%	93%	100%
黒色／アフリカ系アメリカ人	37.5%	50%	14%	7%	0%
アメリカインディアン／アラスカ原住民	7.5%	6%	0%	0%	0%
アトロバスタチン用量					
10 mg	なし	なし	14%	63%	なし
20 mg	なし	なし	33%	33%	なし
40 mg	なし	なし	52%	4%	なし
ベースライン値					
LDL-C (mg/dL)	133	127	134	111	174
アポ B (mg/dL)	1.1	1.0	1.1	1.0	1.3
HDL-C (mg/dL)	54	55	44	51	51
TG (mg/dL)	108	103	113	136	133

【 0 0 7 8 】

【表 3】

表 2 B

	複数用量 SC - B パート (用量 200 mg)					
	FH および NonFH の合計		FH		NonFH	
	Pbo	mAb316P	Pbo	mAb316P	Pbo	mAb316P
患者数	2	8	1	3	1	5
年齢の中央値	35	45.5	27	50	43	41
性別						
男性	50%	37.5%	100%	66.7%	0%	20%
女性	50%	62.5%	0%	33.3%	100%	80%
BMI の中央値 (kg/m ²)	29.39	26.02	28.26	25.43	30.52	26.61
人種 (%)						
白人	100%	100%	100%	100%	100%	100%
アトロバスタチン用量						
10 mg	50%	75%	0%	33.3%	100%	100%
20 mg	0%	12.5%	0%	33.3%	0%	0%
40 mg	50%	12.5%	100%	33.3%	0%	0%
ベースライン値						
LDL-C (mmol/L)	3.05	3.32	3.76	3.78	2.33	3.08
アポ B (g/L)	0.85	1.06	0.92	1.05	0.77	1.07
HDL-C (mmol/L)	1.03	1.23	0.88	1.19	1.17	1.30
TG (mmol/L)	1.17	1.23	1.01	0.98	1.33	1.30

【0079】

B. 脂質およびリポタンパク質反応

健常志願者に対する mAb316P の単一 IV または SC 用量の投与は、LDL コレステロールにおける 55～60% の類似の平均最大パーセント低下を生じた。LDL コレステロール低下の程度および期間は用量依存性であり、より高い用量レベルの IV または SC mAb316P の投与後は、それぞれ少なくとも 29 日および 22 日まで LDL コレステロール低下が持続した。同様に、複数用量研究において、LDL コレステロールにおけるベースラインからの平均パーセント低下は、用量依存性であり、アトロバスタチン集団の FH および nonFH ならびに nonFH 食事制限単独集団では 150 mg 投与の 2 週間後に 50% を超えた。複数用量研究において 150 mg を投与した各集団中の 1 人を除くすべての対象は、ベースラインから少なくとも 40% の低下を経験した。

【0080】

複数用量研究の A パートにおけるすべての治療群についての脂質およびアポリポタンパク質のベースラインレベルおよび 57 日目のレベルを、表 3 A (アトロバスタチン治療対象) および 3 B (食事制限のみアトロバスタチン治療なし) に示す。

【0081】

【表 4】

表 3 A

パラメータ		アトロバスタチン治療対象			
		プラセボ (Pbo)	mAb316P 用量		
			50 mg	100 mg	150 mg
		N=12	N=13	N=13	N=13
LDL コレス テロール 平均値 (SD) mg/dL	ベースライン	125 (19)	114 (15)	121 (31)	123 (27)
	57 日目	195 (17)	148 (29)	130 (16)	127 (26)
	Pbo に対する %変化		-39.2	-53.7	-61.0
	Pbo に対する p 値		<0.0001	<0.0001	<0.0001
総コレステ ロール 平均値 (SD) mg/dL	ベースライン	193 (20)	191 (24)	192 (27)	197 (32)
	57 日目	195 (17)	148 (29)	130 (16)	127 (26)
	Pbo に対する %変化		-24.6	-33.2	-36.4
	Pbo に対する p 値		<0.0001	<0.0001	<0.0001
HDL コレス テロール 平均値 (SD) mg/dL	ベースライン	43 (10)	52 (16)	48 (10)	48 (11)
	57 日目	42 (10)	55 (14)	51 (10)	54 (12)
	Pbo に対する %変化		13.2	11.3	18.2
	Pbo に対する p 値		0.0153	0.0336	0.0009
LDL コレス テロール 平均値 (SD) mg/dL	ベースライン	125 (20)	115 (16)	119 (30)	123 (29)
	57 日目	129 (15)	74 (15)	58 (14)	52 (21)
	Pbo に対する %変化		-41.7	-55.8	-62.4
	Pbo に対する p 値		<0.0001	<0.0001	<0.0001
トリグリセ リド 中央値(最小: 最大) mg/dL	ベースライン	113 (60:244)	118 (43:171)	135 (46:210)	117 (65:278)
	57 日目	111 (55:186)	97 (40:189)	111 (31:173)	92 (60:181)
	Pbo に対する %変化		-16.3	-7.5	-11.7
	Pbo に対する p 値		0.0142	0.2515	0.0609
アポリポタン パク質 B 平均値 (SD) mg/dL	ベースライン	107 (12)	104 (15)	100 (21)	106 (22)
	57 日目	108 (14)	74 (14)	60 (12)	58 (14)
	Pbo に対する %変化		-31.5	-42.0	-46.4
	Pbo に対する p 値		<0.0001	<0.0001	<0.0001
アポリポタン パク質 A1 平均値 (SD) mg/dL	ベースライン	132 (19)	155 (36)	144 (23)	145 (23)
	57 日目	132 (20)	162 (31)	150 (20)	161 (24)
	Pbo に対する %変化		9.9	6.9	13.5
	Pbo に対する p 値		0.019	0.086	0.013
リポタンパク 質(a) 中央値(最小: 最大) mg/dL	ベースライン	22 (2:121)	46 (5:151)	50 (7:142)	61 (5:154)
	57 日目	13 (2:119)	42 (4:145)	26 (3:95)	47 (5:119)
	Pbo に対する %変化		-15.5	-24.1	-18.3
	Pbo に対する p 値		0.1109	0.0015	0.1226

【表 5】

表 3 B

		食事制限のみ—アトロバスタチンなしの治療	
		プラセボ (Pbo)	150 mg mAb316P
パラメータ		N=2	N=8
LDL コレステロール 平均値 (SD) mg/dL	ベースライン	152 (16)	179 (49)
	57 日目	242 (45)	154 (29)
	Pbo に対する %変化		-57.0
	Pbo に対する p 値	<0.0001	0.0023
総コレステロール 平均値 (SD) mg/dL	ベースライン	228 (6)	257 (58)
	57 日目	242 (45)	154 (29)
	Pbo に対する %変化		-43.3
	Pbo に対する p 値		0.0025
HDL コレステロール 平均値 (SD) mg/dL	ベースライン	54 (14)	50 (8)
	57 日目	64 (8)	51 (10)
	Pbo に対する %変化		-18.9
	Pbo に対する p 値		0.17
LDL コレステロール 平均値 (SD) mg/dL	ベースライン	152 (12)	177 (49)
	57 日目	159 (30)	79 (24)
	Pbo に対する %変化		-58.4
	Pbo に対する p 値		<0.0025
トリグリセリド 中央値 (最小 : 最大) mg/dL	ベースライン	116 (86:146)	127 (82:268)
	57 日目	93 (68:118)	116 (70:186)
	Pbo に対する %変化		-16.86
	Pbo に対する p 値		0.4820
アポリポタンパク質 B 平均値 (SD) mg/dL	ベースライン	118 (23)	138 (37)
	57 日目	118 (6)	76 (19)
	Pbo に対する %変化		-45.0
	Pbo に対する p 値		0.003
アポリポタンパク質 A1 平均値 (SD) mg/dL	ベースライン	138 (6)	151 (15)
	57 日目	170 (32)	154 (16)
	Pbo に対する %変化		-19.2
	Pbo に対する p 値		0.073
リポタンパク質(a) 中央値(最小 : 最大) mg/dL	ベースライン	47 (30:63)	34 (5:111)
	57 日目	58 (41:75)	39 (4:119)
	Pbo に対する %変化		-43.8
	Pbo に対する p 値		0.0415

【0083】

57 日目の LDL コレステロール反応は、FH または non FH、アトロバスタチン治療または食事制限単独にかかわらず、すべての対象で類似していた。対応する変化は、総コレステロールおよび non-HDL コレステロールおよびアポ B でも観察された（表 3 A および 3 B）。重要なことに、低下は Lp (a) でも観察された。さらに、アトロバスタチンを摂取している患者では、HDL コレステロールおよびアポ A1 の両方で望ましい変化が見られた。

【0084】

複数用量研究の B パートにおける mAb316P 治療患者では、類似の改善が観察され

た。すなわち、mAb 316 P 200 mg の皮下投与により、LDL-C、総コレステロール、non-HDL C、アポBにおける、およびアポB／アポAの比率における迅速、実質的かつ持続性の低下が誘導された。mAb 316 P 200 mg のSC投与患者も、より高いレベルのHDL CおよびアポA 1に向かう傾向を示すようである。

【0085】

議論

本実施例は、本明細書においてmAb 316 Pと称する抗PCSK9抗体のヒト試験を記述する。健常志願者における2つの単一上行性用量研究で出発し、スタチンまたは食事制限単独で治療したFHおよびnon FHの両方の患者においてコンセプト試験の大きな複数用量証明に拡張する。これらの試験は、スタチンまたは食事制限単独にかかわらず家族性および非家族性高コレステロール血症の両方において、PCSK9阻害によりLDLコレステロールにおける迅速かつ有意な低下をもたらす可能性を立証している。試験集団は、大多数の高コレステロール血症患者を包含する。

【0086】

単一IV投与から単一SC投与を通して複数SC用量までのmAb 316 PのLDLコレステロールにおける強力かつ再現可能な効果は、投与後、予想外に短時間内で見られ、約2週で最大に達する。この迅速性は、アフエーシスを経たLDLコレステロールの除去とは別の高コレステロール血症に対するすべての他の治療様式のものを超えており、スタチンよりも迅速である。LDLコレステロールのその大きな低下は、40%～50%のLDLコレステロール低下を生じることが知られているアトロバスタチンの比較的高い用量をすでに受けている患者においてmAb 316 Pにより達成することができ、スタチン、たとえばエゼチミブ、胆汁酸分離剤およびスクアレニンターゼ阻害剤に加えられた他の研究の療法からのmAb 316 Pの可能性とは明らかに区別される。mAb 316 PのLDLコレステロール低下効果は、明白な忍容性および安全性と組み合わせて、アポBアンチセンスのような発現におけるいくつかの他のアポB／LDL-C低下剤、MTP阻害剤、および甲状腺ホルモン類似体よりもmAb 316 Pの驚くべき治療上の利点を強調する。実際、本研究において、肝トランスアミナーゼにおける任意の増加なしにデシリットル当たり50 mg (1.29 mmol/L) またはそれ未満の低LDLコレステロールレベルが対象の多くで達成されたことは、肝VLDLおよびLDL形成を阻害する薬剤で得られた結果と著しく対照的である。PCSK9の遺伝的過小発現またはさらにその欠如および生涯にわたる低レベルのLDLコレステロールが、予想外の罹病率または死亡率と関連してないと考えられることを示す疫学研究は、PCSK9の薬物阻害の治療可能性に関して快適なレベルを提供する。

【0087】

mAb 316 Pのような本発明の抗PCSK9抗体は、スタチンを許容することができない患者（現在、すべてのスタチン治療患者の約5%～10%であると推定される）にLDLコレステロールを大きく（少なくとも50%）低下させる意義ある好機を提供する。世界中の約一千万人のFH患者の多くについて、mAb 316 Pを含む、本発明の抗PCSK9抗体は、スタチンと共にそれを使用することで、最適なLDLコレステロール制御を最終的に達成することができ、さらに早期のおよび再発性の心血管疾患のその実質的なリスクを潜在的に低下させる現実的な可能性を提供する。また、現在開示された治療方法論は、LDLアフエーシス、短期のLDLコレステロール低下しかもたらさない浸潤性の時間がかかる高価な2週間毎の処置を中止する可能性を多くの患者に提供することができる。

【0088】

アトロバスタチンで治療した患者におけるものを含む、他の脂質におけるさらなる予想外の有益な効果が、HDLコレステロール、アポA 1および、最も驚くべきことにLp(a)では見られ、これは、統計的有意性に向かうか、またはそれが達成されている。重要なことに、これまで、LDL受容体を介して除去されないと考えられてきたLp(a)を臨床的に低下させることが示されている治療上の生物学的薬剤（例えば、抗PCSK9抗

体)はなかった。したがって、本実験は、患者において血清Lp(a)レベルを低下させるPCSK9阻害剤の能力の最初に実証したものである。

【0089】

安全性に関して、mAb316P注射部位反応は最小限であった。また、mAb316Pは、薬物関連有害事象の傾向もなく、かつ肝毒性または筋毒性の証拠もなく、一般に安全であり、十分に許容された。観測されたわずかなCK上昇は、運動に関連したものであった。

【0090】

要約すると、本実施例は、PCSK9のmAb316P阻害が、ヒト患者においてLDLコレステロールを効果的に低下させる他に、驚くべきことにLp(a)レベルも同様に低下させることを示す。

10

【0091】

〔実施例3〕

ヘテロ接合家族性高コレステロール血症患者における抗PCSK9モノクローナル抗体の安全性および有効性の無作為化二重盲式プラセボ対照12週研究

臨床試験を実施して、ヘテロ接合家族性高コレステロール血症(hFH)患者における様々な皮下(SC)用量ならびに血清低密度リポタンパク質コレステロール(LDL-C)および他の脂質／アポリポタンパク質(たとえば、総コレステロール、高密度リポタンパク質コレステロール、トリグリセリド、アポB、アポA1およびLp[a])におけるmAb316Pの投与レジメンの有効性を評価した。

20

【0092】

患者集団

本研究の患者集団は、100mg/dLまたはそれ以上のLDL-Cレベルを示す、hFHと診断された、および本研究の開始時に安定な毎日のスタチン用量(エゼチミブと共にまたはなしのいずれか)を摂取中である年齢18~75歳の男性および女性を含む。患者がなんらかのさらなる脂質低下化合物、たとえばフィブラート、ナイアシン、オメガ-3脂肪酸、胆汁酸樹脂、植物スタノール(たとえば、ベネコール(Benecol)、アマニ油、オオバコ)、または紅色酵母米を摂取していた場合、その患者を排除した。合計77人の患者が本研究を完了した。

【0093】

薬物製剤

薬物製剤は、150mg/mLのmAb316P、10mMヒスチジン、0.2%ポリソルベート20、10%スクロースを含み、かつpH6.0を有した。

30

【0094】

投与方法

薬物製剤(またはプラセボ)は、腹部への皮下注射によって患者に投与した。各治療は、それぞれ1mLの2回の皮下注射を含んだ。

【0095】

投与レジメン

患者を5群に分けた。群1は、2週毎に1回プラセボを投与した15人の患者を含み；群2は、2週毎に1回150mgのmAb316Pを投与した16人の患者を含み；群3は、4週毎に1回150mgのmAb316Pを投与した15人の患者を含み；群4は、4週毎に1回200mgのmAb316Pを投与した16人の患者を含み；そして群5は、4週毎に1回300mgのmAb316Pを投与した15人の患者を含んだ。研究期間は、12週であった。

40

【0096】

有効性評価

血液サンプルは、本研究を通じて、および8週のフォローアップ期間中に患者から採取した。少なくとも12時間断食の後(なんらかの薬物摂取前、午前中に)、試料を集めた。以下のパラメータ：(1)総コレステロール；(2)LDL-C；(3)HDL-C；(

50

4) トリグリセリド (TG) ; (5) アポ B ; (6) アポ A 1 ; および (7) Lp (a) の測定値を、血液サンプルから決定した。本研究 (週 12) 終了後にプラセボと比較したこれらのパラメータにおけるパーセント変化の中央値を、表 4 にまとめる。

【0097】

【表 6】

表 4

群	1	2	3	4	5
患者数	15	16	15	16	15
治療	プラセボ	mAb316P	mAb316P	mAb316P	mAb316P
用量	N/A	150 mg	150 mg	200 mg	300 mg
投与頻度	Q2W	Q2W	Q4W	Q4W	Q4W
総コレステロール	-6.52	-38.27	-18.89	-15.31	-28.84
LDL-C	-4.90	-66.71	-24.30	-24.07	-49.35
HDL-C	+2.48	+14.63	+6.33	+6.53	+4.48
トリグリセリド	-10.55	-16.23	-16.73	-9.87	-4.92
アポ B	-7.32	-48.97	-19.09	-14.69	-36.27
アポ A1	-7.24	+9.98	+3.13	+0.33	+5.39
Lp(a)	-11.07	-22.50	-11.30	-8.00	-14.29

【0098】

【実施例 4】

安定なアトロバスタチン療法中の原発性高コレステロール血症患者における抗 PCSK9 モノクローナル抗体の安全性および有効性の無作為化二重盲式平行群プラセボ対照 12 週研究

臨床試験を実施して安定なアトロバスタチン療法を継続中の原発性高コレステロール血症および 100 mg/dL を超える LDL-C レベルを有する患者において 12 週にわたる mAb316P の 5 用量および 2 用量レジメンの有効性を評価した。本研究の経過にわたる血清低密度リポタンパク質コレステロール (LDL-C) および他の脂質 / アポリポタンパク質 (たとえば、総コレステロール、高密度リポタンパク質コレステロール、トリグリセリド、アポ B、アポ A1 および Lp [a]) における変化に基づいて有効性を評価した。

【0099】

患者集団

本研究の患者集団は、100 mg/dL またはそれを超える LDL-C レベルを示し、原発性高コレステロール血症と診断された、および本研究の開始前に少なくとも 6 週間 10、20 または 40 mg の安定なアトロバスタチン療法中であった、年齢 18 ~ 75 歳の男性および女性を含んだ。患者がなんらかのさらなる脂質低下化合物、たとえばフィブラート、ナイアシン、オメガ-3 脂肪酸、胆汁酸樹脂、植物スタノール (たとえば、ベネコール、アマニ油、オオバコ)、または紅色酵母米を摂取していた場合、その患者を排除した。合計 118 人の患者が本研究を完了した。

【0100】

薬物製剤

薬物製剤は、150 mg/mL の mAb316P、10 mM ヒスチジン、0.2% ポリソルベート 20、10% スクロースを含み、かつ pH 6.0 を有した。

【0101】

10

20

30

40

50

投与方法

薬物製剤（またはプラセボ）は、腹部への皮下注射によって患者に投与した。各治療は、それぞれ1 mLの2回の皮下注射を含んだ。

【0102】

投与レジメン

患者を6群に分けた。群1は、2週毎に1回プラセボを投与した20人の患者を含み；群2は、2週毎に1回50 mgのmAb316Pを投与した19人の患者を含み；群3は、2週毎に1回100 mgのmAb316Pを投与した20人の患者を含み；群4は、2週毎に1回150 mgのmAb316Pを投与した18人の患者を含み；群5は、4週毎に1回200 mgのmAb316Pを投与した20人の患者を含み；そして群6は、4週毎に1回300 mgのmAb316Pを投与した21人の患者を含んだ。研究期間は、12週であった。

10

【0103】

有効性評価

血液サンプルは、本研究を通じて、および8週フォローアップ期間中に患者から採取した。少なくとも12時間断食の後（なんらかの薬物摂取前、午前中に）、試料を集めた。以下のパラメータ：（1）総コレステロール；（2）LDL-C；（3）HDL-C；（4）トリグリセリド（TG）；（5）アポB；（6）アポA1；および（7）Lp(a)の測定値を、血液サンプルから決定した。本研究終了（週12）後のプラセボと比較したこれらのパラメータにおけるパーセント変化の中央値を表5にまとめる。

20

【0104】

【表7】

表5

群	1	2	3	4	5	6
患者数	20	19	20	18	20	21
治療	プラセボ	mAb316P	mAb316P	mAb316P	mAb316P	mAb316P
用量	N/A	50 mg	100 mg	150 mg	200 mg	300 mg
投与頻度	Q2W	Q2W	Q2W	Q2W	Q4W	Q4W
総コレステロール	-3.73	-23.34	-40.21	-45.03	-29.51	-33.48
LDL-C	-6.92	-37.04	-64.28	-74.83	-49.46	-51.98
HDL-C	+1.81	+5.08	+7.93	+8.96	+5.59	+12.09
トリグリセリド	+22.42	-7.85	-11.41	-22.93	+1.27	-9.17
アポB	+0.76	-28.67	-48.67	-54.16	-30.67	-32.95
アポA1	+0.58	+1.40	-0.88	+1.11	+0.66	+3.42
Lp(a)	0.00	-13.33	-27.27	-28.57	-18.92	-11.11

30

40

【0105】

〔実施例5〕

原発性高コレステロール血症患者におけるアトロバスタチン80 mgと併用投与された抗PCSK9モノクローナル抗体の安全性および有効性の無作為化二重盲式平行群プラセボ対照一定用量研究

臨床試験を実施して原発性高コレステロール血症および100 mg/dlを超えるLDL-Cレベルを有する患者において8週にわたってアトロバスタチン80 mgを併用投与したときのmAb316Pの有効性を評価した。本研究の経過にわたる血清低密度リポタンパク質コレステロール（LDL-C）および他の脂質／アポリポタンパク質（たとえば

50

、総コレステロール、高密度リポタンパク質コレステロール、トリグリセリド、アポB、アポA1およびLp[a]における変化に基づいて有効性を評価した。

【0106】

患者集団

本研究の患者集団は、100mg/dLまたはそれを超えるLDL-Cレベルを示し、原発性高コレステロール血症と診断された、および本研究の開始前に少なくとも6週間、10mgの安定なアトロバスタチン療法中であった、年齢18～75歳の男性および女性を含む。患者がなんらかのさらなる脂質低下化合物、たとえばフィブラート、ナイアシン、オメガ-3脂肪酸、胆汁酸樹脂、植物スタノール（たとえば、ベネコール、アマニ油、オオバコ）、または紅色酵母米を摂取していた場合、その患者を排除した。合計88人の患者が本研究を完了した。

10

【0107】

薬物製剤

薬物製剤は、150mg/mLのmAb316P、10mMヒスチジン、0.2%ポリソルベート20、10%スクロースを含み、かつpH6.0を有した。

【0108】

投与方法

薬物製剤（またはプラセボ）は、腹部への皮下注射によって患者に投与した。各治療は、1mLの1回の皮下注射を含んだ。

【0109】

投与レジメン

患者を3群に分けた。群1は、毎日80mgのアトロバスタチンに加えて2週毎に1回プラセボを投与した29人の患者を含み；群2は、毎日80mgのアトロバスタチンに加えて2週毎に1回150mgのmAb316Pを投与した30人の患者を含み；そして群3は、毎日10mgのアトロバスタチンに加えて2週毎に1回150mgのmAb316Pを投与した29人の患者を含んだ。研究期間は、8週であった。

20

【0110】

有効性評価

血液サンプルは、本研究を通じて、および8週のフォローアップ期間中に患者から採取した。少なくとも12時間断食の後（なんらかの薬物摂取前、午前中に）、試料を集めた。以下のパラメータ：（1）総コレステロール；（2）LDL-C；（3）HDL-C；（4）トリグリセリド（TG）；（5）アポB；（6）アポA1；（7）アポB／アポA1比率；および（8）Lp[a]の測定値を、血液サンプルから決定した。本研究終了後のプラセボと比較したこれらのパラメータにおけるパーセント変化を、表6にまとめる。

30

【0111】

【表 8】

表 6

群	1	2	3
患者数	29	30	29
処置	プラセボ	mAb316P	mAb316P
用量	N/A	150 mg	150 mg
投与頻度	Q2W	Q2W	Q2W
1日のアトロバスタチン	80 mg	80 mg	10 mg
総コレステロール	-16.59	-47.21	-40.45
LDL-C	-26.87	-70.62	-70.37
HDL-C	-5.71	+5.17	+1.39
トリグリセリド	-11.89	-24.67	-3.98
アポ B	-12.00	-58.00	-54.39
アポ A1	-5.56	-4.55	-0.69
Lp(a)	-2.70	-31.01	-34.65

10

20

【0112】

まとめると、これらの研究（実施例 3～5）からの結果は、さまざまな用量および投与レジメンで投与したときに、LDL コレステロールを効果的に低下させ、かつ患者における他の脂質／アポリポタンパク質パラメータに有益な影響を及ぼす m A B 3 1 6 P の能力を立証している。また、これらの臨床的实施例は、m A B 3 1 6 P がさまざまな状況下で患者の L p (a) レベルを有意に低下できるという予想外の発見を立証している。

【0113】

本発明は、本明細書に記述された具体的な実施態様によって範囲を限定されないことになっている。実際に、本明細書に記述されたものに加えて本発明のさまざまな変更は、前述の説明および添付の図面から当業者に明らかとなる。このような変更は、添付の特許請求の範囲内に含まれるものとする。

30

【配列表】

2017206520000001.app

【手続補正書】

【提出日】平成29年6月7日(2017.6.7)

【手続補正 1】

【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】

経腸コレステロール排泄（T I C E）の低下を示す患者において T I C E を高めるのに使用するための P C S K 9 阻害剤を含む医薬組成物であって、P C S K 9 阻害剤が、P C S K 9 を特異的に結合する抗体またはその抗原結合性フラグメントである、医薬組成物。

【請求項 2】

患者が、心血管疾患または障害を有すると診断されるか、またはそれらを発症するリスクがあると確定される、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 3】

心血管疾患または障害が、冠動脈疾患、急性心筋梗塞、無症候性頸動脈硬化症、脳卒中およ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 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 4】

心血管疾患または障害が高コレステロール血症である、請求項 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 5】

高コレステロール血症がヘテロ接合家族性高コレステロール血症（h e F H）である、請求項 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

高コレステロール血症が家族性高コレステロール血症でない（n o n F H）、請求項 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

患者が、血栓性閉塞性疾患または障害を有すると診断されるか、またはそれらを発症するリスクがあると確定される、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

血栓性閉塞性疾患または障害が、肺塞栓症および網膜中心静脈閉塞からなる群から選択される、請求項 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

医薬組成物が P C S K 9 阻害剤 2 0 m g ～ 2 0 0 m g を含む、請求項 1 ～ 8 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 1 0】

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

【請求項 1 1】

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

【請求項 1 2】

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

【請求項 1 3】

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

【請求項 1 4】

抗体またはその抗原結合性フラグメントが、配列番号：9 0 / 9 2 および 2 1 8 / 2 2 6 からなる群から選択される H C V R / L C V R アミノ酸配列対の重鎖および軽鎖 C D R を含む、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 1 5】

抗体またはその抗原結合性フラグメントが、配列番号：2 2 0、2 2 2、2 2 4、2 2 8、2 3 0 および 2 3 2 を有する重鎖および軽鎖 C D R アミノ酸配列を含む、請求項 1 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 6】

抗体またはその抗原結合性フラグメントが、配列番号：2 1 8 のアミノ酸配列を有する H C V R および配列番号：2 2 6 のアミノ酸配列を有する L C V R を含む、請求項 1 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 7】

抗体またはその抗原結合性フラグメントが、配列番号：7 6、7 8、8 0、8 4、8 6 および 8 8 を有する重鎖および軽鎖 C D R アミノ酸配列を含む、請求項 1 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 8】

抗体またはその抗原結合性フラグメントが、配列番号：9 0 のアミノ酸配列を有する H C V R および配列番号：9 2 のアミノ酸配列を有する L C V R を含む、請求項 1 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 9】

抗体またはその抗原結合性フラグメントが、配列番号：2 2 0、2 2 2、2 2 4、2 2

８、２３０および２３２；または配列番号：７６、７８、８０、８４、８６および８８を有する重鎖および軽鎖ＣＤＲアミノ酸配列を含む抗体と同じＰＣＳＫ９上のエピトープに結合する、請求項１～１３のいずれか１項に記載の医薬組成物。

【請求項２０】

抗体またはその抗原結合性フラグメントが、ＰＣＳＫ９に結合について、配列番号：２２０、２２２、２２４、２２８、２３０および２３２；または配列番号：７６、７８、８０、８４、８６および８８を有する重鎖および軽鎖ＣＤＲアミノ酸配列を含む抗体と競合する、請求項１～１３のいずれか１項に記載の医薬組成物。

【請求項２１】

患者が治療的スタチンレジメン中である、請求項１～２０のいずれか１項に記載の医薬組成物。

【請求項２２】

治療的スタチンレジメンが、セリバスタチン、アトロバスタチン、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２１に記載の医薬組成物。

【請求項２３】

スタチンがアトロバスタチンである、請求項２２に記載の医薬組成物。

【請求項２４】

患者が治療的スタチンレジメン中でない、請求項１～２０のいずれか１項に記載の医薬組成物。

フロントページの続き

(72)発明者 デイリー・スウェアゴールド

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

Fターム(参考) 4C084 AA02 AA17 BA02 BA21 NA14 ZC33

4C085 AA13 BB22 EE01

【外国語明細書】
2017206520000001.pdf