



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 202003039 A

(43) 公開日：中華民國 109 (2020) 年 01 月 16 日

(21) 申請案號：108116818

(22) 申請日：中華民國 108 (2019) 年 05 月 15 日

(51) Int. Cl. : A61K39/395 (2006.01)

A61P9/06 (2006.01)

C07K16/22 (2006.01)

(30) 優先權：2018/05/15 日本

2018-093616

(71) 申請人：日商安斯泰來製藥股份有限公司 (日本) ASTELLAS PHARMA INC. (JP)  
日本

(72) 發明人：赤代宏介 SHAKUSHIRO, KOHSUKE (JP)；青木俊明 AOKI, TOSHIAKI (JP)

(74) 代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：10 項 圖式數：1 共 28 頁

(54) 名稱

以抗人類 NGF 抗體或其抗原結合片段作為有效成分之用於抑制心房顫動之醫藥組合物

(57) 摘要

本發明在於提供一種用於抑制心房顫動之新穎醫藥組合物，其具有不影響正常心臟功能之作用機制。

本發明提供一種以抗人類 NGF 抗體或其抗原結合片段作為有效成分之醫藥組合物。

A novel pharmaceutical composition for suppressing atrial fibrillation that has an action mechanism that does not affect the normal heart function is provided. A pharmaceutical composition including an anti-human NGF antibody or antigen binding fragment thereof as an active ingredient is provided.

## 【發明說明書】

### 【中文發明名稱】

以抗人類NGF抗體或其抗原結合片段作為有效成分之用於抑制心房顫動之醫藥組合物

### 【英文發明名稱】

PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR SUPPRESSING ATRIAL FIBRILLATION WITH ANTI-HUMAN NGF ANTIBODY OR ANTIGEN BINDING FRAGMENT THEREOF AS ACTIVE INGREDIENTS

### 【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種抗人類NGF抗體或其抗原結合片段之作為用於抑制心房顫動之組合物之新穎醫藥用途。

### 【先前技術】

【0002】 心律不整係心臟之律動產生異常之病狀。心律不整大致分為主要症狀為心跳遲緩狀態之心搏徐緩性心律不整、及加速狀態之心跳過速性心律不整。心跳過速性心律不整基於發生異常之部位，而分類為心房顫動等室上性心律不整與心室性顫動等心室性心律不整(非專利文獻1)。

【0003】 作為室上性心律不整之心房顫動係因心房內流動之電氣訊號之紊亂而發生。若心房顫動發病，則有因心臟功能降低而導致心衰竭發病之情況。又，存在因心房內之血液郁滯而形成之血栓運行至腦動脈形成栓塞物而引起腦梗塞之情況，成為臨床上之問題(非專利文獻2)。

【0004】 心房顫動等室上性心律不整係於外科手術後亦會發病。例如，已知於心臟外科手術後以10-30%之比率發病，術後心房顫動之發病成為死亡率或腦梗塞發生率之上升、住院期間之延長、醫療成本之增加等

醫療上之問題(非專利文獻3)。

**【0005】** 為了治療及預防心房顫動而使用各種抗心律不整藥。該等藥劑係作用於存在於心肌細胞上之離子通道或神經傳導物質受體而發揮藥效，故而不僅影響作為心律不整之發生源的心肌之異常部分之刺激傳導或收縮功能，而且亦影響心肌之正常部分(非專利文獻4)。因此，於使用該等藥劑時，需要充分注意致心律不整作用等副作用之發生。例如，已知胺碘酮等具有鉀通道遮斷作用之抗心律不整藥具有誘發致死性心室性心搏過速(torsades de pointes)之危險(非專利文獻5)。因此，期望不影響正常心臟功能之新型藥劑。

**【0006】** 已知自主神經系統之異常對心律不整之病狀起到重要作用。自主神經大致分為交感神經及副交感神經。已知交感神經系統及/或副交感神經系統干預心律不整發病之方法係根據心律不整之種類而多種多樣。例如，報告有若同時刺激交感及副交感神經系統兩者則引起心房顫動，相對於此，若增加交感神經系統之刺激則引起心室性顫動或心室性心搏過速(非專利文獻6)。即，於作為室上性心律不整之心房顫動與作為心室性心律不整之心室性顫動或心室性心搏過速之間，心律不整之發病機制並不同源。又，作為抗心律不整藥之一之利多卡因對於心室之心律不整有效，但對於心房之心律不整無效(非專利文獻7)，認為各種藥劑之顫動抑制作用於心室性顫動與心房顫動之間不同。

**【0007】** 認為若由於發育障礙或心肌梗塞等疾病導致產生心肌之損傷，則受到損傷之心肌部分之交感神經支配發生異常(unbalanced patterning或hyperinnervation)，其干預心律不整之發病。已知心肌之損傷部中之神經支配之異常係由作為神經軸突導向分子之軸突導向分子

3A(Semaphorin 3A)或神經生長因子(nerve growth factor ; NGF)之表現變化引起(非專利文獻6)。NGF係神經滋養因子之一，於神經細胞之分化、生長中起到重要作用。又，報告有NGF使交感神經之重複之放電發生變化，或者引起過度神經支配，干預心律不整之誘發(非專利文獻8、9)。

**【0008】** 於對大鼠之左心室給予電刺激而誘發心室性顫動之研究中，報告有藉由對作為NGF之受體之原肌球蛋白受體激酶A(tropomyosin receptor kinase A，TrkA)投予具有拮抗劑活性之GK-1肽，而使誘發心室性顫動所需之電流之閾值上升(非專利文獻10)。另一方面，如上述所示，認為於室上性心律不整與心室性心律不整之間發病機制及起作用之藥劑存在不同點，關於經由NGF訊號之抑制可抑制心房顫動，迄今為止並未報告。

**【0009】** 作為中和人類NGF之作用之抗體，報告有作為完全人類型抗人類NGF抗體之fulranumab(專利文獻1)、MEDI-578(專利文獻2)、REGN475(專利文獻3)、1-15(N52D-A)-Fab'-PEG(專利文獻4)、及h1f.6(專利文獻5)、作為人源化抗人類NGF抗體之tanezumab(專利文獻6)及PG110(專利文獻7)等。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

**【0010】** [專利文獻1]國際公開第2005/019266號

[專利文獻2]國際公開第2006/077441號

[專利文獻3]國際公開第2009/023540號

[專利文獻4]國際公開第2013/022083號

[專利文獻5]國際公開第2016/190263號

[專利文獻6]國際公開第2004/058184號

[專利文獻7]國際公開第2010/128398號

[非專利文獻]

[非專利文獻1]笠貫宏，修訂版 目視觀察之循環器官疾病系列1 心律不整，Medical View Co., Ltd.2000：7-14

[非專利文獻2]早川弘一等，心房顫動、撲動、心搏過速，醫學書院1999：60-65及275-279

[非專利文獻3]Ann Thorac Surg 2014, 98: 527-533

[非專利文獻4]Am Heart J 2000, 140: 12-20

[非專利文獻5]Europace 2006, 8: 1051-1053

[非專利文獻6]Auton Neurosci 2017, 205: 1-11

[非專利文獻7]J Mol Cell Cardiol 1995, 27: 831-846

[非專利文獻8]J Neurophysiol 2006, 96: 946-958

[非專利文獻9]Circ Res 2015, 116: 2005-2019

[非專利文獻10]Human Physiol 2012, 38: 428-432

## 【發明內容】

[發明所欲解決之問題]

【0011】 本發明之課題在於提供一種用於抑制心房顫動之新穎醫藥組合物，其具有不影響正常心臟功能之作用機制。

[解決問題之技術手段]

【0012】 本發明者等人為了解決上述課題而進行了銳意研究，結果發現，以抗人類NGF抗體或其抗原結合片段作為有效成分之醫藥組合物對於抑制心房顫動有用，從而完成了本發明。

【0013】 即，本發明係一種用於抑制心房顫動之醫藥組合物，其包含抗人類NGF抗體或其抗原結合片段、及藥學上容許之載體，於一態樣中，本發明可如以下所示。

【0014】 [1]一種用於抑制心房顫動之醫藥組合物，其包含抗人類NGF抗體或其抗原結合片段、及藥學上容許之載體。

【0015】 [2]如上述[1]所記載之醫藥組合物，其中抗人類NGF抗體之抗原結合片段為抗人類NGF抗體Fab片段。

【0016】 [3]如上述[2]所記載之醫藥組合物，其中抗人類NGF抗體Fab片段係選自由以下之(a)及/或(b)所組成之群中：

(a)包括包含序列編號3所示之胺基酸序列之重鏈片段及包含序列編號4所示之胺基酸序列之輕鏈的抗人類NGF抗體Fab片段；

(b)藉由(a)之抗人類NGF抗體Fab片段之轉譯後修飾而產生之抗人類NGF抗體Fab片段。

【0017】 [4]如上述[3]所記載之醫藥組合物，其含有：包括包含序列編號3所示之胺基酸序列之重鏈片段及包含序列編號4所示之胺基酸序列之輕鏈的抗人類NGF抗體Fab片段。

【0018】 [5]如上述[3]所記載之醫藥組合物，其含有：藉由包括包含序列編號3所示之胺基酸序列之重鏈片段及包含序列編號4所示之胺基酸序列之輕鏈的抗人類NGF抗體Fab片段之轉譯後修飾而產生的抗人類NGF抗體Fab片段。

【0019】 [6]如上述[5]所記載之醫藥組合物，其含有：包括包含序列編號3之胺基酸編號1之麩醯胺經焦麩胺酸修飾之序列編號3所示之胺基酸序列之重鏈片段及包含序列編號4所示之胺基酸序列之輕鏈的抗人類

NGF抗體Fab片段。

**【0020】** [7]如上述[3]所記載之醫藥組合物，其含有：包括包含序列編號3所示之胺基酸序列之重鏈片段及包含序列編號4所示之胺基酸序列之輕鏈的抗人類NGF抗體Fab片段、以及包括包含序列編號3之胺基酸編號1之麩醯胺經焦麩胺酸修飾之序列編號3所示之胺基酸序列之重鏈片段及包含序列編號4所示之胺基酸序列之輕鏈的抗人類NGF抗體Fab片段。

**【0021】** [8]如上述[1]至[7]中任一項所記載之醫藥組合物，其中心房顫動為術後心房顫動。

**【0022】** [9]一種抗人類NGF抗體或其抗原結合片段之使用，其係用於製造用於抑制心房顫動之醫藥組合物。

**【0023】** [10]一種抗人類NGF抗體或其抗原結合片段之使用，其係用於抑制心房顫動。

**【0024】** [11]一種抗人類NGF抗體或其抗原結合片段，其係用於抑制心房顫動。

**【0025】** [12]一種心房顫動之抑制方法，其包括將抗人類NGF抗體或其抗原結合片段之有效量投予至對象。

[發明之效果]

**【0026】** 以抗人類NGF抗體或其抗原結合片段作為有效成分之本發明之醫藥組合物於由無菌性心包膜炎誘發之犬心房顫動模型中抑制了心房顫動之發病，故而期待對心房顫動之抑制有用。

**【圖式簡單說明】**

**【0027】**

圖1係表示實施例1之結果之圖。縱軸表示於由無菌性心包膜炎誘發

之犬心房顫動模型中，於對右心房進行利用短陣快速起搏(刺激條件：刺激電壓9.9 V，刺激間隔90 ms，刺激次數20發，刺激部位為右心房之心耳、低位側壁、高位側壁及自由壁4處，誘發次數為各刺激部位2次)所進行之刺激操作時心房顫動被誘發之頻度(% Induced)，以個別值及中央值標記。「h1f.6」表示h1f.6抗體投予組。\*表示於威爾科克森(Wilcoxon)之秩和檢驗中相對於溶劑組(Vehicle)觀察到顯著差異( $p < 0.05$ )。

### 【實施方式】

【0028】 以下對本發明進行詳細說明，但本發明並不限定於該等。本說明書中只要無特別定義，則與本發明相關使用之科學用語及技術用語具有業者一般理解之含義。

【0029】 本發明係關於一種以抗人類NGF抗體或其抗原結合片段作為有效成分之用於抑制心房顫動之醫藥組合物。抗體分子之基本結構係各類別共通，包含分子量5萬~7萬之重鏈及2萬~3萬之輕鏈。重鏈包含通常含有約440個胺基酸之多肽鏈，按類別具有特徵性結構，對應於IgG、IgM、IgA、IgD、IgE而稱作 $\gamma$ 、 $\mu$ 、 $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 鏈。進而於IgG中，存在IgG1、IgG2、IgG3、IgG4，分別稱作 $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$ 、 $\gamma 3$ 、 $\gamma 4$ 。輕鏈包含通常含有約220個胺基酸之多肽鏈，已知有L型及K型兩種，分別稱作 $\lambda$ 、 $\kappa$ 鏈。抗體分子之基本結構之肽構成係分別同源之兩根重鏈及兩根輕鏈藉由雙硫鍵(S-S鍵)及非共價鍵進行結合而成，分子量為15萬~19萬。兩種輕鏈與任一重鏈皆可成對。各個抗體分子始終由相同兩根輕鏈及相同兩根重鏈構成。

【0030】 鏈內S-S鍵於重鏈中有4個( $\mu$ 、 $\epsilon$ 鏈中為5個)，於輕鏈中有2個，每胺基酸100~110殘基形成一個環，該立體結構於各環間類似，稱

作結構單元或區。關於重鏈、輕鏈皆位於N末端之區，即便為來自同種動物之相同類別(亞綱)之標品，其胺基酸序列亦不固定，稱作可變區，各區係分別稱作重鏈可變區(VH)及輕鏈可變區(VL)。自可變區C末端側之胺基酸序列係按各類別或亞綱而大致固定，稱作恆定區，各區係分別表示為CH1、CH2、CH3或CL。

【0031】 抗體之抗原決定部位係由VH及VL構成，結合之特異性取決於該部位之胺基酸序列。另一方面，與補體或各種細胞之結合等生物學活性反映各類別Ig之恆定區之結構之差異。可知重鏈及輕鏈之可變區之可變性大致限於在任一鏈皆存在之3個較小之超可變區，將該等區域稱為互補決定區域(CDR；分別自N末端側起為CDR1、CDR2、CDR3)。可變區之剩餘部分稱作架構區(FR)，相對比較固定。

【0032】 於某一態樣中，作為本發明之醫藥組合物中之有效成分之抗人類NGF抗體或其抗原結合片段係具有以下(1)或(2)之特徵之抗體或其抗原結合片段：

(1)包括下述區之抗人類NGF抗體或其抗原結合片段：包括包含序列編號3之第31～35個胺基酸序列之CDR1、包含序列編號3之第50～65個胺基酸序列之CDR2、及包含序列編號3之第98～110個胺基酸序列之CDR3的重鏈可變區，以及包括包含序列編號4之第24～39個胺基酸序列之CDR1、包含序列編號4之第55～61個胺基酸序列之CDR2、及包含序列編號4之第94～102個胺基酸序列之CDR3的輕鏈可變區；

(2)包括下述區之抗人類NGF抗體或其抗原結合片段：包含序列編號3之第1～121個胺基酸序列之重鏈可變區、及包含序列編號4之第1～113個胺基酸序列之輕鏈可變區。

【0033】 抗體之重鏈恆定區之處於CH1區與CH2區之間之區域稱作鉸鏈區域，該區域大量包含脯胺酸殘基，且包含將兩根重鏈連接之複數個鏈間S-S鍵。例如，於人類之IgG1、IgG2、IgG3、IgG4之各鉸鏈區域中，分別包含2個、4個、11個、2個構成重鏈間之S-S鍵之半胱胺酸殘基。鉸鏈區域係對木瓜酶或胃蛋白酶等蛋白質分解酶之敏感性較高之區域。於以木瓜酶消化抗體之情形時，於較鉸鏈區域之重鏈間S-S鍵更靠N末端側之位置將重鏈切斷，分解為2個Fab片段及1個Fc片段。Fab片段包含輕鏈以及含有重鏈可變區、CH1區及鉸鏈區域之一部分的重鏈片段。於以胃蛋白酶消化抗體之情形時，於較鉸鏈區域之重鏈間S-S鍵更靠C末端側之位置將重鏈切斷，生成F(ab')<sub>2</sub>片段。F(ab')<sub>2</sub>片段係2個Fab'片段以鉸鏈區域中之重鏈間S-S鍵進行結合之二聚物結構之片段。Fab'片段包含輕鏈以及含有重鏈可變區、包括CH1區及鉸鏈區域之一部分的重鏈片段，於該鉸鏈區域部分包含構成重鏈間S-S鍵之半胱胺酸殘基。Fab片段、F(ab')<sub>2</sub>片段、Fab'片段皆含有可變區，具有抗原結合活性。作為本發明之醫藥組合物中之有效成分的抗人類NGF抗體之抗原結合片段於某一態樣中，係抗人類NGF抗體之Fab片段、F(ab')<sub>2</sub>片段、或Fab'片段。又，於某一態樣中，作為本發明之醫藥組合物中之有效成分的抗人類NGF抗體之抗原結合片段係抗人類NGF抗體之Fab片段。進而，於某一態樣中，作為本發明之醫藥組合物中之有效成分的抗人類NGF抗體或其抗原結合片段係具有以下(a)及/或(b)之特徵之抗體或其抗原結合片段：

(a)包括包含序列編號3所示之胺基酸序列之重鏈片段及包含序列編號4所示之胺基酸序列之輕鏈的抗人類NGF抗體Fab片段；

(b)藉由(a)之抗人類NGF抗體Fab片段之轉譯後修飾而產生之抗人類

NGF抗體Fab片段。

【0034】 作為本發明之醫藥組合物中之有效成分的抗人類NGF抗體Fab片段於某一態樣中，係具有以下之特徵之Fab片段：

包括包含序列編號3所示之胺基酸序列之重鏈片段及包含序列編號4所示之胺基酸序列之輕鏈的抗人類NGF抗體Fab片段。

【0035】 關於作為本發明之醫藥組合物中之有效成分的抗人類NGF抗體Fab片段之例，可列舉後述實施例中所記載之h1f.6抗體。

【0036】 作為本發明之醫藥組合物中之有效成分的抗人類NGF抗體或其抗原結合片段可使用該領域中公知之方法，由業者容易地製作而成。

【0037】 例如，作為本發明之醫藥組合物中之有效成分的抗人類NGF抗體Fab片段可按照國際公開第2016/190263號之記載，或者根據其改良法製造。例如，可改變完全人類型抗人類NGF抗體1-15(N52D-A)-Fab'片段(國際公開第2013/022083號；於該文獻中亦稱作1-15(N52D-A)-Fab')，利用使用各種生物學活性試驗及物性試驗之抗體之篩選，以穩定且保持較高之中和活性之抗人類NGF抗體Fab片段之形式，獲得抗人類NGF抗體Fab片段。

【0038】 作為另一例，作為本發明之醫藥組合物中之有效成分的抗人類NGF抗體Fab片段可基於本說明書中所揭示之序列資訊，使用該領域中公知之方法，由業者容易地製作而得。例如，合成包含編碼抗人類NGF抗體Fab片段之重鏈片段之鹼基序列的聚核苷酸及包含編碼輕鏈之鹼基序列之聚核苷酸，連結於適當之表現載體。繼而，將該表現載體導入培養細胞中。最後可對該培養細胞進行培養而自培養上清液獲得單株Fab片段。關於此種聚核苷酸之合成方法或該聚核苷酸之向表現載體之導入、表現載

體之向培養細胞之導入、培養細胞之培養、Fab片段之純化等，可使用該領域中公知之各種方法進行，例如，可使用國際公開第2016/190263號中所記載之方法。

**【0039】** 作為包含編碼包含序列編號3所示之胺基酸序列之抗人類NGF抗體Fab片段之重鏈片段之鹼基序列的聚核苷酸，例如可列舉包含序列編號1所示之鹼基序列之聚核苷酸。又，作為包含編碼包含序列編號4所示之胺基酸序列之抗人類NGF抗體Fab片段之輕鏈之鹼基序列的聚核苷酸，例如可列舉包含序列編號2所示之鹼基序列之聚核苷酸。

**【0040】** 已知於使抗體以細胞表現之情形時，抗體於轉譯後接受修飾。作為轉譯後修飾之例，可列舉重鏈C末端之離胺酸之由羧胺酶所致之切斷、重鏈及輕鏈N末端之麩醯胺或麩醯胺酸之利用焦麩胺化的向焦麩胺酸之修飾、糖基化、氧化、脫醯胺化、糖化等，已知於各種抗體中，產生此種轉譯後修飾(J Pharm Sci 2008, 97: 2426-2447)。

**【0041】** 於作為本發明之醫藥組合物中之有效成分的抗人類NGF抗體Fab片段中，亦可包含藉由轉譯後修飾而產生之抗人類NGF抗體Fab片段。作為可藉由轉譯後修飾而產生之抗人類NGF抗體Fab片段之例，可列舉重鏈可變區N末端之經焦麩胺化之抗人類NGF抗體Fab片段。該領域中，已知此種N末端之利用焦麩胺化之轉譯後修飾不影響抗體之活性(Anal Biochem 2006, 348: 24-39)。

**【0042】** 例如，於作為本發明之醫藥組合物中之有效成分的抗人類NGF抗體Fab片段中，亦包含以下之抗人類NGF抗體Fab片段：

藉由包括包含序列編號3所示之胺基酸序列之重鏈片段及包含序列編號4中所示之胺基酸序列之輕鏈的抗人類NGF抗體Fab片段之轉譯後修飾

而產生之抗人類NGF抗體Fab片段。

**【0043】** 作為另一例，於作為本發明之醫藥組合物中之有效成分的抗人類NGF抗體Fab片段中，亦包含以下之抗人類NGF抗體Fab片段：

包括包含序列編號3之胺基酸編號1之麩醯胺經焦麩胺酸修飾之序列編號3所示之胺基酸序列之重鏈片段及包含序列編號4所示之胺基酸序列之輕鏈的抗人類NGF抗體Fab片段。

**【0044】** 作為進而另一例，於作為本發明之醫藥組合物中之有效成分的抗人類NGF抗體Fab片段中，亦包含以下之抗人類NGF抗體Fab片段：

包括包含序列編號3所示之胺基酸序列之重鏈片段及包含序列編號4所示之胺基酸序列之輕鏈的抗人類NGF抗體Fab片段、以及包括包含序列編號3之胺基酸編號1之麩醯胺經焦麩胺酸修飾之序列編號3所示之胺基酸序列之重鏈片段及包含序列編號4所示之胺基酸序列之輕鏈的抗人類NGF抗體Fab片段。

**【0045】** 作為本發明之醫藥組合物中之有效成分的抗人類NGF抗體或其抗原結合片段係與人類NGF結合。又，作為本發明之醫藥組合物中之有效成分的抗人類NGF抗體或其抗原結合片段具有對人類NGF之中和活性。作為測定抗人類NGF抗體或其抗原結合片段之對人類NGF之結合活性或中和活性之方法，可使用該領域中公知之各種方法進行，例如可使用國際公開第2016/190263號中所記載之方法。又，關於評價抗人類NGF抗體或其抗原結合片段之各種穩定性(例如熱穩定性、長期保存穩定性、高濃度穩定性)之方法，亦可使用國際公開第2016/190263號中所記載之方法，例如可使用利用以尺寸排除層析法所進行之保存中之凝集體形成之測

定之方法。

【0046】 為了對利用抗人類NGF抗體或其抗原結合片段所得之心房顫動抑制效果進行評價，可使用活體內(in vivo)形式之試驗。例如，可使用利用反映心房顫動之無菌性心包膜炎誘發犬心房顫動模型(J Am Coll Cardiol 1986, 8: 872-879)之心房顫動抑制效果試驗等，對抗人類NGF抗體或其抗原結合片段之in vivo中之心房顫動抑制效果進行評價。

【0047】 抗人類NGF抗體或其抗原結合片段可視需要進行純化後，按照慣例進行製劑化，用於抑制心房顫動。

【0048】 心房顫動為心跳過速性心律不整之一種，作為與心房顫動相關之疾病，可列舉心衰竭或腦梗塞。再者，於本說明書中所使用之「心房顫動」中，包含於胸部外科等手術後高頻度發生之術後心房顫動。

【0049】 於本說明書中，所謂「心房顫動之抑制」，係指抑制心房顫動，更具體而言，為包括於心房顫動之發生前應用本發明之醫藥組合物以預防心房顫動之發生，或者於心房顫動之發生後應用本發明之醫藥組合物以治療心房顫動之概念。即，本發明之用於抑制心房顫動之醫藥組合物可為用於預防心房顫動之醫藥組合物，亦可為用於治療心房顫動之醫藥組合物。進而，期待本發明之醫藥組合物對於抑制於胸部外科等手術後高頻度發生之術後心房顫動，即預防或治療術後心房顫動而言亦有效。故而，於某一態樣中，本發明之用於抑制心房顫動之醫藥組合物可為用於抑制術後心房顫動之醫藥組合物，於某一態樣中，本發明之用於抑制術後心房顫動之醫藥組合物可為用於預防術後心房顫動之醫藥組合物，亦可為用於治療術後心房顫動之醫藥組合物。

【0050】 本發明之醫藥組合物係包含藥學上容許之載體或添加劑

者。藥學上容許之載體或添加劑之種類並無特別限定，可使用業者周知之載體或添加劑。例如，作為可包含於本發明之醫藥組合物中之載體，可列舉注射用蒸餾水或生理鹽水等，作為可包含於本發明之醫藥組合物中之添加劑，可列舉等張劑、緩衝劑、防腐劑、濕潤劑、乳化劑、分散劑、穩定劑、或增溶劑等。

**【0051】** 本發明之醫藥組合物例如可藉由過濾器過濾、高壓蒸汽處理、乾熱處理、氧化乙烯氣體處理、紫外線照射、輻射線照射或殺菌劑之調配進行無菌化。又，本發明之醫藥組合物亦可製造無菌固體組合物，於使用前溶解或懸浮於無菌水或無菌注射用溶劑中使用。

**【0052】** 作為本發明之醫藥組合物之劑型之例，可列舉注射劑、點滴劑、特效性注射劑等非經口劑。又，本發明之醫藥組合物亦可為無菌之水性或非水性溶液劑、懸浮劑或乳濁劑。作為水性溶劑，例如可列舉注射用蒸餾水或生理鹽水等。作為非水性溶劑，例如可列舉如乙醇般之醇類。

**【0053】** 本發明之醫藥組合物之投予形態並無特別限定，例如可藉由對目標組織局部之脂肪組織(fat pad)內注射、肌內注射、皮下注射、或靜脈內注射等進行投予。本發明之醫藥組合物中所包含之抗人類NGF抗體或其抗原結合片段之投予量係根據患者之症狀之程度或年齡、所使用之製劑之劑型、投予形態、或抗體之結合力價等而不同，例如可使用0.001 mg/kg至100 mg/kg左右。又，可添加與此種投予量對應之量的本發明之抗人類NGF抗體或其抗原結合片段進行製劑化。

**【0054】** 本發明亦係關於一種用於製造用於抑制心房顫動之醫藥組合物的抗人類NGF抗體或其抗原結合片段之使用。又，本發明亦係關於一

種用於抑制心房顫動之抗人類NGF抗體或其抗原結合片段之使用。又，本發明亦係關於一種用於抑制心房顫動之抗人類NGF抗體或其抗原結合片段。進而，本發明亦係關於一種心房顫動之抑制方法，其包括將抗人類NGF抗體或其抗原結合片段之有效量投予至對象。再者，所謂「對象」，係需要其治療之人類或其他哺乳動物，作為某一態樣，係需要其治療之人類。本發明之抑制方法中之醫藥組合物之有效量可與該醫藥組合物中所包含之抗人類NGF抗體或其抗原結合片段之量相同。又，本發明之醫藥組合物可為投予至期望治療之部位、或與該區域鄰接之部位、尤其外科手術時之切開組織等目標組織、或者其附近而使用之醫藥組合物。例如，如上述所記載般，可藉由對目標組織局部之fat pad內注射、肌內注射、皮下注射等投予。又，包括抗人類NGF抗體或其抗原結合片段於目標組織局部滯留一定時間，較佳為168小時，進而較佳為96小時。

**【0055】** 對本發明進行了全面記載，但於此處提供為了獲得進一步理解而參照之特定實施例。但是，該等係以例示為目的，並不限定本發明。

#### [實施例]

**【0056】** 關於使用市售之套組或試劑等之部分，只要無特別說明，則按照隨附之操作流程進行實驗。

**【0057】** 抗人類NGF抗體Fab片段h1f.6(亦表記為h1f.6抗體)係使用藉由國際公開第2016/190263號之實施例1中所記載之方法製作而得者。將h1f.6抗體之重鏈片段之鹼基序列示於序列編號1，將由其編碼之胺基酸序列示於序列編號3。又，將h1f.6抗體之輕鏈之鹼基序列示於序列編號2，將由其編碼之胺基酸序列示於序列編號4。再者，於國際公開第

2016/190263號之實施例1中，記載有為了確認純化後之h1f.6抗體之轉譯後修飾而進行質量分析，結果為其大部分產生可認為N末端之焦麩胺化之峰值。

**【0058】**（實施例1：無菌性心包膜炎誘發犬心房顫動模型中之心房顫動抑制效果評價）

使用h1f.6抗體，對反映心房顫動之無菌性心包膜炎誘發犬心房顫動模型(J Am Coll Cardiol 1986, 8: 872-879)中之心房顫動之抑制效果進行評價。

**【0059】** 具體而言，設定溶劑(含有20 mM檸檬酸鈉、210 mM蔗糖、0.02%聚山梨糖醇酯80之水溶液(pH6))組及h1f.6抗體(每一個體之投予量為125 mg，投予檢體中抗體濃度為25 mg/mL)組各組5隻。對雄性比格犬(beagle)(Marshall BioResources Japan股份有限公司)靜脈內投予戊硫代巴比妥(thiopental)(田邊三菱製藥股份有限公司，Ravonal)1 mg/kg而實施導入麻醉後，迅速進行氣管插管，使用異氟烷(Mylan製藥股份有限公司，異氟烷吸入麻醉液「Pfizer」，麻醉濃度1.4~3.0%)及氧維持手術中之麻醉狀態(換氣次數10~15次/分鐘，換氣量11~20 mL/kg，呼氣末二氧化碳分壓30~38 mmHg)。於右第5肋間開胸後，切開心囊膜，於前右側自主神經群落(anterior right ganglionated plexi; ARGP)及下右側自主神經群落(inferior right ganglionated plexi; IRGP)附近之fat pad內分別各注射1.25 mL投予檢體。接著，將相對於1 g滑石(丸石製藥股份有限公司，滑石原粉「Maruishi」)以生理鹽水1.5 mL之比例添加溶混而得者於3×6 cm(右心房用，1片)及3×3 cm(左心房用，2片)之紗布上塗佈約2 g後，將右心房用之紗布留置於心臟，縫合心囊膜而關胸。其次，於左第5

肋間開胸後，切開心囊膜，於上左側自主神經群落 (superior left ganglionated plexi ; SLGP) 及下左側自主神經群落 (inferior left ganglionated plexi ; ILGP) 附近之 fat pad 內分別各注射 1.25 mL 投予檢體。接著，將左心房用之紗布留置於心臟，放置 5 小時後取出用於左右兩心房之紗布，將心囊內以生理鹽水洗淨後縫合心囊膜而關胸。手術結束 4 天後，於麻醉狀態下安裝體表心電圖測定用電極，於右心耳及右心房插入電極 (J 引線 (Boston Scientific 公司，Finline II sterox) 及 EPS (Electrophysiology Study，電生理學檢查) 導管 (6Fr)) 後，一面使用多種波動描記器 (日本光電工業股份有限公司) 及 PowerLab (AD Instruments 公司，ML870) 記錄誘發時心電圖，一面進行短陣快速起搏 (日本光電工業股份有限公司，Cardiac stimulator)。刺激條件為刺激電壓 9.9 V，刺激間隔 90 ms，刺激次數 20 發，刺激部位為右心房之心耳、低位側壁、高位側壁及自由壁 4 處，誘發次數設為各刺激部位各兩次。

**【0060】** 於對各個體進行刺激操作時測定心房顫動被誘發之頻度。溶劑組及 h1f.6 抗體組中之心房顫動誘發率 (% Induced) 之中央值分別為 25% 及 0% (算術平均值分別為 22.5% 及 5.0%)，h1f.6 抗體組相對於溶劑組於威爾科克森 (Wilcoxon) 之秩和檢驗中觀察到顯著降低 ( $p < 0.05$ ) (圖 1)。由該結果表示，h1f.6 抗體具有對心房顫動之抑制作用。

**【0061】** 由以上情況表示，以抗人類 NGF 抗體 Fab 片段作為有效成分之本發明之醫藥組合物可成為對於抑制心房顫動有用之醫藥品。

[產業上之可利用性]

**【0062】** 期待以抗人類 NGF 抗體或其抗原結合片段作為有效成分之本發明之醫藥組合物對於心房顫動之抑制有用。

[序列表非關鍵文字]

【0063】於以下之序列表之數字標題 <223> 中，記載「人工序列 (Artificial Sequence)」之說明。具體而言，序列表之序列編號1所示之鹼基序列為h1f.6抗體之重鏈片段之鹼基序列，序列表之序列編號3所示之胺基酸序列為由序列編號1編碼之重鏈片段之胺基酸序列。序列表之序列編號2所示之鹼基序列為h1f.6抗體之輕鏈之鹼基序列，序列表之序列編號4所示之胺基酸序列為由序列編號2編碼之輕鏈之胺基酸序列。

## 【序列表】

<110> 日商安斯泰來製藥股份有限公司

<120> 以抗人類NGF抗體或其抗原結合片段作為有效成分之用於抑制心房顫動之醫藥組合物

<130> A19004A00

<150> JP 2018-093616

<151> 2018-05-15

<160> 4

<170> PatentIn第3.5版

<210> 1

<211> 675

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> DNA編碼h1f.6重鏈片段

<400> 1

```

caggtgcagc tacagcagtg gggcgcagga ctgttgaagc cttcggagac cctgtccctc      60
acctgcgctg tctatggtgg gtccttcagt gtttactact ggagctgggt cgccagccc      120
ccagggaagg ggctggagtg gattggggaa atcgaccata gtggaagcac caacaacaac      180
ccgtccctca agagtcgagt caccatatca gtaggcacgt ccaagaacca gttctccctg      240
aagctgagct ctgtgaccgc cgcggacacg gctgtgtatt actgttcgag agatgggggc      300
cccgaatcgg ggatgggggc tttgatatc tggggccaag ggacaatggt caccgtctcc      360
tcagcctcca ccaagggcc atcgggtctc cccctggcac ctcctcaa gagcacctct      420
gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg      480

```

tcgtggaact caggcgcct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540  
 tcaggactct actcccttag tagcgtggg accgtgcct ccagcagctt gggcaccag 600  
 acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag 660  
 cccaaatctt gtgac 675

<210> 2  
 <211> 657  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> DNA編碼h1f.6輕鏈

<400> 2  
 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca ccctggaga gccggcctcc 60  
 atctcctgca ggtctagtc gagcctcctg catagtaatg gattcaacta tttgggttg 120  
 tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggcc 180  
 tccggggctc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac tctgaaaatc 240  
 agcagagtgg aggctgagga ttttggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 300  
 tacactttg gccaggggac caagctggag atcaaacgga ctgtggctgc accatctgtc 360  
 ttcatctcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgctg 420  
 ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctcaa 480  
 tcgggtaact ccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 540  
 agcagcacc tgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 600  
 gtcaccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt 657

<210> 3  
 <211> 225

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; hIL6重鏈片段

&lt;400&gt; 3

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu  
 1            5                    10                    15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr  
           20                    25                    30

Tyr Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
           35                    40                    45

Gly Glu Ile Asp His Ser Gly Ser Thr Asn Asn Asn Pro Ser Leu Lys  
           50                    55                    60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Gly Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
 65                    70                    75                    80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser  
           85                    90                    95

Arg Asp Gly Gly Pro Glu Ser Gly Met Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly  
           100                    105                    110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
           115                    120                    125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala  
           130                    135                    140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 145                    150                    155                    160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
                   165                    170                    175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
                   180                    185                    190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His  
                   195                    200                    205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys  
                   210                    215                    220

Asp  
 225

<210> 4  
 <211> 219  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> hlf.6輕鏈

<400> 4

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly  
 1                    5                    10                    15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
                   20                    25                    30

Asn Gly Phe Asn Tyr Leu Gly Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro  
 50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala  
 85 90 95

Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu  
 115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe  
 130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln  
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
 165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu  
 180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser  
 195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210 215



202003039

## 【發明摘要】

### 【中文發明名稱】

以抗人類NGF抗體或其抗原結合片段作為有效成分之用於抑制心房顫動之醫藥組合物

### 【英文發明名稱】

PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR SUPPRESSING ATRIAL FIBRILLATION WITH ANTI-HUMAN NGF ANTIBODY OR ANTIGEN BINDING FRAGMENT THEREOF AS ACTIVE INGREDIENTS

### 【中文】

本發明在於提供一種用於抑制心房顫動之新穎醫藥組合物，其具有不影響正常心臟功能之作用機制。

本發明提供一種以抗人類NGF抗體或其抗原結合片段作為有效成分之醫藥組合物。

### 【英文】

A novel pharmaceutical composition for suppressing atrial fibrillation that has an action mechanism that does not affect the normal heart function is provided. A pharmaceutical composition including an anti-human NGF antibody or antigen binding fragment thereof as an active ingredient is provided.

### 【指定代表圖】

無

### 【代表圖之符號簡單說明】

無

## 【發明申請專利範圍】

### 【第1項】

一種用於抑制心房顫動之醫藥組合物，其包含抗人類NGF抗體或其抗原結合片段、及藥學上容許之載體。

### 【第2項】

如請求項1之醫藥組合物，其中抗人類NGF抗體之抗原結合片段為抗人類NGF抗體Fab片段。

### 【第3項】

如請求項2之醫藥組合物，其中抗人類NGF抗體Fab片段係選自由以下之(a)及/或(b)所組成之群中：

(a)包括包含序列編號3所示之胺基酸序列之重鏈片段及包含序列編號4所示之胺基酸序列之輕鏈的抗人類NGF抗體Fab片段；

(b)藉由(a)之抗人類NGF抗體Fab片段之轉譯後修飾而產生的抗人類NGF抗體Fab片段。

### 【第4項】

如請求項3之醫藥組合物，其含有：包括包含序列編號3所示之胺基酸序列之重鏈片段及包含序列編號4所示之胺基酸序列之輕鏈的抗人類NGF抗體Fab片段。

### 【第5項】

如請求項3之醫藥組合物，其含有：藉由包括包含序列編號3所示之胺基酸序列之重鏈片段及包含序列編號4所示之胺基酸序列之輕鏈的抗人類NGF抗體Fab片段之轉譯後修飾而產生的抗人類NGF抗體Fab片段。

### 【第6項】

如請求項5之醫藥組合物，其含有：包括包含序列編號3之胺基酸編號1之麩醯胺經焦麩胺酸修飾之序列編號3所示之胺基酸序列之重鏈片段及包含序列編號4所示之胺基酸序列之輕鏈的抗人類NGF抗體Fab片段。

**【第7項】**

如請求項3之醫藥組合物，其含有：包括包含序列編號3所示之胺基酸序列之重鏈片段及包含序列編號4所示之胺基酸序列之輕鏈的抗人類NGF抗體Fab片段，以及包括包含序列編號3之胺基酸編號1之麩醯胺經焦麩胺酸修飾之序列編號3所示之胺基酸序列之重鏈片段及包含序列編號4所示之胺基酸序列之輕鏈的抗人類NGF抗體Fab片段。

**【第8項】**

如請求項1至7中任一項之醫藥組合物，其中心房顫動為術後心房顫動。

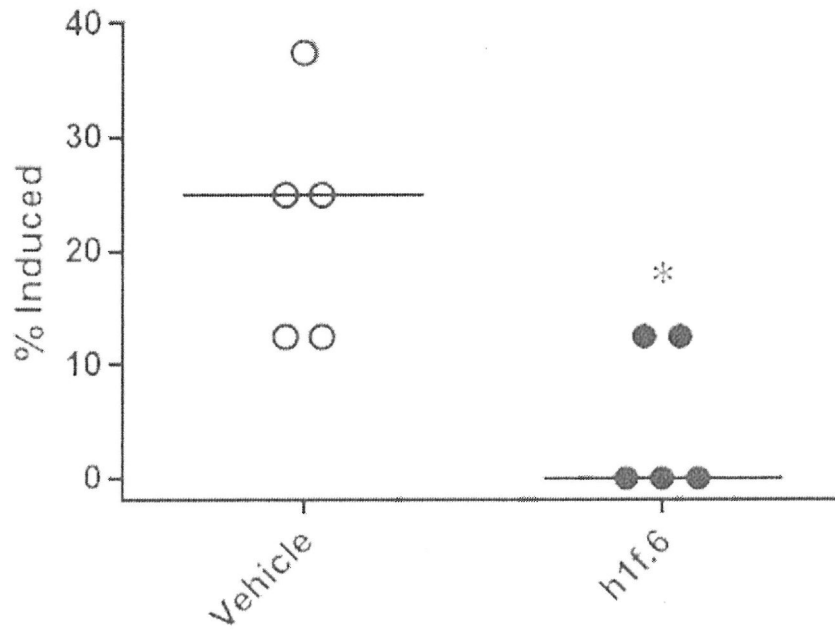
**【第9項】**

一種抗人類NGF抗體或其抗原結合片段之用途，其係用於製造用於抑制心房顫動之醫藥組合物。

**【第10項】**

一種抗人類NGF抗體或其抗原結合片段，其用於抑制心房顫動。

## 【發明圖式】



【圖1】