



(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 202233837 A

(43) 公開日：中華民國 111 (2022) 年 09 月 01 日

(21) 申請案號：110141087

(22) 申請日：中華民國 110 (2021) 年 11 月 04 日

(51) Int. Cl. :

*C12N15/113 (2010.01)**A61K31/713 (2006.01)**A61P9/10 (2006.01)**A61P9/00 (2006.01)**A61P3/06 (2006.01)*

(30) 優先權：2020/11/05 美國

63/110,309

(71) 申請人：美商安進公司 (美國) AMGEN INC. (US)

美國

(72) 發明人：索恩 維尼 SOHN, WINNIE (US)；瓊斯 柴克瑞 JONES, ZACHARY (US)；卡薩

洪 赫麗娜 KASSAHUN, HELINA (US)

(74) 代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：52 項 圖式數：4 共 96 頁

(54) 名稱

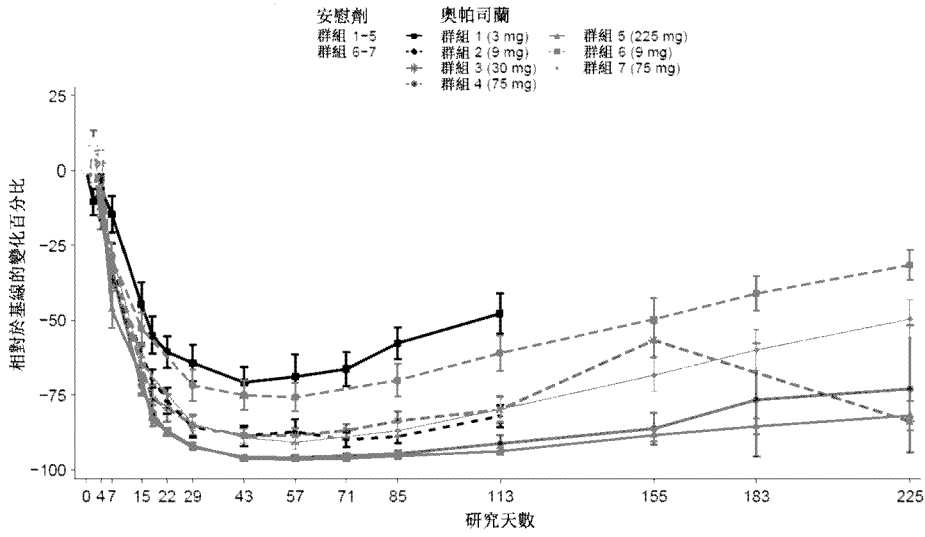
用靶向 LPA 的 RNAi 構建體治療動脈粥樣硬化性心血管疾病之方法

(57) 摘要

本發明關於用於使用靶向 LPA 基因的 RNAi 構建體治療或預防動脈粥樣硬化性心血管疾病和與脂蛋白(a) (Lp(a)) 水平升高相關的其他病症之方法，該 LPA 基因編碼脂蛋白元(a)，即 Lp(a) 顆粒的組分。特別地，本發明關於用於降低 Lp(a) 水平升高的患者之血清 Lp(a) 水平和降低其心血管事件風險之方法，該等方法包括根據特定的劑量方案投與靶向 LPA 的 RNAi 構建體。還揭露了用於該等方法中的包含該等靶向 LPA 的 RNAi 構建體之藥物組成物。

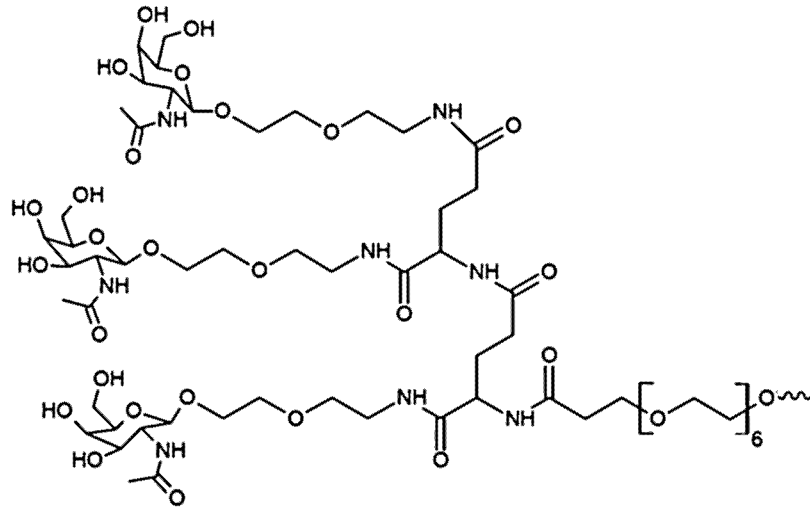
The present invention relates to methods for treating or preventing atherosclerotic cardiovascular disease and other conditions associated with elevated levels of lipoprotein (a) (Lp(a)) using RNAi constructs targeting the LPA gene, which encodes apolipoprotein(a), a component of Lp(a) particles. In particular, the present invention relates to methods for reducing serum Lp(a) levels and reducing the risk of cardiovascular events in patients with elevated levels of Lp(a) comprising administering an LPA-targeted RNAi construct according to specific dosage regimens. Pharmaceutical compositions comprising the LPA-targeted RNAi constructs for use in the methods are also disclosed.

指定代表圖：



【圖 2】

特徵化學式：



【發明摘要】

【中文發明名稱】 用靶向LPA的RNAi構建體治療動脈粥樣硬化性心血管疾病之方法

【英文發明名稱】 METHODS FOR TREATING ATHEROSCLEROTIC
CARDIOVASCULAR DISEASE WITH LPA-TARGETED RNAi CONSTRUCTS

【中文】

本發明關於用於使用靶向LPA基因的RNAi構建體治療或預防動脈粥樣硬化性心血管疾病和與脂蛋白(a) (Lp(a)) 水平升高相關的其他病症之方法，該LPA基因編碼脂蛋白(a)，即Lp(a)顆粒的組分。特別地，本發明關於用於降低Lp(a)水平升高的患者之血清Lp(a)水平和降低其心血管事件風險之方法，該等方法包括根據特定的劑量方案投與靶向LPA的RNAi構建體。還揭露了用於該等方法中的包含該等靶向LPA的RNAi構建體之藥物組成物。

【英文】

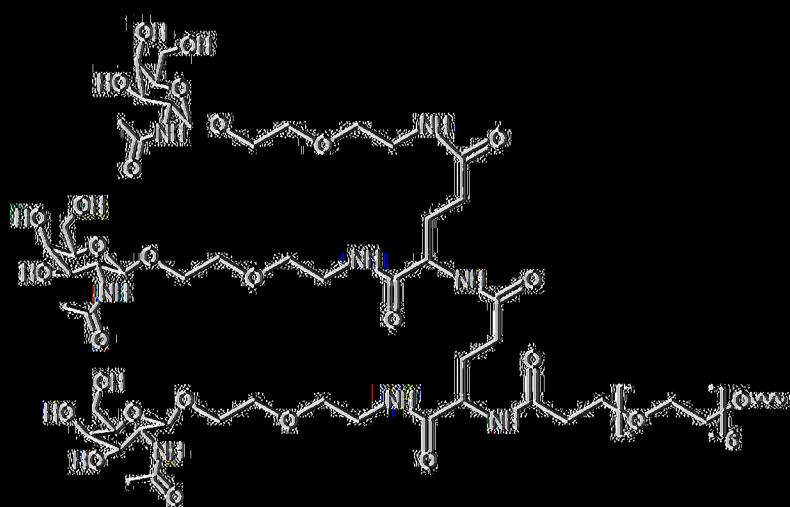
The present invention relates to methods for treating or preventing atherosclerotic cardiovascular disease and other conditions associated with elevated levels of lipoprotein (a) (Lp(a)) using RNAi constructs targeting the LPA gene, which encodes apolipoprotein(a), a component of Lp(a) particles. In particular, the present invention relates to methods for reducing serum Lp(a) levels and reducing the risk of cardiovascular events in patients with elevated levels of Lp(a) comprising administering an LPA-targeted RNAi construct according to specific dosage regimens.

Pharmaceutical compositions comprising the *LPA*-targeted RNAi constructs for use in the methods are also disclosed.

〔指定代表圖〕 圖2

〔代表圖之符號簡單說明〕 無

〔特徵化學式〕



【發明說明書】

【中文發明名稱】 用靶向LPA的RNAi構建體治療動脈粥樣硬化性心血管疾病之方法

【英文發明名稱】 METHODS FOR TREATING ATHEROSCLEROTIC
CARDIOVASCULAR DISEASE WITH LPA-TARGETED RNAi CONSTRUCTS

【技術領域】

【0001】 本發明關於用於治療動脈粥樣硬化性心血管疾病和與升高的脂蛋白(a) (Lp(a)) 相關的其他病症之藥物組成物和方法。特別地，本發明關於藉由根據特定的劑量方案投與靶向LPA的RNAi構建體來降低Lp(a)升高的患者之Lp(a)的血清水平，並降低心血管事件諸如心血管死亡、心肌梗塞、中風和冠狀動脈血管重建的風險之方法。

【先前技術】

【0002】 儘管廣泛使用了低密度脂蛋白 (LDL) 降低療法，但動脈粥樣硬化性心血管疾病仍然非常普遍，並且仍然係世界範圍內的最高死亡原因。儘管LDL降低療法降低了嚴重心臟事件的風險，但具有低LDL水平的一些患者遇到的殘餘心血管風險意味著心血管病理具有其他機制。在過去十年中，來自流行病學研究和薈萃分析、孟德爾隨機化研究和全基因組關聯研究的令人信服的證據顯示，血清Lp(a)濃度升高與冠狀動脈疾病和動脈粥樣硬化相關障礙的較高風險相關 (Clarke等人, N. Engl. J. Med. [新英格蘭醫學雜誌], 第361卷: 2518-2528, 2009 ; Kamstrup等人, JAMA [美國醫學會雜誌], 第301卷: 2331-2339, 2009 ; Nordestgaard

等人, *European Heart Journal* [歐洲心臟雜誌], 第31卷: 2844-2853, 2010; Helgadottir 等人, *J. Am. Coll. Cardiol* [美國心臟病學會雜誌], 第60卷: 722-729, 2012; Thanassoulis 等人, *J. Am. Coll. Cardiol.* [美國心臟病學會雜誌], 第55卷: 2491-2498, 2010; Kamstrup 等人, *J. Am. Coll. Cardiol.* [美國心臟病學會雜誌], 第63卷: 470-477, 2014; Kral 等人, *Journal of Cardiology* [心臟病學雜誌], 第118卷: 656-661, 2016; Thanassoulis 等人, *J. Lipid Res.* [脂質研究雜誌], 第57卷: 917-924, 2016; Tsimikas 等人, *J. Am. Coll. Cardiol.* [美國心臟病學會雜誌], 第69卷: 692-711, 2017)。特別地, Lp(a)水平與冠狀動脈疾病、心肌梗塞、中風、周邊血管疾病和主動脈瓣狹窄之間的聯繫已經在若干個遺傳和觀察研究中描述 (Schmidt 等人, *J. Lipid Res.* [脂質研究雜誌], 第57卷: 1339-1359, 2016中綜述)。已經注意到, 此風險關係係持續的, 並且Lp(a)水平越高影響越大。在校正其他脂質參數後, 該關係仍然存在 (Emerging Risk Factors Collaboration [新興風險因子協作], *JAMA* [美國醫學會雜誌], 第302卷: 412-423, 2009)。

【0003】 Lp(a)係由LDL顆粒和糖蛋白脂蛋白元(a) (apo(a)) 組成的低密度脂蛋白, 其藉由二硫鍵與LDL顆粒的脂蛋白元B連接 (Schmidt 等人, 如上)。Apo(a)由LPA基因編碼, 並且幾乎只在靈長類動物 (包括人) 中表現。Apo(a)表現出與纖維蛋白溶酶原的同源性, 並且由於該基因中的大小多態性而以各種同種型存在, 這是由不同數量的kringle-IV 2型 (KIV-2) 結構域重複序列引起的 (參見 Kronenberg和Utermann, *J. Intern. Med.* [內科雜誌], 第273卷: 6-30, 2013)。已經觀察到apo(a)同種型的大小與Lp(a)顆粒的血漿水平之間存在負相關 (Sandholzer 等人, *Hum. Genet.* [人類遺傳學], 第86卷: 607-614, 1991)。Lp(a)含有促炎性氧化磷

脂，該等促炎性氧化磷脂有助於其致動脈粥樣硬化作用（Tsimikas等人, *J. Am. Coll. Cardiol.* [美國心臟病學會雜誌], 第63卷: 1724-1734, 2014）。

【0004】 高血漿Lp(a)濃度係遺傳定義的，保持在穩定水平，不能藉由習慣改變（飲食、運動或其他環境因子）控制，並且不能藉由任何當前可用的脂質降低藥物有效控制。目前，沒有批准的療法指示可以通過降低Lp(a)來降低心血管事件的風險。使用前蛋白轉化酶枯草桿菌蛋白酶/kexin 9型（PCSK9）抑制劑菸鹼酸或米泊美生（mipomersen）觀察到Lp(a)中度降低（約20%-30%）（Santos等人, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* [動脈硬化、血栓形成和血管生物學], 第35卷: 689-699, 2015；Yeang等人, *Curr. Opin. Lipidol.* [脂質學的最新觀點], 第26卷: 169-178, 2015；和Landray等人, *N. Engl. J. Med.* [新英格蘭醫學雜誌], 第371卷: 203-212, 2014）。雖然血液成分分離術有效降低了Lp(a)，但目前僅在少數國家有限地使用（Julius, *J. Cardiovasc. Dev. Dis.* [心血管發育疾病雜誌], 第5卷: 27-37, 2018）。此外，其為一種侵入性的、非常昂貴的程序，需要頻繁訪視，這使得其不能作為需要終身療法的受試者的長期治療（Khan等人, *Eur. Heart J.* [歐洲心臟病雜誌], 第38卷: 1561-1569, 2017；Roeseler等人, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* [動脈硬化、血栓形成和血管生物學], 第36卷: 2019-2027, 2016；Leebmann等人, *Circulation* [循環], 第128卷: 2567-2576, 2013; Safarova等人, *Atheroscler. Suppl.* [動脈粥樣硬化增刊], 第14卷: 93-99, 2013）。

【0005】 已經開發出一種靶向apo(a)信使RNA轉錄物（AKCEA-APO(a)-LRx；也稱為ISIS 681257和TQJ230）的反義寡核苷酸，並且其目前正在進行臨床研究（Graham等人, *J Lipid Res.* [脂質研究雜誌], 第57卷: 340-351, 2016中綜述）。當在第1、3、5、8、15和22天以10 mg、20 mg或40 mg的劑量向基線Lp(a)水平為

75 nmol/L或更高的健康受試者投與時，此分子據報導在第36天使Lp(a)濃度分別平均降低了66%、80%和92%，並且在第113天分別平均降低了39%、53%和58%（Viney等人, *Lancet* [柳葉刀], 第388卷: 2239-2253, 2016）。在隨後的2期研究中，當以20 mg、40 mg或60 mg的劑量每4週向基線Lp(a)水平為150 nmol/L或更高的已確診心血管疾病的患者投與一次時，在第25週，AKCEA-APO(a)-LRx使患者之Lp(a)水平分別平均降低了35%、56%和72%（Tsimikas等人, *New England Journal of Medicine* [新英格蘭醫學雜誌], 第382卷: 244-255, 2020）。正在進行3期心血管結果試驗，其中此分子以80 mg的月劑量投與（ClinicalTrials.gov識別字NCT 04023552）。

【0006】然而，本領域仍需要新治療劑，該等新治療劑有效地降低Lp(a)濃度持續延長的持續時間以使得低劑量低頻率投與方案能夠治療和預防動脈粥樣硬化性心血管疾病。

【發明內容】

【0007】本發明部分基於靶向LPA的RNAi構建體，特別是奧帕司蘭（olpasiran）的治療方案之鑒定，該RNAi構建體用於有效降低循環Lp(a)水平以治療動脈粥樣硬化性心血管疾病。因此，在一些實施方式中，本發明提供用於降低有需要的患者之血清或血漿Lp(a)水平之方法，該等方法包括以約9 mg至約675 mg的劑量以至少8週的給藥間隔向該患者投與本文所述之LPA RNAi構建體。在一些此類實施方式中，投與LPA RNAi構建體的患者被診斷出心血管疾病或具有發展心血管疾病的風險，該心血管疾病諸如冠狀動脈疾病、頸動脈疾病、周邊動脈疾病、心肌梗塞、腦血管疾病、中風、主動脈瓣狹窄、穩定型或不穩定型心絞

痛、心房顫動、心臟衰竭、高脂血症、雜合子家族性高膽固醇血症或純合子家族性高膽固醇血症。該患者可能有心肌梗塞病史或家族史和/或被診斷出急性冠狀動脈綜合症。在其他實施方式中，投與該LPA RNAi構建體的患者被診斷出慢性腎病。

【0008】 在某些實施方式中，本發明提供了用於治療、減少或預防有需要的患者之動脈粥樣硬化，或者治療、減少或預防有需要的患者之心血管疾病之方法。在此類實施方式中，該等方法包括以約9 mg至約675 mg的劑量以至少8週的給藥間隔向該患者投與本文所述之LPA RNAi構建體。欲用本發明之方法治療、改善、減少或預防的心血管疾病可以包括冠狀動脈疾病、頸動脈疾病、周邊動脈疾病、心肌梗塞、腦血管疾病、中風、主動脈瓣狹窄、穩定型或不穩定型心絞痛、心房顫動、心臟衰竭、高脂血症、雜合子家族性高膽固醇血症或純合子家族性高膽固醇血症。

【0009】 本發明還包括用於降低患有動脈粥樣硬化性心血管疾病的患者之心血管事件的風險之方法。在一些實施方式中，該等方法包括以約9 mg至約675 mg的劑量以至少8週的給藥間隔向該患者投與本文所述之LPA RNAi構建體。該心血管事件可為嚴重心血管事件，諸如心血管死亡、非致死性心肌梗塞、非致死性中風或因不穩定型心絞痛住院。在一些實施方式中，該心血管事件可為嚴重不良肢體事件，諸如急性肢體缺血、大截肢或因局部缺血進行周邊血管重建。在某些實施方式中，該心血管事件係心血管死亡、心肌梗塞、中風和/或冠狀動脈血管重建。欲投與該LPA RNAi構建體的患有動脈粥樣硬化性心血管疾病的患者可能有冠狀動脈血管重建史、冠狀動脈旁路移植術史、診斷出冠狀動脈疾病、診斷出動脈粥樣硬化性腦血管疾病、診斷出周邊動脈疾病和/或有心肌梗塞史。在一個實施方式中，欲投與該LPA RNAi構建體的患者最近經歷過心肌梗塞事件，例如該患者在第一次投與該LPA RNAi構建體之前的1年內經歷過心肌梗

塞。在另一個實施方式中，欲投與該LPA RNAi構建體的患者因急性冠狀動脈綜合症或不穩定型心絞痛住院。

【0010】 欲根據本發明之方法投與該LPA RNAi構建體的患者具有升高的Lp(a)血清或血漿水平。在一些實施方式中，患者在第一次投與該LPA RNAi構建體之前血清或血漿Lp(a)水平為約70 nmol/L或更高。在其他實施方式中，患者在第一次投與該LPA RNAi構建體之前血清或血漿Lp(a)水平為約150 nmol/L或更高。在某些實施方式中，患者在第一次投與該LPA RNAi構建體之前血清或血漿Lp(a)水平為約175 nmol/L或更高。在某些其他實施方式中，患者在第一次投與該LPA RNAi構建體之前血清或血漿Lp(a)水平為約200 nmol/L或更高。

【0011】 在本發明方法之一些實施方式中，欲投與該LPA RNAi構建體的患者正在接受脂質降低療法，例如以降低患者之LDL-C水平。該脂質降低療法可為PCSK9抑制劑，諸如PCSK9拮抗劑單株抗體（例如依洛尤單抗（evolocumab）、阿利庫單抗（alirocumab））、他汀（例如阿托伐他汀（atorvastatin）、西立伐他汀（cerivastatin）、氟伐他汀（fluvastatin）、洛伐他汀（lovastatin）、美伐他汀（mevastatin）、匹伐他汀（pitavastatin）、普伐他汀（pravastatin）、瑞舒伐他汀（rosuvastatin）、辛伐他汀（simvastatin））、膽固醇吸收抑制劑（例如依澤替米貝（ezetimibe））、苯哌多酸（bempedoic acid）、菸鹼酸（nicotinic acid）（例如菸鹼酸（niacin））、纖維酸（例如吉非貝琪（gemfibrozil）、非諾貝特（fenofibrate））、膽汁酸螯合劑（例如鎔膽胺、考來替泊（colestipol）、考來維侖（colesevelam））、LDL血液成分分離術或其組合。在該等和其他實施方式中，該患者在第一次投與該LPA RNAi構建體之前可以具有約100 mg/dL或更低或約70 mg/dL或更低的血清LDL-C水平。

【0012】 在本發明方法之某些實施方式中，每12週一次或每3個月一次向患者投與固定劑量的該LPA RNAi構建體。在一些此類實施方式中，該固定劑量

可為約10 mg至約225 mg、約75 mg至約225 mg、約50 mg至約100 mg或約150 mg至約225 mg。在一個實施方式中，以約10 mg的固定劑量每12週一次或每3個月一次向該患者投與該LPA RNAi構建體。在另一個實施方式中，以約75 mg的固定劑量每12週一次或每3個月一次向該患者投與該LPA RNAi構建體。在又另一個實施方式中，以約150 mg的固定劑量每12週一次或每3個月一次向該患者投與該LPA RNAi構建體。在仍另一個實施方式中，以約225 mg的固定劑量每12週一次或每3個月一次向該患者投與該LPA RNAi構建體。

【0013】 在本發明方法之某些其他實施方式中，每24週一次或每6個月一次向患者投與固定劑量的該LPA RNAi構建體。在一些此類實施方式中，該固定劑量可為約225 mg至約675 mg、約225 mg至約450 mg或約200 mg至約300 mg。在一些實施方式中，以約225 mg的固定劑量每24週一次或每6個月一次向該患者投與該LPA RNAi構建體。在其他實施方式中，以約300 mg的固定劑量每24週一次或每6個月一次向該患者投與該LPA RNAi構建體。在某些實施方式中，以約450 mg的固定劑量每24週一次或每6個月一次向該患者投與該LPA RNAi構建體。在某些其他實施方式中，以約675 mg的固定劑量每24週一次或每6個月一次向該患者投與該LPA RNAi構建體。

【0014】 根據本發明方法向患者投與LPA RNAi構建體大幅降低了患者之血漿或血清Lp(a)持續延長的時間段。例如，在本發明方法之一些實施方式中，投與該LPA RNAi構建體使該患者之血清或血漿Lp(a)水平與該患者之基線血清或血漿Lp(a)水平相比降低超過80%持續至少12週、至少16週或至少24週。在本發明方法之其他實施方式中，投與該LPA RNAi構建體使該患者之血清或血漿Lp(a)水平與該患者之基線血清或血漿Lp(a)水平相比降低超過90%持續至少12週、至少16週或至少24週。在某些實施方式中，根據本發明方法向患者投與LPA RNAi構建體使患者之血漿或血清Lp(a)水平降低至約100 nmol/L或更低。在一些實施方

式中，根據本發明方法向患者投與LPA RNAi構建體使患者之血漿或血清Lp(a)水平降低至約75 nmol/L或更低。在其他實施方式中，根據本發明方法向患者投與LPA RNAi構建體使患者之血漿或血清Lp(a)水平降低至約50 nmol/L或更低。

【0015】 在本文所揭露方法的任何實施方式中，投與患者之該LPA RNAi構建體可為包含有義股和反義股的雙股RNA分子，諸如siRNA分子，其中該反義股包含序列與LPA mRNA序列互補的區域。較佳的是，該有義股包含與該反義股的序列充分地互補以形成長度為約15至約30個鹼基對的雙鏈體區的序列。在本發明方法之某些實施方式中，向患者投與的該LPA RNAi構建體包含有義股和反義股，該等股中每一個的長度均為約19至約23個核苷酸，其中該反義股包含與LPA mRNA序列互補的序列，並且該有義股包含與該反義股的序列互補的序列。在一個此種實施方式中，該LPA RNAi構建體的有義股和反義股的長度可以各自為21個核苷酸，並且該等股可以彼此雜交以形成長度為21個鹼基對的雙鏈體區，使得該RNAi構建體具有兩個平端。在另一個此種實施方式中，該LPA RNAi構建體的有義股和反義股的長度可以各自為19個核苷酸，並且該等股可以彼此雜交以形成長度為19個鹼基對的雙鏈體區，使得該RNAi構建體具有兩個平端。

【0016】 在本發明方法之一些實施方式中，向患者投與的該LPA RNAi構建體另外包含具有去唾液酸糖蛋白受體配位基的靶向部分，其中該靶向部分與該有義股，例如與該有義股的5'端共價附接。該靶向部分可以包含三價GalNAc部分，諸如具有本文所述之結構1結構的部分。在某些實施方式中，根據本發明之方法向患者投與的該LPA RNAi構建體包含含有SEQ ID NO: 1的序列的有義股和含有SEQ ID NO: 2的序列的反義股。在一些實施方式中，該LPA RNAi構建體包含具有SEQ ID NO: 3的序列或由其組成的有義股和具有SEQ ID NO: 4的序列或由其組成的反義股。在某些較佳的實施方式中，該LPA RNAi構建體的有義股和/或反義股包含一或多個經修飾核苷酸。在此類實施方式中，該LPA RNAi構建體

包含具有根據SEQ ID NO: 5的經修飾核苷酸的序列或由其組成的有義股和具有根據SEQ ID NO: 6的經修飾核苷酸的序列或由其組成的反義股。在較佳的實施方式中，根據本發明方法向患者投與的該LPA RNAi構建體係奧帕司蘭。

【0017】 本發明還提供了包含LPA RNAi構建體諸如奧帕司蘭的藥物組成物，該等藥物組成物用於本文所述之本發明方法中。該等藥物組成物可以包含一或多種藥學上可接受的稀釋劑、載體或賦形劑。在某些實施方式中，該等藥物組成物包含LPA RNAi構建體（例如奧帕司蘭）、磷酸鉀緩衝液和氯化鈉，其中該組成物的pH為約6.6至約7.0，較佳的是約6.8。可以將本文所述之任何藥物組成物併入注射裝置，諸如預填充注射筒、自動注射器、注射泵、體上注射器和注射筆中，以用於根據本文所述之方法投與（例如皮下投與）於患者。在一些實施方式中，根據本發明方法向患者投與該LPA RNAi構建體（例如奧帕司蘭）或包含該LPA RNAi構建體（例如奧帕司蘭）的藥物組成物藉由皮下注射進行。在此類實施方式中，注射體積為約2 mL或更小或約1 mL或更小，例如約1 mL。

【0018】 特別考慮了LPA RNAi構建體在本文揭露的任何方法中或用於製備供根據本文揭露的任何方法投與的藥物中之用途。例如，本發明包括一種用於供治療、減少或預防有需要的患者之動脈粥樣硬化或心血管疾病用的方法中之LPA RNAi構建體，其中該方法包括以約9 mg至約675 mg的劑量以至少8週的給藥間隔向該患者投與該LPA RNAi構建體。本發明還包括一種用於供降低患者之血清或血漿Lp(a)水平用的方法中之LPA RNAi構建體，其中該方法包括以約9 mg至約675 mg的劑量以至少8週的給藥間隔向該患者投與該LPA RNAi構建體。在某些實施方式中，本發明提供了一種用於供降低患有動脈粥樣硬化性心血管疾病的患者之心血管事件的風險用的方法中之LPA RNAi構建體，其中該方法包括以約9 mg至約675 mg的劑量以至少8週的給藥間隔向該患者投與該LPA RNAi構建體。

【0019】 本發明還涵蓋LPA RNAi構建體在製備用於治療、減少或預防有需要的患者之動脈粥樣硬化或心血管疾病的藥物中之用途，其中該藥物以約9 mg至約675 mg的劑量以至少8週的給藥間隔投與，或經配製來以該方式投與。在一些實施方式中，本發明提供了LPA RNAi構建體在製備用於降低患者之血清或血漿Lp(a)水平的藥物中之用途，其中該藥物以約9 mg至約675 mg的劑量以至少8週的給藥間隔投與，或經配製來以該方式投與。在其他實施方式中，本發明提供了LPA RNAi構建體在製備用於降低患有動脈粥樣硬化性心血管疾病的患者之心血管事件的風險的藥物中之用途，其中該藥物以約9 mg至約675 mg的劑量以至少8週的給藥間隔投與，或經配製來以該方式投與。

【圖式簡單說明】

【0020】 [圖1]示意性地描繪了LPA RNAi構建體奧帕司蘭之結構。按5'至3'方向列出的上股係有義股（SEQ ID NO: 5），並且按3'至5'方向列出的下股係反義股（SEQ ID NO: 6）。黑色圓圈代表具有2'-O-甲基修飾的核苷酸，白色圓圈代表具有2'-去氧-2'-氟修飾的核苷酸，並且灰色圓圈代表藉由3'-3'鍵（即，倒置）與相鄰核苷酸連接的去氧腺苷核苷酸。連接圓圈的灰色線代表磷酸二酯鍵，而連接圓圈黑色線代表硫代磷酸酯鍵。具有所描繪結構的三價GalNAc部分由R1表示，並且藉由硫代磷酸酯鍵與有義股的5'端共價附接。

【0021】 [圖2]係顯示在群組1至群組7中的每一個中，在單次皮下給與指定劑量的安慰劑或奧帕司蘭後經研究天數的人受試者的血漿Lp(a)水平相對於基線的變化百分比之線圖。基線值係篩選Lp(a)和第1天給藥前Lp(a)水平的平均值。如果僅1個值可用，則將該值用作基線值。

【0022】 [圖3A-3F]顯示了對於以10 mg (圖3A)、30 mg (圖3B)、50 mg (圖3C)、75 mg (圖3D)、150 mg (圖3E)和225 mg (圖3F)的劑量每季度(Q3M)給與奧帕司蘭，基線Lp(a)水平 ≥ 150 nmol/L的受試者的以基線的百分比形式表示的預計Lp(a)水平。每個圖中的水平線表示Lp(a)水平相對於基線降低80%。預計Lp(a)水平基於10,000名受試者的PK/PD模型模擬。預計數據以中值(實線)形式顯示，其中95%預計區間用陰影表示。圖3D中的實心圓圈代表來自實例1中描述的群組7之觀察數據。

【0023】 [圖4A-4F]顯示了對於以10 mg (圖4A)、75 mg (圖4B)、150 mg (圖4C)、225 mg (圖4D)、450 mg (圖4E)和675 mg (圖4F)的劑量每半年(Q6M)給與奧帕司蘭，基線Lp(a)水平 ≥ 150 nmol/L的受試者的以基線的百分比形式表示的預計Lp(a)水平。每個圖中的水平線表示Lp(a)水平相對於基線降低80%。預計Lp(a)水平基於10,000名受試者的PK/PD模型模擬。預計數據以中值(實線)形式顯示，其中95%預計區間用陰影表示。圖4B中的實心圓圈代表來自實例1中描述的群組7之觀察數據。

【實施方式】

相關申請的交叉引用

【0024】 本申請要求2020年11月5日提交的美國臨時申請案號63/110,309之權益，該申請藉由引用以其整體特此併入。

【0025】 據報導，Lp(a)係引起各種形式心血管疾病的風險因子，該心血管疾病包括心肌梗塞、中風、周邊動脈疾病和主動脈狹窄。Lp(a)濃度由基因決定，並且與LDL膽固醇(LDL-C)濃度不同，不能藉由飲食、鍛煉或其他生活方式變化來改變。目前，還沒有選擇性靶向apo(a)並大幅降低Lp(a)水平的批准療法。本

發明提供了靶向從編碼apo(a)蛋白的LPA基因轉錄的mRNA的RNAi構建體之新劑量方案，以持續抑制Lp(a)水平來治療或預防動脈粥樣硬化和相關的心血管病症。觀察到一種特定的靶向LPA的RNAi構建體奧帕司蘭在單次給藥後使基線Lp(a)水平 ≥ 70 nmol/L的人受試者的Lp(a)濃度降低71%至96%，其中在9 mg或更高的單次劑量下最大降低百分比 $> 90\%$ 並且作用持續超過6個月（參見實例1）。具體而言，單次劑量低至9 mg的奧帕司蘭使人受試者的Lp(a)水平降低超過80%，持續超過3個月，而75 mg和225 mg的單次奧帕司蘭劑量將Lp(a)水平抑制超過80%，持續超過六個月。奧帕司蘭在該等劑量下也具有良好的耐受性，並且沒有治療相關的嚴重不良事件（參見實例1）。在此劑量範圍內對Lp(a)的穩健且持續抑制係出乎意料的，因為基於在食蟹猴（*cynomolgus monkey*）中評價的奧帕司蘭劑量的異速生長縮放，預計需要超過8倍的劑量（例如75 mg相比於9 mg）才能使Lp(a)降低80%持續一個月。

【0026】鑒於在人受試者中使用靶向apo(a)的其他核酸治療劑報告的結果，人受試者中用奧帕司蘭獲得的Lp(a)抑制的深度和持續時間也令人驚訝。AKCEA-APO(a)-LRx係一種靶向apo(a)的反義寡核苷酸，據報告在治療六個月後使人受試者的Lp(a)水平從35%降低至80%。然而，分別需要每週20 mg劑量或每個月60 mg劑量的AKCEA-APO(a)-LRx使Lp(a)水平實現80%降低和72%降低（參見Tsimikas等人, *New England Journal of Medicine* [新英格蘭醫學雜誌], 第382卷: 244-255, 2020）。相比之下，如本文所述，單次劑量的奧帕司蘭使Lp(a)水平降低超過80%持續超過六個月，從而使得可以較低劑量和較長給藥間隔投與奧帕司蘭，諸如每3個月一次或每6個月一次。因此，本發明方法在治療人動脈粥樣硬化性心血管疾病方面提供了顯著改進，包括例如患者依從性改進、藥物成本降低以及注射體積和次數減少。因此，在某些實施方式中，本發明提供了用於治療、預

防或降低有需要的患者之發展心血管疾病的風險之方法，該等方法包括根據本文所述之特定劑量方案向患者投與有效量的LPA RNAi構建體。

【0027】 動脈粥樣硬化係其中由脂肪物質、膽固醇、鈣、纖維蛋白和細胞廢產物組成的斑塊在體內不同動脈中堆積的疾病。隨著時間的推移，斑塊變硬並使動脈管腔變窄，從而限制血液流向體內的器官和組織。基於受動脈粥樣硬化斑塊積聚影響的特定動脈，動脈粥樣硬化可以導致發展多種其他疾病，諸如心血管疾病、腦血管疾病或慢性腎病。例如當斑塊在冠狀動脈中堆積並且部分阻斷血液流向心臟時，會發生冠狀動脈疾病，從而可能引起心絞痛和心肌梗塞。向腦供應富含氧氣的血液的頸動脈中動脈粥樣硬化斑塊的堆積，引起頸動脈疾病，並且如果血流減少或被阻斷，可能引起暫時性腦缺血或中風。當斑塊在向肢體和骨盆供應血液的主動脈中堆積時，會發生周邊動脈疾病，並且可能引起腹主動脈瘤和肢體缺血，從而引起麻木和疼痛。當動脈粥樣硬化斑塊在腎動脈中積聚時，會發展慢性腎病，並且可能隨著時間的推移引起腎功能下降，從而導致腎衰竭。Lp(a)係一種致動脈粥樣硬化的脂蛋白，其水平升高特別與冠狀動脈疾病、周邊動脈疾病、心肌梗塞和中風的風險增加相關。本發明方法可用於藉由降低循環Lp(a)水平來治療、減少或預防患者之動脈粥樣硬化。因此，在一些實施方式中，本發明提供了用於治療、減少或預防有需要的患者之動脈粥樣硬化之方法，該等方法包括根據本文所述之任何劑量方案向患者投與有效量的LPA RNAi構建體。在一個實施方式中，本發明包括本文所述之任何LPA RNAi構建體用於製備用以治療、減少或預防有需要的患者之動脈粥樣硬化的藥物之用途，其中該藥物根據本文所述之任何劑量方案投與或經配製來根據本文所述之任何劑量方案投與。在另一個實施方式中，本發明提供了一種LPA RNAi構建體，諸如本文所述之任何LPA RNAi構建體，該LPA RNAi構建體用於供治療、減少或預防有需要的患者之動脈

粥樣硬化用之方法中，其中該方法包括根據本文所述之任何劑量方案投與LPA RNAi構建體。

【0028】 在某些實施方式中，本發明還提供了用於治療、減少、改善或預防有需要的患者之心血管疾病之方法，該等方法包括根據本文所述之任何劑量方案向患者投與有效量的LPA RNAi構建體。在一些實施方式中，本發明包括本文所述之任何LPA RNAi構建體用於製備用以治療、減少或預防有需要的患者之心血管疾病的藥物之用途，其中該藥物根據本文所述之任何劑量方案投與或經配製來根據本文所述之任何劑量方案投與。在其他實施方式中，本發明提供了一種LPA RNAi構建體，諸如本文所述之任何LPA RNAi構建體，該LPA RNAi構建體用於供治療、減少或預防有需要的患者之心血管疾病用之方法中，其中該方法包括根據本文所述之任何劑量方案投與LPA RNAi構建體。心血管疾病係一類影響血管或心臟的疾病和病症，該類疾病和病症包括但不限於心肌梗塞、心臟衰竭、暫時性腦缺血、中風（缺血性和出血性）、動脈粥樣硬化、冠狀動脈疾病、周邊血管疾病（例如周邊動脈疾病）、動脈瘤（例如腹主動脈瘤）、頸動脈疾病、腦血管疾病、穩定型或不穩定型心絞痛、心房顫動、高脂血症、家族性高膽固醇血症（雜合子和純合子）、易損斑塊和主動脈瓣狹窄。因此，在某些實施方式中，欲根據本發明方法治療的患者被診斷出心血管疾病或具有發展心血管疾病的風險。具有發展心血管疾病的風險的患者可能有心血管疾病家族史和/或可能具有一或多種心血管疾病風險因子。此類風險因子包括但不限於高血壓、非HDL膽固醇水平升高、甘油三酯水平升高、糖尿病、肥胖或吸煙。動脈粥樣硬化和心血管疾病的診斷可以使用本領域技術者已知的多種方法進行，並且可以包括以下中的一或多種：患者病史和家族史、患者之風險因子、身體檢查、測量各種生物標誌物諸如脂質水平（例如LDL-C、甘油三酯、Lp(a)、糖化血紅素A1C、C反應蛋白、脂蛋白元B、心肌肌鈣蛋白T等）的血液測試、心電圖、心臟超音波圖、壓

力測試、胸部X射線、電腦斷層掃描（CT）掃描（例如心臟CT掃描）和血管造影。

【0029】 在一些實施方式中，根據本發明方法治療、減少、改善或預防的心血管疾病係冠狀動脈疾病。冠狀動脈疾病的體征和症狀可能包括胸痛（例如心絞痛）、呼吸短促、心肌梗塞、一或多根冠狀動脈狹窄、手臂或肩部疼痛或不適、虛弱、暈眩、噁心以及冠狀動脈旁路和/或經皮冠狀動脈介入史。在相關實施方式中，根據本發明方法治療、減少、改善或預防的心血管疾病係心肌梗塞。

【0030】 在其他實施方式中，根據本發明方法治療、減少、改善或預防的心血管疾病係腦血管疾病，特別是動脈粥樣硬化性腦血管疾病。腦血管疾病係指如下障礙，其中腦中區域由於一或多根腦血管功能障礙或併發症而導致暫時或永久受缺血或出血影響。腦血管疾病包括但不限於暫時性腦缺血、中風（缺血性或出血性）、頸動脈狹窄、椎動脈狹窄、顱內動脈狹窄、動脈瘤和血管畸形。腦血管疾病的體征和症狀可能包括暈眩，噁心，嘔吐，異常嚴重的頭痛，意識模糊，定向障礙，記憶喪失，手臂、腿部或面部（尤其是一側）麻木或虛弱，言語異常或含糊不清，理解困難，視力喪失或視力障礙，失去平衡、協調或行走能力，頸動脈狹窄，以及暫時性腦缺血和/或頸動脈血管重建史。在一個實施方式中，根據本發明方法治療、減少、改善或預防的心血管疾病係中風。

【0031】 在某些其他實施方式中，根據本發明方法治療或預防的心血管疾病係周邊動脈疾病。周邊動脈疾病的體征和症狀可能包括行走時腿部或手臂疼痛或肌肉痙攣（跛行），腿部麻木或虛弱，小腿或足部發冷，腳趾、足部或腿部不癒合的潰瘍，腿部顏色改變，足部和腿部脫毛或毛髮生長減慢，腳趾甲生長減慢，腿部皮膚發亮，腿部或足部無脈搏或脈搏弱，踝肱指數 ≤ 0.90 ，以及腹部主動脈瘤、腹主動脈治療（經皮或手術）和/或周邊動脈血管重建（經皮或手術）史。

【0032】 在一些實施方式中，根據本發明方法投與LPA RNAi構建體用於治療動脈粥樣硬化和其他心血管疾病和病症。如本文所用，術語「治療(treatment或treat)」係指向患有或被診斷出動脈粥樣硬化或其他心血管疾病、具有動脈粥樣硬化或其他心血管疾病的症狀、具有發展動脈粥樣硬化或其他心血管疾病的風險、或具有動脈粥樣硬化或其他心血管疾病傾向的患者施加或投與LPA RNAi構建體以醫治、治癒、緩解、減輕、改變、改善或改進動脈粥樣硬化或其他心血管疾病、動脈粥樣硬化或其他心血管疾病的一或多種症狀、發展動脈粥樣硬化或其他心血管疾病的風險或者動脈粥樣硬化或其他心血管疾病的傾向。術語「治療」涵蓋患者之疾病的任何改進，包括減慢或停止患者之動脈粥樣硬化或其他心血管疾病的進展，降低動脈粥樣硬化或其他心血管疾病症狀的數量或嚴重程度，或增加患者無動脈粥樣硬化或其他心血管疾病症狀的頻率或持續時間。如本文所用，術語「患者」係指哺乳動物，包括人，且可與術語「受試者」互換使用。在較佳的實施方式中，患者係人患者。

【0033】 在某些較佳的實施方式中，與投與LPA RNAi構建體之前患者之循環Lp(a)水平（例如基線Lp(a)水平/濃度）相比，或與未接受LPA RNAi構建體的患者之循環Lp(a)水平/濃度相比，根據本發明之任何方法向患者投與LPA RNAi構建體降低了患者之循環Lp(a)水平或濃度(例如血清或血漿Lp(a)水平/濃度)。因此，在一些實施方式中，本發明提供了一種用於降低有需要的患者之血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）之方法，該方法包括根據本文所述之任何劑量方案向患者投與LPA RNAi構建體。在一個實施方式中，本發明包括本文所述之任何LPA RNAi構建體用於製備用以降低有需要的患者之血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）的藥物之用途，其中該藥物根據本文所述之任何劑量方案投與或經配製來根據本文所述之任何劑量方案投與。在另一個實施方式中，本發明提供了一種LPA RNAi構建體，諸如本文所述之任何LPA RNAi構建體，該LPA RNAi構建體

用於供降低有需要的患者之血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）用之方法中，其中該方法包括根據本文所述之任何劑量方案投與LPA RNAi構建體。在一些實施方式中，需要降低血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）的患者係被診斷出心血管疾病，諸如上述任何心血管疾病或具有該心血管疾病的風險的患者。在一些此類實施方式中，該心血管疾病係冠狀動脈疾病、頸動脈疾病、周邊動脈疾病、心肌梗塞、腦血管疾病、中風、主動脈瓣狹窄、穩定型或不穩定型心絞痛、心房顫動、心臟衰竭、高脂血症、雜合子家族性高膽固醇血症或純合子家族性高膽固醇血症。在一個特定的實施方式中，需要降低血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）的患者有心肌梗塞史或有心肌梗塞家族史。

【0034】 在某些實施方式中，需要降低血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）的患者被診斷出急性冠狀動脈綜合症。急性冠狀動脈綜合症係指與流向心臟的血液突然減少相關的病症，通常由動脈粥樣硬化斑塊破裂和冠狀動脈部分或完全形成血栓引起。急性冠狀動脈綜合症包括急性心肌缺血或梗塞，諸如非ST段抬高心肌梗塞（NSTEMI）和ST段抬高MI（STEMI），以及不穩定型心絞痛。即使急性冠狀動脈綜合症最初不會引起梗塞，其也是發生梗塞高風險的體征，並且必須及時診斷和治療。急性冠狀動脈綜合症的體征和症狀典型地突然開始，並且可能包括胸痛（心絞痛）或不適，疼痛從胸部蔓延至肩部、手臂、上腹部、背部、頸部或下巴，噁心或嘔吐，消化不良，呼吸短促，突然大量出汗，頭昏眼花、暈眩或昏厥，異常或無法解釋的疲勞，以及不安或憂慮的感覺。

【0035】 在某些實施方式中，需要降低血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）的患者被診斷出慢性腎病。慢性腎病通常係指腎臟逐漸受損和功能喪失。隨著慢性腎病隨著時間的推移而惡化，患者可能具有增加的其他心血管疾病風險。在一個實施方式中，欲根據本發明方法治療的患者患有3級慢性腎病。腎病的分級由估計的腎小球濾過率（eGFR）確定，eGFR係基於血液中肌酐的量的值。3級慢性

腎病的特徵係eGFR為約30 mL/min/1.73 m²至約59 mL/min/1.73 m²，並且可能伴有一些初始症狀，諸如手腳腫脹、背痛和排尿比正常多或少。患有3級慢性腎病的患者還可能具有其他健康相關問題，諸如高血壓、貧血和骨骼疾病。在另一個實施方式中，欲根據本發明方法治療的患者患有4級慢性腎病。患有4級慢性腎病的患者之eGFR為約15 mL/min/1.73 m²至約29 mL/min/1.73 m²，並且典型地表現出如下症狀，如手腳腫脹、背痛和排尿比正常多或少。

【0036】 在一些實施方式中，與投與RNAi構建體之前患者之血清或血漿中Lp(a)水平（或濃度）（例如基線Lp(a)水平或濃度）相比，或與未接受RNAi構建體的患者之血清或血漿中Lp(a)水平（或濃度）相比，根據本發明方法向患者投與LPA RNAi構建體使患者之血清或血漿中Lp(a)水平（或濃度）降低至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約91%、至少約92%、至少約93%、至少約94%或至少約95%。在該等和其他實施方式中，在投與LPA RNAi構建體（例如投與單次劑量的LPA RNAi構建體）後，患者之循環Lp(a)水平或濃度降低持續至少4週、至少6週、至少8週、至少10週、至少12週、至少14週、至少16週、至少18週、至少20週、至少22週、至少24週、至少26週、至少28週、至少30週、至少32週、至少36週或至少48週。

【0037】 在本發明方法之一個實施方式中，與患者之基線血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）相比，投與LPA RNAi構建體（例如單次劑量的LPA RNAi構建體）使患者之血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）降低超過50%持續至少12週。基線血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）係指投與LPA RNAi構建體之前患者之血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）（即，治療前水平或濃度）。基線水平/濃度可為在患者接受LPA RNAi構建體之前獲得的單一測量值，或者基線水平/濃度可為在患者接受LPA RNAi構建體之前獲得的兩個或更多個測量值的平均值。在本發明方法之

另一個實施方式中，與患者之基線血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）相比，投與LPA RNAi構建體（例如單次劑量的LPA RNAi構建體）使患者之血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）降低超過50%持續至少24週。在本發明方法之又另一個實施方式中，與患者之基線血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）相比，投與LPA RNAi構建體（例如單次劑量的LPA RNAi構建體）使患者之血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）降低超過80%持續至少12週。在本發明方法之仍另一個實施方式中，與患者之基線血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）相比，投與LPA RNAi構建體（例如單次劑量的LPA RNAi構建體）使患者之血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）降低超過80%持續至少24週。在本發明方法之某些實施方式中，與患者之基線血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）相比，投與LPA RNAi構建體（例如單次劑量的LPA RNAi構建體）使患者之血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）降低超過80%持續至少32週。在本發明方法之一些實施方式中，與患者之基線血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）相比，投與LPA RNAi構建體（例如單次劑量的LPA RNAi構建體）使患者之血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）降低超過90%持續至少12週。在本發明方法之其他實施方式中，與患者之基線血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）相比，投與LPA RNAi構建體（例如單次劑量的LPA RNAi構建體）使患者之血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）降低超過90%持續至少16週。

【0038】 在某些實施方式中，根據本發明方法向患者投與LPA RNAi構建體使患者之血清或血漿中的絕對Lp(a)水平（或濃度）降低至約150 nmol/L或更低、約125 nmol/L或更低、約100 nmol/L或更低、約75 nmol/L或更低、約70 nmol/L或更低、約65 nmol/L或更低、約60 nmol/L或更低、約55 nmol/L或更低、約50 nmol/L、約45 nmol/L或更低、約40 nmol/L或更低、約35 nmol/L或更低或者約30 nmol/L或更低。在一個實施方式中，根據本發明方法向患者投與LPA RNAi構建體使患者之血漿或血清中的絕對Lp(a)水平（或濃度）降低至約125 nmol/L或更

低。在另一個實施方式中，根據本發明方法向患者投與LPA RNAi構建體使患者之血漿或血清中的絕對Lp(a)水平（或濃度）降低至約100 nmol/L或更低。在另一個實施方式中，根據本發明方法向患者投與LPA RNAi構建體使患者之血漿或血清中的絕對Lp(a)水平（或濃度）降低至約75 nmol/L或更低。在又另一個實施方式中，根據本發明方法向患者投與LPA RNAi構建體使患者之血漿或血清中的絕對Lp(a)水平（或濃度）降低至約50 nmol/L或更低。

【0039】 儘管較佳的是以顆粒濃度（例如nmol/L）為單位測量Lp(a)水平/濃度（參見，例如Wilson等人, *Journal of Clinical Lipidology* [臨床脂質學雜誌], 第13卷: 374-392, 2019），但也可以以品質濃度（例如mg/dL）為單位測量Lp(a)水平。在此類實施方式中，根據本發明方法向患者投與LPA RNAi構建體可以使患者之血清或血漿中的Lp(a)水平（或濃度）降低至約100 mg/dL或更低、約90 mg/dL或更低、約80 mg/dL或更低、約70 mg/dL或更低、約60 mg/dL或更低、約50 mg/dL或更低、約45 mg/dL或更低、約40 mg/dL或更低、約35 mg/dL或更低、約30 mg/dL或更低、約25 mg/dL或更低、約20 mg/dL或更低或者約15 mg/dL或更低。

【0040】 血漿或血清樣本中的Lp(a)水平可以使用市售套組（kit）測量，諸如來自Merckodia AB（瑞典烏普薩拉（Uppsala, Sweden））的Lp(a)ELISA測定套組、來自蘭德克斯實驗室有限公司（Randox Laboratories Ltd.）（英國克拉姆林（Crumlin, United Kingdom））的Lp(a)免疫濁度測定，或來自羅氏有限公司（F. Hoffmann-La Roche Ltd.）（瑞士巴塞爾（Basel, Switzerland））的Tina-quant® Lp(a) Gen. 2測定，或使用本領域已知的其他方法測量，諸如Marcovina和Albers, *J. Lipid Res.* [脂質研究雜誌], 第57卷: 526-537, 2016所述之方法。在某些實施方式中，Lp(a)水平使用免疫濁度測定測量，該免疫濁度測定被標準化以獨立於apo(a)同種型大小檢測和定量Lp(a)顆粒。在該等和其他實施方式中，將用於測量Lp(a)水平

的測定針對IFCC參考材料SRM2B進行標準化 (nmol/L) (Marcovina等人, Clin. Chem. [臨床化學], 第46卷: 1946-1967, 2000)。

【0041】 如上所述，循環中Lp(a)水平升高與心血管疾病風險增加相關。因此，本發明方法還可以用於降低Lp(a)的血清或血漿水平升高的患者之心血管事件的風險。因此，在某些實施方式中，本發明提供了用於降低患有動脈粥樣硬化性心血管疾病的患者之心血管事件風險之方法，該等方法包括根據本文所述之任何劑量方案向患者投與有效量的LPA RNAi構建體。在一個實施方式中，本發明包括本文所述之任何LPA RNAi構建體用於製備用以降低患有動脈粥樣硬化性心血管疾病的患者之心血管事件風險的藥物之用途，其中該藥物根據本文所述之任何劑量方案投與或經配製來根據本文所述之任何劑量方案投與。在另一個實施方式中，本發明提供了一種LPA RNAi構建體，諸如本文所述之任何LPA RNAi構建體，該LPA RNAi構建體用於供降低患有動脈粥樣硬化性心血管疾病的患者之心血管事件風險用之方法中，其中該方法包括根據本文所述之任何劑量方案投與LPA RNAi構建體。

【0042】 在一些實施方式中，心血管事件係以下一或多種：心血管死亡、心肌梗塞、中風（例如缺血性中風）、冠狀動脈血管重建、因不穩定型心絞痛住院、因心臟衰竭住院、周邊血管重建、急性肢體缺血、暫時性腦缺血、因局部缺血大截肢、腦血管血管重建和全因死亡。在某些實施方式中，該心血管事件係心血管死亡、心肌梗塞、中風（例如缺血性中風）和/或冠狀動脈血管重建。在一些此類實施方式中，該心血管事件係心血管死亡、心肌梗塞和/或冠狀動脈血管重建。在其他此類實施方式中，該心血管事件係心肌梗塞和/或冠狀動脈血管重建。在其他實施方式中，該心血管事件係選自以下的嚴重心血管事件：心血管死亡、非致死性心肌梗塞、非致死性中風和因不穩定型心絞痛住院。在仍其他實施方式中，該心血管事件係選自以下的嚴重不良肢體事件：急性肢體缺血、大截肢

或因局部缺血進行周邊血管重建。在一個實施方式中，該心血管事件係心血管死亡。在另一個實施方式中，該心血管事件係非致死性心肌梗塞。在又另一個實施方式中，該心血管事件係非致死性中風（例如缺血性中風）。在仍另一個實施方式中，該心血管事件係冠狀動脈血管重建。

【0043】 在某些實施方式中，與未接受LPA RNAi構建體的患者相比，根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者之上述任何心血管事件的相對風險降低為至少15%、至少20%、至少25%或至少30%。在一個實施方式中，與未接受LPA RNAi構建體的患者相比，根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者之心血管死亡、心肌梗塞和缺血性中風中之任一種的相對風險降低為約15%至約25%。在另一個實施方式中，與未接受LPA RNAi構建體的患者相比，根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者之心血管死亡、心肌梗塞和缺血性中風中之任一種的相對風險降低為約20%至約30%。

【0044】 在某些其他實施方式中，與未接受LPA RNAi構建體的患者相比，根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者之上述任何心血管事件的絕對風險降低為至少1.5%、至少1.8%、至少2.0%、至少2.2%、至少2.5%、至少2.8%、至少3.0%、至少3.2%或至少3.5%。在一個實施方式中，根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者之心血管死亡、心肌梗塞和缺血性中風中之任一種的絕對風險降低為約1.5%至約3.0%。在另一個實施方式中，根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者之心血管死亡、心肌梗塞和缺血性中風中之任一種的絕對風險降低為約2.0%至約3.5%。在又另一個實施方式中，根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者之心血管死亡、心肌梗塞和缺血性中風中之任一種的絕對風險降低為約2.0%至約3.0%。

【0045】 在任何上述實施方式中，根據本發明方法投與LPA RNAi構建體以減少心血管事件的患者可能有冠狀動脈血管重建史、冠狀動脈旁路移植術史、

診斷出冠狀動脈疾病、診斷出動脈粥樣硬化性腦血管疾病、診斷出周邊動脈疾病和/或有心肌梗塞史。在某些實施方式中，根據本發明方法投與LPA RNAi構建體以減少心血管事件的患者經歷過心肌梗塞。例如，在一些此類實施方式中，根據本發明方法投與LPA RNAi構建體以減少心血管事件的患者在接受LPA RNAi構建體的第一次投與一年、兩年、三年、四年或五年內經歷過心肌梗塞。在一個此種實施方式中，根據本發明方法投與LPA RNAi構建體以減少心血管事件的患者在接受LPA RNAi構建體的第一次投與一年內經歷過心肌梗塞。在某些其他實施方式中，根據本發明方法投與LPA RNAi構建體以減少心血管事件的患者因為急性冠狀動脈綜合症或不穩定型心絞痛正住院或目前已被收治入院。

【0046】 在某些較佳的實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者係循環Lp(a)水平或濃度升高（例如血清或血漿Lp(a)水平或濃度升高）的患者。欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者之基線循環Lp(a)水平或濃度可為約50 nmol/L或更高、約55 nmol/L或更高、約60 nmol/L或更高、約65 nmol/L或更高、約70 nmol/L或更高、約75 nmol/L或更高、約100 nmol/L或更高、約125 nmol/L或更高、約150 nmol/L或更高、約175 nmol/L或更高、約200 nmol/L或更高、約225 nmol/L或更高或者約250 nmol/L或更高。在一個實施方式中，如果患者在第一次投與LPA RNAi構建體之前血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）為約70 nmol/L或更高，則根據本發明方法向患者投與LPA RNAi構建體。在另一個實施方式中，如果患者在第一次投與LPA RNAi構建體之前血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）為約100 nmol/L或更高，則根據本發明方法向患者投與LPA RNAi構建體。在又另一個實施方式中，如果患者在第一次投與LPA RNAi構建體之前血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）為約125 nmol/L或更高，則根據本發明方法向患者投與LPA RNAi構建體。在仍另一個實施方式中，如果患者在第一次投與LPA RNAi構建體之前血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）為約150 nmol/L或更高，則根

據本發明方法向患者投與LPA RNAi構建體。在一些實施方式中，如果患者在第一次投與LPA RNAi構建體之前血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）為約175 nmol/L或更高，則根據本發明方法向患者投與LPA RNAi構建體。在其他實施方式中，如果患者在第一次投與LPA RNAi構建體之前血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）為約200 nmol/L或更高，則根據本發明方法向患者投與LPA RNAi構建體。在某些其他實施方式中，如果患者在第一次投與LPA RNAi構建體之前血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）為約225 nmol/L或更高，則根據本發明方法向患者投與LPA RNAi構建體。

【0047】 在以品質濃度單位測量循環Lp(a)水平（或濃度）的不太較佳的實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者之循環Lp(a)水平（或濃度）可為約30 mg/dL或更高、約35 mg/dL或更高、約40 mg/dL或更高、約45 mg/dL或更高、約50 mg/dL或更高、約55 mg/dL或更高、約60 mg/dL或更高、約65 mg/dL或更高、約70 mg/dL或更高、約75 mg/dL或更高、約90 mg/dL或更高或者約100 mg/dL或更高。在一個實施方式中，如果患者在第一次投與LPA RNAi構建體之前血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）為約50 mg/dL或更高，則向患者投與本發明之RNAi構建體。在另一個實施方式中，如果患者在第一次投與LPA RNAi構建體之前血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）為約60 mg/dL或更高，則向患者投與本發明之RNAi構建體。在又另一個實施方式中，如果患者在第一次投與LPA RNAi構建體之前血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）為約70 mg/dL或更高，則向患者投與本發明之RNAi構建體。在仍另一個實施方式中，如果患者在第一次投與LPA RNAi構建體之前血清或血漿Lp(a)水平（或濃度）為約90 mg/dL或更高，則向患者投與本發明之RNAi構建體。

【0048】 如上文所述，血漿或血清樣本中的Lp(a)水平（或濃度）可以使用市售套組測量，諸如來自Mercodia AB（瑞典烏普薩拉（Uppsala, Sweden））的

Lp(a)ELISA測定套組、來自蘭德克斯實驗室有限公司 (Randox Laboratories Ltd.) (英國克拉姆林 (Crumlin, United Kingdom)) 的Lp(a)免疫濁度測定，或來自羅氏有限公司 (F. Hoffmann-La Roche Ltd.) (瑞士巴塞爾 (Basel, Switzerland)) 的Tina-quant® Lp(a) Gen. 2測定，或使用本領域已知的其他方法測量，諸如Marcovina和Albers, J. Lipid Res. [脂質研究雜誌], 第57卷: 526-537, 2016所述之方法。在某些實施方式中，Lp(a)水平使用免疫濁度測定測量，該免疫濁度測定被標準化以獨立於apo(a)同種型大小檢測和定量Lp(a)顆粒。在該等和其他實施方式中，將用於測量Lp(a)水平的測定針對IFCC參考材料SRM2B進行標準化(nmol/L) (Marcovina等人, Clin. Chem. [臨床化學], 第46卷: 1946-1967, 2000)。

【0049】 在一些實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者之血清低密度脂蛋白膽固醇 (LDL-C) 水平可在正常範圍內或者通過用一或多種脂質降低療法控制在正常範圍內。例如，在一個實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者在第一次投與LPA RNAi構建體之前血清LDL-C水平為約100 mg/dL或更低。在另一個實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者在第一次投與LPA RNAi構建體之前血清LDL-C水平為約70 mg/dL或更低。在相關實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者正在接受一或多種脂質降低療法。脂質降低療法包括但不限於PCSK9抑制劑，諸如PCSK9拮抗劑單株抗體 (例如依洛尤單抗、阿利庫單抗) 和靶向PCSK9的siRNA (例如因可力斯 (inclisiran))、他汀 (例如阿托伐他汀、西立伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、美伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、瑞舒伐他汀、辛伐他汀)、膽固醇吸收抑制劑 (例如依澤替米貝)、苯哌多酸、菸鹼酸 (nicotinic acid) (例如菸鹼酸 (niacin))、纖維酸 (例如吉非貝琪、非諾貝特)、膽汁酸螯合劑 (例如鎔膽胺、考來替泊、考來維侖)、LDL血液成分分離術或其組合。在某些實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者正在接受選自由以下組

成之群組的脂質降低療法：PCSK9拮抗劑單株抗體、他汀、依澤替米貝、苯哌多酸或其組合。

【0050】 在某些實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者在第一次投與LPA RNAi構建體之前血清甘油三酯水平低於約500 mg/dL。例如，患者在基線時（例如在第一次投與LPA RNAi構建體之前）的血清甘油三酯水平可能低於約400 mg/dL、低於約375 mg/dL、低於約350 mg/dL、低於約325 mg/dL、低於約300 mg/dL、低於約275 mg/dL、低於約250 mg/dL、低於約225 mg/dL、低於約200 mg/dL、低於約175 mg/dL或低於約150 mg/dL。在一個實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者在第一次投與LPA RNAi構建體之前血清甘油三酯水平低於約400 mg/dL。在另一個實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者在第一次投與LPA RNAi構建體之前血清甘油三酯水平為約50 mg/dL至約400 mg/dL。在又另一個實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者在第一次投與LPA RNAi構建體之前血清甘油三酯水平為約150 mg/dL至約375 mg/dL。

【0051】 可以使用來自患者之血液樣本用標準脂質測量組測量以下的測量值：LDL-C、甘油三酯、總膽固醇、高密度脂蛋白膽固醇（HDL-C）、極低密度脂蛋白膽固醇（VLDL-C）和其他脂質生物標誌物，諸如脂蛋白元A1和脂蛋白元B。在一些實施方式中，患者在取樣之前空腹至少9小時，較佳的是12小時。因此，上述脂質生物標誌物（例如LDL-C、甘油三酯）的水平/濃度可為空腹水平。

【0052】 在一些實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者不具有指示未治療或控制不佳的2型糖尿病的糖化血紅素A1C水平。例如根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者在基線時（例如在第一次投與LPA RNAi構建體之前）的糖化血紅素A1C水平低於約10.0%、低於約9.5%、低於約9.0%、低於約8.5%、低於約8.0%、低於約7.5%、低於約7.0%、低於約6.5%、低

於約6.0%或低於約5.5%。在一個實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者在第一次投與LPA RNAi構建體之前糖化血紅素A1C水平低於約8.5%。在另一個實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者在第一次投與LPA RNAi構建體之前糖化血紅素A1C水平低於約7.0%。

【0053】 在其他實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者不具有指示不受控的高血壓的收縮壓和/或舒張壓。例如，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者在基線時（例如在第一次投與LPA RNAi構建體之前）的平均靜息收縮壓低於約180 mmHg、低於約160 mmHg、低於約140 mmHg、低於約135 mmHg、低於約130 mmHg、低於約125 mmHg或低於約120 mmHg，並且在基線時（例如在第一次投與LPA RNAi構建體之前）的平均靜息舒張壓低於約120 mmHg、低於約110 mmHg、低於約100 mmHg、低於約90 mmHg、低於約85 mmHg或低於約80 mmHg。在一個實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者在第一次投與LPA RNAi構建體之前在靜止狀態下的平均收縮壓低於約180 mmHg並且平均舒張壓低於約110 mmHg。在另一個實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者在第一次投與LPA RNAi構建體之前在靜止狀態下的平均收縮壓低於約160 mmHg並且平均舒張壓低於約100 mmHg。在又另一個實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者在第一次投與LPA RNAi構建體之前在靜止狀態下的平均收縮壓低於約140 mmHg並且平均舒張壓低於約90 mmHg。

【0054】 在一些實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者沒有嚴重腎功能障礙的體征。因此，在某些實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者在基線時（例如在第一次投與LPA RNAi構建體之前）的eGFR為至少約30 mL/min/1.73 m²、至少約45 mL/min/1.73 m²、至少約60 mL/min/1.73 m²、至少約75 mL/min/1.73 m²或至少約90 mL/min/1.73 m²。在一個

特定的實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者在第一次投與LPA RNAi構建體之前eGFR為約30 mL/min/1.73 m²或更高。

【0055】 在其他實施方式中，根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者沒有活動性肝病或肝功能障礙的體征。活動性肝病可以藉由測量肝功能的一或多種生物標誌物來確定，諸如肝功能測試或肝測量組中包括的生物標誌物，包括白蛋白、鹼性磷酸酶(ALP)、丙胺酸轉胺酶(ALT)、天冬胺酸轉胺酶(AST)、 γ -麩胺醯轉肽酶(GGT)、膽紅素和乳酸鹽脫氫酶(LD)。在某些實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者在基線時（例如在第一次投與LPA RNAi構建體之前）的ALT水平不超過正常上限(ULN)的三倍。在相關實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者在基線時（例如在第一次投與LPA RNAi構建體之前）的AST水平不超過ULN的三倍。在該等和其他實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者在基線時（例如在第一次投與LPA RNAi構建體之前）的總膽紅素水平不超過ULN的三倍。在一些實施方式中，欲根據本發明方法投與LPA RNAi構建體的患者在基線時（例如在第一次投與LPA RNAi構建體之前）的 (i) ALT水平低於約170個單位/L血清，(ii) AST水平低於約150個單位/L血清，和/或 (iii) 總膽紅素水平低於約2.0 mg/dL。

【0056】 在一個方面，本發明方法包括向患者投與有效量的LPA RNAi構建體。「有效量」係指如下量，其足以治療、減少或改善心血管疾病或心血管疾病的一或多種症狀，特別是與心血管疾病相關的狀態或症狀，或以任何其他方式預防、阻礙、延緩或逆轉心血管疾病或與心血管疾病相關的任何其他不良症狀的進展。有效量還可以指足以降低心血管疾病導致的後遺症的發生或嚴重程度之量。例如在一些實施方式中，LPA RNAi構建體的有效量係足以降低患有動脈粥樣硬化或其他心血管疾病的患者之心血管事件，諸如心肌梗塞、中風或冠狀動脈、大腦動脈或周邊動脈的血管重建的發生或嚴重程度之量。

【0057】 在本發明方法之某些實施方式中，以固定劑量向患者投與LPA RNAi構建體。「固定劑量」係指向所有患者投與的劑量，而不考慮患者之特定因子，諸如體重。因此，不會基於患者之體重在患者之間調節固定劑量。在本發明方法之一些實施方式中，可以以約9 mg至約675 mg的固定劑量以至少8週的給藥間隔向患者投與LPA RNAi構建體。例如，LPA RNAi構建體的固定劑量可為約9 mg、約10 mg、約15 mg、約30 mg、約50 mg、約60 mg、約70 mg、約75 mg、約80 mg、約90 mg、約100 mg、約125 mg、約150 mg、約175 mg、約200 mg、約225 mg、約250 mg、約300 mg、約350 mg、約400 mg、約450 mg、約500 mg、約550 mg、約600 mg、約650 mg或約675 mg，其中該等劑量以至少8週的給藥間隔投與。還考慮了該等終點中的任一個和所有之間的範圍，例如在本發明方法中向患者投與的LPA RNAi構建體的固定劑量可為約10 mg至約225 mg、約50 mg至約100 mg、約150 mg至約225 mg、約225 mg至約675 mg、約75 mg至約150 mg、約225 mg至約450 mg、約75 mg至約225 mg、約10 mg至約75 mg或約200 mg至約300 mg，其中以至少8週的給藥間隔投與該等劑量。

【0058】 本文所述之LPA RNAi構建體的任何劑量較佳的是均以至少8週的給藥間隔投與，即該等劑量向患者之投與頻率不超過每8週一次（或每2個月一次）。例如，給藥間隔可為約8週、約12週、約16週、約20週、約24週、約28週或約32週。在某些實施方式中，給藥間隔係約12週，例如每12週一次（或每3個月一次）向患者投與固定劑量的LPA RNAi構建體。在某些其他實施方式中，給藥間隔係約24週，例如每24週一次（或每6個月一次）向患者投與固定劑量的LPA RNAi構建體。

【0059】 固定劑量的LPA RNAi構建體可以以每個給藥間隔以單次推注投與（例如單次皮下注射）或以兩次或更多次連續推注投與（例如兩次或更多次皮下注射）來投與。在一些實施方式中，例如使用預填充注射筒或如本文另外描述

的注射裝置，以每個給藥間隔以單次推注向患者投與全部量的固定劑量的LPA RNAi構建體。例如視需要可以用含有225 mg劑量的自動注射器、筆式注射器或預填充注射筒，以每個給藥間隔（例如每12週一次），以225 mg的單次推注向患者投與225 mg固定劑量的LPA RNAi構建體。在其他實施方式中，以兩次或更多次連續推注向患者投與全部量的固定劑量的LPA RNAi構建體。例如可以視需要用各自含有75 mg劑量的三個注射裝置（例如自動注射器、筆式注射器或預填充注射筒），以三次連續注射每次75 mg，以每個給藥間隔（例如每12週一次）向患者投與225 mg固定劑量的LPA RNAi構建體。在本發明上下文中，在一天的時間段內給與的連續注射被認為係單次投與。換句話說，例如每12週一次投與225 mg固定劑量可以以每12週一次向患者投與的225 mg的單次推注或每12週一次在一天的時間段內向患者投與的三次連續推注每次75 mg的方式給與。

【0060】 在本發明方法之某些實施方式中，每12週一次或每3個月一次投與固定劑量的本文所述之LPA RNAi構建體。在一些此類實施方式中，本發明方法包括以約10 mg至約225 mg的固定劑量每12週一次或每3個月一次向患者投與LPA RNAi構建體。在其他實施方式中，本發明方法包括以約50 mg至約100 mg的固定劑量每12週一次或每3個月一次向患者投與LPA RNAi構建體。在又其他實施方式中，本發明方法包括以約75 mg至約225 mg的固定劑量每12週一次或每3個月一次向患者投與LPA RNAi構建體。在仍其他實施方式中，本發明方法包括以約150 mg至約225 mg的固定劑量每12週一次或每3個月一次向患者投與LPA RNAi構建體。在一個實施方式中，本發明方法包括以約10 mg的固定劑量每12週一次或每3個月一次向患者投與LPA RNAi構建體。在另一個實施方式中，本發明方法包括以約30 mg的固定劑量每12週一次或每3個月一次向患者投與LPA RNAi構建體。在另一個實施方式中，本發明方法包括以約75 mg的固定劑量每12週一次或每3個月一次向患者投與LPA RNAi構建體。在另一個實施方式中，本發

明方法包括以約100 mg的固定劑量每12週一次或每3個月一次向患者投與LPA RNAi構建體。在另一個實施方式中，本發明方法包括以約125 mg的固定劑量每12週一次或每3個月一次向患者投與LPA RNAi構建體。在又另一個實施方式中，本發明方法包括以約150 mg的固定劑量每12週一次或每3個月一次向患者投與LPA RNAi構建體。在另一個實施方式中，本發明方法包括以約175 mg的固定劑量每12週一次或每3個月一次向患者投與LPA RNAi構建體。在另一個實施方式中，本發明方法包括以約200 mg的固定劑量每12週一次或每3個月一次向患者投與LPA RNAi構建體。在仍另一個實施方式中，本發明方法包括以約225 mg的固定劑量每12週一次或每3個月一次向患者投與LPA RNAi構建體。

【0061】 在本發明方法之某些其他實施方式中，每24週一次或每6個月一次投與固定劑量的本文所述之LPA RNAi構建體。在一些此類實施方式中，本發明方法包括以約225 mg至約675 mg的固定劑量每24週一次或每6個月一次向患者投與LPA RNAi構建體。在其他實施方式中，本發明方法包括以約225 mg至約450 mg的固定劑量每24週一次或每6個月一次向患者投與LPA RNAi構建體。在仍其他實施方式中，本發明方法包括以約200 mg至約300 mg的固定劑量每24週一次或每6個月一次向患者投與LPA RNAi構建體。在一個實施方式中，本發明方法包括以約225 mg的固定劑量每24週一次或每6個月一次向患者投與LPA RNAi構建體。在另一個實施方式中，本發明方法包括以約300 mg的固定劑量每24週一次或每6個月一次向患者投與LPA RNAi構建體。在又另一個實施方式中，本發明方法包括以約450 mg的固定劑量每24週一次或每6個月一次向患者投與LPA RNAi構建體。在仍另一個實施方式中，本發明方法包括以約675 mg的固定劑量每24週一次或每6個月一次向患者投與LPA RNAi構建體。

【0062】 在本發明方法之一些實施方式中，在經設定的治療期期間向患者投與LPA RNAi構建體。「治療期」在投與第一劑量的LPA RNAi構建體時開始，

並且在投與最終劑量的LPA RNAi構建體時結束。治療期可以為約12週至約240週、約24週至約144週、約3個月至約60個月、約6個月至約48個月，諸如約12週、約24週、約36週、約48週、約60週、約72週、約84週、約96週、約108週、約120週、約132週、約144週、約156週、約168週、約180週、約192週、約204週、約216週、約228週、約240週、約3個月、約6個月、約9個月、約12個月、約15個月、約18個月、約21個月、約24個月、約27個月、約30個月、約33個月、約36個月、約39個月、約42個月、約45個月、約48個月、約51個月、約54個月、約57個月或約60個月。在一些實施方式中，治療期為約48週。在其他實施方式中，治療期為約192週。在又其他實施方式中，治療期為約12個月。在仍其他實施方式中，治療期為約48個月。在某些實施方式中，治療期可以長於240週或60個月，例如治療期可以超過5年，諸如6、7、8、9或10年或更長。在一個特定的實施方式中，投與LPA RNAi構建體持續至少約36週的治療期，並且與未接受LPA RNAi構建體的受試者相比，血清或血漿Lp(a)水平相對於基線產生統計學上顯著的降低百分比。在另一個特定的實施方式中，投與LPA RNAi構建體持續至少約48週的治療期，並且與未接受LPA RNAi構建體的受試者相比，血清或血漿Lp(a)水平相對於基線產生統計學上顯著的降低百分比。

【0063】 本文所述之方法包括向患者投與LPA RNAi構建體。如本文所用，術語「LPA RNAi構建體」係指包含RNA分子的活性劑，當被引入細胞中時該活性劑能夠利用RNA干擾機制下調LPA基因的表現。RNA干擾係核酸分子以序列特異性方式，例如經過RNA誘導的緘默複合體（RISC）路徑，來誘導標靶RNA分子（例如信使RNA或mRNA分子）的裂解和降解的過程。在一些實施方式中，LPA RNAi構建體包含雙股RNA分子，其包含連續核苷酸的兩條反平行股，其彼此充分互補以雜交形成雙鏈體區。「雜交（hybridize）」或「雜交（hybridization）」係指互補多核苷酸的配對，典型地是藉由在兩個多核苷酸中的互補鹼基之間的

氫鍵合（例如Watson-Crick氫鍵合、Hoogsteen氫鍵合、或反向Hoogsteen氫鍵合）而配對。包含具有與標靶LPA序列（例如標靶LPA mRNA）基本上互補的序列的區域的股被稱為「反義股」。「有義股」係指包括與反義股的區域基本上互補的區域的股。在一些實施方式中，有義股可以包含具有與標靶序列基本上相同的序列的區域。

【0064】 雙股RNA分子可以包括對核糖核苷酸的化學修飾，包括對核糖核苷酸的核糖、鹼基或主鏈組分的修飾，諸如本文所述或本領域已知那些。為了本揭露之目的，術語「雙股RNA」涵蓋在雙股RNA分子（例如siRNA、shRNA等）中所採用的任何這類修飾。

【0065】 如本文所用，如果包含第一序列的多核苷酸可以在某些條件（諸如生理條件）下與包含第二序列的多核苷酸雜交形成雙鏈體區，則第一序列與第二序列為「互補」。其他該等條件可以包括熟悉該項技術者已知的中等或嚴格雜交條件。若在一個或兩個核苷酸序列的整個長度上包含第一序列的多核苷酸與包含第二序列的多核苷酸鹼基配對而無任何錯配，則認為第一序列與第二序列完全互補（100%互補）。若序列與標靶序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%互補，則序列與標靶序列「基本上互補」。互補百分比可以藉由將第一序列中與第二或標靶序列中相應位置處的鹼基互補的鹼基數除以第一序列的總長度來計算。當使兩個序列雜交時，如果在30個鹼基對雙鏈體區上存在不超過5個、4個、3個或2個的錯配，則一個序列也可以說與另一序列基本上互補。通常，若存在如本文所定義的任何核苷酸突出端，則在確定兩個序列之間的互補程度時不考慮該等突出端的序列。舉例來說，雜交而形成在各股的3'端具有2個核苷酸突出端的19個鹼基對雙鏈體區的、長度為21個核苷酸的有義股與長度為21個核苷酸的反義股將會被認為如本文所使用術語那樣完全地互補。

【0066】 在一些實施方式中，反義股的區域包含與標靶LPA RNA序列（例如LPA mRNA）的區域基本上或完全互補的序列。在此類實施方式中，有義股可以包含與反義股的序列完全互補的序列。在其他此類實施方式中，有義股可以包含與反義股的序列基本上互補的序列，例如在由有義股和反義股形成的雙鏈體區中有1、2、3、4或5個錯配。在某些實施方式中，較佳的是任何錯配發生在末端區內（例如在股的5'和/或3'端的6、5、4、3、或2個核苷酸內）。在一個實施方式中，在由有義股和反義股形成的雙鏈體區中的任何錯配發生在反義股的5'端的6、5、4、3、或2個核苷酸內。

【0067】 在某些實施方式中，雙股RNA的有義股和反義股可為兩個單獨的分子，這兩個分子雜交而形成雙鏈體區，否則係未連接的。由兩條單獨股形成的這類雙股RNA分子被稱為「小干擾RNA」或「短干擾RNA」（siRNA）。因此，在一些實施方式中，本發明中使用的LPA RNAi構建體包含siRNA。

【0068】 在其他實施方式中，雜交形成雙鏈體區的有義股和反義股可為單個RNA分子的一部分，即有義股和反義股為單個RNA分子的自身互補區的一部分。在此類情況下，單個RNA分子包含雙鏈體區（還稱為莖區）和環區。有義股的3'端藉由未配對核苷酸的連續序列而連接至反義股的5'端，這將形成環區。環區典型地具有足夠的長度以允許RNA分子自身向後折疊，使得反義股可以與有義股鹼基配對以形成雙鏈體或莖區。環區可以包含從約3至約25、從約5至約15、或從約8至約12個未配對核苷酸。具有至少部分地自我互補區的這類RNA分子被稱為「短髮夾RNA」（shRNA）。在某些實施方式中，本發明方法中使用的LPA RNAi構建體包含shRNA。單個的至少部分自我互補的RNA分子的長度可為約40個核苷酸至約100個核苷酸、約45個核苷酸至約85個核苷酸、或約50個核苷酸至約60個核苷酸，並且包含雙鏈體區和環區，各區具有本文所列舉的長度。

【0069】本發明方法中使用的LPA RNAi構建體包含有義股和反義股，其中反義股包含具有與LPA信使RNA (mRNA) 序列基本上或完全互補的序列的區域。如本文所用，「LPA mRNA序列」係指任何信使RNA序列，包括編碼apo(a)蛋白的對偶基因變體和剪接變體，包括來自任何物種(例如非人靈長類動物、人)的apo(a)蛋白質變體或同種型。LPA基因(也稱為AK38、APOA和LP)編碼apo(a)蛋白，其係稱為脂蛋白(a)或Lp(a)的低密度脂蛋白顆粒的主要組分。在人中，LPA基因在染色體6上基因座6q25.3-q26處發現。LPA基因具有高度多態性，其中該基因的對偶基因在kringle IV 2型(KIV-2)結構域的拷貝數上不同，個體間的拷貝數的範圍可以為兩個至超過40個拷貝(參見，例如Kronenberg和Utermann, J. Intern. Med. [內科雜誌], 第273卷: 6-30, 2013)。

【0070】LPA mRNA序列還包括表現為其互補DNA (cDNA) 序列的轉錄物序列。cDNA序列係指表現為DNA鹼基(例如鳥嘌呤、腺嘌呤、胸腺嘧啶和胞嘧啶)而非RNA鹼基(例如鳥嘌呤、腺嘌呤、尿嘧啶和胞嘧啶)的mRNA轉錄物的序列。因此，本發明方法中使用的LPA RNAi構建體的反義股可以包含具有與標靶LPA mRNA序列或LPA cDNA序列基本上或完全互補的序列的區域。LPA mRNA或cDNA序列可以包括但不限於選自NCBI參考序列NM_005577.4(人)、XM_015448520.1(食蟹猴)、XM_028847001.1(恒河猴)、XM_024357489.1(黑猩猩)和XM_031012244.1(大猩猩)的任何LPA mRNA或cDNA序列。在某些實施方式中，LPA mRNA序列係在NCBI數據庫中以參考序列NM_005577.4列出的人轉錄物。

【0071】LPA RNAi構建體的有義股典型地包含與反義股的序列充分互補，使得兩條股在生理條件下雜交以形成雙鏈體區的序列。「雙鏈體區」係指在兩個互補或基本上互補的多核苷酸中的區域，該等多核苷酸藉由沃森-克裡克鹼基配對或其他氫鍵合相互作用而相互形成鹼基對，從而在兩個多核苷酸之間形

成雙鏈體。LPA RNAi構建體的雙鏈體區應具有足夠的長度以允許LPA RNAi構建體進入RNA干擾途徑，例如藉由銜接Dicer酶和/或RISC複合物。例如，在一些實施方式中，雙鏈體區的長度為約15至約30個鹼基對。在該範圍內的雙鏈體區的其他長度也是合適的，諸如約15至約28個鹼基對、約15至約26個鹼基對、約15至約24個鹼基對、約15至約22個鹼基對、約17至約28個鹼基對、約17至約26個鹼基對、約17至約24個鹼基對、約17至約23個鹼基對、約17至約21個鹼基對、約19至約25個鹼基對、約19至約23個鹼基對、或約19至約21個鹼基對。在某些實施方式中，雙鏈體區的長度為約17至約26個鹼基對。在其他實施方式中，雙鏈體區的長度為約19至約21個鹼基對。在一個實施方式中，雙鏈體區的長度為約19個鹼基對。在另一個實施方式中，雙鏈體區的長度為約21個鹼基對。

【0072】 對於其中有義股和反義股為兩個單獨分子(例如RNAi構建體包含siRNA)的實施方式，有義股和反義股的長度不需要與雙鏈體區的長度相同。例如，一條或兩條股可能比雙鏈體區更長，並且具有在雙鏈體區側面的一或多個未配對核苷酸或錯配。因此，在一些實施方式中，RNAi構建體包含至少一個核苷酸突出端。如本文所用，「核苷酸突出端」係指延伸超過在股末端的雙鏈體區的未配對的一或多個核苷酸。當一條股的3'端延伸超過另一條股的5'端時或者當一條股的5'端延伸超過另一條股的3'端時，典型地形成核苷酸突出端。核苷酸突出端的長度通常是在1與6個核苷酸之間、1與5個核苷酸之間、1與4個核苷酸之間、1與3個核苷酸之間、2與6個核苷酸之間、2與5個核苷酸之間、或2與4個核苷酸之間。在一些實施方式中，核苷酸突出端包含1、2、3、4、5或6個核苷酸。在一個特定實施方式中，核苷酸突出端包含1至4個核苷酸。在某些實施方式中，核苷酸突出端包含2個核苷酸。在某些其他實施方式中，核苷酸突出端包含單個核苷酸。當核苷酸突出端存在於反義股中時，突出端中的核苷酸可以與標靶基因序列互

補，形成與標靶基因序列的錯配或包含一些其他序列（例如聚嘧啶或聚嘌呤序列，諸如UU、TT、AA、GG等）。

【0073】 核苷酸突出端可以在一條或兩條股的5'端或3'端。例如在一個實施方式中，LPA RNAi構建體在反義股的5'端和3'端包含核苷酸突出端。在另一個實施方式中，LPA RNAi構建體在有義股的5'端和3'端包含核苷酸突出端。在一些實施方式中，LPA RNAi構建體在有義股的5'端和反義股的5'端包含核苷酸突出端。在其他實施方式中，LPA RNAi構建體在有義股的3'端和反義股的3'端包含核苷酸突出端。

【0074】 RNAi構建體可在雙股RNA分子的一端包含核苷酸突出端，而在另一端包含平端。「平端」意味著有義股與反義股在分子末端完全地鹼基配對，並且不存在延伸超出雙鏈體區的未配對核苷酸。在一些實施方式中，LPA RNAi構建體在有義股的3'端包含核苷酸突出端，而在有義股的5'端和反義股的3'端包含平端。在其他實施方式中，LPA RNAi構建體在反義股的3'端包含核苷酸突出端，且在反義股的5'端和有義股的3'端包含平端。在某些實施方式中，LPA RNAi構建體在雙股RNA分子兩端處包含平端。在此類實施方式中，有義股和反義股具有相同長度，且雙鏈體區的長度與有義股和反義股相同（即，該分子在其整個長度上為雙股的）。

【0075】 本發明方法中使用的LPA RNAi構建體中的有義股和反義股可以各自獨立地為約15至約30個核苷酸的長度、約19至約30個核苷酸的長度、約18至約28個核苷酸的長度、約19至約27個核苷酸的長度、約19至約25個核苷酸的長度、約19至約23個核苷酸的長度、約19至約21個核苷酸的長度、約21至約25個核苷酸的長度、或約21至約23個核苷酸的長度。在某些實施方式中，有義股和反義股的長度各自獨立地為約18、約19、約20、約21、約22、約23、約24、或約25個核苷酸。在一些實施方式中，有義股和反義股具有相同的長度，但形成短於該等

股使得LPA RNAi構建體具有兩個核苷酸突出端的雙鏈體區。例如，在一個實施方式中，LPA RNAi構建體包含 (i) 長度各自為21個核苷酸的有義股和反義股、(ii) 長度為19個鹼基對的雙鏈體區、和 (iii) 在有義股的3'端和反義股的3'端的具有2個未配對核苷酸的核苷酸突出端。在另一個實施方式中，LPA RNAi構建體包含 (i) 長度各自為23個核苷酸的有義股和反義股、(ii) 長度為21個鹼基對的雙鏈體區、和 (iii) 在有義股的3'端和反義股的3'端的具有2個未配對核苷酸的核苷酸突出端。在其他實施方式中，有義股和反義股具有相同長度且在其整個長度上形成雙鏈體區，使得在雙股分子的任一端上不存在核苷酸突出端。在一個特定的實施方式中，本發明方法中使用的LPA RNAi構建體具有平端且包含 (i) 長度各自為21個核苷酸的有義股和反義股，和 (ii) 長度為21個鹼基對的雙鏈體區。在另一個特定的實施方式中，本發明方法中使用的LPA RNAi構建體具有平端且包含 (i) 長度各自為19個核苷酸的有義股和反義股，和 (ii) 長度為19個鹼基對的雙鏈體區。

【0076】 在其他實施方式中，有義股或反義股長於另一條股，且兩條股形成長度等於較短股長度使得LPA RNAi構建體包含至少一個核苷酸突出端的雙鏈體區。例如在一個實施方式中，本發明方法中使用的LPA RNAi構建體包含 (i) 長度為19個核苷酸的有義股、(ii) 長度為21個核苷酸的反義股、(iii) 長度為19個鹼基對的雙鏈體區、和 (iv) 在反義股的3'端的具有2個未配對核苷酸的核苷酸突出端。在另一個實施方式中，本發明方法中使用的LPA RNAi構建體包含 (i) 長度為21個核苷酸的有義股、(ii) 長度為23個核苷酸的反義股、(iii) 長度為21個鹼基對的雙鏈體區、和 (iv) 在反義股的3'端的具有2個未配對核苷酸的核苷酸突出端。

【0077】 本發明方法中使用的LPA RNAi構建體可以包含一或多個經修飾的核苷酸。「經修飾的核苷酸」係指具有針對核苷、核鹼基、戊糖環、或磷酸基團的一或多個經化學修飾的核苷酸。如本文所用，經修飾的核苷酸不涵蓋含有腺

苷單磷酸酯、鳥苷單磷酸酯、尿苷單磷酸酯、和胞苷單磷酸酯的核糖核苷酸。然而，該LPA RNAi構建體可以包含經修飾的核苷酸和核糖核苷酸的組合。將經修飾的核苷酸併入雙股RNA分子的一條或兩條股中，可以例如藉由降低分子對核酸酶和其他降解過程的敏感性來改進RNA分子的體內穩定性。還可藉由摻入經修飾的核苷酸來增強LPA RNAi構建體降低LPA基因表現的效力。

【0078】 在某些實施方式中，經修飾的核苷酸具有核糖的修飾。該等糖修飾可以包括在戊糖環的2'和/或5'位置的修飾、以及二環糖修飾。2'-修飾的核苷酸係指具有戊糖環的核苷酸，該戊糖環在2'位置具有除OH以外的取代基。此類2'-修飾包括但不限於2'-H（例如去氧核糖核苷酸）、2'-O-烷基（例如O-C₁-C₁₀或O-C₁-C₁₀取代的烷基）、2'-O-烯丙基（O-CH₂CH=CH₂）、2'-C-烯丙基、2'-去氧-2'-氟（也稱為2'-F或2'-氟）、2'-O-甲基（OCH₃）、2'-O-甲氧基乙基（O-(CH₂)₂OCH₃）、2'-OCF₃、2'-O(CH₂)₂SCH₃、2'-O-胺基烷基、2'-胺基（例如NH₂）、2'-O-乙胺和2'-疊氮基。在戊糖環的5'位置的修飾包括但不限於：5'-甲基（R或S）；5'-乙烯基、和5'-甲氧基。

【0079】 「二環糖修飾」係指戊糖環的修飾，其中橋將環的兩個原子連接而形成第二環從而得到二環糖結構。在一些實施方式中，二環糖修飾包含在戊糖環的4'和2'碳之間的橋。包含具有雙環糖修飾的糖部分的核苷酸在本文中稱為雙環核酸或BNA。示例性的二環糖修飾包括但不限於α-L-亞甲基氧基(4'-CH₂—O-2')二環核酸(BNA)；β-D-亞甲基氧基(4'-CH₂—O-2') BNA（也稱為鎖核酸或LNA）；乙烯氧基(4'-(CH₂)₂—O-2') BNA；胺基氧基(4'-CH₂—O—N(R)-2')BNA；氧基胺基(4'-CH₂—N(R)—O-2')BNA；甲基(亞甲基氧基)(4'-CH(CH₃)—O-2')BNA(也稱為受限乙基或cEt)；亞甲基-硫基(4'-CH₂—S-2') BNA；亞甲基-胺基(4'-CH₂-N(R)-2')BNA；甲基碳環(4'-CH₂—CH(CH₃)-2') BNA；丙烯碳環(4'-(CH₂)₃-2') BNA；和甲氧基(乙烯氧基)(4'-CH(CH₂OMe)-O-2') BNA（也稱為受

限MOE或cMOE)。可以併入本發明方法中使用的LPA RNAi構建體中的該等和其他經糖修飾的核苷酸描述於美國專利案號9,181,551、美國專利公開案號2016/0122761以及Deleavey和Damha, Chemistry and Biology [化學和生物學], 第19卷: 937-954, 2012。

【0080】 在一些實施方式中，LPA RNAi構建體包含一或多個2'-氟修飾的核苷酸、2'-O-甲基修飾的核苷酸、2'-O-甲氧基乙基修飾的核苷酸、2'-O-烷基修飾的核苷酸、2'-O-烯丙基修飾的核苷酸、二環核酸（BNA）、去氧核糖核苷酸、或其組合。在某些實施方式中，LPA RNAi構建體包含一或多個2'-氟修飾的核苷酸、2'-O-甲基修飾的核苷酸、2'-O-甲氧基乙基修飾的核苷酸、去氧核糖核苷酸或其組合。在一個特定的實施方式中，本發明方法中使用的LPA RNAi構建體包含一或多個2'-氟修飾的核苷酸、2'-O-甲基修飾的核苷酸、去氧核糖核苷酸或其組合。在一些此類實施方式中，去氧核糖核苷酸可為有義股或反義股的3'端和/或5'端的末端核苷酸。在其中去氧核糖核苷酸係末端核苷酸的這類實施方式中，其可為反向核苷酸-即通過3'-3'核苷酸間鍵（當在股的3'端時）或5'-5'核苷酸間鍵（當在股的5'端時）（不是天然的3'-5'核苷酸間鍵）與相鄰核苷酸連接。

【0081】 LPA RNAi構建體的有義股和反義股均可以包含一或多個經修飾的核苷酸。例如，在一些實施方式中，有義股包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多個經修飾的核苷酸。在某些實施方式中，有義股中的所有核苷酸均為經修飾的核苷酸。在一些實施方式中，反義股包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多個經修飾的核苷酸。在其他實施方式中，反義股中的所有核苷酸均為經修飾的核苷酸。在某些其他實施方式中，有義股中的所有核苷酸和反義股中的所有核苷酸均為經修飾的核苷酸。在該等和其他實施方式中，經修飾的核苷酸可為2'-氟修飾的核苷酸、2'-O-甲基修飾的核苷酸、或其組合。

【0082】 在某些實施方式中，併入本發明方法中使用的LPA RNAi構建體的一條或兩條股中的經修飾核苷酸具有核鹼基（在本文中還稱為「鹼基」）的修飾。「經修飾的核鹼基」或「經修飾的鹼基」係指除天然存在的嘌呤鹼基腺嘌呤（A）和鳥嘌呤（G）和嘧啶鹼基胸腺嘧啶（T）、胞嘧啶（C）和尿嘧啶（U）以外的鹼基。經修飾的核鹼基可為合成的或天然存在的修飾，並且包括但不限於通用鹼基、5-甲基胞嘧啶（5-me-C）、5-羥甲基胞嘧啶、黃嘌呤（X）、次黃嘌呤（I）、2-胺基腺嘌呤、6-甲基腺嘌呤、6-甲基鳥嘌呤，以及腺嘌呤和鳥嘌呤的其他烷基衍生物，腺嘌呤和鳥嘌呤的2-丙基衍生物和其他烷基衍生物，2-硫尿嘧啶、2-硫胸腺嘧啶和2-硫胞嘧啶，5-鹵尿嘧啶和胞嘧啶，5-丙炔基尿嘧啶和胞嘧啶，6-偶氮尿嘧啶、胞嘧啶和胸腺嘧啶，5-尿嘧啶（假尿嘧啶），4-硫尿嘧啶，8-鹵代、8-胺基、8-硫醇、8-硫代烷基、8-羥基和其他8-取代的腺嘌呤和鳥嘌呤，5-鹵代（特別是5-溴）、5-三氟甲基和其他5-取代的尿嘧啶和胞嘧啶，7-甲基鳥嘌呤和7-甲基腺嘌呤，8-氮雜鳥嘌呤和8-氮雜腺嘌呤，7-脫氮鳥嘌呤和7-脫氮腺嘌呤以及和3-脫氮鳥嘌呤和3-脫氮腺嘌呤。

【0083】 在一些實施方式中，經修飾的鹼基為通用鹼基。「通用鹼基」係指在不改變所得到的雙鏈體區的雙螺旋結構的情況下，與RNA和DNA中的全部天然鹼基不加選擇地形成鹼基對的鹼基類似物。通用鹼基對於熟悉該項技術者而言係已知的，包括但不限於：肌苷、C-苯基、C-萘基和其他芳香族衍生物、唑醯胺類、和硝基唑衍生物（諸如3-硝基吡咯、4-硝基吡咯、5-硝基吡咯和6-硝基吡咯）。

【0084】 可以併入LPA RNAi構建體中的其他合適的經修飾鹼基包括在Herdewijn, *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* [反義核酸藥物開發], 第10卷: 297-310, 2000和Peacock等人, *J. Org. Chem.* [有機化學雜誌], 第76卷: 7295-7300, 2011中所述之鹼基。熟悉該項技術者充分瞭解到鳥嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤、胸腺嘧啶

和尿嘧啶可被其他核鹼基替代，諸如上述經修飾的核鹼基，而基本上不改變包含攜帶此置換核鹼基的核苷酸的多核苷酸的鹼基配對特性。

【0085】 在一些實施方式中，本發明方法中使用的LPA RNAi構建體的有義股和反義股可以包含一或多個無鹼基核苷酸。「無鹼基核苷酸」或「無鹼基核苷」係在核糖的1'位置處缺少核鹼基的核苷酸或核苷。在某些實施方式中，將無鹼基核苷酸併入RNAi構建體的有義股和/或反義股的末端。在一個實施方式中，有義股在其3'端、其5'端、或其3'和5'端兩者處包含作為末端核苷酸的無鹼基核苷酸。在另一個實施方式中，反義股在其3'端、其5'端、或其3'和5'端兩者處包含作為末端核苷酸的無鹼基核苷酸。在其中無鹼基核苷酸係末端核苷酸的這類實施方式中，其可為反向核苷酸-即通過3'-3'核苷酸間鍵（當在股的3'端時）或5'-5'核苷酸間鍵（當在股的5'端時）（不是天然的3'-5'核苷酸間鍵）與相鄰核苷酸連接。無鹼基核苷酸也可以包含糖修飾，諸如以上所述之任何糖修飾。在某些實施方式中，無鹼基核苷酸包含2'-修飾，諸如2'-氟修飾、2'-O-甲基修飾、或2'-H（去氧）修飾。在一個實施方式中，無鹼基核苷酸包含2'-O-甲基修飾。在另一個實施方式中，無鹼基核苷酸包含2'-H修飾（即去氧無鹼基核苷酸）。

【0086】 本發明方法中使用的LPA RNAi構建體還可以包含一或多個經修飾的核苷酸間鍵。如本文所用，術語「經修飾的核苷酸間鍵」係指除天然3'至5'磷酸二酯鍵以外的核苷酸間鍵。在一些實施方式中，經修飾的核苷酸間鍵係含磷的核苷酸間鍵，諸如磷酸三酯、胺基烷基磷酸三酯、烷基磷酸酯（例如甲基磷酸酯、3'-伸烷基磷酸酯）、次磷酸酯、胺基磷酸酯（例如3'-胺基胺基磷酸酯和胺基烷基胺基磷酸酯）、硫代磷酸酯（P=S）、手性硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、硫代磷醯胺酯、硫代烷基磷酸酯、硫代烷基磷酸三酯、和硼烷磷酸酯。在一個實施方式中，經修飾的核苷酸間鍵係2'至5'磷酸二酯鍵。在其他實施方式中，經修飾的核苷酸間鍵為不含磷核苷酸間鍵，且因此可稱為經修飾的核苷酸間鍵。此類不含

磷的鍵包括但不限於咪啉鍵（部分由核苷的糖部分形成）；矽氧烷鍵（ $\text{—O—Si(H)}_2\text{—O—}$ ）；硫化物、亞碲和碲鍵；甲醯基和硫代甲醯基鍵；含烯的骨架；胺基磺酸鹽骨架；亞甲基甲亞胺基（ $\text{—CH}_2\text{—N(CH}_3\text{)—O—CH}_2\text{—}$ ）和亞甲基胍鍵；磺酸鹽和磺醯胺鍵；醯胺鍵；以及具有混合的N、O、S和 CH_2 組分部分的其他鍵。在一個實施方式中，經修飾的核苷間鍵為產生肽核酸或PNA的基於肽的鍵（例如胺基乙基甘胺酸），諸如美國專利案號5,539,082、5,714,331、和5,719,262中所述之那些。可以在LPA RNAi構建體中使用的其他合適的經修飾的核苷酸間和核苷間鍵描述於美國專利案號6,693,187、美國專利案號9,181,551、美國專利公開案號2016/0122761以及Deleavey和Damha, *Chemistry and Biology* [化學和生物學], 第19卷: 937-954, 2012。

【0087】 在某些實施方式中，本發明方法中使用的LPA RNAi構建體包含一或多個硫代磷酸酯核苷酸間鍵。硫代磷酸酯核苷酸間鍵可以存在於LPA RNAi構建體的有義股、反義股或兩條股中。例如，在一些實施方式中，有義股包含1、2、3、4、5、6、7、8或更多個硫代磷酸酯核苷酸間鍵。在其他實施方式中，反義股包含1、2、3、4、5、6、7、8、或更多個硫代磷酸酯核苷酸間鍵。在仍其他實施方式中，兩條股包含1、2、3、4、5、6、7、8或更多個硫代磷酸酯核苷酸間鍵。LPA RNAi構建體可以在有義股、反義股、或兩條股的3'端、5'端、或者3'-和5'端兩者包含一或多個硫代磷酸酯核苷酸間鍵。例如，在某些實施方式中，LPA RNAi構建體在有義股、反義股、或兩條股的3'端包含約1至約6或更多個（例如約1、2、3、4、5、6或更多個）連續硫代磷酸酯核苷酸間鍵。在其他實施方式中，LPA RNAi構建體在有義股、反義股或兩條股的5'端處包含約1至約6或更多（例如約1、2、3、4、5、6或更多）個連續硫代磷酸酯核苷酸間鍵。在其中一個或兩條股包含一或多個硫代磷酸酯核苷酸間鍵的任何實施方式中，股內的其餘核苷酸間鍵可為天然的3'至5'磷酸二酯鍵。例如，在一些實施方式中，有義股和反義

股的各核苷酸間鍵選自磷酸二酯和硫代磷酸酯，其中至少一個核苷酸間鍵為硫代磷酸酯。

【0088】 在本發明之RNAi構建體的一些實施方式中，有義股、反義股或反義股和有義股的5'端包含磷酸酯部分。如本文所用，術語「磷酸酯部分」係指包含未經修飾的磷酸酯（ —O—P=O(OH)OH ）以及經修飾的磷酸酯的末端磷酸酯基。經修飾的磷酸酯包括磷酸酯，其中一或多個O和OH基團被H、O、S、N(R)或烷基取代，其中R為H、胺基保護基團或未經取代或經取代的烷基。示例性的磷酸酯部分包括但不限於：5'-單磷酸酯；5'-二磷酸酯；5'-三磷酸酯；5'-鳥苷帽（7-甲基化的或非甲基化的）；5'-腺苷帽或任何其他經修飾的或未經修飾的核苷酸帽結構；5'-單硫代磷酸酯（硫代磷酸酯）；5'-單二硫代磷酸酯（二硫代磷酸酯）；5'- α -硫代三磷酸酯；5'- γ -硫代三磷酸酯、5'-胺基磷酸酯；5'-乙炔基磷酸酯；5'-烷基磷酸酯（例如烷基 = 甲基、乙基、異丙基、丙基等）；磷酸5'-環丙酯和5'-烷基醚磷酸酯（例如烷基醚 = 甲氧基甲基、乙氧基甲基等）。

【0089】 可以併入適用於本發明方法中的LPA RNAi構建體中的經修飾核苷酸可具有本文所述之多於一種化學修飾。例如，經修飾的核苷酸可以具有對核糖的修飾以及對核鹼基的修飾。舉例來說，經修飾的核苷酸可以包含2'糖修飾（例如2'-氟或2'-O-甲基）並且包含經修飾的鹼基（例如5-甲基胞嘧啶或假尿嘧啶）。在其他實施方式中，經修飾的核苷酸可以包含糖修飾組合針對5'磷酸酯的修飾，當將經修飾的核苷酸併入多核苷酸中時這將會形成經修飾的核苷酸間鍵或核苷間鍵。例如，在一些實施方式中，經修飾的核苷酸可以包含糖修飾，諸如2'-氟修飾、2'-O-甲基修飾或二環糖修飾、以及5'硫代磷酸酯基。因此，在一些實施方式中，本發明之RNAi構建體的一條或兩條股包含2'修飾的核苷酸或BNA與硫代磷酸酯核苷酸間鍵的組合。在某些實施方式中，本發明之RNAi構建體的有義股和

反義股兩者均包含2'-氟修飾的核苷酸、2'-O-甲基修飾的核苷酸、與硫代磷酸酯核苷酸間鍵的組合。

【0090】 *LPA*基因主要在肝臟中表現。因此，在某些實施方式中，需要將*LPA* RNAi構建體特異性地遞送至肝細胞。因此，在一些實施方式中，本發明方法中使用的*LPA* RNAi構建體可以包含靶向部分以使用如下文更詳細描述各種方法將*LPA* RNAi構建體特異性地引導至肝細胞（liver cell）（例如肝細胞（hepatocytes））。在某些實施方式中，*LPA* RNAi構建體包含靶向部分，該靶向部分包含與表面表現的去唾液酸糖蛋白受體（ASGR）或其組分（例如ASGR1、ASGR2）結合的配位基。

【0091】 在一些實施方式中，*LPA* RNAi構建體可以藉由使用與肝細胞表面上表現的蛋白質結合或相互作用的配位基而特異性靶向肝臟。例如在某些實施方式中，配位基可以包含與在肝細胞上所表現受體（諸如去唾液酸糖蛋白受體或LDL受體）特異性結合的抗原結合蛋白（例如抗體或其結合片段（例如Fab、scFv））。在一個特定的實施方式中，配位基包含特異性結合ASGR1和/或ASGR2的抗體或其結合片段。在另一個實施方式中，配位基包含特異性結合ASGR1和/或ASGR2的抗體的Fab片段。「Fab片段」由一個免疫球蛋白輕鏈（即輕鏈可變區（VL）和恒定區（CL））以及一個免疫球蛋白重鏈的CH1區和可變區（VH）構成。在另一個實施方式中，配位基包含特異性結合ASGR1和/或ASGR2的抗體的單鏈可變抗體片段（scFv片段）。「scFv片段」包含抗體的VH和VL區，其中該等區存在於單個多肽鏈中，並且視需要在VH和VL區之間包含肽連接子，該肽連接子使Fv能形成所需的抗原結合結構。與可以用作本發明方法中使用的*LPA* RNAi構建體的靶向部分中的去唾液酸糖蛋白受體配位基的ASGR1特異性結合的示例性抗體及其結合片段描述於WIPO公開案號WO 2017/058944中，該案藉由引用以其整體特此併入。與ASGR1、LDL受體或其他肝臟表面表現的蛋白質特

異性結合的適用作LPA RNAi構建體中的靶向部分的其他抗體及其結合片段係可商購的。

【0092】 在某些實施方式中，靶向部分包含碳水化合物。「碳水化合物」係指由具有至少6個碳原子的一或多個單糖單元（可為線性的、分支的或環狀的）所組成的化合物，其中氧、氮或硫原子鍵合至各碳原子。碳水化合物包括但不限於糖（例如單糖、二糖、三糖、四糖和含有約4、5、6、7、8或9個單糖單元的寡糖）和多糖，諸如澱粉、糖原、纖維素和多糖膠。在一些實施方式中，併入靶向部分中的碳水化合物為選自戊糖、己糖或庚糖的單糖和包括此類單糖單元的二糖和三糖。在其他實施方式中，併入靶向部分中的碳水化合物為胺基糖，諸如半乳糖、葡萄糖胺糖、N-乙醯基-半乳糖和N-乙醯葡萄糖胺糖。

【0093】 在一些實施方式中，靶向部分包含去唾液酸糖蛋白受體配位基，其包含葡萄糖、半乳糖、半乳糖胺糖、葡萄糖胺糖、N-乙醯葡萄糖胺糖、N-乙醯基-半乳糖或任何前述物質的衍生物。在特定實施方式中，去唾液酸糖蛋白受體配位基包含N-乙醯基-半乳糖(GalNAc)或其衍生物。包括葡萄糖、半乳糖和GalNAc的配位基在將化合物靶向至肝細胞方面特別有效，因為此類配位基與在肝細胞表面表現的ASGR結合。參見，例如D'Souza和Devarajan, *J. Control Release* [控制釋放雜誌], 第203卷: 126-139, 2015。可以併入本發明方法中使用的LPA RNAi構建體的靶向部分中的含GalNAc或半乳糖的配位基之實例描述於美國專利案號7,491,805；8,106,022；8,877,917；和10,246,709；美國專利公開案號20030130186；和WIPO公開案號WO 2013166155中，所有該等文獻均藉由引用以其整體特此併入。

【0094】 在某些實施方式中，LPA RNAi構建體中的靶向部分包含多價碳水化合物部分。如本文所用，「多價碳水化合物部分」係指包含能夠獨立地與其他分子結合或相互作用的兩個或更多個碳水化合物單元的部分。例如多價碳水

化合物部分包含兩個或更多個由碳水化合物組成的結合結構域，其可以結合兩個或更多個不同分子或同一分子上的兩個或更多個不同位點。碳水化合物部分的化合價表示該碳水化合物部分內的單個結合結構域的數目。例如，關於碳水化合物部分的術語「一價」、「二價」、「三價」和「四價」分別係指具有一個、兩個、三個和四個結合域的碳水化合物部分。多價碳水化合物部分可以包含多價乳糖部分、多價半乳糖部分、多價葡萄糖部分、多價N-乙醯基-半乳糖部分、多價N-乙醯基-葡萄糖部分、多價甘露糖部分、或多價岩藻糖部分。在一些實施方式中，靶向部分包含多價半乳糖部分。在其他實施方式中，靶向部分包含多價N-乙醯基-半乳糖部分。在該等和其他實施方式中，多價碳水化合物部分可為二價、三價或四價的。在此類實施方式中，多價碳水化合物部分可為雙觸角或三觸角的。在一個特定實施方式中，多價N-乙醯基-半乳糖部分為三價或四價的。在另一個特定實施方式中，多價半乳糖部分為三價或四價的。

【0095】 靶向部分可以直接或間接地與LPA RNAi構建體的RNA分子附接或軛合。例如，在一些實施方式中，靶向部分直接與LPA RNAi構建體的有義股或反義股共價附接。在其他實施方式中，靶向部分藉由連接子與LPA RNAi構建體的有義股或反義股共價附接。靶向部分可以與本發明方法中使用的LPA RNAi構建體的多核苷酸(例如有義股或反義股)的核鹼基、糖部分或核苷酸間鍵附接。與嘌呤核鹼基或其衍生物的軛合或附接可發生在包括環內和環外原子在內的任何位置。在某些實施方式中，嘌呤核鹼基的2位置、6位置、7位置或8位置與靶向部分附接。與嘧啶核鹼基或其衍生物的軛合或附接還可發生在任何位置處。在一些實施方式中，嘧啶核鹼基的2位置、5位置和6位置可以與靶向部分附接。與核苷酸的糖部分的軛合或附接可以發生在任何碳原子處。可以與靶向部分附接的糖部分的示例性碳原子包括2'、3'、和5'碳原子。1'位置也可以與靶向部分附接，諸如在無鹼基核苷酸中。核苷酸間鍵還可以支援靶向部分附接。對於含磷鍵(例

如磷酸二酯、硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、胺基磷酸酯等），靶向部分可與磷原子或與磷原子鍵合的O、N或S原子直接附接。對於含胺或醯胺的核苷間鍵（例如PNA），靶向部分可與胺或醯胺的氮原子或相鄰碳原子附接。

【0096】 在一些實施方式中，靶向部分可以與有義股或反義股的3'或5'端附接。在某些較佳的實施方式中，靶向部分與有義股的5'端共價附接。在此類實施方式中，靶向部分與有義股的5'端核苷酸附接。在該等和其他實施方式中，靶向部分在有義股的5'端核苷酸的5'位置處附接。在實施方式中，其中反向無鹼基核苷酸或反向去氧核糖核苷酸係有義股的5'端核苷酸並且藉由5'-5'核苷酸間鍵與相鄰核苷酸附接，該靶向部分可以在反向無鹼基核苷酸或反向去氧核糖核苷酸的3'位置處附接。在其他實施方式中，靶向部分與有義股的3'端共價附接。例如在一些實施方式中，靶向部分與有義股的3'端核苷酸附接。在某些此類實施方式中，靶向部分在有義股的3'端核苷酸的3'位置處附接。在實施方式中，其中反向無鹼基核苷酸或反向去氧核糖核苷酸係有義股的3'端核苷酸並且藉由3'-3'核苷酸間鍵與相鄰核苷酸附接，該靶向部分可以在反向無鹼基核苷酸或反向去氧核糖核苷酸的5'位置處附接。在替代性實施方式中，靶向部分在有義股的3'端附近附接，但在一或多個末端核苷酸之前（即在1、2、3或4個末端核苷酸之前）。在一些實施方式中，靶向部分在有義股的3'端核苷酸的糖的2'位置處附接。在其他實施方式中，靶向部分在有義股的5'端核苷酸的糖的2'位置處附接。

【0097】 在某些實施方式中，靶向部分藉由連接子與有義股或反義股附接。「連接子」為將配位基與LPA RNAi構建體的多核苷酸組分共價連接的原子或原子團。連接子可為約1至約30個原子的長度、約2至約28個原子的長度、約3至約26個原子的長度、約4至約24個原子的長度、約6至約20個原子的長度、約7至約20個原子的長度、約8至約20個原子的長度、約8至約18個原子的長度、約10至約18個原子的長度、以及約12至約18個原子的長度。在一些實施方式中，連接

子可以包含雙官能連接部分，其通常包含具有兩個官能基的烷基部分。選擇一個官能基以結合目的化合物（例如RNAi構建體的有義股或反義股），且選擇另一個官能基以基本上結合任何選定基團，諸如本文所述之靶向部分或其組分。在某些實施方式中，連接子包含重複單元，諸如乙二醇或胺基酸單元的鏈結構或寡聚物。典型地用於雙官能連接部分的官能基之實例包括但不限於用於與親核基團反應的親電子試劑和用於與親電子基團反應的親核試劑。在一些實施方式中，雙官能連接部分包括胺基、羥基、羧酸、硫醇、不飽和度（例如雙鍵或三鍵）等。

【0098】 可用於將靶向部分與本發明方法中使用的LPA RNAi構建體中的有義股或反義股附接的連接子包括但不限於：吡咯啉、8-胺基-3,6-二氧雜辛酸、4-(N-馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸琥珀醯亞胺酯、6-胺基己酸、經取代的C₁-C₁₀烷基、經取代的或未經取代的C₂-C₁₀烯基、或者取代的或未取代的C₂-C₁₀炔基。此類連接子的較佳的取代基包括但不限於羥基、胺基、烷氧基、羧基、苄基、苯基、硝基、硫醇、硫代烷氧基、鹵素、烷基、芳基、烯基和炔基。適合於將靶向部分與本發明方法中使用的LPA RNAi構建體中的有義股或反義股附接的其他類型的連接子為本領域已知的，且可以包括以下中描述的連接子：美國專利案號7,723,509；8,017,762；8,828,956；8,877,917；和9,181,551。

【0099】 在某些實施方式中，與本發明中使用的LPA RNAi構建體的有義股或反義股共價附接的靶向部分包含GalNAc部分，例如多價GalNAc部分。在一些實施方式中，多價GalNAc部分係三價GalNAc部分，並且與有義股的3'端附接。在其他實施方式中，多價GalNAc部分係三價GalNAc部分，並且與有義股的5'端附接。在又其他實施方式中，多價GalNAc部分係四價GalNAc部分，並且與有義股的3'端附接。在仍其他實施方式中，多價GalNAc部分係四價GalNAc部分，並且與有義股的5'端附接。

(0100) 在某些實施方式中，本發明方法中使用的LPA RNAi構建體包含具有以下結構[結構1]的靶向部分：



在較佳的實施方式中，具有此結構的靶向部分藉由硫代磷酸酯或磷酸二酯鍵與有義股的5'端共價附接。

(0101) 在某些實施方式中，適用於本發明方法的LPA RNAi構建體包含：

有義股和反義股，該等股中每一個的長度均為約19至約23個核苷酸，其中該反義股包含與LPA mRNA序列互補的序列，並且該有義股包含與該反義股的序列互補的序列；以及

包含去唾液酸糖蛋白受體配位基的靶向部分，其中該靶向部分與有義股的5'端共價附接。在一些實施方式中，LPA RNAi構建體具有兩個平端。例如，在一些此類實施方式中，有義股和反義股的長度各自為21個核苷酸，並且彼此雜交形成長度為21個鹼基對的雙鏈體區。在其他此類實施方式中，有義股和反義股的長度各自為19個核苷酸，並且彼此雜交形成長度為19個鹼基對的雙鏈體區。在其他實施方式中，LPA RNAi構建體具有一個或兩個核苷酸突出端。在一個此類實施方式中，LPA RNAi構建體包含 (i) 長度各自為21個核苷酸的有義股和反義股、(ii) 長度為19個鹼基對的雙鏈體區、和 (iii) 在有義股的3'端和反義股的3'端的具有2個未配對核苷酸的核苷酸突出端。

【0102】 在一些實施方式中，靶向部分包含三價GalNAc部分，諸如美國專利案號10,246,709中描述的任何三價GalNAc部分，該專利藉由引用以其整體特此併入。在一個較佳的實施方式中，靶向部分具有上述結構1的結構。

【0103】 在某些實施方式中，LPA RNAi構建體的反義股包含與以下基本上互補或完全互補的序列：NCBI參考序列NM_005577.4中闡述的人LPA mRNA轉錄物的核苷酸2706至2726、NCBI參考序列NM_005577.4中闡述的人LPA mRNA轉錄物的核苷酸2697至2726或NCBI參考序列NM_005577.4中闡述的人LPA mRNA轉錄物的核苷酸2708至2725。在此類實施方式中，LPA RNAi構建體可以包含與靶向此區域的反義股基本上互補或完全互補的有義股。因此，在該等實施方式中，有義股可以包含與NCBI參考序列NM_005577.4中闡述的人LPA mRNA轉錄物的核苷酸2706至2726、核苷酸2697至2726或核苷酸2708至2725相同的序列。

【0104】 在一些實施方式中，本發明方法中使用的LPA RNAi構建體的有義股包含序列5'-GCCCCUUAUUGUUAUACG-3' (SEQ ID NO: 1)。在相關實施方式中，本發明方法中使用的LPA RNAi構建體的反義股包含序列5'-CGUAUAACAAUAAGGGGC-3' (SEQ ID NO: 2)。

【0105】 適用於本發明方法的LPA RNAi構建體之實例如WO 2017/059223中所述，該專利藉由引用以其整體特此併入。WO 2017/059223中描述的雙鏈體AD03851、AD03853和AD03536特別適用於本發明方法。在某些較佳的實施方式中，本發明方法中使用的LPA RNAi構建體包含具有序列5'-CAGCCCUUAUUGUUAUACGA-3' (SEQ ID NO: 3) 或由其組成的有義股和具有序列5'-UCGUAUAACAAUAAGGGGCUG-3' (SEQ ID NO: 4) 或由其組成的反義股。在相關實施方式中，本發明方法中使用的LPA RNAi構建體包含具有根據序列5'-csagcccuUfAfUfuguuauacgs(inv dA)-3' (SEQ ID NO: 5) 的經修飾核苷酸

序列或由其組成的有義股和具有根據序列 5'-usCfsgUfaUfaacaaUfaAfgGfgGfcsUfsg-3' (SEQ ID NO: 6) 的經修飾核苷酸序列或由其組成的反義股，其中a、g、c和u分別係2'-O-甲基腺苷、2'-O-甲基鳥苷、2'-O-甲基胞苷和2'-O-甲基尿苷；Af、Gf、Cf和Uf分別係2'-去氧-2'-氟(「2'-氟」)腺苷、2'-氟鳥苷、2'-氟胞苷和2'-氟尿苷；invdA係反向去氧腺苷(3'-3'連接的核苷酸)，並且s係硫代磷酸酯鍵。在一些此類實施方式中，具有本文所述結構1之結構的靶向部分藉由硫代磷酸酯鍵與有義股的5'端共價附接。

【0106】 在其他實施方式中，本發明方法中使用的LPA RNAi構建體包含含有序列5'-GCCCCUUAUUGUUAUACGAUU-3' (SEQ ID NO: 7) 的有義股和含有序列5'-UCGUUAUACAAUAAGGGGCUU-3' (SEQ ID NO: 8) 的反義股。在相關實施方式中，本發明方法中使用的LPA RNAi構建體包含具有根據序列5'-gscuccuUfAfUfuguuauacgauus(invAb)-3' (SEQ ID NO: 9) 的經修飾核苷酸序列或由其組成的有義股和具有根據序列5'-usCfsgUfaUfaacaaUfaAfgGfgGfcsusu-3' (SEQ ID NO: 10) 的經修飾核苷酸序列或由其組成的反義股，其中a、g、c和u分別係2'-O-甲基腺苷、2'-O-甲基鳥苷、2'-O-甲基胞苷和2'-O-甲基尿苷；Af、Gf、Cf和Uf分別係2'-去氧-2'-氟(「2'-氟」)腺苷、2'-氟鳥苷、2'-氟胞苷和2'-氟尿苷；invAb係反向無鹼基核苷酸(3'-3'連接的核苷酸)，並且s係硫代磷酸酯鍵。在一些此類實施方式中，具有本文所述結構1之結構的靶向部分藉由硫代磷酸酯鍵與有義股的5'端共價附接。在其他相關實施方式中，本發明方法中使用的LPA RNAi構建體包含具有根據序列5'-(invAb)GfcCfcCfuUfAfUfuGfuUfaUfaCfgausu(invAb)-3' (SEQ ID NO: 11) 的經修飾核苷酸序列或由其組成的有義股和具有根據序列5'-usCfsgsUfaUfaAfCfAfaUaAfgGfgGfcusu-3' (SEQ ID NO: 12) 的經修飾核苷酸序列或由其組成的反義股，其中a、g、c和u分別係2'-O-甲基腺苷、2'-O-甲基鳥苷、

2'-O-甲基胞苷和2'-O-甲基尿苷；Af、Gf、Cf和Uf分別係2'-去氧-2'-氟（「2'-氟」）腺苷、2'-氟鳥苷、2'-氟胞苷和2'-氟尿苷；invAb係反向無鹼基核苷酸（在股的5'端時為5'-5'連接的核苷酸，並且在股的3'端時為3'-3'連接的核苷酸），並且s係硫代磷酸酯鍵。在該等實施方式中的一些中，具有本文所述結構1之結構的靶向部分藉由磷酸二酯鍵與有義股的5'端共價附接。

【0107】 在某些較佳的實施方式中，根據本發明方法向患者投與的該LPA RNAi 構建體係奧帕司蘭。奧帕司蘭的結構如圖1示意性顯示，也如WO 2017/059223中所述，其中奧帕司蘭命名為雙鏈體第AD03851號。奧帕司蘭係一種雙股siRNA分子，該分子包含兩條獨立的股——有義股和反義股，該等股中的每一條的長度均為21個核苷酸。有義股和反義股的核鹼模體列彼此完全互補，並且雜交形成長度為21個鹼基對的雙鏈體。奧帕司蘭的有義股和反義股的核苷酸序列分別用SEQ ID NO: 3和SEQ ID NO: 4闡述。奧帕司蘭的有義股和反義股兩者均由經修飾的核苷酸構成，並且每條股的經修飾序列用SEQ ID NO: 5（有義股）和SEQ ID NO: 6（反義股）闡述。具有結構1的結構（並且在圖1中表示為R1）的三價GalNAc部分藉由硫代磷酸酯鍵與奧帕司蘭的有義股的5'端共價附接。術語奧帕司蘭係指圖1所示化合物的游離酸以及其藥學上可接受的鹽，諸如鈉鹽。

【0108】 本發明方法中使用的LPA RNAi 構建體可以使用本領域中已知的技術，例如使用常規核酸固相合成來容易地製備。RNAi 構建體的多核苷酸可使用標準核苷酸或核苷先質（例如亞磷醯胺）在合適的核酸合成儀上組裝。自動核酸合成儀係由若干供應商商業銷售，包括來自應用生物系統公司（Applied Biosystems）（福斯特城，加利福尼亞州）的DNA/RNA合成儀、來自生物自動化公司（BioAutomation）（歐文市，德克薩斯州）的MerMade合成儀、和來自GE 保健生命科學公司（GE Healthcare Life Sciences）（匹茲堡市，賓夕法尼亞州）的OligoPilot合成儀。用於合成LPA RNAi 構建體以及選擇靶向部分的示例性方法

如WO 2017/059223和美國專利案號10,246,709之實例中所述，兩者均藉由引用以其整體特此併入。

【0109】 2'矽基保護基可以在核糖核苷的5'位置與酸不穩定的二甲氧基三苯甲基 (DMT) 結合使用，從而利用亞磷醯胺化學來合成寡核苷酸。已知最終去保護條件不會顯著降解RNA產物。所有合成均可在任何自動或手動合成儀中以大、中、小規模進行。合成還可以在多個孔板、柱或載玻片中進行。

【0110】 可以藉由暴露於氟離子來去除2'-O-矽基，該等氟離子可以包括任何氟離子源，例如含有與無機反離子配對的氟離子的鹽(例如氟化銫和氟化鉀)、或者含有與有機反離子配對的氟離子的鹽(例如氟化四烷基銨)。冠醚催化劑可以與無機氟化物組合用於去保護反應中。較佳的氟離子源係氟化四丁基銨、或胺基氫氟化物(例如在偶極非質子溶劑例如二甲基甲醯胺中，將水性HF與三乙胺合併)。

【0111】 選擇用於亞磷酸三酯和磷酸三酯上的保護基團可以改變三酯對氟化物的穩定性。磷酸三酯或亞磷酸三酯的甲基保護可以穩定與氟離子的鍵聯且改進過程產率。

【0112】 因為核糖核苷具有反應性2'羥基取代基，所以可能理想的是用與5'-O-二甲氧基三苯甲基保護基垂直的保護基(例如一個對使用酸的處理為穩定的保護基)來保護RNA中的反應性2'位置。矽基保護基團符合該標準，且可以在最終的氟化物去保護步驟中容易地除去，這可以導致最少RNA降解。

【0113】 四唑催化劑可用於標準亞磷醯胺偶合反應。較佳的催化劑包括例如：四唑、S-乙基-四唑、苄基巰基四唑、對硝基苯基四唑。

【0114】 如熟悉該項技術者可以理解的，合成本文所述之LPA RNAi構建體的其他方法對於普通熟悉該項技術者而言為顯而易見的。另外地，各種合成步驟可以交替序列或順序進行，以得到所需化合物。其他合成化學轉化、保護基團

(例如對於鹼基上存在的羥基、胺基等)和可用於合成RNAi構建體的保護基團方法(保護和去保護)為本領域已知的且包括諸如以下中描述的那些: R. Larock, *Comprehensive Organic Transformations* [全面有機轉換], VCH Publishers [VCH出版社] (1989); T. W. Greene和P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis* [有機合成中的保護基團], 第2版, John Wiley and Sons [約翰威立父子公司], (1991); L. Fieser和M. Fieser, *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis* [費塞爾和用於有機合成的費塞爾試劑], John Wiley and Sons [約翰威立父子公司] (1994); 以及L. Paquette編輯, *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis* [有機合成試劑百科全書], John Wiley and Sons [約翰威立父子公司] (1995), 及其後續版本。RNAi試劑的定制合成還可以自若干商業供應商處獲得, 包括安捷倫技術公司 (Agilent Technologies) (加利福尼亞州聖克拉拉 (Santa Clara, CA))、日東電工奧維斯公司 (Nitto Denko AVECIA) (麻塞諸塞州米爾福德 (Milford, MA))、Dharmacon公司 (Dharmacon, Inc.) (科羅拉多州拉斐特 (Lafayette, CO))、AXO實驗室股份有限公司 (AxoLabs GmbH) (德國庫爾姆巴赫 (Kulmbach, Germany)) 和Ambion公司 (Ambion, Inc.) (加利福尼亞州福斯特城 (Foster City, CA))。

【0115】 通常將LPA RNAi構建體以藥物組成物的形式投與於患者, 該藥物組成物可以包括藥學上可接受的載劑、賦形劑或稀釋劑。因此, 本發明還包括包含LPA RNAi構建體和藥學上可接受的載體、賦形劑或稀釋劑的藥物組成物和配製物以用於本文所述之本發明方法。為用於臨床應用, 將以適合於預期應用的形式製備藥物組成物和配製物。通常, 這將需要製備基本上不含熱原以及可能對人或動物有害的其他雜質的組成物。

【0116】 短語「藥學上可接受的」或「藥理學上可接受的」係指在投與於動物或人時不產生不良反應、過敏反應或其他不利反應的分子實體和組成物。如本文所用, 「藥學上可接受的載體、賦形劑、或稀釋劑」包括可接受的用於配製

藥物（諸如適合於向人投與的藥物）的溶劑、緩衝劑、溶液、分散介質、包衣、抗菌劑和抗真菌劑、等滲劑和吸收延遲劑等。該等介質和試劑用於藥學上活性物質之用途為本領域熟知的。除非任何常規介質或試劑與本文所述之LPA RNAi構建體不相容，否則考慮其在治療組成物中之用途。補充的活性成分也可以併入組成物中，只要它們不使組成物的LPA RNAi構建體失去活性。

【0117】 用於配製藥物組成物的組成物和方法取決於許多標準，包括但不限於投與途徑、待治療的疾病或障礙的類型和程度、或投與劑量。在一些實施方式中，基於預期遞送途徑配製藥物組成物。例如，在某些實施方式中，配製藥物組成物以用於腸胃外遞送。腸胃外遞送形式包括靜脈內、動脈內、皮下、鞘內、腹膜內或肌內注射或輸注。在一個實施方式中，配製藥物組成物以用於靜脈內遞送。在另一個實施方式中，配製藥物組成物以用於皮下遞送。在一些實施方式中，藥物組成物包含有效量的LPA RNAi構建體。有效量的LPA RNAi構建體，特別是奧帕司蘭，可為本文所述之任何劑量。

【0118】 根據本發明方法投與包含LPA RNAi構建體的藥物組成物可以藉由任何常規途徑進行，只要標靶組織藉由該途徑可達即可。此類途徑包括但不限於：腸胃外（例如皮下、肌內、腹膜內或靜脈內）、口腔、鼻腔、頰部、皮內、透皮和舌下途徑、或者藉由直接注射入肝組織中或經過肝門靜脈而遞送。在本發明方法之一些實施方式中，向患者腸胃外投與LPA RNAi構建體或包含LPA RNAi構建體的藥物組成物。例如，在某些實施方式中，靜脈內投與LPA RNAi構建體或包含LPA RNAi構建體的藥物組成物。在其他實施方式中，皮下投與，例如藉由皮下注射投與LPA RNAi構建體或包含LPA RNAi構建體的藥物組成物。在此類實施方式中，皮下注射體積為約2 mL或更少，例如約2 mL、約1.8 mL、約1.7 mL、約1.6 mL、約1.5 mL、約1.4 mL、約1.3 mL、約1.2 mL、約1.1 mL、約1 mL、約0.9 mL、約0.8 mL、約0.7 mL、約0.6 mL或約0.5 mL。在一個實施方

式中，皮下注射體積為約1 mL或更少。在另一個實施方式中，皮下注射體積為約1 mL。在又另一個實施方式中，皮下注射體積為約1.5 mL。

【0119】 在藉由腸胃外注射投與藥物組成物的實施方式中，可以用注射筒向患者投與藥物組成物。在一些實施方式中，注射筒預先填充有藥物組成物。在藉由腸胃外注射，諸如皮下注射向患者投與藥物組成物的其他實施方式中，用包括用於自投與的裝置的注射裝置投與藥物組成物。此類裝置可商購並且包括但不限於自動注射器、給藥筆、微量輸注泵、體上注射器（on-body injector）和預填充注射筒。用於根據本發明方法投與包含有效量的LPA RNAi構建體（例如奧帕司蘭）的藥物組成物的示例性裝置包括自動注射器（例如SureClick®、EverGentle®、Avanti®、DosePro®、Molly®和Leva®）、筆式注射裝置（例如Madie®筆式注射器、DCP™筆式注射器、BD Vystra™一次性筆、BD™可重複使用筆）和預填充注射器（來自百特公司（Baxter）的BD Sterifill™、BD Hypak™預填充注射筒）。在一些實施方式中，用預填充注射筒向患者投與包含有效量的LPA RNAi構建體（例如奧帕司蘭）的藥物組成物。在其他實施方式中，用自動注射器向患者投與包含有效量的LPA RNAi構建體（例如奧帕司蘭）的藥物組成物。在某些此類實施方式中，注射筒、自動注射器或其他注射裝置的注射體積為約2 mL或更少，例如約2 mL、約1.8 mL、約1.7 mL、約1.6 mL、約1.5 mL、約1.4 mL、約1.3 mL、約1.2 mL、約1.1 mL、約1 mL、約0.9 mL、約0.8 mL、約0.7 mL、約0.6 mL或約0.5 mL。在一個實施方式中，注射筒、自動注射器或其他注射裝置的注射體積為約1 mL或更少。在另一個實施方式中，注射筒、自動注射器或其他注射裝置的注射體積為約1 mL。在又另一個實施方式中，注射筒、自動注射器或其他注射裝置的注射體積為約1.5 mL。

【0120】 膠體分散系統（諸如大分子複合體、奈米膠囊、微球、珠粒）和基於脂質的系統（包括水包油乳劑、微團、混合微團和脂質體）可用作本發明LPA

RNAi構建體的遞送媒介物。適於遞送本發明之核酸的市售脂肪乳劑包括：Intralipid[®]（百特國際有限公司（Baxter International Inc.））、Liposyn[®]（雅培製藥公司（Abbott Pharmaceuticals））、Liposyn[®]II（赫升瑞公司（Hospira））、Liposyn[®]III（赫升瑞公司）、Nutrilipid（貝朗醫療公司（B. Braun Medical Inc.））、和其他類似的脂質乳劑。用作體內遞送媒介物的較佳的膠體系統係脂質體（即，人工膜囊）。LPA RNAi構建體可被封裝於脂質體內或者可與其形成複合體，特別是陽離子脂質體。可替代地，LPA RNAi構建體可以與脂質複合，特別是與陽離子脂質複合。合適的脂質和脂質體包括中性（例如二油醯基磷脂醯乙醇胺（DOPE）、二肉豆蔻醯基磷脂醯膽鹼（DMPC）和二棕櫚醯基磷脂醯膽鹼（DPPC））、二硬脂醯基磷脂醯膽鹼）、及陰性（例如二肉豆蔻醯基磷脂醯甘油基甘油（DMPG））、和陽離子型（例如二油醯基四甲基胺基丙基（DOTAP）和二油醯基磷脂醯乙醇胺（DOTMA））。這類膠體分散系統的製備和使用在本領域中係眾所周知的。示例性的配製物還揭露於美國專利案號5,981,505；美國專利案號6,217,900；美國專利案號6,383,512；美國專利案號5,783,565；美國專利案號7,202,227；美國專利案號6,379,965；美國專利案號6,127,170；美國專利案號5,837,533；美國專利案號6,747,014；和WO 03/093449。

【0121】 在一些實施方式中，本發明之LPA RNAi構建體被完全地封裝於脂質配製物中，例如以形成SNALP或其他核酸-脂質顆粒。如本文所用，術語「SNALP」係指穩定的核酸-脂質顆粒。SNALP典型地含有陽離子脂質、非陽離子脂質、和防止顆粒聚集的脂質（例如PEG-脂質軛合物）。SNALP對於全身應用特別有用，因為它們在靜脈注射後展現出循環壽命延長，並且在遠端部位（例如與投與部位物理分離的部位）累積。核酸-脂質顆粒典型地具有約50 nm至約150 nm、約60 nm至約130 nm、約70 nm至約110 nm、或約70 nm至約90 nm的平均直徑，且基本上無毒。另外，核酸當存在於核酸-脂質顆粒中時在水溶液中對用核

酸酶的降解具有抗性。核酸-脂質顆粒及其製備方法揭露於例如美國專利案號 5,976,567；5,981,501；6,534,484；6,586,410；6,815,432；和PCT公開案號WO 96/40964。

【0122】 適於可注射使用的包含LPA RNAi構建體的藥物組成物包括例如無菌水溶液或分散液和用於臨時製備無菌可注射溶液或分散液的無菌粉末。通常，該等製劑為無菌的且流動到易於注射的程度。製劑在製造和儲存條件下應保持穩定，且應防止微生物諸如細菌和真菌的污染作用。合適的溶劑或分散介質可以含有例如水、乙醇、多元醇（例如甘油、丙二醇、和液體聚乙二醇等）、其合適的混合物和植物油。恰當流動性可例如藉由使用包衣諸如卵磷脂、在分散液情況下藉由保持所需粒度且藉由使用界面活性劑來保持。對微生物作用的防止可以藉由各種抗細菌劑和抗真菌劑來實現，例如對羥苯甲酸酯、氯丁醇、酚、山梨酸、硫柳汞等。在許多情況下，較佳的是包括等滲劑，例如糖或氯化鈉。藉由在組成物中使用延遲吸收試劑，例如單硬脂酸鋁和明膠，可以實現可注射組成物的延長吸收。

【0123】 無菌可注射溶液可以藉由將活性化合物按需要以適當量與任何其他成分（例如以上列舉的）一起併入溶劑中，然後過濾滅菌來製備。通常，藉由將各種滅菌活性成分併入無菌媒介物中來製備分散液，該無菌媒介物含有基礎分散介質和所需其他成分，例如如上所列舉的。在用於製備無菌注射溶液的無菌粉末情況下，較佳的製備方法包括真空乾燥和冷凍乾燥技術，該等技術產生一或多種活性成分加來自其先前無菌過濾溶液的任何其他所需成分的粉末。

【0124】 用於本發明方法中的組成物通常可以配製成中性或鹽形式。藥學上可接受的鹽包括例如衍生自無機酸（例如鹽酸或磷酸）或衍生自有機酸（例如乙酸、草酸、酒石酸、苦杏仁酸等）的酸加成鹽（由游離胺基形成）。用游離羧基形成的鹽還可衍生自無機鹼（例如氫氧化鈉、氫氧化鉀、氫氧化銨、氫氧化鈣

或氫氧化鐵)或有機鹼(例如異丙胺、三甲胺、組胺酸、普魯卡因等)。LPA RNAi 構建體的鈉鹽特別適用於向人受試者治療性投與。因此,在某些較佳的實施方式中,LPA RNAi 構建體,特別是奧帕司蘭,係鈉鹽的形式。在其他實施方式中,LPA RNAi 構建體(例如奧帕司蘭)係鉀鹽的形式。

【0125】 例如對於在水溶液中的腸胃外投與,通常將溶液適當地緩衝,且首先例如用足夠鹽水或葡萄糖使液體稀釋劑等滲。此類水溶液可用於例如靜脈內、肌肉內、皮下和腹膜內投與。較佳的是,如熟悉該項技術者已知的,特別是根據本揭露,使用無菌含水介質。舉例說明,可將單次劑量溶於1 ml等滲NaCl溶液中,且添加到1000 ml皮下注射液中或在所建議輸注或注射部位注射(參見例如「Remington's Pharmaceutical Sciences [雷明頓製藥科學]」第15版,第1035-1038頁和第1570-1580頁)。對於人投與,製劑應符合FDA標準所要求的無菌、產熱原性、一般安全性和純度標準。在某些實施方式中,用於本發明方法中的藥物組成物包含無菌鹽水溶液和本文所述之LPA RNAi 構建體(例如奧帕司蘭)或由其組成。在其他實施方式中,用於本發明方法中的藥物組成物包含本文所述之LPA RNAi 構建體(例如奧帕司蘭)和無菌水(例如注射用水,WFI)或由其組成。在仍其他實施方式中,用於本發明方法中的藥物組成物包含本文所述之LPA RNAi 構建體(例如奧帕司蘭)和磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)或由其組成。

【0126】 在某些實施方式中,根據本發明方法適用於治療、改善、預防或降低心血管疾病的風險的藥物組成物包含有效量的LPA RNAi 構建體(例如奧帕司蘭)、磷酸鉀緩衝液和氯化鈉。在一些此類實施方式中,藥物組成物包含約10 mg/mL至約200 mg/mL LPA RNAi 構建體(例如奧帕司蘭)、約5 mM至約30 mM磷酸鉀和約20 mM至約160 mM氯化鈉。在其他實施方式中,藥物組成物包含約65 mg/mL至約85 mg/mL LPA RNAi 構建體(例如奧帕司蘭)、約15 mM至約25 mM磷酸鉀和約70 mM至約90 mM氯化鈉。在仍其他實施方式中,藥物組成物包

含約140 mg/mL至約160 mg/mL LPA RNAi構建體（例如奧帕司蘭）、約15 mM至約25 mM磷酸鉀和約30 mM至約50 mM氯化鈉。該等藥物組成物中任一種的pH可以在約6.4至約7.2範圍內（例如pH係約6.4、約6.6、約6.8、約7.0或約7.2）。

【0127】 在一些實施方式中，欲根據本發明方法投與的藥物組成物包含約10 mg/mL LPA RNAi構建體（例如奧帕司蘭）、約5 mM至約15 mM磷酸鉀和約135 mM至約155 mM氯化鈉，pH係 6.8 ± 0.2 。在一個實施方式中，藥物組成物包含約10 mg/mL LPA RNAi構建體（例如奧帕司蘭）、約10 mM磷酸鉀和約145 mM氯化鈉，pH係6.8。在其他實施方式中，根據本發明方法投與的藥物組成物包含約75 mg/mL LPA RNAi構建體（例如奧帕司蘭）、約15 mM至約25 mM磷酸鉀和約70 mM至約90 mM氯化鈉，pH係 6.8 ± 0.2 。在一個此種實施方式中，藥物組成物包含約75 mg/mL LPA RNAi構建體（例如奧帕司蘭）、約20 mM磷酸鉀和約80 mM氯化鈉，pH係6.8。在某些實施方式中，欲根據本發明方法投與的藥物組成物包含約150 mg/mL LPA RNAi構建體（例如奧帕司蘭）、約15 mM至約25 mM磷酸鉀和約30 mM至約50 mM氯化鈉，pH係 6.8 ± 0.2 。在一個特定的實施方式中，藥物組成物包含約150 mg/mL LPA RNAi構建體（例如奧帕司蘭）、約20 mM磷酸鉀和約40 mM氯化鈉，pH係6.8。

【0128】 可以將本文所述之任何LPA RNAi構建體併入任何上述藥物組成物中並且根據本發明方法向患者投與。在某些實施方式中，併入上述任何藥物組成物中並根據本發明方法向患者投與的LPA RNAi構建體係奧帕司蘭。

【0129】 在一些實施方式中，本發明之藥物組成物與投與裝置包裝在一起或儲存在投與裝置中，諸如上述任何注射裝置（例如預填充注射筒、自動注射器、注射泵、體上注射器和注射筆）。用於霧化或粉末配製物的裝置包括但不限於吸入器、吹入器、吸氣器等。因此，本發明包括投與裝置，其包含本文所述之用於治療或預防一或多種本文所述疾病或障礙的藥物組成物。

【0130】 以下實例（包括所進行的實驗和所實現的結果）僅用於說明目的而提供，並且不應解釋為限制所附請求項之範圍。

實例

實例1. 評價奧帕司蘭在血漿脂蛋白 (a) 升高的受試者中的安全性、耐受性、藥物動力學和藥效學的1期、隨機化、雙盲、安慰劑對照、單次遞增劑量研究

【0131】 孟德爾和流行病學隨機化研究最近將脂蛋白 (a) (Lp(a)) 確立為引起心肌梗塞和其他動脈粥樣硬化併發症的重要風險因子。目前沒有批准的藥物選擇性地靶向Lp(a)並已證明可以減少心血管事件。奧帕司蘭（也稱為AMG 890）係一種siRNA，其被設計來藉由靶向從LPA基因轉錄的mRNA來減少Lp(a)的產生。奧帕司蘭的結構如圖1所示。

【0132】 此1期研究係在美國（United States）和澳大利亞（Australia）的8個網站在血漿Lp(a)升高的受試者中進行的一項隨機化、雙盲、安慰劑對照、單次遞增劑量研究。計畫在9個單次遞增劑量群組中招募大約80名受試者；在每個群組中，將受試者按3：1隨機分配以接受奧帕司蘭或安慰劑。

【0133】 有資格的受試者係具有非生殖潛力的女性，和男性，對於群組1至群組5，兩者的年齡在18歲與60歲之間，包括18歲和60歲；對於群組6至群組9，年齡在18歲與65歲之間，包括18歲和65歲。對於群組1至5，篩選時血漿Lp(a)濃度 ≥ 70 nmol/L 且 ≤ 199 nmol/L；對於群組6至9，篩選時血漿Lp(a)濃度 ≥ 200 nmol/L；對於群組6至9，每個群組中至少6名受試者在招募時使用穩定劑量的他汀至少6週。在隨機化時，受試者的病史沒有任何臨床上顯著的異常。

【0134】 在提供知情同意後，受試者在28天內進行資格篩選，並在第-1天許可進入研究機構。在完成給藥前程序後，受試者接受其研究藥物（奧帕司蘭或安慰劑）劑量。群組1至5中的受試者在第-1天至第4天留在研究機構，並且直至

研究結束才返回機構進行評定。對於群組1至5，受試者分別接受3 mg、9 mg、30 mg、75 mg和225 mg的單次皮下劑量；並且對於群組6至9，分別為9 mg、75 mg、225 mg和675 mg（參見下表1）。

[表1]. 單次遞增劑量研究中的給藥群組

群組	受試者的數量	治療
1 ^a	6	奧帕司蘭3 mg
	2	安慰劑
2 ^a	6	奧帕司蘭9 mg
	2	安慰劑
3 ^a	6	奧帕司蘭30 mg
	2	安慰劑
4 ^a	6	奧帕司蘭75 mg
	2	安慰劑
5 ^a	6	奧帕司蘭225 mg
	2	安慰劑
6 ^b	9	奧帕司蘭9 mg
	3	安慰劑
7 ^b	9	奧帕司蘭75 mg
	3	安慰劑
8 ^b	6	奧帕司蘭225 mg
	2	安慰劑
9 ^b	6	奧帕司蘭675 mg
	2	安慰劑

^a篩選血漿Lp(a) ≥ 70 nmol/L且 ≤ 199 nmol/L的受試者

^b篩選血漿Lp(a) ≥ 200 nmol/L的受試者

【0135】對於群組1至5和群組9，將每個群組中前2名招募的受試者隨機分配而以1:1比率接受奧帕司蘭或安慰劑（標記對），並在同一天在同一個研究網站以盲式給藥。如果研究者認為是安全的，並且在標記對給藥後不少於24小時，則向剩餘群組受試者投與相同劑量。群組1至5的招募係錯開的。在劑量水平審查小組（Dose Level Review Team；DLRT）基於所有受試者直至研究第15天的可用安全性數據發現前一群組中的給藥方案安全且耐受性合理後，向後續群組給藥。

在DLRT基於直至研究第15天的可用安全性數據發現群組4中的給藥方案安全且耐受性合理後，開始進行群組5至7的招募。受試者在第113天（群組1和2）和第225天（群組3至7）返回機構進行治療結束評定。受試者返回進行跟蹤，直到Lp(a)濃度至少為基線的80%（群組1和2大約每2週一次，群組3至7每個月一次）。在整個研究過程中收集血液和尿液樣本來評定奧帕司蘭藥物動力學（PK）和藥效學（PD）。還定期評定安全性變量。

【0136】 主要終點係安全性和耐受性，其藉由治療出現的不良事件（TEAE）、安全性實驗室分析物、生命徵象和心電圖（ECG）來測量。次要終點係奧帕司蘭PK參數，包括但不限於最大觀察濃度（ C_{max} ）、最大觀察濃度的時間（ t_{max} ）和濃度-時間曲線下面積（AUC）；以及PD參數，包括每次預定訪視時血漿Lp(a)水平的變化和變化百分比。Lp(a)的基線值定義為篩選和第1天給藥前的平均值。如果由於任何原因只有一個值可用，則使用該值作為基線。探索性終點包括每次預定訪視時低密度脂蛋白膽固醇（LDL-C）和總脂蛋白元B（ApoB）的變化百分比。

【0137】 該研究中招募了64名受試者，並向其投與奧帕司蘭或安慰劑（群組1-5：奧帕司蘭， $n = 30$ ，劑量：3 mg、9 mg、30 mg、75 mg、225 mg；安慰劑， $n = 10$ ；群組6-7：奧帕司蘭， $n = 18$ ，劑量：9 mg和75 mg；安慰劑， $n = 6$ ）。對於群組1至5中投與奧帕司蘭的受試者（ $n = 30$ ），受試者的平均（SD）年齡為43.9（13.5）歲，30.0%為女性，63.3%為西班牙裔或拉丁裔，30.0%為黑人或非裔美國人，並且70.0%為白人。對於群組1至5中投與安慰劑的受試者（ $n = 10$ ），受試者的平均（SD）年齡為46.3（8.5）歲，30.0%為女性，50.0%為西班牙裔或拉丁裔，30.0%為黑人或非裔美國人，並且70.0%為白人。對於群組6和7中投與奧帕司蘭的受試者（ $n = 18$ ），受試者的平均（SD）年齡為52.7（9.4）歲，33.3%為女性，27.8%為西班牙裔或拉丁裔，並且88.9%為白人。對於群組6和7中投與安慰劑

的受試者 (n = 6)，受試者的平均 (SD) 年齡為 57.8 (5.8) 歲，66.7% 為女性，33.3% 為西班牙裔或拉丁裔，並且 83.3% 為白人。群組 6 和 7 中招募的所有受試者中的 67% (n = 24) 在基線時使用了他汀。受試者幾乎沒有伴隨疾病。群組 1 至 5 中未使用脂質調節藥物，但群組 6 和 7 中很大一部分受試者使用他汀和/或依澤替米貝。群組 1 至 5 中接受安慰劑的受試者的中值 (Q1, Q3) 基線 Lp(a) 濃度為 124 nmol/L (104, 137)，並且群組 1 至 5 中接受奧帕司蘭的受試者為 122 nmol/L (97, 146)。群組 6 和 7 中接受安慰劑的受試者的中值 (Q1, Q3) 基線 Lp(a) 濃度為 272 nmol/L (233, 307)，並且群組 6 和 7 中接受奧帕司蘭的受試者為 253 nmol/L (224, 334)。

【0138】奧帕司蘭似乎耐受性良好。沒有與治療有關的嚴重不良事件。一名安慰劑受試者出現嚴重的非心源性胸痛的不良事件，此被認為與治療無關。在群組 1-5 中，最常見的 TEAE 係上呼吸道感染 (10% 安慰劑，13% 奧帕司蘭)。參見下表 2。在群組 6-7 中，最常見的 TEAE 係頭痛 (50% 安慰劑，28% 奧帕司蘭) 和上呼吸道感染 (17% 安慰劑，17% 奧帕司蘭) (表 2)。研究中僅一名受試者經歷了注射部位反應。劑量與不良事件的頻率沒有明顯關係。未觀察到肝臟測試、血小板或凝血參數或腎功能的臨床相關變化。

[表 2]. 單次遞增劑量研究中的治療中出現的不良事件

不良事件 (AE), n (%)	群組 1-5 篩選 Lp(a) ≥ 70 且 ≤ 199 nmol/L		群組 6-7 篩選 Lp(a) ≥ 200 nmol/L	
	安慰劑 (N = 10)	奧帕司蘭 (N = 30)	安慰劑 (N = 6)	奧帕司蘭 (N = 18)
任何 AE	5 (50.0)	12 (40.0)	4 (66.7)	10 (55.6)
嚴重 AE	0	0	1 (16.7)	0
在群組中超過一名受試者中發生的 AE				
頭痛	1 (10.0)	0	3 (50.0)	5 (27.8)

上呼吸道感染	1 (10.0)	4 (13.3)	1 (16.7)	3 (16.7)
上呼吸道病毒感染	0	1 (3.3)	0	2 (11.1)
非心源性胸痛	1 (10.0)	1 (3.3)	1 (16.7)	0
血肌酸磷酸激酶升高	1 (10.0)	1 (3.3)	0	0
背疼	1 (10.0)	1 (3.3)	0	3 (16.7)
挫傷	0	1 (3.3)	0	1 (5.6)
皮膚擦傷	0	1 (3.3)	0	1 (5.6)
疲勞	0	0	1 (16.7)	1 (5.6)
關節痛	0	1 (3.3)	0	1 (5.6)
鼻出血	1 (10.0)	1 (3.3)	0	0
特別受關注的AE				
注射部位反應	0	1 (3.3)	0	0

【0139】 Lp(a)抑制以劑量反應方式發生。如圖2所示，在群組1-5中，單次劑量的奧帕司蘭在第43天使平均Lp(a)水平相對於基線有效降低71%-96%（基於劑量），並且在第113天降低80%-94%（群組2-5）。在群組6和7中，單次劑量的奧帕司蘭在第43天分別使平均Lp(a)水平相對於基線有效降低75%和89%，並且在第113天降低61%和80%（圖2）。從第15天開始觀察到Lp(a)急劇下降，其中在第43天與第71天之間觀察到最大的Lp(a)抑制。Lp(a)濃度逐漸恢復，但在第225天仍遠低於安慰劑水平。9 mg或更多的單次劑量使Lp(a)降低持續3至6個月。

【0140】 七個給藥群組中每一個中的奧帕司蘭的藥物動力學參數如下表3中所示。3、9、30、75和225 mg的單次劑量（群組1至5）後，奧帕司蘭被迅速吸收，給藥後7.5小時內出現幾何平均C_{max}。幾何平均半衰期（t_{1/2}）值在3至8小時範圍內，其中大部分奧帕司蘭在2-3天內從血清中清除。在劑量高達225 mg下，全身暴露以與劑量近似成比例的方式增加。基線Lp(a) ≥ 200 nmol/L的受試者（群組6和7）中的奧帕司蘭AUC暴露比基線Lp(a) ≥ 70至 ≤ 199 nmol/L的受試者（群組2和4）低大約18%-33%。

[表3]. 單次遞增劑量研究中的奧帕司蘭藥物動力學參數

劑量	N	t _{max} (hr)	C _{max} (ng/mL)	DN-C _{max} (ng/mL/mg)	AUC _{inf} (hr•ng/mL)	DN-AUC _{inf} (hr•ng/mL/mg)	*t _{1/2,z} (hr)
3 mg (群組1)	6	4.5 (1.0-1340)	11.7 (11.8, 19%)	3.89 (3.95, 19%)	172 ^a (172, NR%)	57.3 ^a (57.3, NR%)	7.72 ^a (10.2, NR%)
9 mg (群組2)	6	3.0 (3.0-6.0)	32.7 (36.1, 55%)	3.63 (4.01, 55%)	408 ^b (427, 34%)	45.3 ^b (47.5, 34%)	2.83 ^b (2.85, 16%)
9 mg (群組6)	9	3.0 (1.0-9.0)	15.2 (16.8, 41%)	1.69 (1.87, 41%)	272 ^c (285, 28%)	30.2 ^c (31.6, 28%)	5.31 ^c (5.71, 46%)
30 mg (群組3)	6	7.5 (1.0-9.0)	71.6 (74.9, 33%)	2.39 (2.50, 33%)	1030 ^e (1070, 31%)	33.4 ^e (35.7, 31%)	3.44 ^e (3.53, 24%)
75 mg (群組4)	6	4.5 (0.17-9.0)	218 (252, 61%)	2.91 (3.36, 61%)	2500 ^d (2520, 17%)	33.3 ^d (33.6, 17%)	3.63 ^d (3.68, 21%)
75 mg (群組7)	9	6.0 (3.0-24)	97.7 (111, 51%)	1.30 (1.48, 51%)	2040 ^b (2050, 11%)	27.2 ^b (27.4, 11%)	5.72 ^b (6.22, 43%)
225 mg (群組5)	6	6.0 (1.0-12)	385 (421, 53%)	1.71 (1.87, 53%)	9380 ^b (9600, 27%)	41.7 ^b (42.7, 27%)	6.69 (6.72, 11%)

除表示為中值(範圍)的t_{max}外,所有藥物動力學參數的數據均以幾何平均值(平均值, CV%)表示。除分別表示為兩位有效數字和一位小數的t_{max}和CV%外,數值報告為3位有效數字。

*225 mg劑量組的t_{1/2,z}值表示β半衰期;其他劑量組報告γ半衰期。

^aN = 2; ^bN = 4; ^cN = 6; ^dN = 3; ^eN = 5

t_{max}, 達到C_{max}的時間; C_{max}, 觀察到的最大藥物濃度; DN, 劑量歸一化; AUC_{inf}, 從時間零點到無窮大的血漿濃度-時間曲線下面積; t_{1/2,z}, 終末半衰期

【0141】1期研究的結果證明,在Lp(a)升高的成人中,奧帕司蘭的單次劑量治療耐受性良好,並且顯著降低了Lp(a),其中在9 mg或更高的劑量下,觀察到的近似中值降低百分比 > 90%,並且作用持續3至6個月。高Lp(a)組 (Lp(a) ≥

70至 ≤ 199 nmol/L)中的75 mg和225 mg劑量在對Lp(a)濃度的影響方面幾乎重疊；類似地，9 mg和30 mg劑量幾乎重疊。然而，相對於高Lp(a)群組中的相同劑量，非常高Lp(a)群組(Lp(a) ≥ 200 nmol/L)中的9 mg和75 mg劑量顯示Lp(a)相對於基線的抑制百分比降低。

【0142】用該等單次低劑量的奧帕司蘭觀察到的Lp(a)水平抑制的深度和持續時間明顯優於基於在食蟹猴中進行的奧帕司蘭研究的預測人用劑量的預期值。基於食蟹猴中的奧帕司蘭功效數據(參見例如WO 2017/059223中之實例18)，預計75 mg的預測人用劑量可以使Lp(a)水平降低約80%，持續至少一個月。值得注意的是，如上所述，單次劑量低至9 mg的奧帕司蘭可使人受試者的Lp(a)水平降低超過80%，持續超過3個月。75 mg和225 mg的單次奧帕司蘭劑量將Lp(a)水平抑制超過80%，持續超過六個月。因此，可以以較低劑量和較長給藥間隔(包括最多每6個月一次)向需要降低Lp(a)的人患者投與奧帕司蘭。此類給藥方案具有多種不同益處，諸如改進患者依從性、降低藥物成本以及減少注射體積和次數。

實例2. 用於設計最佳Lp(a)降低的給藥方案的奧帕司蘭PK/PD模型

【0143】基於實例1中描述的1期數據開發了一種數學模型來表徵血漿Lp(a)升高(對於群組1-5, ≥ 70 nmol/L至 < 200 nmol/L,對於群組6-7, ≥ 200 nmol/L)的健康志願者中的奧帕司蘭藥物動力學和Lp(a)抑制。奧帕司蘭的藥物動力學(PK)使用PK模型來描述，該模型具有從皮下投與部位到循環的一級吸收，藉由去唾液酸糖蛋白受體(ASGPR)攝取分配到肝臟，奧帕司蘭從肝臟再循環回到循環，並藉由降解從全身循環和肝臟消除。發現奧帕司蘭血清暴露與基線Lp(a)相關。因此，模型中還包括藉由基線Lp(a)調節奧帕司蘭生體可用率的功能。使用PK/PD模型描述了Lp(a)相對於基線對的抑制，其中模型預計的奧帕司蘭肝臟

濃度加速了LPA mRNA的降解，使得Lp(a)的產生減少並且Lp(a)被抑制，持續肝臟中奧帕司蘭濃度足夠的持續時間。使用 E_{max} 模型將奧帕司蘭肝臟濃度與LPA mRNA降解之間的關係模型化。基於Lp(a)抑制程度推斷LPA mRNA濃度的變化。Lp(a)的合成和降解速率由基線Lp(a)水平決定，其中較高的基線值與較大的生產速率相關。

【0144】 在模型開發期間並且為了進行臨床給藥方案模擬，進行如下假設：

a) 對基線Lp(a)水平 ≥ 150 nmol/L 的標靶群體進行了2期劑量選擇的模擬，但模型參數從基線Lp(a)值 ≥ 70 nmol/L至 < 200 nmol/L且 ≥ 200 nmol/L的受試者估計；

b) 假設2期群體多次給藥後受試者之間和受試者內的可變性與1期研究受試者的估計值相同；並且

c) Lp(a)抑制的持續時間基於模型預計的肝臟中的奧帕司蘭PK/PD半衰期，並且多次劑量後反應的外推基於1期研究中觀察到的抑制和給藥間隔結束時作用的累積。

【0145】 此模型能夠充分預計在基線Lp(a)較高 (≥ 150 nmol/L) 的受試者中觀察到的奧帕司蘭暴露的顯著降低，表明可能需要更高劑量的奧帕司蘭來在此患者群體中實現標靶Lp(a)抑制。對此模型進行模擬以探索Q3M和Q6M給藥方案，並推斷多次劑量的奧帕司蘭後的預計Lp(a)抑制。對於提議的每種給藥方案，計算出給藥間隔結束時實現標靶Lp(a)抑制（相對於基線降低 $\geq 80\%$ ）的受試者比例和達到絕對Lp(a)值 ≤ 50 nmol/L的受試者比例。

【0146】 圖3A-3F顯示了對於以10 mg、30 mg、50 mg、75 mg、150 mg和225 mg的劑量Q3M給與奧帕司蘭，基線Lp(a)水平 ≥ 150 nmol/L的受試者的以基線的百分比形式表示的預計Lp(a)水平。該模型預計，在3個月的給藥間隔期間，

10 mg或更高的劑量會使Lp(a)水平抑制達80%或更多。下表4顯示了用不同劑量的奧帕司蘭每3個月投與一次(Q3M給藥)在每個給藥間隔時實現Lp(a)水平相對於基線至少80%降低的受試者的預計比例，而表5顯示了用相同奧帕司蘭給藥方案實現50 nmol/L或更低的絕對Lp(a)水平的受試者的預計比例。

[表4]. 藉由Q3M給與奧帕司蘭實現80%或更多的Lp(a)降低的受試者的預計比例

劑量 (mg)	Lp(a)降低 ≥ 80% 的受試者的預計百分比 超過200次模擬試驗的中值 (95%預計區間)*			
	3個月	6個月	9個月	12個月
4	8 (2-14)	10 (4-20)	12 (4-22)	12 (6-20)
6	16 (6-24)	20 (14-30)	22 (12-30)	22 (14-32)
9	28 (16-38)	34 (24-44)	36 (24-46)	38 (28-48)
10	32 (18-40)	40 (26-50)	42 (30-54)	42 (32-54)
30	74 (62-82)	78 (68-86)	80 (68-86)	78 (70-88)
50	86 (78-92)	88 (80-94)	90 (82-96)	90 (82-96)
75	92 (84-96)	92 (88-98)	94 (88-100)	94 (88-100)
150	96 (92-100)	96 (92-100)	98 (92-100)	98 (92-100)
225	98 (94-100)	98 (94-100)	98 (94-100)	98 (94-100)

*每次試驗50名受試者

[表5]. 藉由Q3M給與奧帕司蘭實現50 nmol/L或更低的絕對Lp(a)水平的受試者的預計比例

劑量 (mg)	實現絕對Lp(a)水平 ≤ 50 nmol/L 的受試者的預計百分比 超過200次模擬試驗的中值 (95%預計區間)*			
	3個月	6個月	9個月	12個月
4	10 (2-16)	14 (6-22)	14 (6-22)	14 (6-22)
6	18 (10-26)	22 (12-32)	24 (16-32)	24 (14-34)
9	28 (20-38)	36 (24-46)	36 (26-48)	36 (26-50)
10	32 (22-42)	38 (28-50)	40 (30-52)	41 (30-52)
30	70 (58-78)	74 (62-84)	76 (66-84)	76 (64-84)
50	82 (72-90)	84 (76-92)	86 (76-94)	86 (76-94)
75	88 (80-96)	90 (82-98)	90 (84-98)	90 (84-96)

	實現絕對Lp(a)水平 ≤ 50 nmol/L的受試者的預計百分比 超過200次模擬試驗的中值（95%預計區間）*			
劑量（mg）	3個月	6個月	9個月	12個月
150	94（88-98）	96（90-100）	96（90-100）	96（90-100）
225	96（92-100）	96（92-100）	96（92-100）	96（92-100）

*每次試驗50名受試者

【0147】 基於1期數據的模型模擬預計，每季度（Q3M）投與10 mg劑量的奧帕司蘭將使基線Lp(a)水平 ≥ 150 nmol/L的受試者中約42%到第12個月實現相對於基線至少80%的Lp(a)降低。每季度投與75 mg或更高劑量的奧帕司蘭預計在基線Lp(a)水平 ≥ 150 nmol/L的受試者中的至少90%中在早至接受單次劑量奧帕司蘭後3個月即提供80%或更多的Lp(a)抑制。預計類似比例的受試者用該等相同的給藥方案實現50 nmol/L或更低的絕對Lp(a)值。

【0148】 還進行模擬以將奧帕司蘭的兩年一次（Q6M）給藥方案模型化。圖4A-4F顯示了對於以10 mg、75 mg、150 mg、225 mg、450 mg和675 mg的劑量Q6M給與奧帕司蘭，基線Lp(a)水平 ≥ 150 nmol/L的受試者的以基線的百分比形式表示的預計Lp(a)水平。該模型預計，在6個月的給藥間隔期間，至少75 mg的劑量會使Lp(a)水平抑制達80%或更多。下表6顯示了用不同劑量的奧帕司蘭每6個月投與一次（Q6M給藥）在每個給藥間隔時實現Lp(a)水平相對於基線至少80%降低的受試者的預計比例，而表7顯示了用相同奧帕司蘭給藥方案實現50 nmol/L或更低的絕對Lp(a)水平的受試者的預計比例。

[表6]. 藉由Q6M給與奧帕司蘭實現80%或更多的Lp(a)降低的受試者的預計比例

	Lp(a)降低 $\geq 80\%$ 的受試者的預計百分比 超過200次模擬試驗的中值（95%預計區間）*			
劑量（mg）	12個月	24個月	36個月	48個月
10	4（2-8）	4（2-9）	4（2-8）	4（2-8）
30	20（12-30）	20（12-28）	20（12-30）	20（12-30）
50	34（24-46）	36（26-44）	34（24-46）	34（26-44）

劑量 (mg)	Lp(a)降低 ≥ 80% 的受試者的預計百分比 超過200次模擬試驗的中值 (95%預計區間) *			
	12個月	24個月	36個月	48個月
75	48 (36-60)	46 (36-60)	46 (36-60)	47 (36-58)
150	66 (56-76)	67 (56-78)	68 (56-78)	66 (58-78)
225	76 (66-86)	76 (66-86)	76 (68-86)	76 (68-86)
300	82 (72-90)	82 (72-90)	82 (72-90)	82 (72-90)
450	88 (78-94)	88 (78-94)	88 (78-94)	88 (78-94)
675	92 (84-98)	92 (84-98)	92 (84-98)	92 (84-98)

*每次試驗50名受試者

[表7]. 藉由Q6M給與奧帕司蘭實現50 nmol/L或更低的絕對Lp(a)水平的受試者的預計比例

劑量 (mg)	實現絕對Lp(a)水平 ≤ 50 nmol/L 的受試者的預計百分比 超過200次模擬試驗的中值 (95%預計區間) *			
	12個月	24個月	36個月	48個月
10	4 (2-10)	4 (2-10)	5 (2-10)	4 (2-10)
30	22 (12-30)	22 (12-30)	22 (14-32)	22 (14-32)
50	34 (24-46)	34 (24-46)	34 (24-46)	34 (24-46)
75	46 (36-58)	46 (34-58)	46 (36-56)	46 (36-58)
150	64 (52-74)	64 (54-74)	64 (52-74)	64 (54-74)
225	72 (62-84)	74 (64-82)	72 (64-82)	74 (62-82)
300	78 (68-86)	78 (68-88)	78 (70-88)	78 (68-88)
450	84 (76-92)	84 (76-92)	84 (76-94)	84 (76-92)
675	88 (80-96)	88 (80-96)	88 (82-96)	88 (80-96)

*每次試驗50名受試者

【0149】 模型化數據顯示，每六個月一次 (Q6M) 投與至少75 mg劑量的奧帕司蘭預計在僅兩次劑量後 (即，治療12個月後) 使基線Lp(a)水平 ≥ 150 nmol/L 的受試者中約50%的Lp(a)水平相對於基線降低至少80%。此外，每六個月投與一次75 mg奧帕司蘭預計在治療1年後使相同比例的患者實現低於50 nmol/L的絕對Lp(a)水平。每六個月投與一次225 mg奧帕司蘭預計在治療1年後使受試者中約

76%中的Lp(a)水平抑制至少80%，而每六個月投與一次450 mg或更高劑量預計在治療1年後使受試者中約90%的Lp(a)水平抑制超過此閾值。

【0150】基於最近的孟德爾隨機化研究，預期Lp(a)水平相對於基線降低80%或更多在患有動脈粥樣硬化性心血管疾病的患者中產生具有臨床意義的心血管益處（Burgess等人, JAMA Cardiol. [美國醫學會雜誌心臟病學雜誌] 第3卷: 619-627, 2018；Lamina等人, JAMA Cardiol. [美國醫學會雜誌心臟病學雜誌], 第4卷: 575-579, 2019；和Madsen等人, Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. [動脈硬化、血栓形成和血管生物學], 第40卷: 255-266, 2020）。因此，奧帕司蘭PK/PD模型化的重點係鑒定奧帕司蘭的給藥方案，該方案可以使Lp(a)水平降低超過此閾值。本實施方式中描述的奧帕司蘭PK/PD模型化和模擬的結果指示：

- 每3個月一次或每12週一次投與10 mg的劑量使基線Lp(a)水平 \geq 150 nmol/L的受試者中大約一半（42%）到第12個月Lp(a)降低 \geq 80%，並且在第6個月和第12個月時，相對於基線的中值Lp(a)%降低為約77%；
- 每3個月一次或每12週一次投與75 mg的劑量預期使受試者中的大多數（94%）在2至3次劑量內相對於基線的Lp(a)降低 \geq 80%，並且預期用此給藥方案，受試者中大約90%實現50 nmol/L或更低的絕對Lp(a)濃度；
- 每3個月一次或每12週一次投與225 mg的劑量預期使受試者中98%的Lp(a)降低 \geq 80%，並且使受試者中96%的Lp(a)水平降低至50 nmol/L或更低的絕對濃度；
- 每3個月一次或每12週一次10 mg或更高劑量的給藥頻率將基線Lp(a)水平為150 nmol/L或更高的受試者中大多數（ \geq 90%）Lp(a)水平在整個3個月給藥間隔內抑制在低於基線的20%；並且

- 每六個月一次或每24週一次投與225 mg的劑量將產生相對於基線88%的中值Lp(a)降低，並且受試者中的大約74%實現50 nmol/L或更低的絕對Lp(a)濃度。

實例3. 評價奧帕司蘭在脂蛋白 (a) 升高的受試者中的功效、安全性和耐受性的雙盲、隨機化、安慰劑對照2期研究

【0151】 此2期研究的主要目的係評價與安慰劑相比，每12週一次 (Q12W) 皮下投與奧帕司蘭對患有動脈粥樣硬化性心血管疾病並且Lp(a)升高的患者中治療36週後的Lp(a)水平相對於基線的變化百分比的作用。該研究的次要目標包括與安慰劑相比，Q12W皮下投與奧帕司蘭對以下參數相對於基線的變化百分比的作用：(i) 治療48週後的Lp(a)水平，(ii) 治療36和48週後的低密度脂蛋白膽固醇 (LDL-C) 水平，以及 (iii) 治療 36和48週後的脂蛋白元B (ApoB) 水平，以及奧帕司蘭的藥物動力學特性的表徵。還評價了每24週投與一次 (Q24W) 奧帕司蘭。

【0152】 將大約240名受試者以1 : 1 : 1 : 1 : 1的比率隨機分配，其中4組用奧帕司蘭治療，並且1組用安慰劑治療。藉由篩選Lp(a) \leq 200 nmol/L與 $>$ 200 nmol/L以及區域 (日本與非日本) 對隨機化進行分層。研究治療期為48週，其中在第1天、第12週、第24週和第36週給藥。在第48週後進行延長的安全性跟蹤，其中 \geq 40週不再給與奧帕司蘭或安慰劑，並且Lp(a)恢復到基線的80%，以較晚者為準。在治療期間和延長的安全性跟蹤期期間，受試者根據當地指南繼續進行標準護理 (包括穩定的脂質改變療法)。

【0153】 在簽署知情同意書後，受試者進入篩選期 (長達4週)，在此期間評定受試者的資格。有資格的受試者包括在篩選期間患有動脈粥樣硬化性心血

管疾病的Lp(a) > 150 nmol/L的18至80歲成人。具體而言，如果受試者符合以下所有關鍵納入標準，則將其招募到研究中：

- 年齡18至80歲
- 中心實驗室篩選期間Lp(a) > 150 nmol/L
- 基於以下之一的動脈粥樣硬化性心血管疾病：
 - 藉由經皮冠狀動脈介入（PCI）或冠狀動脈旁路移植術（CABG）進行的冠狀動脈血管重建史；
 - 診斷出有或無既往心肌梗塞的冠狀動脈疾病；
 - 診斷出動脈粥樣硬化性腦血管疾病；或者
 - 診斷出周邊動脈疾病
- 對於接受脂質改變療法（資格不要求）的受試者，包括他汀劑量的脂質改變療法必須在篩選前和篩選期間根據當地指南保持穩定持續 ≥ 4週

如果受試者符合以下關鍵排除標準中之任一項，則將其從研究中排除：

- 嚴重腎功能障礙，其定義為篩選時估計的腎小球濾過率（eGFR）
< 30 mL/min/1.73 m²
- 肝功能障礙史或臨床證據，其定義為篩選期間的天冬胺酸轉胺酶（AST）或丙胺酸轉胺酶（ALT）> 3 × 正常上限（ULN），或總膽紅素（TBL）> 2 × ULN
- 第1天前5年內的惡性腫瘤（非黑色素瘤皮膚癌、宮頸原位癌、乳腺導管原位癌或1期前列腺癌除外）
- 第1天不受控的高血壓，其定義為在靜止狀態下平均收縮壓 ≥ 160 mmHg或平均舒張壓 ≥ 100 mmHg
- 篩選期間的空腹甘油三酯 ≥ 400 mg/dL（4.5 mmol/L）

- 1型糖尿病或控制不良的2型糖尿病，其藉由篩選時中心實驗室確定的糖化血紅素（HbA1c） $\geq 8.5\%$ 確定

【0154】 有研究資格的受試者的基線Lp(a) > 150 nmol/L。此閾值基於現有的流行病學數據，該等流行病學數據顯示根據一般群體數據，Lp(a) > 125 nmol/L被認為係升高的（Averna等人, *Atheroscler Suppl.* [動脈粥樣硬化增刊], 第26卷: 16-24, 2017；Nordestgaard和Langsted, *J. Lipid Res.* [脂質研究雜誌], 第57卷: 1953-75, 2016；Ohro-Melander, *J Intern Med.* [內科雜誌], 第278卷: 433-46, 2015；Leebmann等人, *Circulation* [循環], 第128卷: 2567-2576, 2013）。此外，基於證明對心血管事件的相應作用所必需的絕對Lp(a)降低程度，招募的群體需要具有高基線Lp(a)。因此，Lp(a) > 150 nmol/L的招募標準使得研究群體的中值Lp(a)大約為200 nmol/L，並使得可評價奧帕司蘭在具有極高Lp(a)的受試者中的有效性和安全性。

【0155】 將有資格和招募的受試者以 1 : 1 : 1 : 1 : 1的比率隨機分配到以下五個治療組之一，其中每組大約有48名受試者：

組1：10 mg奧帕司蘭，Q12W

組2：75 mg奧帕司蘭，Q12W

組3：225 mg奧帕司蘭，Q12W

組4：225 mg奧帕司蘭，Q24W

第5組：安慰劑，Q12W

如實例2中所述，該等奧帕司蘭給藥方案預計在整個給藥間隔（3個月或6個月）中將基線Lp(a)水平 > 150 nmol的人受試者中的Lp(a)水平相對於基線抑制至少80%。根據指定的治療組，藉由以10 mg、75 mg或225 mg的劑量每12週一次（治療組1至3）或每24週一次（治療組4）皮下注射來投與奧帕司蘭。在篩選期間、投與第一劑量奧帕司蘭之前和在第12、24、36和48週以及在研究期間的其他

不同時間點從招募的受試者收集用於評定血清Lp(a)、LDL-C和ApoB以及其他臨床實驗室分析物的樣本。收集血液樣本以用於在研究期間的不同時間點測量奧帕司蘭的血清濃度，從而評定奧帕司蘭的藥物動力學參數。

【0156】 Lp(a)的篩選在中心實驗室使用批准的或研究性的免疫濁度測定進行，該免疫濁度測定被標準化以獨立於apo(a)同種型大小檢測和定量Lp(a)顆粒，諸如購自羅氏診斷公司(Roche Diagnostics)的Tina-quant® Lipoprotein (a) Gen. 2測定。該測定有效用於血清樣本中Lp(a)的測量值(nmol/L)，其檢測限為7 nmol/L，並且對於nmol/L，針對IFCC參考材料SRM2B進行標準化(Marcovina等人, Clin. Chem. [臨床化學], 第46卷: 1946-1967, 2000)。脂質測量組以及其他臨床分析物，諸如ApoB、血紅素A1C、ALT、AST和膽紅素的測定由中心實驗室使用標準方法進行。

【0157】 當所有隨機分配的受試者均有機會完成第36週評定或提前終止時，進行主要分析。當所有受試者均有機會完成第48週評定或提前終止時，進行治療期結束分析。在最後一名受試者完成延長的安全性跟蹤並結束研究或提前終止研究之後進行最終分析。使用重複測量線性作用模型比較組之間的主要終點(在第36週的Lp(a)相對於基線的變化百分比)，包括術語治療組、分層因子、預定訪視以及治療與預定訪視的相互作用。使用Hochberg程序來控制活性劑組和安慰劑組之間多重比較的I類錯誤。與主要終點類似地分析次要終點，即在第48週的Lp(a)，在第36週和第48週的ApoB和LDL-C相對於基線的變化百分比。描述性地總結了安全性終點(例如治療中出現的不良事件)。基線Lp(a)定義為研究第1天之前或在研究第1天藉由中心實驗室測量的兩個最新的非缺失Lp(a)值的平均值。如果由於任何原因只有一個值可用則使用該值作為基線。

【0158】 已觀察到用單次劑量的奧帕司蘭實現Lp(a)相對於基線降低80%或更多(參見實例1)持續超過3個月，並且預期Lp(a)的此水平的持續降低可以

藉由降低心血管事件的風險在患有動脈粥樣硬化性心血管疾病的患者中引起臨床上有意義的心血管益處。最近的孟德爾隨機化研究表明，在基線Lp(a)濃度非常高的個體中，使Lp(a)降低80%至90%預期會轉化為臨床上有意義的心血管事件風險降低（Burgess等人, JAMA Cardiol. [美國醫學會雜誌心臟病學雜誌], 第3卷: 619-627, 2018；Lamina等人, JAMA Cardiol. [美國醫學會雜誌心臟病學雜誌], 第4卷: 575-579, 2019；和Madsen等人, Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. [動脈硬化、血栓形成和血管生物學], 第40卷: 255-266, 2020）。因此，此研究的結果預期顯示，在所有測試劑量下，與安慰劑相比，奧帕司蘭使患有動脈粥樣硬化性心血管疾病且Lp(a)升高的受試者的Lp(a)相對於基線產生顯著的降低百分比。特別地，預期每12週一次以低至10 mg的劑量投與奧帕司蘭將使大多數受試者的Lp(a)水平有效降低至低於50 nmol/L，此預期將降低此類受試者的心血管事件的風險。基於實例2中描述的PK/PD模型化，預期每12週一次以75 mg的劑量投與奧帕司蘭係一種特別有效的投與方案。

【0159】 本文討論和引用的所有出版物、專利和專利申請均藉由引用以其整體特此併入。應理解，所揭露的發明不限於所描述的特定方法、方案和材料，因為該等可以變化。還應理解，本文使用的術語僅用於描述特定實施方式之目的，並不旨在限制所附請求項的範圍。

【0160】 熟悉該項技術者僅使用常規實驗就將認識到或能夠確定本文所述之本發明之特定實施方式的許多等效物。這類等效物旨在由以下請求項所涵蓋。

【符號說明】 無

【生物材料寄存】 無

【序列表】

<110> 美商安進公司 (AMGEN INC.)

<120> 用靶向LPA的RNAi構建體治療動脈粥樣硬化性心血管疾病之方法

<130> A-2694-WO-PCT

<140> TW 110141087

<141> 2021-11-04

<150> 63/110,309

<151> 2020-11-05

<160> 12

<170> PatentIn 3.5版

<210> 1

<211> 18

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 1

gccccuuuu guuauacg

18

<210> 2

<211> 18

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 2

cguauaaca uaaggggc

18

<210> 3

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 3	
cagcccccua uuguuauacg a	21
<210> 4	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成多核苷酸	
<400> 4	
ucguauaaca auaaggggcu g	21
<210> 5	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的經修飾的多核苷酸	
<220>	
<221> 經修飾的鹼基	
<222> (1)..(21)	
<223> 2'-氟、2'-O-甲基、反向去氧腺苷、硫代磷酸酯連接的核糖核苷酸的組合	
<400> 5	
cagcccccua uuguuauacg a	21
<210> 6	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的經修飾的多核苷酸	
<220>	
<221> 經修飾的鹼基	
<222> (1)..(21)	
<223> 2'-氟、2'-O-甲基、硫代磷酸酯連接的核糖核苷酸的組合	
<400> 6	

ucguauaaca auaaggggcu g 21

<210> 7

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 7

gccccuuauu guuauacgau u 21

<210> 8

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多核苷酸

<400> 8

ucguauaaca auaaggggcu u 21

<210> 9

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的經修飾的多核苷酸

<220>

<221> 經修飾的鹼基

<222> (1)..(21)

<223> 2'-氟、2'-O-甲基、反向無鹼基、硫代磷酸酯連接的核糖核苷酸的組合

<400> 9

gccccuuauu guuauacgau u 21

<210> 10

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的經修飾的多核苷酸

<220>

<221> 經修飾的鹼基

<222> (1)..(21)

<223> 2'-氟、2'-O-甲基、硫代磷酸酯連接的核糖核苷酸的組合

<400> 10

ucguauaaca auaaggggcu u

21

<210> 11

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的經修飾的多核苷酸

<220>

<221> 經修飾的鹼基

<222> (1)..(21)

<223> 2'-氟、2'-O-甲基、反向無鹼基、硫代磷酸酯連接的核糖核苷酸的組合

<400> 11

gccccuuauu guuauacgau u

21

<210> 12

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的經修飾的多核苷酸

<220>

<221> 經修飾的鹼基

<222> (1)..(21)

<223> 2'-氟、2'-O-甲基、硫代磷酸酯連接的核糖核苷酸的組合

<400> 12

ucguauaaca auaaggggcu u

21

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 LPA RNAi構建體用於製備用以治療、減少或預防有需要的患者之動脈粥樣硬化的藥物之用途，其中該藥物以約9 mg至約675 mg的劑量以至少8週的給藥間隔投與或經配製來以該方式投與，其中該LPA RNAi構建體包含含有SEQ ID NO: 1的序列的有義股、含有SEQ ID NO: 2的序列的反義股和含有去唾液酸糖蛋白受體配位基的靶向部分，其中該靶向部分與該有義股的5'端共價附接。

【請求項2】 LPA RNAi構建體用於製備用以降低有需要的患者之血清或血漿Lp(a)水平的藥物之用途，其中該藥物以約9 mg至約675 mg的劑量以至少8週的給藥間隔投與或經配製來以該方式投與，其中該LPA RNAi構建體包含含有SEQ ID NO: 1的序列的有義股、含有SEQ ID NO: 2的序列的反義股和含有去唾液酸糖蛋白受體配位基的靶向部分，其中該靶向部分與該有義股的5'端共價附接。

【請求項3】 如請求項2所述之用途，其中該患者被診斷出心血管疾病或具有心血管疾病的風險。

【請求項4】 如請求項3所述之用途，其中該心血管疾病係冠狀動脈疾病、頸動脈疾病、周邊動脈疾病、心肌梗塞、腦血管疾病、中風、主動脈瓣狹窄、穩定型或不穩定型心絞痛、心房顫動、心臟衰竭、高脂血症、雜合子家族性高膽固醇血症或純合子家族性高膽固醇血症。

【請求項5】 如請求項2所述之用途，其中該患者被診斷出慢性腎病。

【請求項6】 如請求項2所述之用途，其中該患者有心肌梗塞史。

【請求項7】 如請求項2所述之用途，其中該患者被診斷出急性冠狀動脈綜合症。

【請求項8】 LPA RNAi構建體用於製備用以治療、減少或預防有需要的患者之心血管疾病的藥物之用途，其中該藥物以約9 mg至約675 mg的劑量以至少8週

的給藥間隔投與或經配製來以該方式投與，其中該LPA RNAi構建體包含含有SEQ ID NO: 1的序列的有義股、含有SEQ ID NO: 2的序列的反義股和含有去唾液酸糖蛋白受體配位基的靶向部分，其中該靶向部分與該有義股的5'端共價附接。

【請求項9】如請求項8所述之用途，其中該心血管疾病係冠狀動脈疾病、頸動脈疾病、周邊動脈疾病、心肌梗塞、腦血管疾病、中風、主動脈瓣狹窄、穩定型或不穩定型心絞痛、心房顫動、心臟衰竭、高脂血症、雜合子家族性高膽固醇血症或純合子家族性高膽固醇血症。

【請求項10】LPA RNAi構建體用於製備用以降低患有動脈粥樣硬化性心血管疾病的患者之心血管事件的風險的藥物之用途，其中該藥物以約9 mg至約675 mg的劑量以至少8週的給藥間隔投與或經配製來以該方式投與，其中該LPA RNAi構建體包含含有SEQ ID NO: 1的序列的有義股、含有SEQ ID NO: 2的序列的反義股和含有去唾液酸糖蛋白受體配位基的靶向部分，其中該靶向部分與該有義股的5'端共價附接。

【請求項11】如請求項10所述之用途，其中該心血管事件係心血管死亡、心肌梗塞、中風和/或冠狀動脈血管重建。

【請求項12】如請求項10或11所述之用途，其中該患者有冠狀動脈血管重建史、冠狀動脈旁路移植術史、診斷出冠狀動脈疾病、診斷出動脈粥樣硬化性腦血管疾病、診斷出周邊動脈疾病和/或有心肌梗塞史。

【請求項13】如請求項10至12中任一項所述之用途，其中該患者在第一次投與該藥物之前一年內經歷過心肌梗塞。

【請求項14】如請求項10至12中任一項所述之用途，其中該患者因急性冠狀動脈綜合症或不穩定型心絞痛住院。

【請求項15】如請求項1至14中任一項所述之用途，其中該患者在第一次投與該藥物之前血清或血漿Lp(a)水平為約70 nmol/L或更高。

【請求項16】 如請求項1至14中任一項所述之用途，其中該患者在第一次投與該藥物之前血清或血漿Lp(a)水平為約100 nmol/L或更高。

【請求項17】 如請求項1至14中任一項所述之用途，其中該患者在第一次投與該藥物之前血清或血漿Lp(a)水平為約125 nmol/L或更高。

【請求項18】 如請求項1至14中任一項所述之用途，其中該患者在第一次投與該藥物之前血清或血漿Lp(a)水平為約150 nmol/L或更高。

【請求項19】 如請求項1至14中任一項所述之用途，其中該患者在第一次投與該藥物之前血清或血漿Lp(a)水平為約175 nmol/L或更高。

【請求項20】 如請求項1至14中任一項所述之用途，其中該患者在第一次投與該藥物之前血清或血漿Lp(a)水平為約200 nmol/L或更高。

【請求項21】 如請求項1至14中任一項所述之用途，其中該患者在第一次投與該藥物之前血清或血漿Lp(a)水平為約225 nmol/L或更高。

【請求項22】 如請求項1至21中任一項所述之用途，其中該給藥間隔為約12週。

【請求項23】 如請求項1至21中任一項所述之用途，其中該給藥間隔為約24週。

【請求項24】 如請求項1至21中任一項所述之用途，其中該藥物以約10 mg至約225 mg的劑量每12週一次向該患者投與或經配製來以該方式投與。

【請求項25】 如請求項24所述之用途，其中該藥物以約50 mg至約100 mg的劑量每12週一次向該患者投與或經配製來以該方式投與。

【請求項26】 如請求項24所述之用途，其中該藥物以約150 mg至約225 mg的劑量每12週一次向該患者投與或經配製來以該方式投與。

【請求項27】 如請求項24所述之用途，其中該藥物以約75 mg的劑量每12週一次向該患者投與或經配製來以該方式投與。

【請求項28】如請求項24所述之用途，其中該藥物以約150 mg的劑量每12週一次向該患者投與或經配製來以該方式投與。

【請求項29】如請求項24所述之用途，其中該藥物以約225 mg的劑量每12週一次向該患者投與或經配製來以該方式投與。

【請求項30】如請求項1至21中任一項所述之用途，其中該藥物以約225 mg至約675 mg的劑量每24週一次向該患者投與或經配製來以該方式投與。

【請求項31】如請求項30所述之用途，其中該藥物以約225 mg的劑量每24週一次向該患者投與或經配製來以該方式投與。

【請求項32】如請求項1至31中任一項所述之用途，其中該患者正在接受脂質降低療法。

【請求項33】如請求項32所述之用途，其中該脂質降低療法係他汀、依澤替米貝、PCSK9抑制劑、苯哌多酸或其組合。

【請求項34】如請求項1至33中任一項所述之用途，其中該患者在第一次投與該藥物之前血清低密度脂蛋白膽固醇（LDL-C）水平為約100 mg/dL或更低。

【請求項35】如請求項1至33中任一項所述之用途，其中該患者在第一次投與該藥物之前血清低密度脂蛋白膽固醇（LDL-C）水平為約70 mg/dL或更低。

【請求項36】如請求項1至35中任一項所述之用途，其中該患者在第一次投與該藥物之前估計腎小球濾過率為約30 mL/min/1.73 m²或更高。

【請求項37】如請求項1至36中任一項所述之用途，其中該患者在第一次投與該藥物之前在靜止狀態下的平均收縮壓低於約160 mmHg並且平均舒張壓低於約100 mmHg。

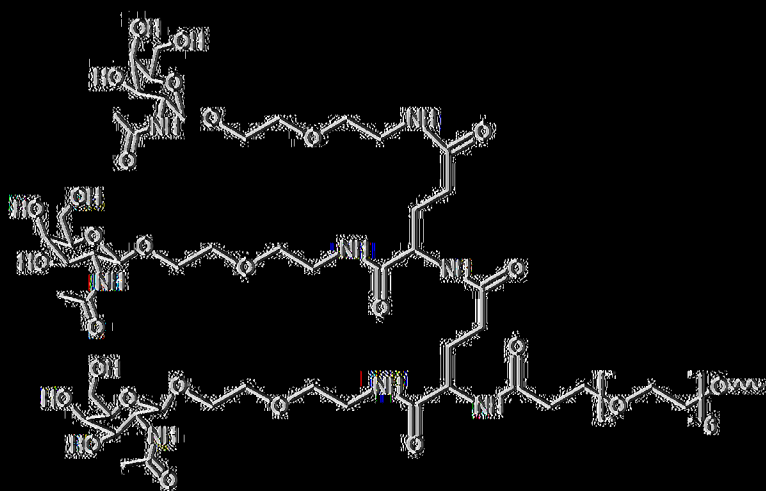
【請求項38】如請求項1至37中任一項所述之用途，其中該患者在第一次投與該藥物之前糖化血紅素A1c水平低於約8.5%。

(請求項39) 如請求項1至38中任一項所述之用途，其中該患者在第一次投與該藥物之前血清甘油三酯水平低於約400 mg/dL。

(請求項40) 如請求項1至39中任一項所述之用途，其中該LPA RNAi構建體的有義股包含SEQ ID NO: 3的序列或由其組成，且該LPA RNAi構建體的反義股包含SEQ ID NO: 4的序列或由其組成。

(請求項41) 如請求項1至40中任一項所述之用途，其中該LPA RNAi構建體的有義股包含根據SEQ ID NO: 5的經修飾核苷酸的序列或由其組成，且該LPA RNAi構建體的反義股包含根據SEQ ID NO: 6的經修飾核苷酸的序列或由其組成。

(請求項42) 如請求項1至41中任一項所述之用途，其中該LPA RNAi構建體的靶向部分具有以下結構：



(請求項43) 如請求項1至42中任一項所述之用途，其中該LPA RNAi構建體係與靶向相關。

(請求項44) 如請求項1至43中任一項所述之用途，其中投與該藥物使該患者之血清或血漿Lp(a)水平與該患者之基線血清或血漿Lp(a)水平相比降低超過50%持續至少12週。

【請求項45】 如請求項1至43中任一項所述之用途，其中投與該藥物使該患者之血清或血漿Lp(a)水平與該患者之基線血清或血漿Lp(a)水平相比降低超過80%持續至少12週。

【請求項46】 如請求項1至43中任一項所述之用途，其中投與該藥物使該患者之血清或血漿Lp(a)水平與該患者之基線血清或血漿Lp(a)水平相比降低超過90%持續至少12週。

【請求項47】 如請求項1至43中任一項所述之用途，其中投與該藥物使該患者之血清或血漿Lp(a)水平降低至約100 nmol/L或更低。

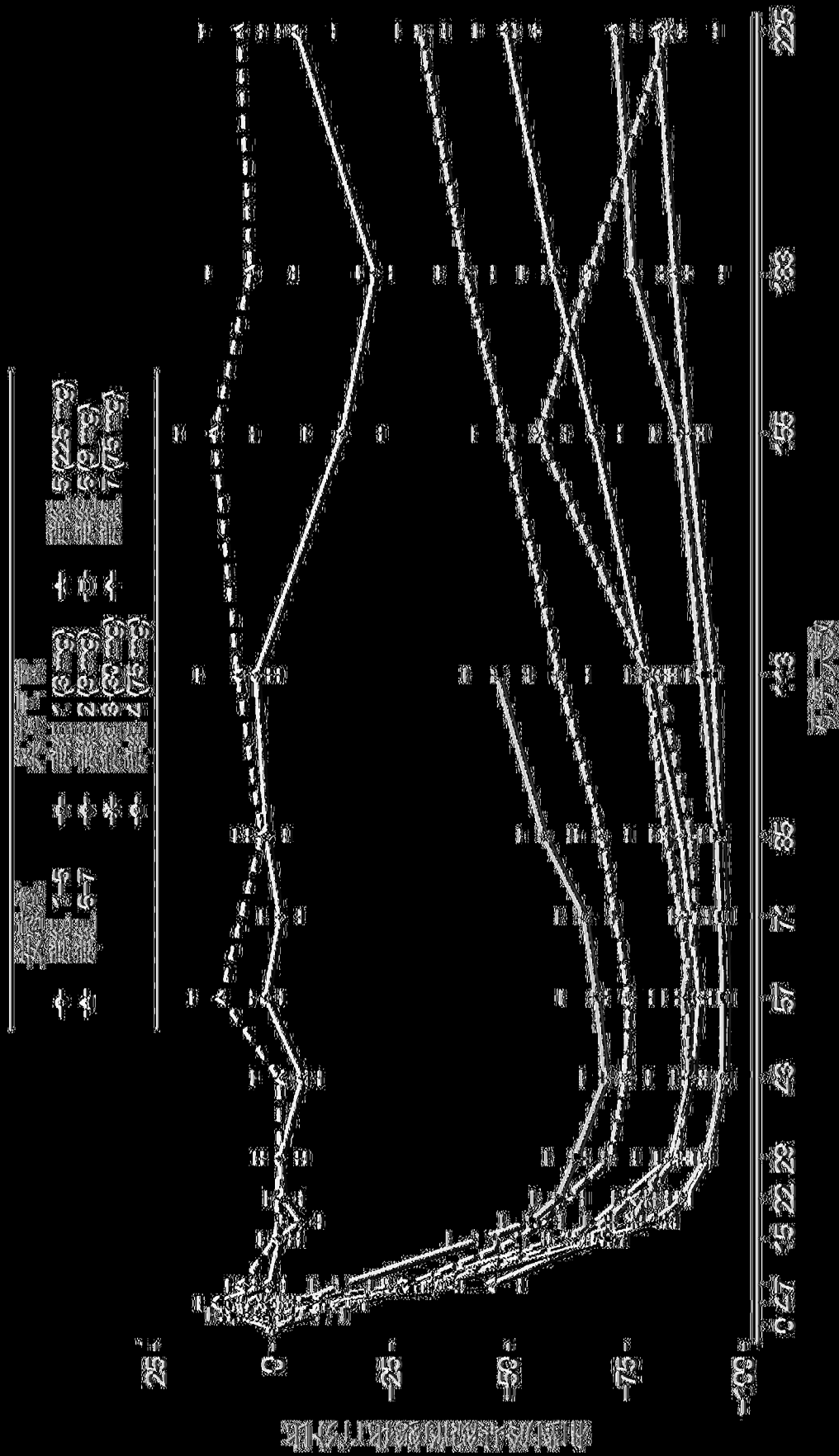
【請求項48】 如請求項1至43中任一項所述之用途，其中投與該藥物使該患者之血清或血漿Lp(a)水平降低至約75 nmol/L或更低。

【請求項49】 如請求項1至43中任一項所述之用途，其中投與該藥物使該患者之血清或血漿Lp(a)水平降低至約50 nmol/L或更低。

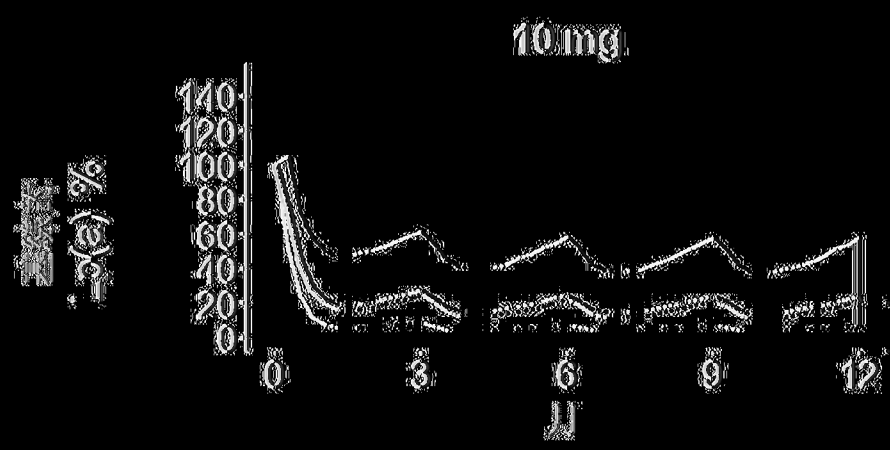
【請求項50】 如請求項1至49中任一項所述之用途，其中該藥物以包含磷酸鉀和氯化鈉的藥物組成物的形式向該患者投與或經配製來以該方式投與。

【請求項51】 如請求項1至50中任一項所述之用途，其中該藥物藉由皮下注射向該患者投與或經配製來以該方式投與。

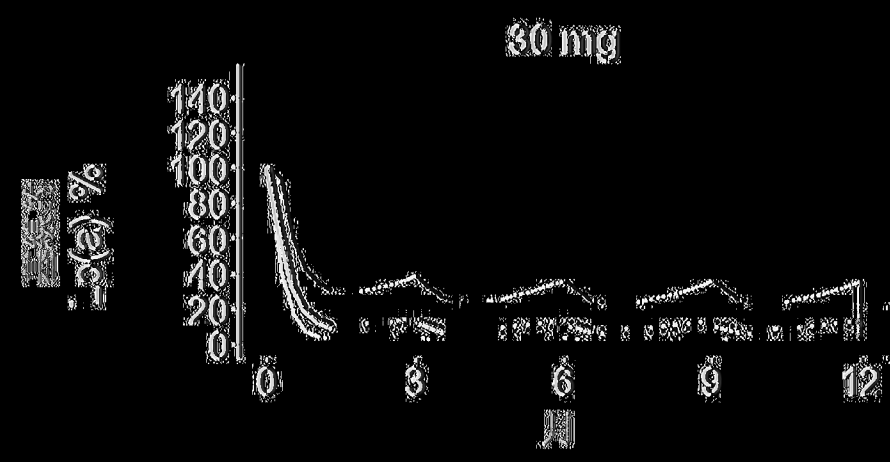
【請求項52】 如請求項51所述之用途，其中注射體積為約1 mL或更少。



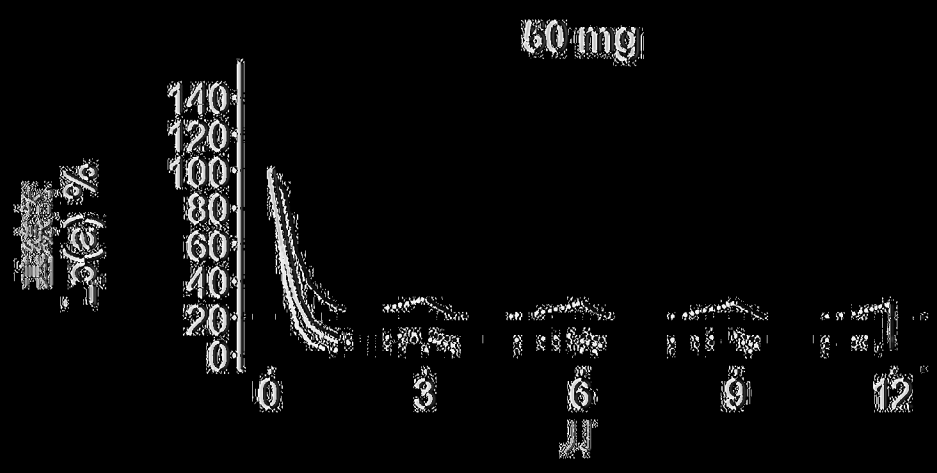
【圖2】



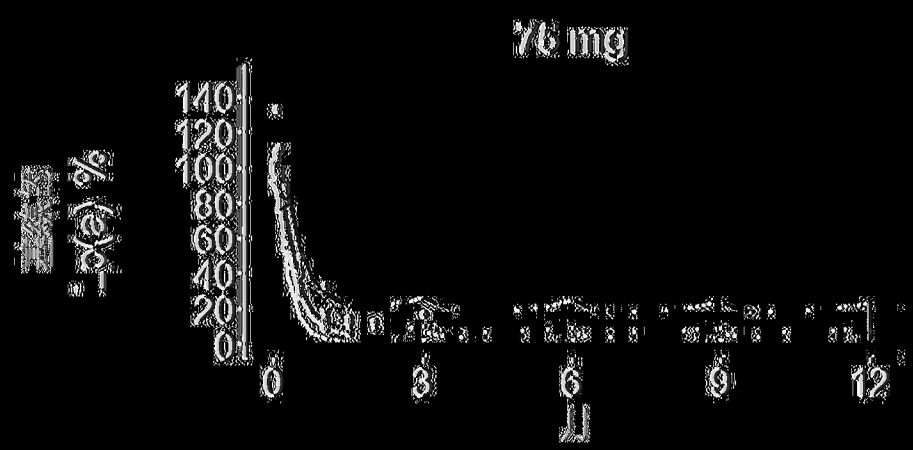
(圖3A)



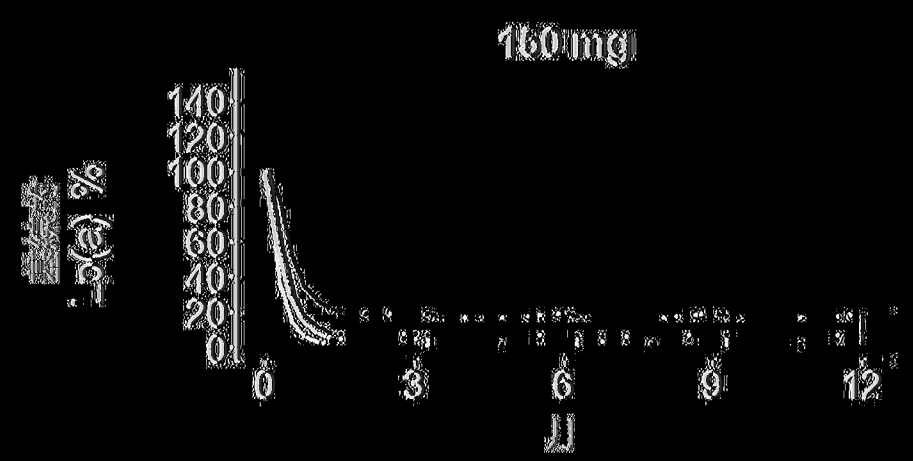
(圖3B)



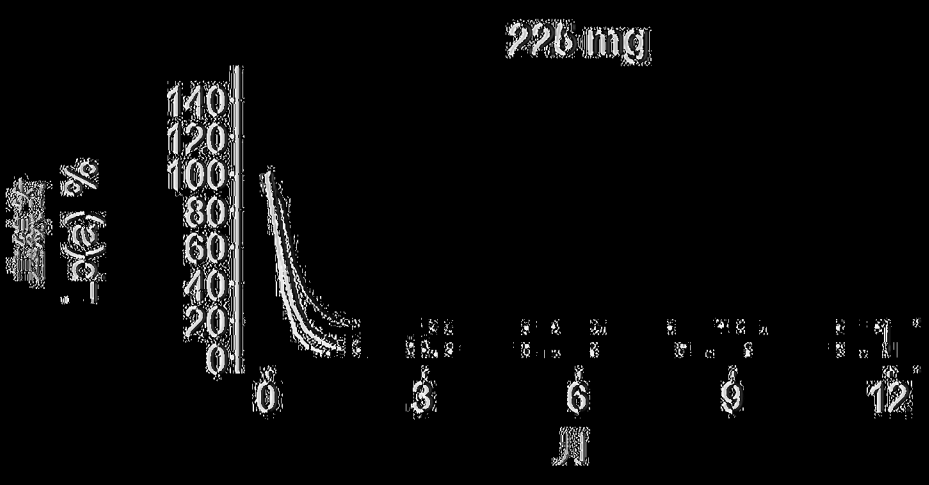
(圖3C)



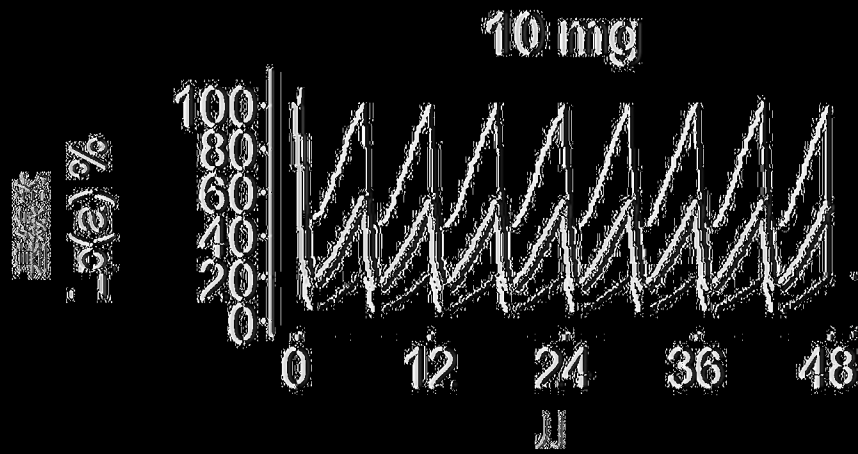
(圖3D)



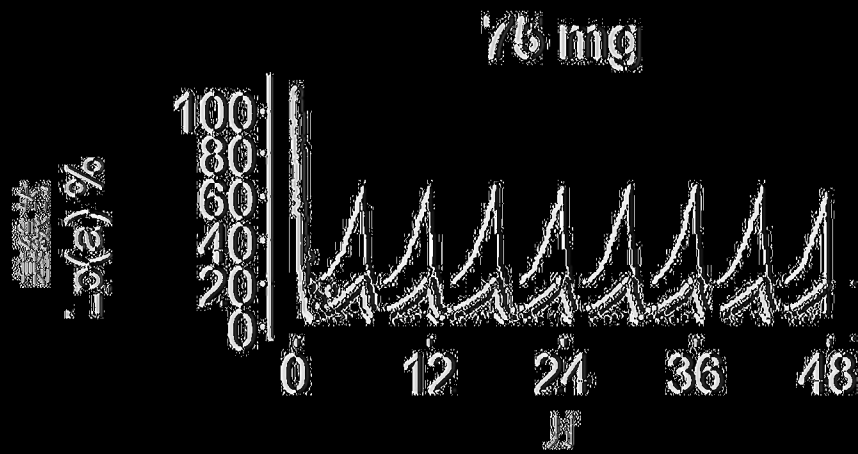
(圖3E)



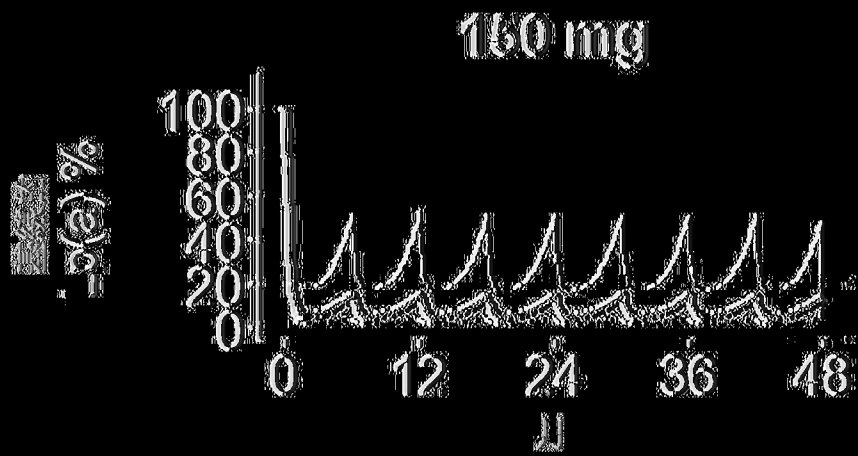
(圖3F)



(圖4A)



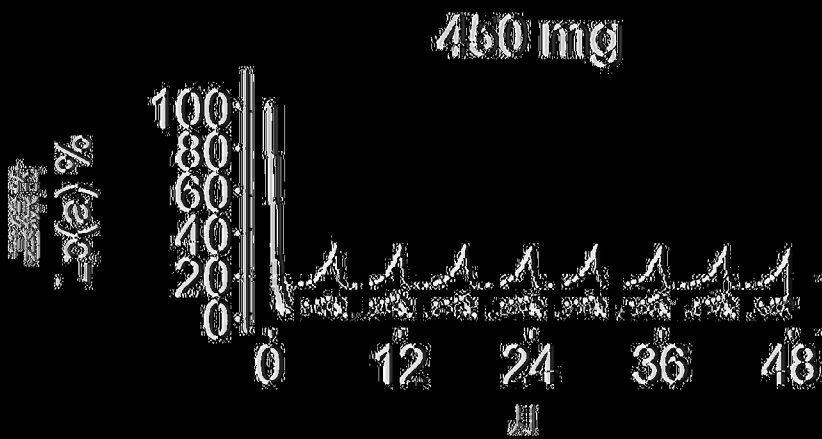
(圖4B)



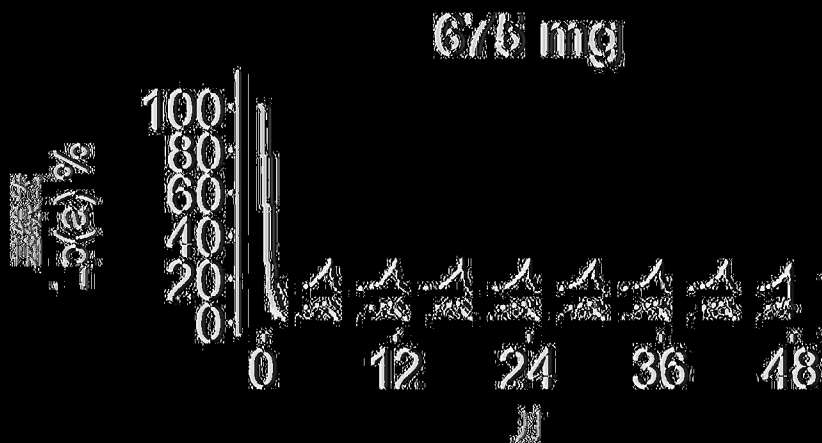
(圖4C)



(圖10)



(圖11)



(圖12)