

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2019-512472

(P2019-512472A)

(43) 公表日 令和1年5月16日(2019.5.16)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/06 (2006.01)	A 6 1 K 45/06 Z N A	4 C 0 8 4
A 6 1 P 3/06 (2006.01)	A 6 1 P 3/06	4 C 0 8 5
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1	4 H 0 4 5
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 D	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 P	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 35 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2018-545828 (P2018-545828)	(71) 出願人	597160510
(86) (22) 出願日	平成29年3月1日 (2017.3.1)		リジェネロン・ファーマシューティカルズ
(85) 翻訳文提出日	平成30年10月12日 (2018.10.12)		・インコーポレイテッド
(86) 国際出願番号	PCT/US2017/020221		REGENERON PHARMACEU
(87) 国際公開番号	W02017/151783		TICALS, INC.
(87) 国際公開日	平成29年9月8日 (2017.9.8)		アメリカ合衆国10591-6707ニュ
(31) 優先権主張番号	62/302, 907		ーヨーク州タリータウン、オールド・ソー
(32) 優先日	平成28年3月3日 (2016.3.3)		・ミル・リバー・ロード777番
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100127926
			弁理士 結田 純次
		(74) 代理人	100140132
			弁理士 竹林 則幸

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ANGPTL3阻害剤と組み合わせてPCSK9阻害剤を投与することにより高脂血症を有する患者を処置するための方法

(57) 【要約】

本発明は、高コレステロール血症に罹患している患者を処置するための方法であって、ここで、該患者は、標準的な脂質修飾治療での処置に非応答性であるか、標準的な脂質修飾治療での処置による制御が不十分であるか、または標準的な脂質修飾治療での処置に不耐性である前記方法を提供する。本発明の方法は、アンジオポエチン様タンパク質3 (ANGPTL3) に特異的に結合する抗体の治療有効量と組み合わせて、プロタンパク質転換酵素サブチリシン/ケキシン9型 (PCSK9) に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片の治療有効量を投与することによって、患者において少なくとも1つの脂質パラメータを低下させる。抗PCSK9抗体の抗ANGPTL3抗体との組合せは、家族性高コレステロール血症 (FH) である heFH および hoFH の両方を含む高コレステロール血症、ならびに高トリグリセリド血症、カイロミクロン血症を含む高脂血症、高リポタンパク質血症および脂質異常症などの疾患を処置する際にも、心血管疾患などの異常な脂質代謝がリスク因子となる疾患または障害を予防または処置するのに有用である。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

高コレステロール血症に罹患している患者を処置する方法であって、ここで、該患者は、標準的な脂質修飾治療での処置に非応答性であるか、標準的な脂質修飾治療での処置による制御が不十分であるか、または標準的な脂質修飾治療での処置に不耐性であり、プロタンパク質転換酵素サブチリシン/ケキシン9型(PCSK9)阻害剤とアンジオポエチン様タンパク質3(ANGPTL3)の阻害剤との組合せを用いて患者を処置することを含む前記方法。

【請求項 2】

高コレステロール血症は、ヘテロ接合性家族性高コレステロール血症(HeFH)またはホモ接合性家族性高コレステロール血症(HoFH)である、請求項1に記載の方法。

10

【請求項 3】

PCSK9阻害剤は、PCSK9に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片である、請求項1に記載の方法。

【請求項 4】

PCSK9抗体は、約75mgの用量で2週間に1回の頻度で患者に投与される、請求項3に記載の方法。

【請求項 5】

PCSK9抗体は、約140mgの用量で2週間に1回の頻度で患者に投与される、請求項3に記載の方法。

20

【請求項 6】

PCSK9抗体は、約150mgの用量で2週間に1回または4週間に1回の頻度で患者に投与される、請求項3に記載の方法。

【請求項 7】

PCSK9抗体は、約300mgの用量で4週間に1回の頻度で患者に投与される、請求項3に記載の方法。

【請求項 8】

PCSK9抗体は、約420mgの用量で4週間に1回の頻度で患者に投与される、請求項3に記載の方法。

【請求項 9】

PCSK9抗体は、アリロクマブ、エボロクマブ、ボコシズマブ、ロデルシズマブおよびラルパンシズマブからなる群から選択される、請求項3～8のいずれか1項に記載の方法。

30

【請求項 10】

抗体はアリロクマブである、請求項3～9のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 11】

PCSK9に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片は、配列番号12のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域(HCVR)の相補性決定領域(CDR)および配列番号17のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域(LCVR)のCDRを含む、請求項3～10のいずれか1項に記載の方法。

40

【請求項 12】

PCSK9に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片は、配列番号13のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1(HCDR1)、配列番号14のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号15のアミノ酸配列を有するHCDR3、配列番号18のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1(LCDR1)、配列番号19のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号21のアミノ酸配列を有するLCDR3を含む、請求項3～11のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 13】

PCSK9に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片は、配列番号12のアミノ酸配列を有するHCVRおよび配列番号17のアミノ酸配列を有するLCVRを含む、請

50

求項 3 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 14】

P C S K 9 抗体は、患者に皮下または静脈内投与される、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 15】

A N G P T L 3 阻害剤は、A N G P T L 3 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 16】

A N G P T L 3 抗体は、約 150 mg の用量で 1 週間に 1 回の頻度で患者に投与される、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

A N G P T L 3 抗体は、約 300 mg の用量で 1 週間に 1 回の頻度で患者に投与される、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 18】

A N G P T L 3 抗体は、約 450 mg の用量で 1 週間に 1 回の頻度で患者に投与される、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 19】

A N G P T L 3 抗体は、約 300 mg の用量で 2 週間に 1 回の頻度で患者に投与される、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 20】

A N G P T L 3 抗体は、約 450 mg の用量で 2 週間に 1 回の頻度で患者に投与される、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 21】

A N G P T L 3 抗体は、約 20 mg / kg の用量で 4 週間に 1 回の頻度で患者に投与される、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 22】

A N G P T L 3 抗体はエピナクマブである、請求項 15 ~ 21 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 23】

A N G P T L 3 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 2 のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域 (H C V R) の相補性決定領域 (C D R) および配列番号 3 のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域 (L C V R) の C D R を含む、請求項 15 ~ 22 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 24】

A N G T L 3 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 4 のアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 1 (H C D R 1)、配列番号 5 のアミノ酸配列を有する H C D R 2、配列番号 6 のアミノ酸配列を有する H C D R 3、配列番号 7 のアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 1 (L C D R 1)、配列番号 8 のアミノ酸配列を有する L C D R 2、および配列番号 9 のアミノ酸配列を有する L C D R 3 を含む、請求項 15 ~ 23 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 25】

A N G P T L 3 に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 2 のアミノ酸配列を有する H C V R および配列番号 3 のアミノ酸配列を有する L C V R を含む、請求項 15 ~ 24 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 26】

A N G P T L 3 抗体は、患者に皮下または静脈内投与される、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 27】

P C S K 9 阻害剤と A N G P T L 3 の阻害剤との組合せを用いて処置することにより、患者において、次のパラメータのうちの一つまたはそれ以上を低下させること：

(a) 血清総コレステロール (T C) レベルの低減；

10

20

30

40

50

(b) 血清低密度リポタンパク質コレステロール (LDL-C) レベルの低減；および
 (c) 血清非高密度リポタンパク質コレステロール (非HDL-C) レベルの低減
 をもたらし、ここで、(a)、(b) および / または (c) の低減は、PCSK9 阻害剤
 と ANGPTL3 阻害剤との組合せを用いる処置の前または開始時の患者の血清TCレ
 ベル、血清LDL-Cレベルおよび / または血清非HDL-Cレベルと比較して判定される
 、請求項1～26のいずれか1項に記載の方法。

【請求項28】

高コレステロール血症に罹患している患者の処置における、アンジオポエチン様タンパ
 ク質3 (ANGPTL3) の阻害剤と組み合わせたプロタンパク質転換酵素サブチリシン
 / ケキシン9型 (PCSK9) 阻害剤の使用であって、該患者は、標準的な脂質修飾治療
 での処置に非応答性であるか、標準的な脂質修飾治療での処置による制御が不十分である
 か、または標準的な脂質修飾治療での処置に不耐性である前記使用。

10

【請求項29】

高コレステロール血症に罹患している患者を処置するための医薬の製造における、アン
 ジオポエチン様タンパク質3 (ANGPTL3) の阻害剤と組み合わせたプロタンパク質
 転換酵素サブチリシン / ケキシン9型 (PCSK9) 阻害剤の使用であって、該患者は、
 標準的な脂質修飾治療での処置に非応答性であるか、標準的な脂質修飾治療での処置によ
 る制御が不十分であるか、または標準的な脂質修飾治療での処置に不耐性である前記使用

【請求項30】

高コレステロール血症に罹患している患者を処置するための医薬組成物であって、ここ
 で、該患者は、標準的な脂質修飾治療での処置に非応答性であるか、標準的な脂質修飾治
 療での処置による制御が不十分であるか、または標準的な脂質修飾治療での処置に不耐性
 であり、アンジオポエチン様タンパク質3 (ANGPTL3) の阻害剤と組み合わせたプ
 ロタンパク質転換酵素サブチリシン / ケキシン9型 (PCSK9) 阻害剤を含む前記組成
 物。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、脂質およびリポタンパク質レベル上昇に関連する疾患および障害の治療的処
 置の分野に関する。より具体的には、本発明は、標準的な脂質修飾治療での処置に非応答
 性であるか、標準的な脂質修飾治療での処置による制御が不十分であるか、または標準的
 な脂質修飾治療での処置に不耐性である、高コレステロール血症および関連する状態を有
 する患者を処置するための、アンジオポエチン様タンパク質3 (ANGPTL3) の阻害
 剤と組み合わせたプロタンパク質転換酵素サブチリシン / ケキシン9型 (PCSK9) 阻
 害剤の使用に関する。

30

【背景技術】

【0002】

高脂血症は、血中の脂質および / もしくはリポタンパク質のレベルの上昇を特徴とする
 または血中の脂質および / もしくはリポタンパク質のレベルの上昇に関連する疾患および
 障害を包含する総称である。高脂血症は、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症
 、混合性高脂血症およびリポタンパク質a (Lp(a)) の上昇を含む。多くの集団でよ
 く見られる特定の型の高脂血症が、高コレステロール血症である。

40

【0003】

高コレステロール血症、詳細には低密度リポタンパク質 (LDL) コレステロール (L
 DL-C) レベルの増加は、アテローム性動脈硬化症および冠動脈心疾患 (CHD) 発症
 の大きなリスクとなる (非特許文献1)。低密度リポタンパク質コレステロールは、コレ
 ステロール低下治療の主要標的とされており、妥当な代替治療エンドポイントとして受け
 入れられている。LDL-CレベルとCHD事象との強い直接的関係のため、LDL-C
 レベルを低減させることがCHDリスクを低減させることは、非常に多くの研究によって

50

立証されており；LDL-Cが1mmol/L（約40mg/dL）低減するごとに、心血管疾患（CVD）死亡率および罹病率は22%低下される。LDL-Cの低減が大きいほど事象の大きな低減が生じ、集中スタチン処置の標準スタチン処置に対する比較データは、心血管（CV）リスクが非常に高い患者ではLDL-Cレベルが低いほどその便益が大きいことを示唆している。

【0004】

家族性高コレステロール血症（FH）は、脂質代謝の遺伝性障害であり、この障害を有する人においては、早発性の重度心血管疾患（CVD）の素因になる（非特許文献2）。FHは、常染色体優性疾患または常染色体劣性疾患のいずれかであり得、低密度リポタンパク質受容体（LDLR）中またはLDL-Cの肝臓クリアランスに關与するタンパク質をコードする少なくとも3つの異なる遺伝子中の、FHを引き起こすことができる突然変異によりもたらされる。そのような欠陥の例として、血行からLDL-Cを除去するLDL受容体（LDLR）をコードする遺伝子中およびLDL粒子の主要なタンパク質であるアポリタンパク質（Apo）Bの遺伝子中の突然変異が挙げられる。FHの特定の症例においては、LDLRの分解に關与する酵素であるプロタンパク質転換酵素サブチリシン/ケキシン9型（PCSK9）をコードする遺伝子が突然変異している（機能獲得型突然変異）。いずれの場合も、FHは、出生時からの血漿中のLDL-Cの蓄積、ならびにその後の、腱の黄色腫、黄色板腫、アテローム、およびCVDの発症を特徴とする。個体が遺伝子の欠陥を、關与する遺伝子の一方のコピーに有する（ヘテロ接合性）または両方のコピーに有する（ホモ接合性）のいずれであるかに依存して、FHは、ヘテロ接合性FH（heFH）またはホモ接合性FH（hoFH）のいずれかに分類することができる。

10

20

【0005】

現行のLDL-C低下薬としては、スタチン、コレステロール吸収阻害剤、フィブラート、ナイアシンおよび胆汁酸封鎖剤が挙げられる。スタチンは、LDL-Cを低下させるために通常処方される処置である。しかし、そのような脂質低下治療を利用することが可能であるにもかかわらず、多くの高リスク患者において、そのような治療のガイドラインが標的とするLDL-Cレベルを達成することができない（非特許文献3）。利用可能な脂質修飾治療（LMT）にもかかわらず、LDL-Cについてガイドラインが標的とするレベルを得るのが依然として不可能である患者には、時には、LDL-Cを、リポタンパク質アフェレシス（例えば、LDLアフェレシス）により機械的に除去することが処方される。

30

【0006】

しかし、最適化されたLMTレジメンを受けているにもかかわらず、LDL-Cの目標値に至らない患者は、代替のLDL-C低下治療から、または本明細書に記載する薬剤およびレジメンなどの治療薬の組合せの使用により、大きな便益を得るであろう。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Sharrettら、2001、Circulation 104:1108~1113頁

40

【非特許文献2】Kolanskyら（2008）、Am J Cardiology、102（11）:1438~1443頁

【非特許文献3】Gittら、2010年、Clin Res Cardiol、99（11）:723~733頁

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

本発明は、標準的な脂質修飾治療での処置に非応答性であるか、標準的な脂質修飾治療での処置による制御が不十分であるか、または標準的な脂質修飾治療での処置に不耐性である患者において、高脂血症を処置するための方法、使用および組成物を提供する。本発

50

明の方法により治療した結果、血清リポタンパク質レベルが正常なかつ許容される範囲まで低下し、したがって、本発明の方法の作用により、アテローム性動脈硬化症または冠動脈心疾患を発症するリスクを低減させることができる。

【課題を解決するための手段】

【0009】

一態様において、本発明は、高コレステロール血症に罹患している患者を処置する方法であって、ここで、該患者は、標準的な脂質修飾治療での処置に非応答性であるか、標準的な脂質修飾治療での処置による制御が不十分であるか、または標準的な脂質修飾治療での処置に不耐性であり、プロタンパク質転換酵素サブチリシン/ケキシン9型（PCSK9）阻害剤とアンジオポエチン様タンパク質3（ANGPTL3）の阻害剤との組合せを用いて患者を処置することを含む前記方法を提供する。

10

【0010】

1つの実施形態において、本発明は、ANGPTL3阻害剤の1用量またはそれ以上と組み合わせたPCSK9阻害剤の1用量またはそれ以上を、標準的な脂質修飾治療で処置されているまたは処置されたことがあるが、そのような治療に应答するに至っていない患者に投与する。ANGPTL3阻害剤と組み合わせたPCSK9阻害剤を患者に投与することにより、患者の血清中の少なくとも1つのリポタンパク質のレベルの低下をもたらし、その結果、標準的な脂質低下治療での処置に対する患者の必要性を低減または消失させる。

【0011】

20

関連する態様において、本発明の方法は、高コレステロール血症を有する患者であって、標準的な脂質低下療法で処置されているまたは処置されたことがあり、そのような治療に非応答性であるか、そのような治療による制御が不十分であるか、またはそのような治療に不耐性である該患者を選択すること、およびANGPTL3抗体の1用量またはそれ以上と組み合わせたPCSK9抗体の1用量またはそれ以上を患者に投与することを含み、それによって、患者の血清中の少なくとも1つのリポタンパク質のレベルを低下させ、その結果、標準的な脂質修飾治療の使用を、ANGPTL3抗体を加えたPCSK9抗体の組合せ治療で置き換えて、標的とするリポタンパク質レベルを得る。

【0012】

30

本発明の方法により処置されるまたは処置可能である患者として、例えば、家族性高コレステロール血症（FH）を有する患者を含む、高コレステロール血症を有する患者が挙げられる。特定の実施形態において、本発明の方法により処置されるまたは処置可能である患者は、ホモ接合性FH（hFH）もしくはヘテロ接合性FH（heFH）を有すると診断されている（それとも、そうであることが分かっている）患者、またはホモ接合性FH（hFH）もしくはヘテロ接合性FH（heFH）に関連して、異常に高い脂質および/またはリポタンパク質のレベルが生じるリスクを有する患者である。

【0013】

40

本発明は、スタチンなどの標準的な脂質修飾治療での処置に非応答性であるか、スタチンなどの標準的な脂質修飾治療での処置による制御が不十分であるか、またはスタチンなどの標準的な脂質修飾治療での処置に不耐性である患者を処置する場合に使用するための、PCSK9阻害剤およびANGPTL3阻害剤を含む医薬組成物も提供する。スタチンは、アトルバスタチン（LIPITOR（登録商標））、ピタバスタチン（LIVALO（登録商標））、ロバスタチン（MEVACOR（登録商標））、シンバスタチン（ZOCOR（登録商標））、プラバスタチン（PRAVACHOL（登録商標））、フルバスタチン（LESCOL（登録商標））およびロスバスタチン（CRESTOR（登録商標））からなる群から選択することができる。高コレステロール血症に罹患している患者において使用することができる他の標準的な脂質低下剤として、フィブラート、ナイアシン、胆汁酸封鎖剤、エゼチミブ（ZETIA（登録商標））、ロミタピド（JUZTAPID（商標））、植物ステロール、オルリスタット（XENICAL（登録商標））が挙げられるが、これらに限定されない。

50

【0014】

本発明の方法に関連して使用することができる例示的なPCSK9阻害剤またはANGPTL3阻害剤として、例えば、抗PCSK9抗体または抗ANGPTL3抗体、小分子阻害剤、および足場に基づく分子、すなわち、PCSK9に結合する分子またはANGPTL3に結合する分子が挙げられる。

【0015】

特定の実施形態において、ANGPTL3阻害剤と組み合わせてPCSK9阻害剤を使用することは、血清の脂質および/またはリポタンパク質のレベルを低下させるのに十分に有効であり得、したがって、標準的な脂質修飾治療の用量を低減させて、何らかの都合の悪い作用を消失させることができ、または完全に消失させることができることが想定される。

10

【0016】

1つの実施形態において、方法は、それを必要としている患者を、ANGPTL3に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片と組み合わせた、PCSK9に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片で処置する。1つの実施形態において、PCSK9抗体は、約75mgの用量で2週間に1回の頻度で患者に投与される。1つの実施形態において、PCSK9抗体は、約140mgの用量で2週間に1回の頻度で患者に投与される。1つの実施形態において、PCSK9抗体は、約150mgの用量で2週間または4週間に1回の頻度で患者に投与される。1つの実施形態において、PCSK9抗体は、約300mgの用量で4週間に1回の頻度で患者に投与される。1つの実施形態において、PCSK9抗体は、約420mgの用量で4週間に1回の頻度で患者に投与される。

20

【0017】

1つの実施形態において、PCSK9抗体は、アリロクマブ、エボロクマブ、ボコシズマブ、ロデルシズマブ (lodelcizumab) およびラルパンシズマブ (ralpansicizumab) からなる群から選択される。

【0018】

1つの実施形態において、PCSK9抗体はアリロクマブである。

【0019】

1つの実施形態において、PCSK9に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片は、配列番号12のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域 (HCVR) の相補性決定領域 (CDR) および配列番号17のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域 (LCVR) のCDRを含む。

30

【0020】

1つの実施形態において、PCSK9に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片は、配列番号13のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1 (HCDR1)、配列番号14のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号15のアミノ酸配列を有するHCDR3、配列番号18のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1 (LCDR1)、配列番号19のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号21のアミノ酸配列を有するLCDR3を含む。

【0021】

1つの実施形態において、PCSK9に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片は、配列番号12のアミノ酸配列を有するHCVRおよび配列番号17のアミノ酸配列を有するLCVRを含む。

40

【0022】

1つの実施形態において、PCSK9抗体は、患者に皮下または静脈内投与される。

【0023】

1つの実施形態において、ANGPTL3抗体は、約150mgの用量で1週間に1回の頻度で患者に投与される。1つの実施形態において、ANGPTL3抗体は、約300mgの用量で1週間に1回の頻度で患者に投与される。1つの実施形態において、ANGPTL3抗体は、約450mgの用量で1週間に1回の頻度で患者に投与される。1つ

50

実施形態において、ANGPTL3抗体は、約300mgの用量で2週間に1回の頻度で患者に投与される。1つの実施形態において、ANGPTL3抗体は、約450mgの用量で2週間に1回の頻度で患者に投与される。1つの実施形態において、ANGPTL3抗体は、約20mg/kgの用量で4週間に1回の頻度で患者に投与される。

【0024】

1つの実施形態において、ANGPTL3抗体はエビナクマブ(evinacumab)である。

【0025】

1つの実施形態において、ANGPTL3に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片は、配列番号2のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域(HCVR)の相補性決定領域(CDR)および配列番号3のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域(LCVR)のCDRを含む。

10

【0026】

1つの実施形態において、ANGTL3に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片は、配列番号4のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1(HCDR1)、配列番号5のアミノ酸配列を有するHCDR2、配列番号6のアミノ酸配列を有するHCDR3、配列番号7のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1(LCDR1)、配列番号8のアミノ酸配列を有するLCDR2、および配列番号9のアミノ酸配列を有するLCDR3を含む。

【0027】

1つの実施形態において、ANGPTL3に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片は、配列番号2のアミノ酸配列を有するHCVRおよび配列番号3のアミノ酸配列を有するLCVRを含む。

20

【0028】

1つの実施形態において、ANGPTL3抗体は、患者に皮下または静脈内投与される。

【0029】

1つの実施形態において、ANGPTL3抗体と組み合わせたPCSK9抗体の投与は、LDL-C、非HDL-Cおよび総コレステロールの血中レベルの低下に対して相加効果をもたらすが、HDL-Cの血中レベルに対しては作用を示さない。

【0030】

1つの実施形態において、ANGPTL3抗体と組み合わせたPCSK9抗体の投与は、LDL-C、非HDL-Cおよび総コレステロールの血中レベルの低下に対して相乗効果をもたらすが、HDL-Cの血中レベルに対しては作用を示さない。

30

【0031】

1つの実施形態において、ANGPTL3抗体と組み合わせたPCSK9抗体の投与により、次のパラメータのうちの1つまたはそれ以上を低下させること：

- (a) 血清総コレステロール(TC)レベルの低減；
 - (b) 血清低密度リポタンパク質コレステロール(LDL-C)レベルの低減；または
 - (c) 血清非高密度リポタンパク質コレステロール(非HDL-C)レベルの低減
- をもたらす；

40

ここで、(a)、(b)および/または(c)の低減は、PCSK9阻害剤とANGPTL3阻害剤との組合せを用いる処置の前または開始時の患者の血清TCレベル、血清LDL-Cレベルおよび/または血清非HDL-Cレベルと比較して判定される。

【0032】

本発明の他の実施形態は、後に続く詳細な説明の再考から明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0033】

【図1】高脂血症Ldlr^{-/-}マウスにおける、LDL-Cレベルに対する、H4H1276PおよびH1H316Pの単独でまたは組み合わせて使用した場合の効果を示す図である。マウスを固形飼料で飼育し、マウスから、実験開始の5日前に事前採血した。

50

【図2】高脂血症 $Ldlr^{-/+}$ マウスにおける、総コレステロールレベルに対する、H4H1276PおよびH1H316Pの単独でまたは組み合わせて使用した場合の効果を示す図である。マウスを固形飼料で飼育し、マウスから、実験開始の5日前に事前採血した。

【図3】高脂血症 $Ldlr^{-/+}$ マウスにおける、HDL-Cレベルに対する、H4H1276PおよびH1H316Pの単独でまたは組み合わせて使用した場合の効果を示す図である。マウスを固形飼料で飼育し、マウスから、実験開始の5日前に事前採血した。

【図4】高脂血症 $Ldlr^{-/+}$ マウスにおける、非HDL-Cレベルに対する、H4H1276PおよびH1H316Pの単独でまたは組み合わせて使用した場合の効果を示す図である。マウスを固形飼料で飼育し、マウスから、実験開始の5日前に事前採血した。

【図5】高脂血症 $Ldlr^{-/+}$ マウスにおける、LDL-Cレベルに対する、H4H1276PおよびH1H316Pの単独でまたは組み合わせて使用した場合の効果を示す図である。マウスを、処置まで3週間にわたって高脂肪Western飼料で飼育し、研究期間中、この飼料による飼育を維持した。

【図6】高脂血症 $Ldlr^{-/+}$ マウスにおける、総コレステロールレベルに対する、H4H1276PおよびH1H316Pの単独でまたは組み合わせて使用した場合の効果を示す図である。マウスを、処置まで3週間にわたって高脂肪Western飼料で飼育し、研究期間中、この飼料による飼育を維持した。

【図7】高脂血症 $Ldlr^{-/+}$ マウスにおける、HDL-Cレベルに対する、H4H1276PおよびH1H316Pの単独でまたは組み合わせて使用した場合の効果を示す図である。マウスを、処置まで3週間にわたって高脂肪Western飼料で飼育し、研究期間中、この飼料による飼育を維持した。

【図8】高脂血症 $Ldlr^{-/+}$ マウスにおける、非HDL-Cレベルに対する、H4H1276PおよびH1H316Pの単独でまたは組み合わせて使用した場合の効果を示す図である。マウスを、処置まで3週間にわたって高脂肪Western飼料で飼育し、研究期間中、この飼料による飼育を維持した。

【発明を実施するための形態】

【0034】

本発明を説明する前に、本発明は説明する特定の方法および実験条件に限定されないことを理解すべきである。そのような方法および条件は変わることがあるからである。本明細書において用いる専門用語は、特定の実施形態の説明を目的にしたものに過ぎず、限定的であることを意図したものでないことも理解すべきである。本発明の範囲は添付の特許請求の範囲によってのみ限定されるからである。

【0035】

別段の定義がない限り、本明細書において用いる全ての科学技術用語は、本発明が属する技術に関わる当業者によって一般に理解されているのと同じ意味を有する。本明細書において用いる場合、特定の列挙されている数値に関して用いる用語「約」は、その値が、列挙されている値から1%以下変動することがあることを意味する。例えば、本明細書において用いる場合、「約100」という表現は、99および101、ならびに間の全ての値（例えば、99.1、99.2、99.3、99.4など）を含む。

【0036】

本明細書に記載のものと同様または等価の任意の方法および材料を本発明の実施の際に使用することができるが、好ましい方法および材料を次に説明する。本明細書において言及する全ての出版物は、それら全体が説明のために参照によって本明細書に組み入れられている。

【0037】

高脂血症を処置するための方法

本発明は一般に、高コレステロール血症に罹患している患者であって、標準的な脂質修飾治療（例えば、スタチン）に非応答性であるか、標準的な脂質修飾治療による制御が不十分であるか、または標準的な脂質修飾治療に不耐性である該患者において、リボタンバ

10

20

30

40

50

ク質レベルを低減させるための方法および組成物に関する。本発明の特定の実施形態において、ANGPTL3阻害剤と組み合わせたPCSK9阻害剤での処置は、これらの患者のリポタンパク質レベルを許容される範囲まで低下させるように働き、それによって、アテローム性動脈硬化症、脳卒中および他の心血管疾患を発症するそうした患者のリスクを低下させることができる。特定の実施形態において、記載の方法を使用して、ヘテロ接合性家族性高コレステロール血症(hFH)および/またはホモ接合性家族性高コレステロール血症(hoFH)を含む、高コレステロール血症に罹患している患者を、これらの患者が、標準的な脂質修飾治療に非応答性であるか、標準的な脂質修飾治療による制御が不十分であるか、または標準的な脂質修飾治療に不耐性である場合には処置することができる。

10

【0038】

本明細書において用いる場合、用語「リポタンパク質」は、タンパク質および脂質の両方を含む生体分子の粒子を意味する。リポタンパク質の例として、例えば、低密度リポタンパク質(LDL)、高密度リポタンパク質(HDL)、超低密度リポタンパク質(VLDL)、中間密度リポタンパク質(IDL)およびリポタンパク質(a)(Lp(a))が挙げられる。

【0039】

特定の実施形態によると、本発明は、標準的な脂質修飾治療に非応答性であるか、標準的な脂質修飾治療による制御が不十分であるか、または標準的な脂質修飾治療に不耐性である患者を処置するための方法を含む。本明細書において用いる場合、「標準的な脂質修飾治療に非応答性であるか、標準的な脂質修飾治療による制御が不十分であるか、または標準的な脂質修飾治療に不耐性である」特定の患者は、標準的な脂質修飾剤での処置後に患者の血清中で測定したまたは別の方法により検出した1つまたはそれ以上のリポタンパク質(例えば、LDL-Cおよび/または非HDL-C)のレベルに基づいて、医師、フィジシャンアシスタント(physician's assistant)、診断医または他の医療専門家により判定される。医師、フィジシャンアシスタント、診断医または他の医療専門家はまた、これらに限定されないが、筋肉の痛み、圧痛もしくは衰弱(筋痛症)、頭痛、皮膚潮紅、睡眠困難、腹部筋痙攣、腹部膨満、下痢、便秘、発疹、悪心または嘔吐を含む、患者が経験し得る標準的な脂質修飾治療の副作用プロファイルに基づいて、患者が標準的な脂質修飾治療に不耐性であるかどうかを判定することもできる。また、標準的な脂質修飾治療に非応答性であるか、標準的な脂質修飾治療による制御が不十分であるか、または標準的な脂質修飾治療に不耐性である患者は、患者の家族歴、医学的背景、現行の治療処置状況、ならびに国の医学会および医師のグループにより採用されている一般に認められているまたは広く使われているリポタンパク質標的などの他の因子により判定することもでき、またはそうした因子の影響を受ける可能性もある。例えば、特定の状況では、患者が、標準的な脂質修飾剤を用いて治療を受けており、約70mg/dL以上のLDL-Cレベルを示す場合には、このことから、患者は、「標準的な脂質修飾治療に非応答性であるか、または標準的な脂質修飾治療による制御が不十分であるか、または標準的な脂質修飾治療に不耐性であり」、本明細書に記載する治療を使用する処置により便益を得ることが示されることが示される。他の状況では、患者が、標準的な脂質修飾剤を用いて治療を受けており、約100mg/dL以上のLDL-Cレベルを示す場合には、このことから、患者は、「標準的な脂質修飾治療に非応答性であるか、標準的な脂質修飾治療による制御が不十分であるか、または標準的な脂質修飾治療に不耐性であり」、本明細書に記載する治療を使用する処置により便益を得ることが示されることが示される。特定の状況では、患者が、標準的な脂質修飾剤を用いて治療を受けており、約150mg/dL、200mg/dL、250mg/dL、300mg/dL、400mg/dLまたはそれより大きな値以上のLDL-Cレベルを示す場合には、このことから、患者は、「標準的な脂質修飾治療に非応答性であるか、標準的な脂質修飾治療による制御が不十分であるか、または標準的な脂質修飾治療に不耐性であり」、本明細書に記載する治療を使用する処置により便益を得ることが示されることが示される。さらなる他の状況では、特定の開始

20

30

40

50

点における患者のLDL-Cまたは非HDL-Cのレベル(「ベースライン」と比較して、LDL-Cまたは非HDL-Cのレベルの、百分率で示す特定の低減が満たされているか否かを使用して、患者が、標準的な脂質修飾治療に応答しているかどうか、またはその患者が、本発明の方法および薬剤を使用するさらなる処置を必要としているかどうかを判定することができる。例えば、ベースラインからの50%未満(例えば、40%未満、35%未満、30%未満、25%未満など)のLDL-Cまたは非HDL-Cの低減は、本発明の方法および薬剤を使用する治療の必要性を意味し得る。

【0040】

したがって、本発明は、処置方法であって、ANGPTL3阻害剤の1用量またはそれ以上と組み合わせたPCSK9阻害剤の1用量またはそれ以上を患者に投与することを含み、それによって、該患者の処置後の総コレステロール、LDL-Cおよび/または非HDL-Cのレベルを数値として顕著に低減させる前記方法を含む。例えば、本発明は、治療方法であって、PCSK9阻害剤の1用量またはそれ以上およびANGPTL3阻害剤の1用量またはそれ以上を、標準的な脂質修飾治療を受けているが、そのような治療に非応答性であるか、またはそのような治療に不耐性である患者に投与することを含み、ここで、該患者は、該PCSK9阻害剤の1用量またはそれ以上および該ANGPTL3阻害剤の1用量またはそれ以上を受けた後に、総コレステロール、LDL-Cまたは非LDL-Cの正常レベルを得ることが可能になる前記方法を含む。特定の事例では、標的とする特定のリポタンパク質レベルを得るおよび/または維持するために、患者は、標準的な脂質修飾治療を止めてもよく、または標準的な脂質修飾治療を継続してもよいが、より低い用量で投与することができ、PCSK9阻害剤およびANGPTL3阻害剤と組み合わせて使用することができる。あるいは、PCSK9阻害剤とANGPTL3阻害剤との組合せと併せて標準的な脂質修飾治療を投与しようとする場合には、標準的な脂質修飾治療は、通常処方される用量で患者に投与してもよいが、脂質修飾治療の投与頻度を低減させることができる。いくつかの事例では、ANGPTL3阻害剤と併せてPCSK9阻害剤の1用量またはそれ以上を投与した後は、標的とする特定のリポタンパク質レベルを得るおよび/または維持するための、標準的な脂質修飾治療での処置に対する患者の必要性を完全に消失させることができる。

【0041】

特定の実施形態によると、本発明は、標準的な脂質修飾治療に対する必要性を低減または消失させるための方法であって、過去1カ月、過去2カ月、過去3カ月、過去4カ月、過去5カ月、過去6カ月またはより長い期間にわたり脂質修飾治療で処置されている、高脂血症(例えば、高コレステロール血症)を有する患者を選択すること、およびANGPTL3阻害剤と組み合わせたPCSK9阻害剤の1用量またはそれ以上を患者に投与することを含む前記方法を含む。本発明のこの態様による方法は、患者の血清中の少なくとも1つのリポタンパク質のレベルの低下をもたらし、その結果、標準的な脂質修飾治療での処置に対する患者の必要性の低減または消失が可能になる。例えば、本発明の特定の実施形態において、ANGPTL3阻害剤と組み合わせたPCSK9阻害剤の1用量またはそれ以上の投与後に、患者の血清LDL-Cレベルは、定義されたレベル未満(例えば、100mg/dL未満もしくは70mg/dL未満)まで低減する、または総コレステロールは、定義されたレベル(例えば、200mg/dL未満もしくは150mg/dL未満)まで低下する。

【0042】

特定の実施形態によると、本発明の方法により処置可能である患者は、高コレステロール血症(例えば、70mg/dL以上の血清LDL-C濃度または100mg/dL以上の血清LDL-C濃度)を有する。特定の実施形態において、患者の高コレステロール血症は、標準的な脂質修飾治療、例えば、スタチン治療による制御が不十分である。例えば、本発明は、スタチンなどの標準的な脂質修飾治療での治療に非応答性である、スタチンなどの標準的な脂質修飾治療での治療による制御が不十分である、もしくはスタチンなどの標準的な脂質修飾治療での治療に不耐性である患者、またはアトルバスタチン(アトル

10

20

30

40

50

バスタチン+エゼチミブを含む)、ロスバスタチン、セリバスタチン、ピタバスタチン、フルバスタチン、ロバスタチン、シンバスタチン(シンバスタチン+エゼチミブを含む)、プラバスタチン、およびそれらの組合せからなる群から選択されるスタチンの1日用量による制御が不十分である、高コレステロール血症を有する患者を処置するための方法を含む。本発明は、高コレステロール血症を有する患者であって、スタチン不耐性を示す、またはスタチン不耐性ではないが、スタチン治療に対する有害なもしくは望ましくない反応(例えば、骨格筋痛、痛み、衰弱または筋痙攣[例えば、筋痛症、ミオパチー、横紋筋融解など])を経験している該患者において、コレステロール、LDL-Cまたは非LDL-Cを低減させるための方法も含む。

【0043】

患者選択

本発明は、高脂血症に罹患している患者であって、標準的な脂質修飾治療を用いる治療に非応答性であるか、標準的な脂質修飾治療を用いる治療による制御が不十分であるか、または標準的な脂質修飾治療を用いる治療に不耐性である該患者を処置するのに有用な、方法および組成物を含む。本発明の方法により処置可能である患者はまた、追加の選択基準のうちの一つまたはそれ以上も示し得る。例えば、患者が、例えばヘテロ接合性家族性高コレステロール血症(heterozygous FH)、ホモ接合性家族性高コレステロール血症(homozygous FH)、常染色体優性高コレステロール血症(ADH、例えば、PCSK9遺伝子の一つまたはそれ以上の機能獲得型突然変異に関連するADH)、常染色体劣性高コレステロール血症(ARH、例えば、LDLRAP1の突然変異に関連するARH)などの、高コレステロール血症状態と診断された、または高コレステロール血症状態を発症するリスクがあると識別された場合、および患者が、家族性高コレステロール血症とは異なる高コレステロール血症(非FH)を発症していると診断された、または非FHを発症するリスクがあると識別された場合には、その患者を本発明の方法での処置に選択することができる。家族性高コレステロール血症(例えば、heterozygous FHまたはhomozygous FH)の診断は、遺伝子型判定および/または臨床基準により行うことができる。遺伝子型判定を受けない患者については、臨床診断は、FHを確定する基準であるサイモン・ブルーム基準、または>8点のスコアを用いるWHO/Dutch Lipid Network基準のいずれかに基づくことができる。

【0044】

特定の実施形態によると、冠動脈心疾患(CHD)歴を有することに基づいて患者を選択することができる。本明細書において用いる場合、「CHD歴」(または「記録されたCHD歴」)は、(i)急性心筋梗塞(MI);(ii)無症候性MI;(iii)不安定狭心症;(iv)冠動脈血行再建術(例えば、経皮的冠動脈形成術[PCI]もしくは冠動脈バイパス移植術[CABG]);および/または(v)侵襲的もしくは非侵襲的検査(例えば、冠動脈造影法、トレッドミルを使用する負荷テスト、負荷心エコー検査または核イメージング)によって診断された臨床的に有意なCHDのうちの一つまたはそれ以上を含む。

【0045】

特定の実施形態によると、非冠動脈心疾患性心血管疾患(「非CHD-CVD」)を有することに基づいて、患者を選択することができる。本明細書において用いる場合、「非CHD-CVD」は、(i)局所的な虚血性神経学的欠損を有し、24時間超持続したことが記録されている過去の虚血性脳卒中であって、アテローム血栓を起源とするとみなされる該虚血性脳卒中;(ii)末梢動脈疾患;(iii)腹部大動脈瘤;(iv)アテローム硬化性腎動脈狭窄;および/または(v)頸動脈疾患(一過性虚血性発作、もしくは頸動脈の>50%の閉塞)のうちの一つまたはそれ以上を含む。

【0046】

特定の実施形態によると、例えば、(i)3カ月以上にわたる、 $30\text{ mL}/\text{分}/1.73\text{ m}^2$ eGFR< $60\text{ mL}/\text{分}/1.73\text{ m}^2$ のeGFRにより定義される中等度の慢性腎臓疾患(CKD)が記録されていること;(ii)標的臓器障害(例えば、網膜症、

10

20

30

40

50

腎障害、微量アルブミン尿症)の有無にかかわらず、1型または2型の糖尿病；(iii) 5%の算定10年致死性CVDリスクSCOREなどの、1つまたはそれ以上の追加のリスク因子を有することに基づいて、患者を選択することができる(ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidemias、Conroyら、2003年、Eur. Heart J.、24:987~1003頁)。

【0047】

特定の実施形態によると、年齢(例えば、40、45、50、55、60、65、70、75または80歳より高齢)、人種、出身国、性別(男性または女性)、運動習慣(例えば、運動する習慣のある人、運動しない人)、他の既存の病状(例えば、II型糖尿病、高血圧など)および現在の投薬状態(例えば、現在摂取している遮断薬、ナイアシン、エゼチミブ、フィブラート、オメガ3脂肪酸、胆汁酸樹脂など)からなる群から選択される1つまたはそれ以上の追加のリスク因子を有することに基づいて患者を選択することができる。

10

【0048】

本発明の特定の実施形態によると、本発明の方法により処置可能である被験者は、1つまたはそれ以上の炎症マーカーのレベルの上昇を示す。本発明では、全身性炎症の任意のマーカーを利用することができる。好適な炎症マーカーとして、非限定的に、C反応性タンパク質、サイトカイン(例えば、IL-6、IL-8および/またはIL-17)、ならびに細胞接着分子(例えば、ICAM-1、ICAM-3、BL-CAM、LFA-2、VCAM-1、NCAMおよびPECAM)が挙げられる。

20

【0049】

本発明によると、上述の選択基準または治療特性のうちの1つまたはそれ以上の組合せに基づいて、患者を選択することができる。例えば、特定の実施形態によると、heFHまたは非FHを、(i)CHDの病歴が記録されていること、(ii)非CHD CVD、および/または(iii)標的臓器障害を有する糖尿病と組み合わせて有することに基づいて、本発明の方法での処置に好適な患者をさらに選択することができる；そのような患者は、70mg/dL以上の血清LDL-C濃度を有することに基づいて選択することもできる。

30

【0050】

特定のその他の実施形態によると、本発明の方法での処置に好適な患者は、毎日の中等度の用量の治療スタチンレジメンによる制御が十分ではない高コレステロール血症を有することに加えて、CHDのないheFHもしくは非FH、または非CHD CVDのないheFHもしくは非FHを有するが、(i) 5%の算定10年致死性CVDリスクSCORE；または(ii)標的臓器障害を有しない糖尿病のいずれかを有することに基づいてさらに選択することができる；そのような患者は、100mg/dL以上の血清LDL-C濃度を有することに基づいて選択することもできる。

【0051】

本発明の特定の実施形態によると、本発明の方法により処置可能である被験者は、家族性カイロミクロン血症症候群(FCS；リポタンパク質リパーゼ欠損症としても公知である)を有する被験者である。

40

【0052】

本発明の特定の実施形態によると、本発明の方法により処置可能である被験者は、リポタンパク質アフェレーシスを受けているまたは最近(例えば、過去6カ月以内、過去12週以内、過去8週以内、過去6週以内、過去4週以内、過去2週以内などに)受けたことがある被験者である。

【0053】

ANGPTL3阻害剤を加えたPCSK9阻害剤のアドオン治療としての投与

本発明は、処置方法であって、標準的な脂質修飾治療(例えば、スタチン)を受けているまたは最近受けたことがある患者に、PCSK9阻害剤を、ANGPTL3阻害剤を加

50

えて、特定の投薬量および頻度に従って投与し、該 P C S K 9 阻害剤および該 A N G P T L 3 阻害剤を、（該当する場合には）該患者の既存の毎日の治療スタチンレジメンへのアドオンなどの該患者の既存の脂質修飾治療へのアドオンとして投与する前記方法を含む。

【0054】

例えば、本発明の方法は、アドオン治療レジメンを含み、ここで、P C S K 9 および A N G P T L 3 の阻害剤を与えるまで患者に投与していたのと同じ安定した毎日の治療スタチンレジメン（すなわち、同じ投薬量のスタチン）へのアドオン治療として、P C S K 9 阻害剤および A N G P T L 3 阻害剤を投与する。その他の実施形態において、P C S K 9 および A N G P T L 3 の阻害剤を与えるまで患者に投与していたスタチンの用量を上回る量、または P C S K 9 および A N G P T L 3 の阻害剤を与えるまで患者に投与していたスタチンの用量を下回る量のスタチンを含む治療スタチンレジメンへのアドオン治療として、P C S K 9 および A N G P T L 3 の阻害剤を投与する。例えば、特定の投薬頻度および量で投与する P C S K 9 阻害剤および A N G P T L 3 阻害剤を含む治療レジメンの開始後、患者の治療必要性に依存して、患者に投与または処方するスタチンの1日用量は、P C S K 9 および A N G P T L 3 の阻害剤による治療レジメンを開始する前に患者が服用していた毎日のスタチンの用量と比較して、（a）同じに留めても、（b）増加させても、または（c）減少させてもよい（例えば、アップタイトレーションしても、またはダウタイトレーションしてもよい）。

【0055】

治療効能

本発明の方法は、総コレステロール、L D L - C、非 H D L - C、アポ B 1 0 0、V L D L - C、トリグリセリド、L p (a) およびレムナントコレステロールからなる群から選択される1つまたはそれ以上の脂質成分の血清レベルの低減をもたらすことができる。例えば、本発明の特定の実施形態によると、好適な被験者への A N G P T L 3 阻害剤と組み合わせた P C S K 9 阻害剤の投与は、ベースラインからの少なくとも約 2 5 %、3 0 %、4 0 %、5 0 %、6 0 % もしくはそれ以上の血清低密度リポタンパク質コレステロール（L D L - C）の平均低減率；ベースラインからの少なくとも約 2 5 %、3 0 %、4 0 %、5 0 %、6 0 % もしくはそれ以上のアポ B 1 0 0 の平均低減率；ベースラインからの少なくとも約 2 5 %、3 0 %、4 0 %、5 0 %、6 0 % もしくはそれ以上の非 H D L - C の平均低減率；ベースラインからの少なくとも約 1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 5 % もしくはそれ以上の総コレステロールの平均低減率；ベースラインからの少なくとも約 5 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、3 0 % もしくはそれ以上の V L D L - C の平均低減率；ベースラインからの少なくとも約 5 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 %、3 0 %、3 5 % もしくはそれ以上のトリグリセリドの平均低減率；および/またはベースラインからの少なくとも約 5 %、1 0 %、1 5 %、2 0 %、2 5 % もしくはそれ以上の L p (a) の平均低減率をもたらすことになる。

【0056】

P C S K 9 阻害剤および A N G P T L 3 阻害剤

本発明の方法は、P C S K 9 阻害剤および A N G P T L 3 阻害剤を含む治療用組成物を患者に投与することを含む。

【0057】

P C S K 9 阻害剤

本明細書において用いる場合、「P C S K 9 阻害剤」は、ヒト P C S K 9 と結合し、またはヒト P C S K 9 と相互作用し、かつインビボまたはインビトロで P C S K 9 の正常な生物学的機能を阻害する、任意の薬剤である。P C S K 9 阻害剤のカテゴリーの非限定的な例として、小分子 P C S K 9 アンタゴニスト、P C S K 9 の発現または活性の核酸ベースの阻害剤（例えば、s i R N A またはアンチセンス）、P C S K 9 と特異的に相互作用するペプチドベースの分子（例えば、ペプチボディ）、P C S K 9 と特異的に相互作用する受容体分子、L D L 受容体のリガンド結合部分を含むタンパク質、P C S K 9 に結合する足場分子（例えば、D A R P i n、H E A T リピートタンパク質、A R M リピートタン

パク質、テトラトリコペプチドリピータンパク質、フィブロネクチンベースの足場構築物、ならびに足場に基づく天然に存在する他のリピータンパク質など [例えば、BoersmaおよびPluckthun、2011年、Curr. Opin. Biotechnol.、22: 849~857頁、およびそこに引用されている参考文献を参照されたい])、ならびに抗PCSK9アプタマーまたはそれらの部分が挙げられる。特定の実施形態によると、本発明に関連して使用することができるPCSK9阻害剤は、ヒトPCSK9に特異的に結合する抗PCSK9抗体または抗体の抗原結合断片である。

【0058】

用語「ヒトプロタンパク質転換酵素サブチリシン/ケキシシ9型」または「ヒトPCSK9」または「hPCSK9」は、本明細書において用いる場合、配列番号22で示される核酸配列および配列番号23のアミノ酸配列を有するPCSK9、またはその生物活性断片を指す。

10

【0059】

ANGPTL3阻害剤

本明細書において用いる場合、「ANGPTL3阻害剤」は、ヒトANGPTL3と結合し、またはヒトANGPTL3と相互作用し、かつインビトロまたはインビボでANGPTL3の正常な生物学的機能を阻害する任意の薬剤である。ANGPTL3阻害剤のカテゴリの非限定的な例として、小分子ANGPTL3アンタゴニスト、ANGPTL3の発現または活性の核酸ベースの阻害剤 (例えば、siRNAまたはアンチセンス)、ANGPTL3と特異的に相互作用するペプチドベースの分子 (例えば、ペプチボディ)、ANGPTL3と特異的に相互作用する受容体分子、ANGPTL3に結合する足場分子、(例えば、DARPin、HEATリピータンパク質、ARMリピータンパク質、テトラトリコペプチドリピータンパク質、フィブロネクチンベースの足場構築物、ならびに足場に基づく天然に存在する他のリピータンパク質など [例えば、BoersmaおよびPluckthun、2011年、Curr. Opin. Biotechnol.、22: 849~857頁、およびそこに引用されている参考文献を参照されたい])、ならびに抗ANGPTL3アプタマーまたはそれらの部分が挙げられる。特定の実施形態によると、本発明に関連して使用することができるANGPTL3阻害剤は、ヒトANGPTL3に特異的に結合する抗ANGPTL3抗体または抗体の抗原結合断片である。

20

【0060】

用語「ヒトアンジオポエチン様タンパク質-3」または「ヒトANGPTL3」または「hANGPTL3」は、本明細書において用いる場合、配列番号1のアミノ酸配列を有するANGPTL3 (NCBI受託NP_055310も参照されたい) またはその生物活性断片を指す。

30

【0061】

用語「抗体」は、本明細書において用いる場合、4本のポリペプチド鎖、すなわちジスルフィド結合によって相互に連結されている2本の重(H)鎖と2本の軽(L)鎖、を含む免疫グロブリン分子、およびその多量体 (例えば、IgM) を指すことを意図したものである。各重鎖は、重鎖可変領域 (本明細書ではHCVRまたはV_Hと略記する) および重鎖定常領域を含む。重鎖定常領域は、3つのドメイン、C_H1、C_H2およびC_H3、を含む。各軽鎖は、軽鎖可変領域 (本明細書ではLCVRまたはV_Lと略記する) および軽鎖定常領域を含む。軽鎖定常領域は、1つのドメイン (C_L1) を含む。V_HおよびV_L領域は、フレームワーク領域 (FR) と称する、より保存される領域が散在する、相補性決定領域 (CDR) と称する超可変性の領域にさらに細分することができる。各V_HおよびV_Lは、3つのCDRおよび4つのFRからなり、これらは、アミノ末端からカルボキシ末端へ次の順序で配置されている: FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。本発明の種々の実施形態において、抗PCSK9抗体 (またはその抗原結合部分) のFRは、ヒト生殖系列配列と同一であることもあり、または天然にもしくは人工的に修飾されていることもある。アミノ酸コンセンサス配列は、2つまたはそれ以上のCDRの並行分析に基づいて定義することができる。

40

50

【0062】

用語「抗体」は、本明細書において用いる場合、完全抗体分子の抗原結合断片も含む。抗体の「抗原結合部分」、抗体の「抗原結合断片」などの用語は、本明細書において用いる場合、抗原に特異的に結合して複合体を形成する任意の天然に存在する、酵素的に得ることができる、合成の、または遺伝子改変ポリペプチドまたは糖タンパク質を含む。抗体の抗原結合断片は、例えば、タンパク質消化、または抗体可変および場合により定常ドメインをコードするDNAの操作および発現を含む組換え遺伝子改変法などの、任意の好適な標準的技法を用いて完全抗体分子から得ることができる。そのようなDNAは、公知でありおよび/または例えば商業的供給源、DNAライブラリー（例えばファージ-抗体ライブラリーを含む）から容易に調達することができ、または合成することができる。DNAをシーケンシングし、化学的にまたは分子生物学技法の使用によって操作して、例えば、1つもしくはそれ以上の可変および/もしくは定常領域を好適な高次構造に配置すること、またはコドンを導入すること、システイン残基を生成すること、アミノ酸を修飾する、付加させるまたは欠失させることなどができる。

10

【0063】

抗原結合断片の非限定的な例としては、(i) Fab断片；(ii) F(ab')₂断片；(iii) Fd断片；(iv) Fv断片；(v) 一本鎖Fv(scFv)分子；(vi) dAb断片；および(vii) 抗体の超可変領域（例えば、単離された相補性決定領域(CDR)、例えばCDR3ペプチド）を模倣するアミノ酸残基からなる最小認識単位、または拘束FR3-CDR3-FR4ペプチドが挙げられる。他の改変分子、例えば、ドメイン特異的抗体、シングルドメイン抗体、ドメイン欠失抗体、キメラ抗体、CDRグラフト抗体、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ミニボディ、ナノボディ（例えば、一価ナノボディ、二価ナノボディなど）、小モジュラー免疫薬(SMIP)、サメ可変IgNARDドメインも、本明細書において用いる場合の「抗原結合断片」という表現に包含される。

20

【0064】

抗体の抗原結合断片は、少なくとも1つの可変ドメインを概して含むことになる。可変ドメインは、いずれのサイズまたはアミノ酸組成のものであり、一般的には、少なくとも1つのCDRを含むことになり、それは1つもしくはそれ以上のフレームワーク配列に隣接しているまたは1つもしくはそれ以上のフレームワーク配列とインフレームである。V_Lドメインと会合しているV_Hドメインを有する抗原結合断片の場合、V_HおよびV_Lドメインは、互いに対してあらゆる好適な配置で位置することができる。例えば、可変領域は、二量体であり、V_H-V_H、V_H-V_LまたはV_L-V_L二量体を含有することができる。あるいは、抗体の抗原結合断片は、単量体V_HまたはV_Lドメインを含有することもある。

30

【0065】

特定の実施形態において、抗体の抗原結合断片は、少なくとも1つの定常ドメインに共有結合で連結されている少なくとも1つの可変ドメインを含有することができる。本発明の抗体の抗原結合断片内で見つけることができる可変および定常ドメインの非限定的、例示的高次構造としては、(i) V_H-C_H1；(ii) V_H-C_H2；(iii) V_H-C_H3；(iv) V_H-C_H1-C_H2；(v) V_H-C_H1-C_H2-C_H3；(vi) V_H-C_H2-C_H3；(vii) V_H-C_L；(viii) V_L-C_H1；(ix) V_L-C_H2；(x) V_L-C_H3；(xi) V_L-C_H1-C_H2；(xii) V_L-C_H1-C_H2-C_H3；(xiii) V_L-C_H2-C_H3；および(xiv) V_L-C_Lが挙げられる。上に列挙した例示的高次構造のいずれかを含む、可変および定常ドメインのいずれの高次構造においても、可変および定常ドメインは、互いに直接連結されていることもあり、または完全もしくは部分ヒンジもしくはリンカー領域によって連結されていることもある。ヒンジ領域は、少なくとも2つ（例えば、5、10、15、20、40、60またはそれ以上）のアミノ酸からなることがあり、その結果、単一ポリペプチド分子内の隣接した可変および/または定常ドメイン間の柔軟なまたはやや柔軟な連鎖となる

40

50

。さらに、本発明の抗体の抗原結合断片は、互いにおよび/または1つもしくはそれ以上の単量体 V_H もしくは V_L ドメインと非共有結合で(例えば、ジスルフィド結合によって)会合している、上に列挙したいずれかの可変および定常ドメイン高次構造のホモ二量体またはヘテロ二量体(または他の多量体)を含むことがある。

【0066】

完全抗体分子と同様に、抗原結合断片は、単一特異性であることもあり、または多重特異性(例えば、二重特異性)であることもある。抗体の多重特異性抗原結合断片は、各可変ドメインが別個の抗原にまたは同じ抗原上の異なるエピトープと特異的に結合できる、少なくとも2つの異なる可変ドメインを概して含むことになる。本明細書において開示する例示的二重特異性抗体形式を含む、いずれの多重特異性抗体形式も、当技術分野において利用可能な常例的技法を用いる本発明の抗体の抗原結合断片との関連での使用に適應させることができる。

10

【0067】

抗体の定常領域は、補体を固定し、細胞依存性細胞傷害を媒介する抗体の能力に重要である。したがって、抗体が細胞傷害を媒介することが望ましいかどうかに基づいて抗体のアイソタイプを選択することができる。

【0068】

用語「ヒト抗体」は、本明細書において用いる場合、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列に由来する可変および定常領域を有する抗体を含むことを意図したものである。とはいえ、本発明のヒト抗体は、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基(例えば、インビトロでのランダムもしくは部位特異的突然変異誘発によってまたはインビボでの体細胞突然変異によって誘導された突然変異)を、例えば、CDR、特にCDR3に含むことがある。しかし、用語「ヒト抗体」は、本明細書において用いる場合、マウスなどの別の哺乳動物種の生殖細胞系に由来するCDR配列がヒトフレームワーク配列にグラフトされた抗体を含むことを意図したのではない。この用語は、非ヒト哺乳動物または非ヒト哺乳動物細胞において組換えにより生産された抗体を含む。この用語は、ヒト被験者から単離された抗体、およびヒト被験者において産生された抗体を含むことを意図したのではない。

20

【0069】

用語「組換えヒト抗体」は、本明細書において用いる場合、組換え手段によって製造、発現、生成または単離される全てのヒト抗体、例えば、宿主細胞にトランスフェクトされた組換え発現ベクターを使用して発現される抗体(さらに下で説明する)、組換え体から単離された抗体、コンビナトリアルヒト抗体ライブラリー(下でさらに説明する)、ヒト免疫グロブリン遺伝子が遺伝子導入されている動物(例えばマウス)から単離された抗体(例えば、Taylorら(1992)Nucleic Acids Res. 20:6287~6295を参照されたい)、またはヒト免疫グロブリン遺伝子配列の他のDNA配列へのスプライシングを含む任意の他の手段によって製造、発現、生成もしくは単離された抗体を含むことを意図したものである。そのような組換えヒト抗体は、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列に由来する可変および定常領域を有する。しかし、特定の実施形態において、そのような組換えヒト抗体は、インビトロ突然変異誘発(または、ヒトIg配列が遺伝子導入された動物を使用する場合にはインビボ体細胞突然変異)に付されるので、該組換え抗体の V_H および V_L 領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖細胞系 V_H および V_L 配列に由来し、ヒト生殖細胞系 V_H および V_L 配列と類縁の配列だが、インビボでヒト抗体生殖細胞系レパートリー内に天然に存在できない配列である。

30

40

【0070】

ヒト抗体は、2つの形態で存在することができ、これらの形態がヒンジ異質性に関連する。一方の形態の場合、免疫グロブリン分子は、二量体が鎖間重鎖ジスルフィド結合によって一緒に保持されている、おおよそ150~160kDaの安定した4鎖構築物を含む。第2の形態の場合、二量体は鎖間ジスルフィド結合によって連結されておらず、約75~80kDaの分子が、共有結合でカップリングされた軽鎖と重鎖で形成され、構成され

50

る（ハーフ抗体（half-antibody））。これらの形態は、アフィニティー精製後でさえ分離することが極めて難しかった。

【0071】

様々なインタクトIgGアイソタイプにおける第2の形態の出現頻度は、抗体のヒンジ領域アイソタイプに関連する構造の違いに、これに限定されるものではないが、起因する。ヒトIgG4ヒンジのヒンジ領域における単一アミノ酸置換は、第2の形態の出現を、ヒトIgG1ヒンジを使用して概して観察されるレベルに、有意に低減させることができる（Angalら（1993）Molecular Immunology 30:105）。本発明は、例えば生産の際、所望の抗体形態の収率を向上させるために望ましいことがある、ヒンジ、 C_H2 または C_H3 領域に1つまたはそれ以上の突然変異を有する抗体を包含する。

10

【0072】

「単離された抗体」は、本明細書において用いる場合、その天然環境の少なくとも1つの成分から同定および分離および/または回収された抗体を意味する。例えば、生物の少なくとも1つの成分から分離もしくは除去された抗体、またはその抗体が天然に存在するもしくは天然に生産される組織もしくは細胞から分離もしくは除去された抗体は、本発明では「単離された抗体」である。単離された抗体は、組換え細胞内の生体内原位置の抗体も含む。単離された抗体は、少なくとも1工程の精製または単離工程に付された抗体である。特定の実施形態によると、単離された抗体には、他の細胞物質および/または化学物質が実質的にないこともある。

20

【0073】

用語「特異的に結合する」またはこれに類する用語は、抗体またはその抗原結合断片が、生理条件下で比較的安定している抗原との複合体を形成することを意味する。抗体が抗原と特異的に結合するかどうかを判定する方法は、当技術分野において周知であり、例えば、平衡透析、表面プラズモン共鳴などを含む。例えば、PCSK9「に特異的に結合する」抗体、またはANGPTL3「に特異的に結合する」抗体は、本発明に関連して用いる場合、表面プラズモン共鳴アッセイで測定して、約1000nM未満、約500nM未満、約300nM未満、約200nM未満、約100nM未満、約90nM未満、約80nM未満、約70nM未満、約60nM未満、約50nM未満、約40nM未満、約30nM未満、約20nM未満、約10nM未満、約5nM未満、約4nM未満、約3nM未満、約2nM未満、約1nM未満、または約0.5nM未満の K_D で、PCSK9、またはANGPTL3、またはその一部に結合する抗体を含む。しかし、ヒトPCSK9またはヒトANGPTL3に特異的に結合する単離された抗体は、他の（非ヒト）種からのPCSK9分子またはANGPTL3分子などの、他の抗原への交差反応性を有する。

30

【0074】

本発明の方法に有用な抗PCSK9および抗ANGPTL3抗体は、該抗体が由来する対応する生殖細胞系配列と比較して、重鎖および軽鎖可変ドメインのフレームワークおよび/またはCDR領域に1つまたはそれ以上のアミノ酸置換、挿入および/または欠失を含むことがある。そのような突然変異は、本明細書において開示するアミノ酸配列を例えば公開抗体配列データベースから入手できる生殖細胞系配列と比較することによって、容易に突き止めることができる。本発明は、本明細書において開示するアミノ酸配列のいずれかに由来する抗体およびそれらの抗原結合断片の使用を含む方法であって、1つまたはそれ以上のフレームワークおよび/またはCDR領域内の1つまたはそれ以上のアミノ酸が、該抗体が由来する生殖細胞系配列の対応する残基に、または別のヒト生殖細胞系配列の対応する残基に、または対応する生殖細胞系残基の保存的アミノ酸置換に突然変異される（このような配列交換を本明細書ではまとめて「生殖細胞系突然変異」と呼ぶ）前記方法を含む。当業者は、本明細書において開示する重鎖および軽鎖可変領域配列で出発して、1つもしくはそれ以上の個々の生殖細胞系突然変異またはそれらの組合せを含む多数の抗体および抗原結合断片を容易に生産することができる。特定の実施形態では、 V_H および/または V_L ドメイン内のフレームワークおよび/またはCDR残基の全てが、抗体が由

40

50

来する元の生殖細胞系配列中で見つけられる残基に復帰突然変異される。他の実施形態では、特定の残基のみ、例えば、FR1の最初の8アミノ酸中もしくはFR4の最後の8アミノ酸中で見つけられる突然変異残基のみ、またはCDR1、CDR2もしくはCDR3内で見つけられる突然変異残基のみが、元の生殖細胞系配列に復帰突然変異される。他の実施形態では、フレームワークおよび/またはCDR残基の1つまたはそれ以上が、異なる生殖細胞系配列（すなわち、抗体が当初由来した生殖細胞系配列とは異なる生殖細胞系配列）の対応する残基に突然変異される。さらに、本発明の抗体は、フレームワークおよび/またはCDR領域内に、2つまたはそれ以上の生殖細胞系突然変異の何らかの組合せ、例えば、特定の個々の残基は特定の生殖細胞系配列の対応する残基に突然変異されるが、元の生殖細胞系配列とは異なる特定の他の残基は維持されるか、または異なる生殖細胞系配列の対応する残基に突然変異される組合せを含有することもある。1つまたはそれ以上の生殖細胞系突然変異を含有する抗体および抗原結合断片は、ひとたび得てしまえば、1つまたはそれ以上の所望の特性、例えば、結合特異性改善、結合親和性増加、（場合によって）アンタゴニストまたはアゴニストとしての生物学的特性改善または向上、免疫原性低減などについて容易に試験することができる。この一般的手法で得られる抗体および抗原結合断片の使用は、本発明に包含される。

10

20

30

40

50

【0075】

本発明は、1つまたはそれ以上の保存的置換を有する本明細書において開示するHCVR、LCVRおよび/またはCDRアミノ酸配列のいずれかについての変異体を含む抗PCSK9および抗ANGPTL3抗体の使用を含む方法も含む。例えば、本発明は、例えば、本明細書において開示するHCVR、LCVRおよび/またはCDRアミノ酸配列のいずれかと比較して10またはそれ以下、8またはそれ以下、6またはそれ以下、4またはそれ以下などの保存的アミノ酸置換を有する、HCVR、LCVRおよび/またはCDRアミノ酸配列を有する抗PCSK9および抗ANGPTL3抗体の使用を含む。

【0076】

用語「表面プラズモン共鳴」は、本明細書において用いる場合、例えばBiacore（商標）システム（Biacore Life Sciences division of GE Healthcare, Piscataway, NJ）を使用してバイオセンサーマトリックス内のタンパク質濃度変化の検出によりリアルタイム相互作用を分析することができる光学現象を指す。

【0077】

用語「 K_D 」は、本明細書において用いる場合、特定の抗体-抗原相互作用の平衡解離定数を指すことを意図したものである。

【0078】

用語「エピトープ」は、パラトープとして公知の抗体分子の可変領域内の特異的抗原結合部位と相互作用する抗原決定基を指す。単一の抗原が1つより多くのエピトープを有することもある。それ故、抗体によって、結合する抗原領域が異なることもあり、有する生物学的効果が異なることもある。エピトープは、高次構造であることもあり、または線状であることもある。高次構造エピトープは、直鎖状ペプチド鎖の異なるセグメントからの空間的に隣り合って並ぶアミノ酸によって生成される。線状エピトープは、ポリペプチド鎖内の隣接したアミノ酸残基によって生成されるものである。特定の状況では、エピトープは、抗原上の糖類、ホスホリル基またはスルホニル基部分を含むことがある。

【0079】

特定の実施形態によると、本発明の方法において使用される抗PCSK9抗体および抗ANGPTL3抗体は、pH依存性結合特性を有する抗体である。本明細書において用いる場合、「pH依存性結合」という表現は、抗体もしくはその抗原結合断片が、「中性pHと比較して酸性pHでPCSK9との結合低減」を示す（本開示では、両方の表現を同義で用いることがある）こと、または抗体もしくはその抗原結合断片が、「中性pHと比較して酸性pHでANGPTL3との結合低減」を示す（本開示では、両方の表現を同義で用いることがある）ことを意味する。例えば、「pH依存性結合特性を有する」抗体は

、酸性 pH でより中性 pH でのほうが高い親和性で PCSK9 または ANGPTL3 のいずれかに結合する抗体およびそれらの抗原結合断片を含む。特定の実施形態において、本発明の抗体およびそれらの抗原結合断片は、酸性 pH でより中性 pH でのほうが少なくとも 3、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100 倍またはそれ以上高い親和性で PCSK9 または ANGPTL3 に結合する。

【0080】

本発明のこの態様によると、pH 依存性結合特性を有する抗 PCSK9 抗体または ANGPTL3 抗体は、親抗 PCSK9 抗体または親抗 ANGPTL3 抗体と比較して 1 つまたはそれ以上のアミノ酸変異を有することがある。例えば、pH 依存性結合特性を有する抗 PCSK9 抗体または抗 ANGPTL3 抗体は、例えば、親抗 PCSK9 抗体または親抗 ANGPTL3 抗体の 1 つまたはそれ以上の CDR 内に、1 つまたはそれ以上のヒスチジン置換または挿入を有することがある。それ故、本発明の特定の実施形態に従って、親抗体の 1 つまたはそれ以上の CDR の 1 つまたはそれ以上のアミノ酸のヒスチジン残基での置換を除いて親抗 PCSK9 抗体または親抗 ANGPTL3 抗体の CDR アミノ酸配列と同一である CDR アミノ酸配列（例えば、重鎖および軽鎖 CDR）を含む抗 PCSK9 抗体および抗 ANGPTL3 抗体を投与することを含む方法を提供する。pH 依存性結合を有する抗 PCSK9 抗体または抗 ANGPTL3 抗体は、親抗 PCSK9 抗体の単一の CDR 内に、または親抗 PCSK9 抗体または親抗 ANGPTL3 抗体の複数（例えば、2、3、4、5 もしくは 6）の CDR 全体にわたって分布している、例えば 1、2、3、4、5、6、7、8、9 またはそれ以上のヒスチジン置換を有することがある。例えば、本発明は、親抗 PCSK9 抗体または親抗 ANGPTL3 抗体の HCDR1 に 1 つもしくはそれ以上のヒスチジン置換、HCDR2 に 1 つもしくはそれ以上のヒスチジン置換、HCDR3 に 1 つもしくはそれ以上のヒスチジン置換、LCDR1 に 1 つもしくはそれ以上のヒスチジン置換、LCDR2 に 1 つもしくはそれ以上のヒスチジン置換、および / または LCDR3 に 1 つもしくはそれ以上のヒスチジン置換を含む、pH 依存性結合を有する抗 PCSK9 抗体および抗 ANGPTL3 抗体の使用を含む。

【0081】

本明細書において用いる場合、「酸性 pH」という表現は、6.0 またはそれ以下（例えば、約 6.0 未満、約 5.5 未満、約 5.0 未満など）の pH を意味する。「酸性 pH」という表現は、約 6.0、5.95、5.90、5.85、5.8、5.75、5.7、5.65、5.6、5.55、5.5、5.45、5.4、5.35、5.3、5.25、5.2、5.15、5.1、5.05、5.0 またはそれ以下の pH 値を含む。本明細書において用いる場合、「中性 pH」という表現は、約 7.0 ~ 約 7.4 の pH を意味する。「中性 pH」という表現は、約 7.0、7.05、7.1、7.15、7.2、7.25、7.3、7.35 および 7.4 の pH 値を含む。

【0082】

本発明に関連して使用することができる抗 PCSK9 抗体の非限定的な例としては、アリロクマブ、エボロクマブ、ボコシズマブ、ロデルシズマブ、ラルパンシズマブ、または上述の抗体のうちのいずれかの抗原結合部分が挙げられる。

【0083】

本発明に関連して使用することができる抗 ANGPTL3 抗体の非限定的な例としては、エピナクマブが挙げられる。

【0084】

ヒト抗体の製造

当技術分野で公知の抗体産生 / 単離の任意の方法に従って、抗 PCSK9 抗体および抗 ANGPTL3 抗体を作製することができる。例えば、本発明の方法において使用するための抗体は、ハイブリドーマ技術、ファージディスプレイ、酵母ディスプレイなどにより作製することができる。本発明の方法において使用するための抗体は、例えば、キメラ抗体、ヒト化抗体または完全ヒト抗体であり得る。

【0085】

トランスジェニックマウスでヒト抗体を産生する方法は当技術分野において公知である。任意のそのような公知の方法を本発明に関連して使用して、PCSK9またはANGPTL3と特異的に結合するヒト抗体を作製することができる。

【0086】

例えば、VELOCIMMUNE（商標）技術（例えば米国特許第6,596,541号、Regeneron Pharmaceuticalsを参照されたい）、またはモノクローナル抗体の任意の他の公知産生方法を用いて、ヒト可変領域およびマウス定常領域を有する、PCSK9またはANGPTL3に対する高親和性キメラ抗体を、最初に単離する。VELOCIMMUNE（登録商標）技術は、マウスが抗原刺激に応答してヒト可変領域およびマウス定常領域を含む抗体を生産するように、内在性マウス定常領域遺伝子座に作動可能に連結されたヒト重鎖および軽鎖可変領域を含むゲノムを有するトランスジェニックマウスの産生を含む。抗体の重鎖および軽鎖の可変領域をコードするDNAを単離し、ヒト重鎖および軽鎖定常領域をコードするDNAに作動可能に連結させる。その後、完全ヒト抗体を発現することができる細胞においてそのDNAを発現させる。

10

【0087】

一般には、VELOCIMMUNE（登録商標）マウスに、対象とする抗原を感作させ、抗体を発現しているマウスからリンパ細胞（例えば、B細胞）を回収する。リンパ細胞を骨髄腫細胞株と融合させて不死ハイブリドーマ細胞株を製造することができ、そのようなハイブリドーマ細胞株をスクリーニングし、選択して、対象とする抗原に特異的な抗体を生産するハイブリドーマ細胞株を同定する。重鎖および軽鎖の可変領域をコードするDNAを単離し、重鎖および軽鎖の望ましいアイソタイプ定常領域に連結させることができる。そのような抗体タンパク質を、CHO細胞などの細胞において生産することができる。あるいは、抗原特異的キメラ抗体をコードするDNA、または重鎖および軽鎖の可変ドメインを、抗原特異的リンパ球から直接単離することができる。

20

【0088】

ヒト可変領域およびマウス定常領域を有する高親和性キメラ抗体を最初に単離する。当業者に公知の標準的手順を用いて、抗体を特性評価し、親和性、選択性、エピトープなどをはじめとする所望の特定について選択する。マウス定常領域を所望のヒト定常領域で置換して、本発明の完全ヒト抗体、例えば野生型または修飾IgG1またはIgG4、を生産させる。選択される定常領域は具体的な用途によって変わることがあるが、高親和性抗原結合特性および標的特異性が可変領域にある。

30

【0089】

一般に、本発明の方法で使用することができる抗体は、固相に固定された抗原または溶液相中の抗原と結合させることによって測定したとき、上で説明したような高い親和性を有する。マウス定常領域を所望のヒト定常領域で置換して、本発明の完全ヒト抗体を生産させる。選択される定常領域は具体的な用途によって変わることがあるが、高親和性抗原結合特性および標的特異性が可変領域にある。

【0090】

本発明の方法に関連して使用することができる、PCSK9に特異的に結合するヒト抗体または抗体の抗原結合断片の具体的な例としては、配列番号12/17を含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域（HCVR/LCVR）のアミノ酸配列の対に由来する6つのCDR（HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2およびLCDR3）を含む抗体または抗原結合タンパク質が挙げられる。

40

【0091】

本発明の特定の実施形態において、本発明の方法で使用することができる抗PCSK9抗体またはその抗原結合断片は、配列番号13、14、15、18、19および21のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域および軽鎖相補性決定領域（HCDR1-HCDR2-HCDR3/LCDR1-LCDR2-LCDR3）を含む。

【0092】

50

本発明の特定の実施形態において、本発明の方法で使用することができる抗PCSK9抗体またはその抗原結合断片は、配列番号12のアミノ酸配列を有するHCVRおよび配列番号17のアミノ酸配列を有するLCVRを含む。

【0093】

本発明の方法に関連して使用することができる、ANGPTL3に特異的に結合するヒト抗体または抗体の抗原結合断片の具体的な例としては、配列番号2/3を含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域(HCVR/LCVR)のアミノ酸配列の対に由来する6つのCDR(HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2およびLCDR3)を含む抗体または抗原結合タンパク質が挙げられる。

【0094】

本発明の特定の実施形態において、本発明の方法で使用することができる抗ANGPTL3抗体またはその抗原結合断片は、配列番号4、5、6、7、8および9のアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域および軽鎖相補性決定領域(HCDR1-HCDR2-HCDR3/LCDR1-LCDR2-LCDR3)を含む。

【0095】

本発明の特定の実施形態において、本発明の方法で使用することができる抗ANGPTL3抗体またはその抗原結合断片は、配列番号2のアミノ酸配列を有するHCVRおよび配列番号3のアミノ酸配列を有するLCVRを含む。

【0096】

医薬組成物および投与方法

本発明は、ANGPTL3阻害剤と組み合わせたPCSK9阻害剤を患者に投与することを含む方法を含み、ここで、PCSK9阻害剤とANGPTL3阻害剤とは、同じ医薬組成物または異なる医薬組成物に含有されている。本発明の医薬組成物は、好適な担体、賦形剤、および好適な転移、送達、耐性などをもたらす他の薬剤を用いて製剤化される。多くの適切な製剤を全ての薬剤師に公知の処方集：Remington's Pharmaceutical Sciences、Mack Publishing Company、Easton、PAにおいて見つけることができる。これらの製剤としては、例えば、粉末、ペースト、軟膏、ゼリー、ワックス、油、脂質、(カチオン性またはアニオン性)脂質含有ビヒクル(例えば、LIPOFECTIN(商標))、DNAコンジュゲート、無水吸収ペースト、水中油型および油中水型エマルジョン、エマルジョンカルボワックス(様々な分子量のポリエチレングリコール)、半固体ゲル、ならびにカルボワックスを含有する半固体混合物が挙げられる。Powellら、「Compendium of excipients for parenteral formulations」、PDA(1998)J Pharm Sci Technol 52:238~311も参照されたい。

【0097】

本発明に関連して使用することができる、抗PCSK9抗体および/またはANGPTL3抗体を含む例示的な医薬製剤としては、US8,795,669(とりわけ、アリロクマブを含む例示的な製剤についての記載)、またはWO2013/166448もしくはWO2012/168491に記載の製剤のうちのいずれかが挙げられる。

【0098】

様々な送達システム、例えば、リポソーム、微粒子、マイクロカプセルへの封入、突然変異型ウイルスを発現することができる組換え細胞、受容体媒介エンドサイトーシス(例えば、Wuら、1987、J. Biol. Chem. 262:4429~4432を参照されたい)は公知であり、本発明の医薬組成物を投与するためにそれらを使用することができる。投与方法としては、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻腔内、硬膜外および経口経路が挙げられるが、これらに限定されない。組成物を任意の適便な経路によって、例えば、注入またはボーラス注射によって、上皮内層または粘膜皮膚内層(例えば、経口粘膜、直腸および腸粘膜など)による吸収によって投与することができ、他の生物活性薬剤と一緒に投与することができる。

10

20

30

40

50

【0099】

本発明の医薬組成物は、標準的な針および注射器で皮下または静脈内送達することができる。加えて、皮下送達に関しては、ペン型送達デバイスを本発明の医薬組成物の送達に容易に利用される。そのようなペン型送達デバイスは、再使用可能であることもあり、または使い捨てであることもある。再使用可能なペン型送達デバイスには、医薬組成物を収容している交換可能カートリッジが一般に利用される。カートリッジ内の医薬組成物の全てを投与してしまい、カートリッジが空になったら、空のカートリッジを容易に廃棄することができ、医薬組成物を収容している新たなカートリッジと容易に交換することができる。その後、そのペン型送達デバイスを再使用することができる。使い捨てペン型送達デバイスには、交換可能カートリッジがない。もっと正確に言えば、使い捨てペン型送達デバイスには医薬組成物が予め充填されており、該医薬組成物は該デバイスの貯液部に保持されている。貯蔵部の医薬組成物が空になったら、デバイス全体を廃棄する。

10

【0100】

非常に多くの再使用可能ペン型および自己注射器送達デバイスが本発明の医薬組成物の皮下送達利用される。例としては、ほんの数例を挙げると、AUTOPEN（商標）（Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK）、DISETRONIC（商標）ペン（Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland）、HUMALOG MIX 75/25（商標）ペン、HUMALOG（商標）ペン、HUMALIN 70/30（商標）ペン（Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN）、NOVOPEN（商標）I、IIおよびIII（Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark）、NOVOPEN JUNIOR（商標）（Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark）、BD（商標）ペン（Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ）、OPTIPEN（商標）、OPTIPEN PRO（商標）、OPTIPEN STARLET（商標）、ならびにOPTICLIK（商標）（Sanofi-Aventis, Frankfurt, Germany）が挙げられるが、これらに限定されない。本発明の医薬組成物の皮下送達利用される使い捨てペン型送達デバイスの例としては、ほんの数例を挙げると、SOLOSTAR（商標）ペン（Sanofi-Aventis）、FLEXPEN（商標）（Novo Nordisk）およびKWIKPEN（商標）（Eli Lilly）、SURECLICK（商標）オートインジェクター（Amgen, Thousand Oaks, CA）、PENLET（商標）（Haselmeier, Stuttgart, Germany）、EPIPEN（Dey, L.P.）およびHUMIRA（商標）ペン（Abbott Labs, Abbott Park IL）が挙げられるが、これらに限定されない。

20

30

【0101】

特定の状況では、医薬組成物を制御放出システムで送達することができる。1つの実施形態では、ポンプを使用することがある（Langer、上掲；Sefton、1987、CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201を参照されたい）。別の実施形態では、高分子材料を使用することができる；Medical Applications of Controlled Release、LangerおよびWise（編集）、1974、CRC Pres., Boca Raton, Floridaを参照されたい。さらに別の実施形態では、制御放出システムを組成物の標的のすぐそばに配置することができ、したがって全身用量のほんの一部のみ要する（例えば、Goodson、1984、Medical Applications of Controlled Release、上掲、第2巻、115～138頁を参照されたい）。他の制御放出システムは、Langer、1990、Science 249:1527～1533による総説で論じされている。

40

【0102】

注射用製剤としては、静脈内、皮下、皮内および筋肉内注射、点滴注入などのための剤形を挙げることができる。これらの注射用製剤を公知の方法によって製造することができ

50

る。例えば、注射用製剤は、例えば、注射剤に従来使用されている滅菌水性媒体または油性媒体に上で説明した抗体またはその塩を溶解する、懸濁させるまたは乳化させることによって、製造することができる。注射剤のための水性媒体としては、例えば、生理食塩水、グルコースおよび他の補助剤を含有する等張溶液などがあり、これらは、適切な可溶化剤、例えばアルコール（例えば、エタノール）、多価アルコール（例えば、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール）、非イオン性界面活性剤〔例えば、ポリソルベート 80、HCO-50（硬化ヒマシ油のポリオキシエチレン（50 mol）付加体）〕などと併用されることもある。油性媒体としては、例えば、ゴマ油、ダイズ油が利用され、これらは、可溶化剤、例えば安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどと併用されることもある。好ましくは、このようにして製造された注射剤は、適切なアンプルに充填される。

10

【0103】

有利には、上で説明した経口または非経口使用用の医薬組成物は、活性成分の用量を合わせることに適している単位用量での剤形に製造される。単位用量でのそのような剤形としては、例えば、錠剤、ピル、カプセル、注射剤（アンプル）、坐剤などが挙げられる。

【0104】

投薬量

本発明の方法に従って被験者に投与される PCSK9 阻害剤（例えば、抗 PCSK9 抗体）または ANGPTL3 阻害剤（例えば、抗 ANGPTL3 抗体）の量は、一般に治療有効量である。本明細書において用いる場合、「PCSK9 阻害剤の治療有効量」という句は、ANGPTL3 阻害剤と組み合わせて投与する場合に、総コレステロール、LDL-C、アポ B100、非 HDL-C、VLDL-C、トリグリセリド、Lp(a) およびレムナントコレステロールからなる群から選択される 1 つもしくはそれ以上のパラメータの（ベースラインから少なくとも約 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75% もしくはそれ以上の）検出可能な低減をもたらす PCSK9 阻害剤の用量、またはリポタンパク質アフェレーシスなどの他の治療介入に対する患者の必要性を低減もしくは消失させる量、もしくは患者のアフェレーシスの標準化された度合いを低減させる量を意味する。

20

【0105】

抗 PCSK9 抗体の場合、治療有効量は、抗 PCSK9 抗体約 0.05 mg ~ 約 600 mg、例えば、約 0.05 mg、約 0.1 mg、約 1.0 mg、約 1.5 mg、約 2.0 mg、約 10 mg、約 20 mg、約 30 mg、約 40 mg、約 50 mg、約 60 mg、約 70 mg、約 80 mg、約 90 mg、約 100 mg、約 110 mg、約 120 mg、約 130 mg、約 140 mg、約 160 mg、約 170 mg、約 180 mg、約 190 mg、約 200 mg、約 210 mg、約 220 mg、約 230 mg、約 240 mg、約 250 mg、約 260 mg、約 270 mg、約 280 mg、約 290 mg、約 300 mg、約 310 mg、約 320 mg、約 330 mg、約 340 mg、約 350 mg、約 360 mg、約 370 mg、約 380 mg、約 390 mg、約 400 mg、約 410 mg、約 420 mg、約 430 mg、約 440 mg、約 450 mg、約 460 mg、約 470 mg、約 480 mg、約 490 mg、約 500 mg、約 510 mg、約 520 mg、約 530 mg、約 540 mg、約 550 mg、約 560 mg、約 570 mg、約 580 mg、約 590 mg または約 600 mg であることができる。本発明の特定の例示的な実施形態によると、抗 PCSK9 抗体の治療有効量は、（例えば、アリロクマブの場合には）75 mg、150 mg もしくは 300 mg であり、または（例えば、エボロクマブの場合には）140 mg もしくは 420 mg である。PCSK9 阻害剤の他の投薬量は当業者には明らかであり、それらの量は本発明の範囲に属することが企図される。

30

40

【0106】

個々の用量に含有される抗 PCSK9 抗体の量を、患者体重 1 キログラム当たりの抗体のミリグラム（すなわち、mg/kg）によって表すことができる。例えば、抗 PCSK9 抗体を患者に約 0.0001 ~ 約 10 mg / (患者体重の kg) の用量で投与すること

50

ができる。

【0107】

本発明の方法に従って被験者に投与されるANGPTL3阻害剤（例えば、抗ANGPTL3抗体）の量は、一般に治療有効量である。本明細書において用いる場合、「ANGPTL3阻害剤の治療有効量」という句は、PCSK9阻害剤と組み合わせる場合に、総コレステロール、LDL-C、アポB100、非HDL-C、VLDL-C、トリグリセリド、Lp(a)およびレムナントコレステロールからなる群から選択される一つもしくはそれ以上のパラメータの（ベースラインから少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%もしくはそれ以上の）検出可能な低減をもたらすANGPTL3阻害剤の用量、または被験者のアテローム性動脈硬化症を予防するもしくは減弱させる量（このことについては、本明細書の他の箇所に記載がある）を意味する。

10

【0108】

抗ANGPTL3抗体の場合、治療有効量は、抗ANGPTL3抗体約0.05mg～約600mg、例えば、約0.05mg、約0.1mg、約1.0mg、約1.5mg、約2.0mg、約10mg、約20mg、約30mg、約40mg、約50mg、約60mg、約70mg、約80mg、約90mg、約100mg、約110mg、約120mg、約130mg、約140mg、約160mg、約170mg、約180mg、約190mg、約200mg、約210mg、約220mg、約230mg、約240mg、約250mg、約260mg、約270mg、約280mg、約290mg、約300mg、約310mg、約320mg、約330mg、約340mg、約350mg、約360mg、約370mg、約380mg、約390mg、約400mg、約410mg、約420mg、約430mg、約440mg、約450mg、約460mg、約470mg、約480mg、約490mg、約500mg、約510mg、約520mg、約530mg、約540mg、約550mg、約560mg、約570mg、約580mg、約590mgまたは約600mgであることができる。ANGPTL3阻害剤の他の投薬量は当業者には明らかであり、それらの量は本発明の範囲に属することが企図される。

20

【0109】

個々の用量に含有される抗ANGPTL3抗体の量を患者体重1キログラム当たりの抗体のミリグラム（すなわち、mg/kg）によって表すことができる。例えば、抗ANGPTL3抗体を患者に約0.0001～約10mg/（患者体重のkg）の用量で投与することができる。

30

【0110】

併用治療

本明細書の他の箇所で記載したように、本発明の方法は、PCSK9阻害剤を、ANGPTL3阻害剤と組み合わせ、標準的な脂質低下治療に非応答性であるか、標準的な脂質低下治療による制御が不十分であるか、または標準的な脂質低下治療に不耐性である患者に投与することを含むことができる。特定の実施形態においては、脂質低下治療のさらなる投与に対する必要性を完全に消失させることができる。特定の実施形態においては、ANGPTL3阻害剤とPCSK9阻害剤とを組み合わせた使用は、患者の以前から処方されている脂質低下治療に組み合わせ（「足して」）使用することができる。例えば、高脂血症（例えば、高コレステロール血症）に罹患している患者であって、標準的な脂質低下治療に非応答性であるか、標準的な脂質低下治療による制御が不十分であるか、または標準的な脂質低下治療に不耐性である該患者における脂質/リポタンパク質の少なくとも一つのパラメータの低下に関連して、安定した毎日の治療スタチンレジメンと組み合わせ、PCSK9阻害剤のANGPTL3阻害剤との組合せを患者に投与することができる。本発明に関連してANGPTL3阻害剤を加えたPCSK9阻害剤と組み合わせ投与することができる例示的な毎日の治療スタチンレジメンとして、例えば、アトルバスタチン（1日当たり10、20、40または80mg）、（アトルバスタチン/エゼチミブ、1日当たり10/10または40/10mg）、ロスバスタチン（1日当たり5、10

40

50

または20mg)、セリバスタチン(1日当たり0.4または0.8mg)、ピタバスタチン(1日当たり1、2または4mg)、フルバスタチン(1日当たり20、40または80mg)、シンバスタチン(1日当たり5、10、20、40または80mg)、シンバスタチン/エゼチミブ(1日当たり10/10、20/10、40/10または80/10mg)、ロバスタチン(1日当たり10、20、40または80mg)、プラバスタチン(1日当たり10、20、40または80mg)、およびそれらの組合せが挙げられる。本発明に関連してANGPTL3阻害剤を加えたPCSK9阻害剤と組み合わせて投与することができる他の脂質修飾治療として、例えば、(1)コレステロールの取込みおよび/または胆汁酸の再吸収を阻害する薬剤(例えば、エゼチミブ);(2)リポタンパク質の異化作用を増加させる薬剤(ナイアシンなど);ならびに/または(3)22-ヒドロキシコレステロールなどのコレステロールの排出に關与するLXR転写因子の活性化剤が挙げられる。

10

【0111】

本発明に関連して使用することができる抗PCSK9抗体の非限定的な例としては、例えば、アリロクマブ、エボロクマブ、ボコシズマブ、ロデルシズマブ、ラルパンシズマブ、または上述の抗体のうちのいずれかの抗原結合部分が挙げられる。

【0112】

本発明に関連して使用すべきであるANGPTL3抗体の非限定的な例として、エピナクマブが挙げられる。

20

【0113】

投与レジメン

本発明の特定の実施形態によると、PCSK9阻害剤(すなわち、PCSK9阻害剤を含む医薬組成物)およびANGPTL3阻害剤(すなわち、ANGPTL3阻害剤を含む医薬組成物)の複数の用量を、被定義時間にわたって(例えば、毎日の治療スタチンレジメンまたは他のバックグラウンド脂質修飾治療に足して)被験者に投与することができる。本発明のこの態様による方法は、PCSK9阻害剤およびANGPTL3阻害剤の複数の用量を患者に逐次的に投与することを含む。本明細書において用いる場合、「逐次的に投与すること」は、PCSK9阻害剤およびANGPTL3阻害剤の各用量を被験者に異なる時点で、例えば、所定の間隔(例えば、数時間、数日、数週間または数カ月)隔てた異なる日に投与することを意味する。本発明は、患者のPCSK9阻害剤およびANGPTL3阻害剤の単一初回用量、その後、PCSK9阻害剤およびANGPTL3阻害剤の1用量またはそれ以上の第2の用量、場合によりその後、PCSK9阻害剤およびANGPTL3阻害剤の1用量またはそれ以上の第3の用量を逐次的に投与することを含む方法を含む。

30

【0114】

用語「初回用量」、「第2の用量」および「第3の用量」は、PCSK9阻害剤およびANGPTL3阻害剤を含む医薬組成物の個々の用量の投与についての時系列を指す。したがって、「初回用量」は、処置レジメンの開始時に投与される用量(「ベースライン用量」とも呼ばれ)であり;「第2の用量」は、初回用量後に投与される用量であり、「第3の用量」は、第2の用量後に投与される用量である。初回、第2および第3の用量は、全て同じ量のPCSK9阻害剤およびANGPTL3阻害剤を含有することもあるが、一般には投与頻度の点から互いに異なることがある。しかし、特定の実施形態において、初回、第2および/または第3の用量に含有されるPCSK9阻害剤およびANGPTL3阻害剤の量は、処置の過程で互いに変動する(例えば、必要に応じて上方または下方調整される)。特定の実施形態では、2用量またはそれ以上の(例えば、2、3、4または5)用量が「負荷用量」として処置レジメンの開始時に投与され、その後、より低頻度で投与される後続の用量(例えば、「維持用量」)が投与される。

40

【0115】

本発明の例示的实施形態によると、各第2および/または第3の用量は、直前の用量の1~26週間(例えば、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5

50

、 6、 6.5、 7、 7.5、 8、 8.5、 9、 9.5、 10、 10.5、 11、 11.5、 12、 12.5、 13、 13.5、 14、 14.5、 15、 15.5、 16、 16.5、 17、 17.5、 18、 18.5、 19、 19.5、 20、 20.5、 21、 21.5、 22、 22.5、 23、 23.5、 24、 24.5、 25、 25.5、 26、 26.5 週間またはそれ以上)後に投与される。「直前の用量」という句は、本明細書において用いる場合、複数の投与の順序に関して、抗原結合分子の用量を意味し、介在する用量のない順序的にまさにその次の用量の投与の前に患者に投与される。

【0116】

本発明のこの態様による方法は、PCSK9阻害剤およびANGPTL3阻害剤の任意の数の第2および/または第3の用量を患者に投与することを含む。例えば、特定の実施形態では、単一の第2の用量のみ患者に投与される。他の実施形態では、2またはそれ以上の(例えば、2、3、4、5、6、7、8またはそれ以上の)第2の用量が患者に投与される。同様に、特定の実施形態では、単一の第3の用量のみ患者に投与される。他の実施形態では、2またはそれ以上の(例えば、2、3、4、5、6、7、8またはそれ以上の)第3の用量が患者に投与される。

10

【0117】

複数の第2の用量を含む実施形態において、各々の第2の用量は、他の第2の用量と同じ頻度で投与されることがある。例えば、各々の第2の用量は、直前の用量の1~2、4、6、8週間またはそれ以上後に患者に投与されることがある。同様に、複数の第3の用量を含む実施形態において、各々の第3の用量は、他の第3の用量と同じ頻度で投与されることがある。例えば、各々の第3の用量は、直前の用量の1~2、4、6、8週間またはそれ以上後に患者に投与されることがある。あるいは、第2および/または第3の用量が患者に投与される頻度は、処置レジメンの過程を通して様々であることができる。投与頻度は、臨床検査に従って個々の患者の必要に応じて医師によって処置の過程で調整されることもある。

20

【実施例】

【0118】

以下の実施例は、本発明の方法および組成物の作製および使用方法の完全な開示および説明を当業者に与えるために提示するものであり、本発明者らが自分達の発明と考える範囲を限定することを意図したものではない。用いる数値(例えば、量、温度など)に関して正確を期すように努めたが、多少の実験的誤差および偏差を考慮すべきである。別段の指示がない限り、部は重量部であり、分子量は平均分子量であり、温度は摂氏度であり、圧力は大気圧またはほぼ大気圧である。

30

【実施例1】

【0119】

ヒトPCSK9に対するヒト抗体の産生

ヒト抗PCSK9抗体を米国特許8,062,640号に記載されているように産生させた。以下の実施例で使用する例示的PCSK9阻害剤は、「アリロクマブ」または「プラルエント(PRALUENT(登録商標))」としても公知の「H1H316P」と称するヒト抗PCSK9抗体である。H1H316Pは、次のアミノ酸配列特性を有する：配列番号16を含む重鎖および配列番号20を含む軽鎖；配列番号12を含む重鎖可変領域(HCVR)および配列番号17を含む軽鎖可変領域(LCVR)；配列番号13を含む重鎖相補性決定領域1(HCDR1)、配列番号14を含むHCDR2、配列番号15を含むHCDR3、配列番号18を含む軽鎖相補性決定領域1(LCDR1)、配列番号19を含むLCDR2、および配列番号21を含むLCDR3。

40

【実施例2】

【0120】

ヒトANGPTL3に対するヒト抗体の産生

ヒト抗ANGPTL3抗体を、米国特許第9,018,356号に記載されているように産生させた。以下の実施例で使用する例示的ANGPTL3阻害剤は、「エピナクマブ

50

」としても公知の「H4H1276S」と称するヒト抗ANGPTL3抗体である。H4H1276Sは、次のアミノ酸配列特性を有する：配列番号10を含む重鎖および配列番号11を含む軽鎖；配列番号2を含む重鎖可変領域（HCVR）および配列番号3を含む軽鎖可変領域（LCVR）；配列番号4を含む重鎖相補性決定領域1（HCDR1）、配列番号5を含むHCDR2、配列番号6を含むHCDR3、配列番号7を含む軽鎖相補性決定領域1（LCDR1）、配列番号8を含むLCDR2、および配列番号9を含むLCDR3。

【実施例3】

【0121】

高脂血症LDLR^{-/-}マウスにおける、抗hANGPTL3抗体と抗PCSK9抗体との組合せを用いる処置の循環脂質レベルに対するインビボでの効果

LDLR^{-/-}マウスにおいて、血清脂質レベルに対する、抗hANGPTL3抗体H4H1276（エピナクマブ）単独の効果、抗PCSK9抗体H1H316P（アリロクマブ）単独の効果、および組み合わせた両方の抗体の効果を判定した。これらのマウスは高脂血症であり、これらのマウスの循環コレステロールは大半が、LDL-C取込みの主要な受容体であるLDLRが部分的に不足していることに起因して、LDL型として見出された。

【0122】

第1の研究では、固形飼料で飼育する雄LDLR^{-/-}マウスから、実験の5日前に事前採血し、マウスを、各群5匹の群に分けた。研究の第0日に、H4H1276P抗体、H1H316P抗体、それらの組合せ、および関連性のある特異性を欠く、アイソタイプを一致させた（hIgG4）対照を、各10mg/kgの用量で皮下注射により投与した。抗体注射後は連続して毎日、マウスから4時間の絶食後に採血し、ADVIA（登録商標）1800 Chemistry System（Siemens）により、血清脂質レベル（総コレステロール、LDL-C、非HDL-CおよびHDL-C）を血清中で判定した。各群の平均を各時点で算定した。結果を、血清脂質濃度の平均±標準誤差として表し、図1、2、3および4に示す。

【0123】

第2の研究では、雄LDLR^{-/-}マウスを、抗体注射まで3週間にわたって高脂肪Western飼料で飼育し、研究期間中、この飼料をマウスに給餌した。その後の研究は、第1の研究と同じプロトコールの下で実施した。結果を、血清脂質濃度の平均±標準誤差として表し、図5、6、7および8に示す。

【0124】

両方の研究について、循環抗体（血清Ab）のレベルを、標準的なELISAアッセイを使用して判定した。手短に述べると、血清Abを捕捉するために、プレートを、ヤギ抗ヒトFc抗体（Sigma-Aldrich）でコーティングした。次いで、血清をプレートに添加し、西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）コンジュゲート化ヤギ抗ヒトIgG抗体（Sigma-Aldrich）を使用して、捕捉した抗体を化学発光により検出した。結果を、平均±標準誤差として表し、表1Aおよび1B（第1の研究）ならびに表2Aおよび2B（第2の研究）に示す。対照：アイソタイプを一致させた対照のAbを与えたマウス。

【0125】

結果の要約：

H1H316PとH4H1276Pとの組合せを単一皮下用量として、固形飼料および高脂肪Western飼料で飼育するLDLR^{-/-}マウスに投与すると、各抗体の単回投与それぞれと比較して、総コレステロール、LDL-Cおよび非HDL-Cの顕著な低減が得られ、血清脂質レベルに対する相加効果が示された。

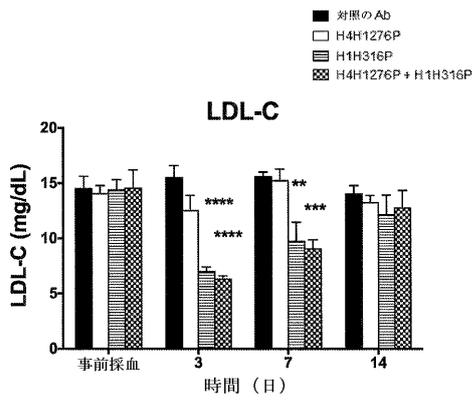
10

20

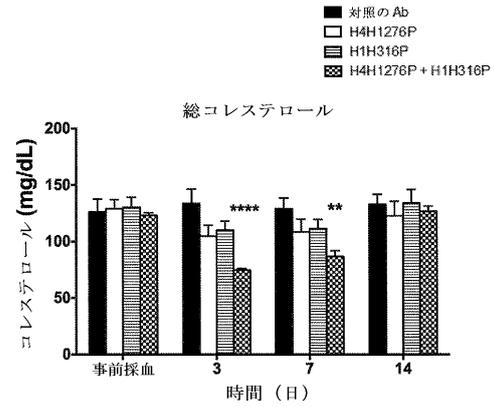
30

40

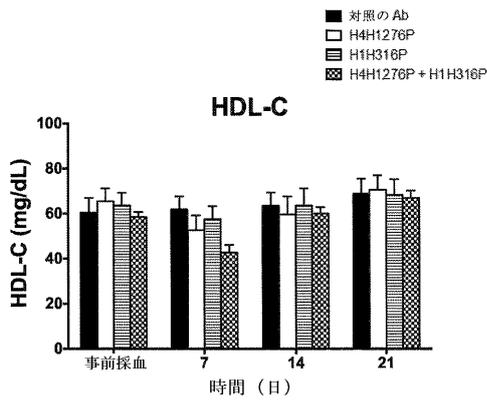
【 図 1 】



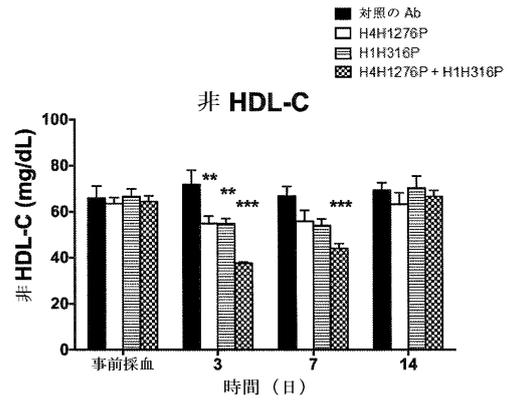
【 図 2 】



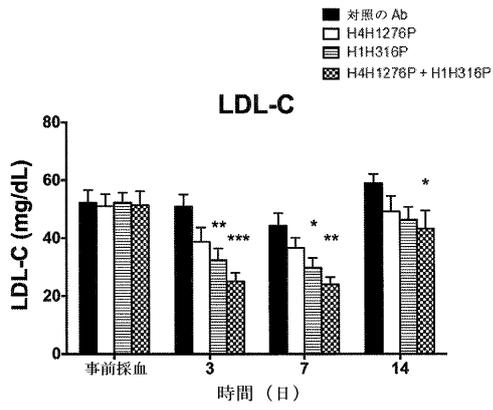
【 図 3 】



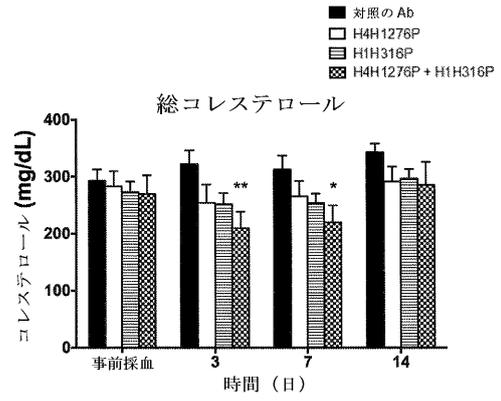
【 図 4 】



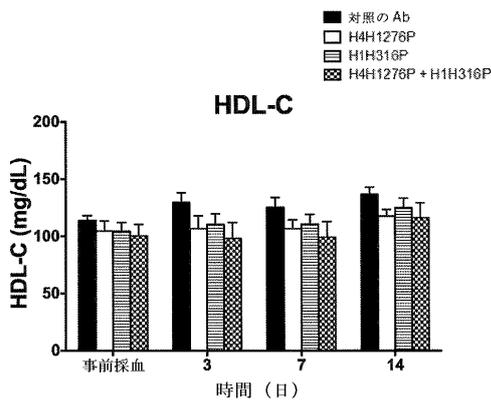
【 図 5 】



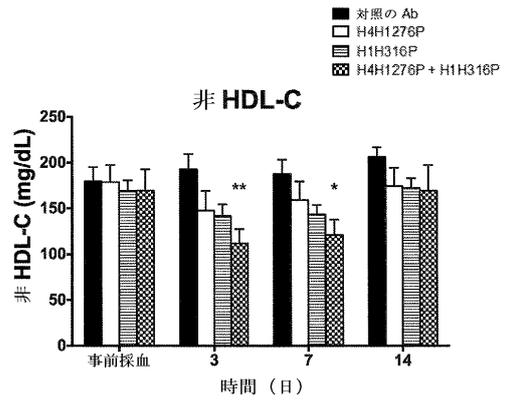
【 図 6 】



【 図 7 】



【 図 8 】



【配列表】

2019512472000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2017/020221

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61P9/10 A61K39/00 C07K16/22 C07K16/40 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K A61P C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2012/174178 A1 (REGENERON PHARMA [US]; SLEEMAN MARK W [AU]; GUSAROVA VIKTORIA [US]; MU) 20 December 2012 (2012-12-20) paragraph [0097]; claim 24; examples 7-9; table 1	1-30
X	----- TIKKA ANNA ET AL: "The role of ANGPTL3 in controlling lipoprotein metabolism", ENDOCRINE, HUMANA PRESS, INC, US, vol. 52, no. 2, 11 January 2016 (2016-01-11), pages 187-193, XP035952116, ISSN: 1355-008X, DOI: 10.1007/S12020-015-0838-9 [retrieved on 2016-01-11] page 187, right-hand column, lines 15-20; figure 1 ----- ----- -/--	1-30
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
10 May 2017		19/05/2017
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer
		Cilensek, Zoran

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2017/020221

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>WO 2016/011256 A1 (SANOFI BIOTECHNOLOGY [FR]; REGENERON PHARMA [US]) 21 January 2016 (2016-01-21) the whole document</p> <p>-----</p>	1-30
A	<p>WO 2014/194168 A2 (REGENERON PHARMA [US]) 4 December 2014 (2014-12-04) the whole document</p> <p>-----</p>	1-30
A	<p>VIKTORIA GUSAROVA ET AL: "ANGPTL3 blockade with a human monoclonal antibody reduces plasma lipids in dyslipidemic mice and monkeys", JOURNAL OF LIPID RESEARCH, vol. 56, no. 7, 29 July 2015 (2015-07-29), pages 1308-1317, XP055363055, US ISSN: 0022-2275, DOI: 10.1194/jlr.M054890 the whole document</p> <p>-----</p>	1-30
A	<p>RADER DANIEL J: "New Therapeutic Approaches to the Treatment of Dyslipidemia", CELL METABOLISM, vol. 23, no. 3, 4 February 2015 (2015-02-04), pages 405-412, XP029457099, ISSN: 1550-4131, DOI: 10.1016/J.CMET.2016.01.005 the whole document</p> <p>-----</p>	1-30
A	<p>Anna Borodovsky ET AL: "Development of Monthly to Quarterly Subcutaneous Administration of RNAi Therapeutics Targeting the Metabolic Disease Genes PCSK9, ApoC3 and ANGPTL3 ALN-PCS Phase I Study Results", 25 November 2014 (2014-11-25), XP055370914, Retrieved from the Internet: URL:http://www.alnylam.com/web/assets/CardioMetabolic_AHA_Poster_111714.pdf [retrieved on 2017-05-09] the whole document</p> <p>-----</p>	1-30

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2017/020221

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2012174178 A1	20-12-2012	AR 087329 A1	19-03-2014
		AU 2012271663 A1	16-01-2014
		CA 2838867 A1	20-12-2012
		CN 103732624 A	16-04-2014
		CO 6821892 A2	31-12-2013
		CR 20130621 A	12-02-2014
		DO P2013000299 A	15-04-2014
		EC SP13013085 A	31-01-2014
		EP 2721065 A1	23-04-2014
		GT 201300306 A	09-03-2015
		JP 2014523739 A	18-09-2014
		KR 20140037218 A	26-03-2014
		MA 35190 B1	02-06-2014
		MX 337644 B	14-03-2016
		NZ 619092 A	31-03-2016
		PE 11662014 A1	16-09-2014
		RU 2013155906 A	27-07-2015
		SG 195165 A1	30-12-2013
		TW 201313738 A	01-04-2013
		US 2013171149 A1	04-07-2013
		US 2015197564 A1	16-07-2015
		UY 34137 A	03-01-2013
		WO 2012174178 A1	20-12-2012
		ZA 201308879 B	30-07-2014
WO 2016011256 A1	21-01-2016	AU 2015289613 A1	02-02-2017
		EP 3169353 A1	24-05-2017
		KR 20170029613 A	15-03-2017
		US 2016137745 A1	19-05-2016
		WO 2016011256 A1	21-01-2016
WO 2014194168 A2	04-12-2014	AU 2014274046 A1	19-11-2015
		CA 2913550 A1	04-12-2014
		CN 105473161 A	06-04-2016
		EA 201592302 A1	29-04-2016
		EP 3003361 A2	13-04-2016
		HK 1216841 A1	09-12-2016
		JP 2016520616 A	14-07-2016
		KR 20160013047 A	03-02-2016
		US 2014356371 A1	04-12-2014
		WO 2014194168 A2	04-12-2014

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 K 16/40 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
C 0 7 K 16/18 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
	C 0 7 K 16/40	
	C 0 7 K 16/18	

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ

(72) 発明者 ヴィクトリア・グサロヴァ
 アメリカ合衆国ニューヨーク州 1 0 5 9 1 . タリータウン . オールドソーミルリバーロード 7 7 7
 . リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド

(72) 発明者 ジェスパー・グロマーダ
 アメリカ合衆国ニューヨーク州 1 0 5 9 1 . タリータウン . オールドソーミルリバーロード 7 7 7
 . リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド

(72) 発明者 アンドリュー・ジェイ・マーフィー
 アメリカ合衆国ニューヨーク州 1 0 5 9 1 . タリータウン . オールドソーミルリバーロード 7 7 7
 . リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド

F ターム(参考) 4C084 AA19 AA20 MA66 NA05 ZC202 ZC331 ZC412 ZC751
 4C085 AA13 AA14 AA15 CC23 EE03 GG02 GG04
 4H045 DA76 EA20