

(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2015-526696

(P2015-526696A)

(43) 公表日 平成27年9月10日(2015.9.10)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/483 (2006.01)	GO 1 N 33/483 Z	2 G O 4 1
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 S	2 G O 4 5
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 4 5 A	4 B O 2 4
CO 7 K 16/18 (2006.01)	CO 7 K 16/18	4 C O 8 4
A 6 1 P 3/06 (2006.01)	A 6 1 P 3/06	4 H O 4 5
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 93 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2015-513220 (P2015-513220)	(71) 出願人	512285007
(86) (22) 出願日	平成25年5月24日 (2013. 5. 24)		ゾラ バイオサイエンシーズ オサケ ユ
(85) 翻訳文提出日	平成26年11月21日 (2014. 11. 21)		キチュア
(86) 国際出願番号	PCT/EP2013/060816		フィンランド エフイーエン-02150
(87) 国際公開番号	W02013/175016		エスプー ビオロギンクーヤ 1
(87) 国際公開日	平成25年11月28日 (2013. 11. 28)	(74) 代理人	100092093
(31) 優先権主張番号	61/651, 569		弁理士 辻居 幸一
(32) 優先日	平成24年5月25日 (2012. 5. 25)	(74) 代理人	100082005
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 熊倉 禎男
(31) 優先権主張番号	12169517.5	(74) 代理人	100084663
(32) 優先日	平成24年5月25日 (2012. 5. 25)		弁理士 稲田 篤
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)	(74) 代理人	100093300
			弁理士 浅井 賢治
		(74) 代理人	100119013
			弁理士 山崎 一夫
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 プロタンパク質転換酵素スブチリシン/ケキシシ9型 (PCSK9) 阻害に対する高感度の有効性および特異性バイオマーカー

(57) 【要約】

本発明は、とりわけ、プロタンパク質転換酵素スブチリシン/ケキシシ9型 (PCSK9) の阻害剤を用いた治療の薬効および特異性を、生体試料の脂質の濃度、および/または脂質 - 脂質濃度比を検出し、それを対照と比較することによって測定するための方法、およびその使用を提供する。本発明は、とりわけ、PCSK9 阻害薬が血清中低密度リポタンパク質 (LDL) 濃度を低下させることにおいて効率的に機能するか、およびPCSK9 阻害薬がいかなる有害な副作用、例えば、肝毒性なども示さないかを決定することに適用可能である。薬効および可能性のある有害な薬剤誘発性副作用を検出することにおいて、現在利用されている臨床マーカーよりも特異度および感度が高い脂質マーカーが提供される。前記脂質に対する抗体、ならびにPCSK9 阻害薬誘発性有害反応を予測および診断するためのその使用も提供される。本発明は、さらに、PCSK9 阻害薬の有効性および薬剤誘発性有害反応を決定するための脂質、および/またはそれに対する抗体を含むキットに関する。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

対象における脂質降下薬を用いた治療の有効性を決定するための方法であって、  
 (a) 前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質の濃度を決定するステップであって、  
 前記試料中の濃度が対照と比較して低下または上昇していることにより前記治療の有効性が高いことが示され、

濃度の低下が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、

Glc/GalCer(d18:1/16:0)、LacCer(d18:1/16:0)、Cer(d18:1/16:0)、CE16:0、CE16:1、CE18:1、CE20:3、Cer(d18:0/22:0)、Cer(d18:0/24:0)、Cer(d18:0/24:1)、Cer(d18:1/18:0)、Cer(d18:1/24:0)、Cer(d18:1/26:0)、Cer(d18:1/26:1)、Glc/GalCer(d18:1/18:0)、Glc/GalCer(d18:1/20:0)、Glc/GalCer(d18:1/22:0)、Glc/GalCer(d18:1/24:0)、Glc/GalCer(d18:1/24:1)、Glc/GalCer(d18:1/26:0)、Glc/GalCer(d18:1/26:1)、GlcCer(d18:1/16:0)、GlcCer(d18:1/18:0)、LacCer(d18:1/18:0)、LacCer(d18:1/22:0)、LacCer(d18:1/24:0)、SM(d18:1/16:0)(d18:1/15:1-OH)、TAG60:12、総Cer、総Glc/GalCerおよび総LacCer  
 から選択され、

濃度の上昇が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、

LPC16:1、スフィンガニンd18:0、スフィンガニン-1-リン酸d18:0、スフィンゴシンd16:1、スフィンゴシンd18:1、スフィンゴシン-1-リン酸d18:1、TAG49:2、TAG50:4、TAG52:4、TAG52:5、TAG53:3、TAG54:3、TAG54:4、TAG54:5、TAG54:6、TAG54:7、TAG54:8、TAG56:5、総S1P、総SA1P、総SPAおよび総SPH

から選択されるステップ、または

(b) 前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質-脂質濃度比を決定するステップであって、前記試料中の脂質-脂質濃度比が対照と比較して減少または増加していることにより前記治療の有効性が高いことが示され、

その減少が対照と比較される1つまたは複数の脂質-脂質濃度比が、

Glc/GalCer(d18:1/18:0)/TAG52:4、CE18:1/スフィンゴシンd16:1、CE22:2/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、CE20:3/アポリポタンパク質A-I(mg/dL)、CE20:3/HDLコレステロール(EDTA)(mg/dL)、Cer(d18:0/22:0)/PC16:0/18:2、Cer(d18:0/24:0)/Cer(d18:1/18:0)、Cer(d18:0/24:0)/スフィンゴシンd16:1、Cer(d18:0/24:1)/FC、Cer(d18:1/16:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、Cer(d18:1/16:0)/トリグリセリド(EDTA)(mg/dL)、Cer(d18:1/18:0)/アポリポタンパク質C-II(mg/dL)、Cer(d18:1/18:0)/DAG16:0/18:1、Cer(d18:1/18:0)/PC18:0/22:6、Cer(d18:1/18:0)/トリグリセリド(EDTA)(mg/dL)、Cer(d18:1/24:0)/スフィンゴシンd16:1、Glc/GalCer(d18:1/18:0)/PC16:0/20:4、Glc/GalCer(d18:1/22:0)/LPC20:4、Glc/GalCer(d18:1/24:0)/PC16:0/20:4、Glc/GalCer(d18:1/24:0)/スフィンゴシンd16:1、GlcCer(d18:1/16:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-

10

20

30

40

50

OH)、GlcCer(d18:1/18:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、LacCer(d18:1/18:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)およびPC16:0/16:0/スフィンゴシンd16:1

から選択され、

その増加が対照と比較される1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が、

TAG58:10/TAG60:12、CE18:2/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、CE18:3/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、CE20:3/PC16:0/16:0、CE20:4/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、CE20:4/SM(d18:1/16:0)(d18:1/15:1-OH)、CE20:5/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、Cer(d18:0/22:0)/Cer(d18:1/22:0)、Cer(d18:0/24:0)/FC、Cer(d18:0/24:0)/PC16:0/18:2、Cer(d18:1/16:0)/Glc/GalCer(d18:1/16:0)、Cer(d18:1/18:0)/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、LPC16:1/TAG56:5、LPC18:2/LacCer(d18:1/16:0)、LPC18:2/SM(d18:1/16:0)(d18:1/15:1-OH)およびPC18:2/18:2/SM(d18:1/16:0)(d18:1/15:1-OH)

から選択されるステップ

を含む方法。

【請求項2】

対象における脂質降下薬を用いた治療の有効性を予測するための方法であって、

(a)前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質の濃度を決定するステップであって、前記試料中の濃度が対照と比較して上昇または低下していることにより前記治療が有効であろうことが示され、

濃度の上昇が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、

Glc/GalCer(d18:1/16:0)、LacCer(d18:1/16:0)、Cer(d18:1/16:0)、CE16:0、CE16:1、CE18:1、CE20:3、Cer(d18:0/22:0)、Cer(d18:0/24:0)、Cer(d18:0/24:1)、Cer(d18:1/18:0)、Cer(d18:1/24:0)、Cer(d18:1/26:0)、Cer(d18:1/26:1)、Glc/GalCer(d18:1/18:0)、Glc/GalCer(d18:1/20:0)、Glc/GalCer(d18:1/22:0)、Glc/GalCer(d18:1/24:0)、Glc/GalCer(d18:1/24:1)、Glc/GalCer(d18:1/26:0)、Glc/GalCer(d18:1/26:1)、GlcCer(d18:1/16:0)、GlcCer(d18:1/18:0)、LacCer(d18:1/18:0)、LacCer(d18:1/22:0)、LacCer(d18:1/24:0)、SM(d18:1/16:0)(d18:1/15:1-OH)、TAG60:12、総Cer、総Glc/GalCerおよび総LacCer

から選択され、

濃度の低下が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、

LPC16:1、スフィンガニンd18:0、スフィンガニン-1-リン酸d18:0、スフィンゴシンd16:1、スフィンゴシンd18:1、スフィンゴシン-1-リン酸d18:1、TAG49:2、TAG50:4、TAG52:4、TAG52:5、TAG53:3、TAG54:3、TAG54:4、TAG54:5、TAG54:6、TAG54:7、TAG54:8、TAG56:5、総S1P、総SA1P、総SPAおよび総SPH

から選択されるステップ、または

(b)前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比を決定するステップであって、前記試料中の脂質 - 脂質濃度比が対照と比較して増加または減少していることに

10

20

30

40

50

より前記治療が有効であろうことが示され、

その増加が対照と比較される1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が、

Glc / GalCer (d18 : 1 / 18 : 0) / TAG52 : 4、CE18 : 1 / スフィンゴシン d16 : 1、CE22 : 2 / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、CE20 : 3 / アポリポタンパク質 A - I (mg / dL)、CE20 : 3 / HDLコレステロール (EDTA) (mg / dL)、Cer (d18 : 0 / 22 : 0) / PC16 : 0 / 18 : 2、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / Cer (d18 : 1 / 18 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / スフィンゴシン d16 : 1、Cer (d18 : 0 / 24 : 1) / FC、Cer (d18 : 1 / 16 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、Cer (d18 : 1 / 16 : 0) / トリグリセリド (EDTA) (mg / dL)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / アポリポタンパク質 C - III (mg / dL)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / DAG16 : 0 / 18 : 1、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / PC18 : 0 / 22 : 6、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / トリグリセリド (EDTA) (mg / dL)、Cer (d18 : 1 / 24 : 0) / スフィンゴシン d16 : 1、Glc / GalCer (d18 : 1 / 18 : 0) / PC16 : 0 / 20 : 4、Glc / GalCer (d18 : 1 / 22 : 0) / LPC20 : 4、Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0) / PC16 : 0 / 20 : 4、Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0) / スフィンゴシン d16 : 1、GlcCer (d18 : 1 / 16 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、GlcCer (d18 : 1 / 18 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、LacCer (d18 : 1 / 18 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、PC16 : 0 / 16 : 0 / スフィンゴシン d16 : 1

10

20

から選択され、

その減少が対照と比較される1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が、

TAG58 : 10 / TAG60 : 12、CE18 : 2 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、CE18 : 3 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、CE20 : 3 / PC16 : 0 / 16 : 0、CE20 : 4 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、CE20 : 4 / SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH)、CE20 : 5 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、Cer (d18 : 0 / 22 : 0) / Cer (d18 : 1 / 22 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / FC、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / PC16 : 0 / 18 : 2、Cer (d18 : 1 / 16 : 0) / Glc / GalCer (d18 : 1 / 16 : 0)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、LPC16 : 1 / TAG56 : 5、LPC18 : 2 / LacCer (d18 : 1 / 16 : 0)、LPC18 : 2 / SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH) および PC18 : 2 / 18 : 2 / SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH)

30

から選択されるステップ

を含む方法。

40

【請求項3】

脂質降下薬治療に対する対象の適合性を決定するための方法であって、

(a) 前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質の濃度を決定するステップであって、前記試料中の濃度が対照と比較して低下または上昇していることにより良好な治療適合性が示され、

濃度の低下が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、

Glc / GalCer (d18 : 1 / 16 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 16 : 0)、Cer (d18 : 1 / 16 : 0)、CE16 : 0、CE16 : 1、CE18 : 1、CE20 : 3、Cer (d18 : 0 / 22 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 1)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0)、Cer (d18 : 1 / 24 : 0)、Cer (d18 : 1 / 26 : 0)、Cer (d18 : 1 / 26 : 1)、Glc

50

c / Gal Cer (d 18 : 1 / 18 : 0)、Glc / Gal Cer (d 18 : 1 / 20 : 0)、Glc / Gal Cer (d 18 : 1 / 22 : 0)、Glc / Gal Cer (d 18 : 1 / 24 : 0)、Glc / Gal Cer (d 18 : 1 / 24 : 1)、Glc / Gal Cer (d 18 : 1 / 26 : 0)、Glc / Gal Cer (d 18 : 1 / 26 : 1)、Glc Cer (d 18 : 1 / 16 : 0)、Glc Cer (d 18 : 1 / 18 : 0)、Lac Cer (d 18 : 1 / 18 : 0)、Lac Cer (d 18 : 1 / 22 : 0)、Lac Cer (d 18 : 1 / 24 : 0)、SM (d 18 : 1 / 16 : 0) (d 18 : 1 / 15 : 1 - OH)、TAG 60 : 12、総 Cer、総 Glc / Gal Cer および総 Lac Cer から選択され、

濃度の上昇が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、

LPC 16 : 1、スフィンガニン d 18 : 0、スフィンガニン - 1 - リン酸 d 18 : 0、スフィンゴシン d 16 : 1、スフィンゴシン d 18 : 1、スフィンゴシン - 1 - リン酸 d 18 : 1、TAG 49 : 2、TAG 50 : 4、TAG 52 : 4、TAG 52 : 5、TAG 53 : 3、TAG 54 : 3、TAG 54 : 4、TAG 54 : 5、TAG 54 : 6、TAG 54 : 7、TAG 54 : 8、TAG 56 : 5、総 S 1 P、総 S A 1 P、総 S P A および総 S P H

から選択されるステップ、または

(b) 前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比を決定するステップであって、前記試料中の脂質 - 脂質濃度比が対照と比較して減少または増加していることにより良好な治療適合性が示され、

濃度の減少が対照と比較される1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が、

Glc / Gal Cer (d 18 : 1 / 18 : 0) / TAG 52 : 4、CE 18 : 1 / スフィンゴシン d 16 : 1、CE 22 : 2 / SM (d 18 : 1 / 23 : 1) (d 18 : 1 / 22 : 2 - OH)、CE 20 : 3 / アポリポタンパク質 A - I (mg / dL)、CE 20 : 3 / HDL コレステロール (EDTA) (mg / dL)、Cer (d 18 : 0 / 22 : 0) / PC 16 : 0 / 18 : 2、Cer (d 18 : 0 / 24 : 0) / Cer (d 18 : 1 / 18 : 0)、Cer (d 18 : 0 / 24 : 0) / スフィンゴシン d 16 : 1、Cer (d 18 : 0 / 24 : 1) / FC、Cer (d 18 : 1 / 16 : 0) / SM (d 18 : 1 / 23 : 1) (d 18 : 1 / 22 : 2 - OH)、Cer (d 18 : 1 / 16 : 0) / トリグリセリド (EDTA) (mg / dL)、Cer (d 18 : 1 / 18 : 0) / アポリポタンパク質 C - III (mg / dL)、Cer (d 18 : 1 / 18 : 0) / DAG 16 : 0 / 18 : 1、Cer (d 18 : 1 / 18 : 0) / PC 18 : 0 / 22 : 6、Cer (d 18 : 1 / 18 : 0) / トリグリセリド (EDTA) (mg / dL)、Cer (d 18 : 1 / 24 : 0) / スフィンゴシン d 16 : 1、Glc / Gal Cer (d 18 : 1 / 18 : 0) / PC 16 : 0 / 20 : 4、Glc / Gal Cer (d 18 : 1 / 22 : 0) / LPC 20 : 4、Glc / Gal Cer (d 18 : 1 / 24 : 0) / PC 16 : 0 / 20 : 4、Glc / Gal Cer (d 18 : 1 / 24 : 0) / スフィンゴシン d 16 : 1、Glc Cer (d 18 : 1 / 16 : 0) / SM (d 18 : 1 / 23 : 1) (d 18 : 1 / 22 : 2 - OH)、Glc Cer (d 18 : 1 / 18 : 0) / SM (d 18 : 1 / 23 : 1) (d 18 : 1 / 22 : 2 - OH)、Lac Cer (d 18 : 1 / 18 : 0) / SM (d 18 : 1 / 23 : 1) (d 18 : 1 / 22 : 2 - OH) および PC 16 : 0 / 16 : 0 / スフィンゴシン d 16 : 1

から選択され、

その増加が対照と比較される1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が、

TAG 58 : 10 / TAG 60 : 12、CE 18 : 2 / Glc / Gal Cer (d 18 : 1 / 24 : 0)、CE 18 : 3 / Glc / Gal Cer (d 18 : 1 / 24 : 0)、CE 20 : 3 / PC 16 : 0 / 16 : 0、CE 20 : 4 / Glc / Gal Cer (d 18 : 1 / 24 : 0)、CE 20 : 4 / SM (d 18 : 1 / 16 : 0) (d 18 : 1 / 15 : 1 - OH)、CE 20 : 5 / Glc / Gal Cer (d 18 : 1 / 24 : 0)、Cer (d 18 : 0 / 22 : 0) / Cer (d 18 : 1 / 22 : 0)、Cer (d 18 : 0 / 24 : 0

10

20

30

40

50

) / FC、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / PC16 : 0 / 18 : 2、Cer (d18 : 1 / 16 : 0) / Glc / GalCer (d18 : 1 / 16 : 0)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、LPC16 : 1 / TAG56 : 5、LPC18 : 2 / LacCer (d18 : 1 / 16 : 0)、LPC18 : 2 / SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH) および PC18 : 2 / 18 : 2 / SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH)

から選択されるステップ

を含む方法。

【請求項4】

脂質降下薬として、または心血管疾患およびその合併症を治療するために有用である化合物を同定するための方法であって、

(a) 前記化合物を用いた治療を受けている前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質の濃度を決定するステップであって、前記試料中の濃度が対照と比較して低下または上昇していることにより脂質降下薬としての有用性が示され、

濃度の低下が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、

Glc / GalCer (d18 : 1 / 16 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 16 : 0)、Cer (d18 : 1 / 16 : 0)、CE16 : 0、CE16 : 1、CE18 : 1、CE20 : 3、Cer (d18 : 0 / 22 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 1)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0)、Cer (d18 : 1 / 24 : 0)、Cer (d18 : 1 / 26 : 0)、Cer (d18 : 1 / 26 : 1)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 18 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 20 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 22 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 1)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 26 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 26 : 1)、GlcCer (d18 : 1 / 16 : 0)、GlcCer (d18 : 1 / 18 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 18 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 22 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 24 : 0)、SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH)、TAG60 : 12、総Cer、総Glc / GalCer および総LacCer

から選択され、

濃度の上昇が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、

LPC16 : 1、スフィンガニンd18 : 0、スフィンガニン - 1 - リン酸d18 : 0、スフィンゴシンd16 : 1、スフィンゴシンd18 : 1、スフィンゴシン - 1 - リン酸d18 : 1、TAG49 : 2、TAG50 : 4、TAG52 : 4、TAG52 : 5、TAG53 : 3、TAG54 : 3、TAG54 : 4、TAG54 : 5、TAG54 : 6、TAG54 : 7、TAG54 : 8、TAG56 : 5、総S1P、総SA1P、総SPA および総SPH

から選択されるステップ、または

(b) 前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比を決定するステップであって、前記試料中の脂質 - 脂質濃度比が対照と比較して減少または増加していることにより脂質降下薬としての有用性が示され、

その減少が対照と比較される1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が、

Glc / GalCer (d18 : 1 / 18 : 0) / TAG52 : 4、CE18 : 1 / スフィンゴシンd16 : 1、CE22 : 2 / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、CE20 : 3 / アポリポタンパク質A - I (mg / dL)、CE20 : 3 / HDLコレステロール (EDTA) (mg / dL)、Cer (d18 : 0 / 22 : 0) / PC16 : 0 / 18 : 2、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / Cer (d18 : 1 / 18 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / スフィンゴシンd16 : 1、Cer (d18 : 0 / 24 : 1) / FC、Cer (d18 : 1 / 16 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、Cer (d18 : 1 / 16 : 0) / トリグリセリド (EDTA) (mg / dL)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / アポリポタンバ

10

20

30

40

50

ク質 C - I I I ( m g / d L )、 C e r ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 ) / D A G 1 6 : 0 / 1 8 : 1、 C e r ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 ) / P C 1 8 : 0 / 2 2 : 6、 C e r ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 ) / トリグリセリド ( E D T A ) ( m g / d L )、 C e r ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 ) / スフィンゴシン d 1 6 : 1、 G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 ) / P C 1 6 : 0 / 2 0 : 4、 G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 2 2 : 0 ) / L P C 2 0 : 4、 G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 ) / P C 1 6 : 0 / 2 0 : 4、 G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 ) / スフィンゴシン d 1 6 : 1、 G l c C e r ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 ) / S M ( d 1 8 : 1 / 2 3 : 1 ) ( d 1 8 : 1 / 2 2 : 2 - O H )、 G l c C e r ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 ) / S M ( d 1 8 : 1 / 2 3 : 1 ) ( d 1 8 : 1 / 2 2 : 2 - O H )、 L a c C e r ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 ) / S M ( d 1 8 : 1 / 2 3 : 1 ) ( d 1 8 : 1 / 2 2 : 2 - O H ) および P C 1 6 : 0 / 1 6 : 0 / スフィンゴシン d 1 6 : 1

から選択され、

その増加が対照と比較される1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が、

T A G 5 8 : 1 0 / T A G 6 0 : 1 2、 C E 1 8 : 2 / G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 )、 C E 1 8 : 3 / G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 )、 C E 2 0 : 3 / P C 1 6 : 0 / 1 6 : 0、 C E 2 0 : 4 / G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 )、 C E 2 0 : 4 / S M ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 ) ( d 1 8 : 1 / 1 5 : 1 - O H )、 C E 2 0 : 5 / G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 )、 C e r ( d 1 8 : 0 / 2 2 : 0 ) / C e r ( d 1 8 : 1 / 2 2 : 0 )、 C e r ( d 1 8 : 0 / 2 4 : 0 ) / F C、 C e r ( d 1 8 : 0 / 2 4 : 0 ) / P C 1 6 : 0 / 1 8 : 2、 C e r ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 ) / G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 )、 C e r ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 ) / G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 )、 L P C 1 6 : 1 / T A G 5 6 : 5、 L P C 1 8 : 2 / L a c C e r ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 )、 L P C 1 8 : 2 / S M ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 ) ( d 1 8 : 1 / 1 5 : 1 - O H ) および P C 1 8 : 2 / 1 8 : 2 / S M ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 ) ( d 1 8 : 1 / 1 5 : 1 - O H )

から選択されるステップ

を含む方法。

【請求項5】

脂質降下薬が P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーであり、前記 P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーが、

- ( a ) P C S K 9 に対する抗体、
- ( b ) P C S K 9 の阻害薬物、
- ( c ) L D L - 受容体と P C S K 9 の相互作用を阻害する小分子、
- ( d ) L D L - 受容体の P C S K 9 との相互作用ドメインを模倣するペプチド、
- ( e ) P C S K 9 に特異的なアンチセンスオリゴヌクレオチド、または
- ( f ) P C S K 9 に特異的な低分子干渉 R N A ( s i R N A )

であってもよい、請求項1から4までのいずれか1項に記載の方法。

【請求項6】

P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーの特異性を決定するための方法であって、対象由来の試料中の1つもしくは複数の脂質の濃度または脂質 - 脂質濃度比が対照と比較され、前記1つまたは複数の前記脂質または脂質 - 脂質濃度比が、

G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 )、 L a c C e r ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 )、 C e r ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 )、 C E 1 6 : 0、 C E 1 6 : 1、 C E 1 8 : 1、 C E 2 0 : 3、 C e r ( d 1 8 : 0 / 2 2 : 0 )、 C e r ( d 1 8 : 0 / 2 4 : 0 )、 C e r ( d 1 8 : 0 / 2 4 : 1 )、 C e r ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 )、 C e r ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 )、 C e r ( d 1 8 : 1 / 2 6 : 0 )、 C e r ( d 1 8 : 1 / 2 6 : 1 )、 G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 )、 G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 2 0 : 0 )、 G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 2 2 : 0 )、 G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 )、 G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 1 )、 G l c / G a l

10

20

30

40

50

Cer (d18 : 1 / 26 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 26 : 1)、GlcCer (d18 : 1 / 16 : 0)、GlcCer (d18 : 1 / 18 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 18 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 22 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 24 : 0)、SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH)、TAG60 : 12、総Cer、総Glc / GalCer、総LacCer、LPC16 : 1、スフィンガニンd18 : 0、スフィンガニン - 1 - リン酸d18 : 0、スフィンゴシンd16 : 1、スフィンゴシンd18 : 1、スフィンゴシン - 1 - リン酸d18 : 1、TAG49 : 2、TAG50 : 4、TAG52 : 4、TAG52 : 5、TAG53 : 3、TAG54 : 3、TAG54 : 4、TAG54 : 5、TAG54 : 6、TAG54 : 7、TAG54 : 8、TAG56 : 5、総S1P、総SA1P、総SPA、総SPH、

Glc / GalCer (d18 : 1 / 18 : 0) / TAG52 : 4、CE18 : 1 / スフィンゴシンd16 : 1、CE22 : 2 / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、CE20 : 3 / アポリポタンパク質A - I (mg / dL)、CE20 : 3 / HDLコレステロール (EDTA) (mg / dL)、Cer (d18 : 0 / 22 : 0) / PC16 : 0 / 18 : 2、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / Cer (d18 : 1 / 18 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / スフィンゴシンd16 : 1、Cer (d18 : 0 / 24 : 1) / FC、Cer (d18 : 1 / 16 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、Cer (d18 : 1 / 16 : 0) / トリグリセリド (EDTA) (mg / dL)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / アポリポタンパク質C - III (mg / dL)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / DAG16 : 0 / 18 : 1、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / PC18 : 0 / 22 : 6、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / トリグリセリド (EDTA) (mg / dL)、Cer (d18 : 1 / 24 : 0) / スフィンゴシンd16 : 1、Glc / GalCer (d18 : 1 / 18 : 0) / PC16 : 0 / 20 : 4、Glc / GalCer (d18 : 1 / 22 : 0) / LPC20 : 4、Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0) / PC16 : 0 / 20 : 4、Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0) / スフィンゴシンd16 : 1、GlcCer (d18 : 1 / 16 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、GlcCer (d18 : 1 / 18 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、LacCer (d18 : 1 / 18 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、PC16 : 0 / 16 : 0 / スフィンゴシンd16 : 1、

TAG58 : 10 / TAG60 : 12、CE18 : 2 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、CE18 : 3 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、CE20 : 3 / PC16 : 0 / 16 : 0、CE20 : 4 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、CE20 : 4 / SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH)、CE20 : 5 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、Cer (d18 : 0 / 22 : 0) / Cer (d18 : 1 / 22 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / FC、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / PC16 : 0 / 18 : 2、Cer (d18 : 1 / 16 : 0) / Glc / GalCer (d18 : 1 / 16 : 0)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、LPC16 : 1 / TAG56 : 5、LPC18 : 2 / LacCer (d18 : 1 / 16 : 0)、LPC18 : 2 / SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH) および PC18 : 2 / 18 : 2 / SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH) から選択され、

前記対照が、

(a) PCSK9 機能喪失型変異を有する1つまたは複数の対象に由来する試料または値、

(b) PCSK9 機能喪失型脂質プロファイルを有する1つまたは複数の対象に由来する試料または値、または

10

20

30

40

50

(c) 公知の特異的な PCSK9 阻害剤 / サイレンサーを用いて治療した 1 つまたは複数の対象に由来する試料または値であり、前記試料と対照中の前記 1 つもしくは複数の脂質または脂質 - 脂質濃度比の間に差異がないことにより前記 PCSK9 阻害剤 / サイレンサーを用いた治療の特異性が示され、差異があることにより前記 PCSK9 阻害剤 / サイレンサーまたは化合物によって非特異的な影響、例えば、1 つまたは複数の有害な副作用などが引き起こされることが示される方法。

【請求項 7】

PCSK9 機能喪失型脂質プロファイルが、対照由来の 1 つもしくは複数の脂質の濃度または脂質 - 脂質濃度比を決定することによって作成される、請求項 6 に記載の方法。

10

【請求項 8】

比較が行われる前記対象が、

(a) PCSK9 阻害剤 / サイレンサーまたは PCSK9 を標的とする別の化合物を用いた治療を受けている患者、

(b) PCSK9 阻害剤 / サイレンサーまたは PCSK9 を標的とする別の化合物を用いた治療を受けている試験動物、

(c) PCSK9 阻害剤 / サイレンサー以外の脂質降下薬を用いた治療を受けている患者または試験動物、または

(d) PCSK9 阻害剤 / サイレンサー、PCSK9 を標的とする別の化合物または PCSK9 阻害剤 / サイレンサー以外の脂質降下薬を用いた治療を受けたことがなく、現在も受けていない患者または試験動物である、請求項 1 から 7 までのいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 9】

比較が行われる前記対照が、脂質降下薬または PCSK9 阻害剤 / サイレンサーをそれぞれ用いて治療する前、または前記治療を中断している間の同じ対象由来の対照試料である、請求項 1 から 5 までまたは請求項 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

比較が行われる前記対照が、

(a) 以前に PCSK9 阻害剤 / サイレンサーを用いて治療されていない 1 つまたは複数の健康な対象から確立された対照値

30

(b) PCSK9 阻害剤 / サイレンサーを用いた治療を受けていない 1 つまたは複数の健康な対象から確立された対照値、

(c) PCSK9 遺伝子に任意の機能喪失型変異、例えば、R46L(rs11591147)などを有する 1 つまたは複数の対象由来の対照試料、または

(d) PCSK9 阻害剤 / サイレンサーを用いた治療中であり、薬剤誘発性オフターゲット効果の徴候または履歴がない 1 つまたは複数の対象から確立された対照値である、請求項 1 から 8 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 11】

前記対象または前記対象由来の試料における LDL コレステロールのレベルを決定または評価するステップをさらに含み、対象の LDL コレステロールレベルが低下していてもよい、請求項 1 から 10 までのいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 12】

(a) 試料が、血液、血漿、血清、もしくはその画分、例えば、リポタンパク質画分など、または組織生検材料であり、かつ / または

(b) 脂質濃度および / または脂質比が、質量分析法、核磁気共鳴分光法、蛍光分光法または二面偏波式干渉法、HPLC もしくは UPLC などの高性能分離法、ELISA などのイムノアッセイを使用すること、および / または分析物に特異的に結合することができる結合部分を用いることによって決定される、請求項 1 から 11 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

50

心血管疾患のリスクを低下させる、またはそれを治療するものであってもよい療法において使用するためのPCSK9阻害剤/サイレンサーであって、

(a) 対象もしくは対象由来の試料における、

Glc/GalCer(d18:1/16:0)、LacCer(d18:1/16:0)、Cer(d18:1/16:0)、CE16:0、CE16:1、CE18:1、CE20:3、Cer(d18:0/22:0)、Cer(d18:0/24:0)、Cer(d18:0/24:1)、Cer(d18:1/18:0)、Cer(d18:1/24:0)、Cer(d18:1/26:0)、Cer(d18:1/26:1)、Glc/GalCer(d18:1/18:0)、Glc/GalCer(d18:1/20:0)、Glc/GalCer(d18:1/22:0)、Glc/GalCer(d18:1/24:0)、Glc/GalCer(d18:1/24:1)、Glc/GalCer(d18:1/26:0)、Glc/GalCer(d18:1/26:1)、GlcCer(d18:1/16:0)、GlcCer(d18:1/18:0)、LacCer(d18:1/18:0)、LacCer(d18:1/22:0)、LacCer(d18:1/24:0)、SM(d18:1/16:0)(d18:1/15:1-OH)、TAG60:12、総Cer、総Glc/GalCerおよび総LacCerから選択される1つまたは複数の脂質の濃度が低下する、

10

(b) 対象もしくは対象由来の試料における、

LPC16:1、スフィンガニンd18:0、スフィンガニン-1-リン酸d18:0、スフィンゴシンd16:1、スフィンゴシンd18:1、スフィンゴシン-1-リン酸d18:1、TAG49:2、TAG50:4、TAG52:4、TAG52:5、TAG53:3、TAG54:3、TAG54:4、TAG54:5、TAG54:6、TAG54:7、TAG54:8、TAG56:5、総S1P、総SA1P、総SPAおよび総SPH

20

から選択される1つまたは複数の脂質の濃度が上昇する、または

(c) 対象もしくは対象由来の試料における、

Glc/GalCer(d18:1/18:0)/TAG52:4、CE18:1/スフィンゴシンd16:1、CE22:2/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、CE20:3/アポリポタンパク質A-I(mg/dL)、CE20:3/HDLコレステロール(EDTA)(mg/dL)、Cer(d18:0/22:0)/PC16:0/18:2、Cer(d18:0/24:0)/Cer(d18:1/18:0)、Cer(d18:0/24:0)/スフィンゴシンd16:1、Cer(d18:0/24:1)/FC、Cer(d18:1/16:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、Cer(d18:1/16:0)/トリグリセリド(EDTA)(mg/dL)、Cer(d18:1/18:0)/アポリポタンパク質C-II(mg/dL)、Cer(d18:1/18:0)/DAG16:0/18:1、Cer(d18:1/18:0)/PC18:0/22:6、Cer(d18:1/18:0)/トリグリセリド(EDTA)(mg/dL)、Cer(d18:1/24:0)/スフィンゴシンd16:1、Glc/GalCer(d18:1/18:0)/PC16:0/20:4、Glc/GalCer(d18:1/22:0)/LPC20:4、Glc/GalCer(d18:1/24:0)/PC16:0/20:4、Glc/GalCer(d18:1/24:0)/スフィンゴシンd16:1、GlcCer(d18:1/16:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、GlcCer(d18:1/18:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、LacCer(d18:1/18:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)およびPC16:0/16:0/スフィンゴシンd16:1

30

40

から選択される1つまたは複数の脂質-脂質濃度比が減少する、または

(d) 対象もしくは対象由来の試料における、

TAG58:10/TAG60:12、CE18:2/Glc/GalCer(d18:1

50

1 / 24 : 0 )、CE 18 : 3 / Glc / GalCer ( d 18 : 1 / 24 : 0 )、CE 20 : 3 / PC 16 : 0 / 16 : 0、CE 20 : 4 / Glc / GalCer ( d 18 : 1 / 24 : 0 )、CE 20 : 4 / SM ( d 18 : 1 / 16 : 0 ) ( d 18 : 1 / 15 : 1 - OH )、CE 20 : 5 / Glc / GalCer ( d 18 : 1 / 24 : 0 )、Cer ( d 18 : 0 / 22 : 0 ) / Cer ( d 18 : 1 / 22 : 0 )、Cer ( d 18 : 0 / 24 : 0 ) / FC、Cer ( d 18 : 0 / 24 : 0 ) / PC 16 : 0 / 18 : 2、Cer ( d 18 : 1 / 16 : 0 ) / Glc / GalCer ( d 18 : 1 / 16 : 0 )、Cer ( d 18 : 1 / 18 : 0 ) / Glc / GalCer ( d 18 : 1 / 24 : 0 )、LPC 16 : 1 / TAG 56 : 5、LPC 18 : 2 / LacCer ( d 18 : 1 / 16 : 0 )、LPC 18 : 2 / SM ( d 18 : 1 / 16 : 0 ) ( d 18 : 1 / 15 : 1 - OH ) および PC 18 : 2 / 18 : 2 / SM ( d 18 : 1 / 16 : 0 ) ( d 18 : 1 / 15 : 1 - OH ) から選択される1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が増加する、PCSK9阻害剤 / サイレンサー。

10

## 【請求項14】

心血管疾患がアテローム性動脈硬化症、冠動脈疾患、急性心筋梗塞、および / または脳卒中である、請求項13に記載のPCSK9阻害剤 / サイレンサー。

## 【請求項15】

PCSK9阻害剤 / サイレンサーが、

( a ) PCSK9に対する1つまたは複数の抗体、

( b ) PCSK9の阻害薬物、

( c ) LDL - 受容体とPCSK9の相互作用を阻害する小分子、

( c ) LDL - 受容体のPCSK9との相互作用ドメインを模倣するペプチド、

( d ) PCSK9 mRNAに特異的な1つまたは複数のsiRNA、および / または

( e ) PCSK9 mRNAに特異的な1つまたは複数のアンチセンスオリゴヌクレオチド

20

から選択される、請求項5から12までのいずれか1項に記載の方法、または請求項13または14に記載のPCSK9阻害剤 / サイレンサー。

## 【請求項16】

脂質降下薬を用いた治療の有効性を予測または決定するための、請求項1に記載の脂質のいずれか1つまたは脂質 - 脂質濃度比の脂質のいずれか1つに対する抗体の使用。

30

## 【請求項17】

脂質降下薬がPCSK9阻害剤 / サイレンサーである、請求項16に記載の使用。

## 【請求項18】

対象におけるPCSK9阻害剤 / サイレンサーを用いた治療に起因する1つまたは複数の有害な副作用を予防または治療するための、請求項1に記載の脂質のいずれか1つまたは脂質 - 脂質濃度比の脂質のいずれか1つに対する抗体の使用。

## 【請求項19】

1つまたは複数の有害な副作用が肝毒性である、請求項6に記載の方法または請求項18に記載の抗体。

## 【請求項20】

請求項1から12までのいずれか1項に記載の方法を実施するためのキットであって、

( a ) 請求項1に記載の脂質から選択される標準脂質を含み、

( b ) 1つまたは複数の対照マーカー、例えば、1つもしくは複数の脂質、例えば、請求項1に記載の脂質、またはタンパク質など、

( c ) 陽性対照および / または陰性対照、

( d ) 内部標準物質および / または外部標準物質、

( e ) 校正線対照、

( f ) 請求項1に記載の脂質のいずれか1つに結合することができる、抗体であってもよい作用剤、および

( g ) 前記方法または使用を実施するための試薬

40

50

から選択される1つまたは複数の別の参照化合物を含んでもよいキット。

【請求項21】

(i) 請求項1から12までに記載の目的のいずれかのための、または

(ii) 請求項1から12までに記載の方法のいずれかにおける、

請求項20に記載のキットの使用であって、対象由来の試料中の脂質濃度または脂質 - 脂質濃度比が、

(a) 質量分析法、および/または

(b) 酵素結合免疫吸着検定法 (ELISA)

を使用することによって決定されてもよいキットの使用。

10

【請求項22】

脂質降下薬を用いて対象を治療する方法であって、

(a) 前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質の濃度を決定するステップであって、前記試料中の濃度が対照と比較して低下または上昇していることにより前記治療の有効性が高いことが示され、

濃度の低下が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、

Glc / GalCer (d18 : 1 / 16 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 16 : 0)、Cer (d18 : 1 / 16 : 0)、CE16 : 0、CE16 : 1、CE18 : 1、CE20 : 3、Cer (d18 : 0 / 22 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 1)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0)、Cer (d18 : 1 / 24 : 0)、Cer (d18 : 1 / 26 : 0)、Cer (d18 : 1 / 26 : 1)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 18 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 20 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 22 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 1)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 26 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 26 : 1)、GlcCer (d18 : 1 / 16 : 0)、GlcCer (d18 : 1 / 18 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 18 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 22 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 24 : 0)、SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH)、TAG60 : 12、総Cer、総Glc / GalCerおよび総LacCerから選択され、

20

30

濃度の上昇が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、

LPC16 : 1、スフィンガニンd18 : 0、スフィンガニン - 1 - リン酸d18 : 0、スフィンゴシンd16 : 1、スフィンゴシンd18 : 1、スフィンゴシン - 1 - リン酸d18 : 1、TAG49 : 2、TAG50 : 4、TAG52 : 4、TAG52 : 5、TAG53 : 3、TAG54 : 3、TAG54 : 4、TAG54 : 5、TAG54 : 6、TAG54 : 7、TAG54 : 8、TAG56 : 5、総S1P、総SA1P、総SPAおよび総SPH

から選択されるステップ、または

(b) 前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比を決定するステップであって、前記試料中の脂質 - 脂質濃度比が対照と比較して減少または増加していることにより前記治療の有効性が高いことが示され、

40

その減少が対照と比較される1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が、

Glc / GalCer (d18 : 1 / 18 : 0) / TAG52 : 4、CE18 : 1 / スフィンゴシンd16 : 1、CE22 : 2 / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、CE20 : 3 / アポリポタンパク質A - I (mg / dL)、CE20 : 3 / HDLコレステロール (EDTA) (mg / dL)、Cer (d18 : 0 / 22 : 0) / PC16 : 0 / 18 : 2、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / Cer (d18 : 1 / 18 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / スフィンゴシンd16 : 1、Cer (d18 : 0 / 24 : 1) / FC、Cer (d18 : 1 / 16 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、Cer (d18 : 1 / 16 : 0) / トリグリ

50

セリド (EDTA) (mg/dL)、Cer (d18:1/18:0) / アポリポタンパク質 C - III (mg/dL)、Cer (d18:1/18:0) / DAG16:0/18:1、Cer (d18:1/18:0) / PC18:0/22:6、Cer (d18:1/18:0) / トリグリセリド (EDTA) (mg/dL)、Cer (d18:1/24:0) / スフィンゴシン d16:1、Glc/GalCer (d18:1/18:0) / PC16:0/20:4、Glc/GalCer (d18:1/22:0) / LPC20:4、Glc/GalCer (d18:1/24:0) / PC16:0/20:4、Glc/GalCer (d18:1/24:0) / スフィンゴシン d16:1、GlcCer (d18:1/16:0) / SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)、GlcCer (d18:1/18:0) / SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)、LacCer (d18:1/18:0) / SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH) および PC16:0/16:0 / スフィンゴシン d16:1

から選択され、

その増加が対照と比較される1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が、

TAG58:10/TAG60:12、CE18:2/Glc/GalCer (d18:1/24:0)、CE18:3/Glc/GalCer (d18:1/24:0)、CE20:3/PC16:0/16:0、CE20:4/Glc/GalCer (d18:1/24:0)、CE20:4/SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)、CE20:5/Glc/GalCer (d18:1/24:0)、Cer (d18:0/22:0) / Cer (d18:1/22:0)、Cer (d18:0/24:0) / FC、Cer (d18:0/24:0) / PC16:0/18:2、Cer (d18:1/16:0) / Glc/GalCer (d18:1/16:0)、Cer (d18:1/18:0) / Glc/GalCer (d18:1/24:0)、LPC16:1/TAG56:5、LPC18:2/LacCer (d18:1/16:0)、LPC18:2/SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH) および PC18:2/18:2/SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)

から選択されるステップ

を含む方法。

【請求項23】

(a) 前記脂質降下薬を前記対象に投与するステップ、および/または  
(b) 有効性が高いことが決定されたら、前記脂質降下薬の投与を継続すること  
をさらに含む、請求項22に記載の方法。

【請求項24】

前記対象を治療する前に前記対象における前記治療の有効性を予測するステップを含む、脂質降下薬を用いて対象を治療する方法であって、

(a) 前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質の濃度を決定するステップであって、前記試料中の濃度が対照と比較して上昇または低下していることにより前記治療が有効であろうことが示され、

濃度の上昇が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、

Glc/GalCer (d18:1/16:0)、LacCer (d18:1/16:0)、Cer (d18:1/16:0)、CE16:0、CE16:1、CE18:1、CE20:3、Cer (d18:0/22:0)、Cer (d18:0/24:0)、Cer (d18:0/24:1)、Cer (d18:1/18:0)、Cer (d18:1/24:0)、Cer (d18:1/26:0)、Cer (d18:1/26:1)、Glc/GalCer (d18:1/18:0)、Glc/GalCer (d18:1/20:0)、Glc/GalCer (d18:1/22:0)、Glc/GalCer (d18:1/24:0)、Glc/GalCer (d18:1/24:1)、Glc/GalCer (d18:1/26:0)、Glc/GalCer (d18:1/26:1)、GlcCer (d18:1/16:0)、GlcCer (d18:1/18:0)、Lac

10

20

30

40

50

Cer (d18 : 1 / 18 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 22 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 24 : 0)、SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH)、TAG60 : 12、総Cer、総Glc / GalCerおよび総LacCerから選択され、

濃度の低下が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、

LPC16 : 1、スフィンガニンd18 : 0、スフィンガニン - 1 - リン酸d18 : 0、スフィンゴシンd16 : 1、スフィンゴシンd18 : 1、スフィンゴシン - 1 - リン酸d18 : 1、TAG49 : 2、TAG50 : 4、TAG52 : 4、TAG52 : 5、TAG53 : 3、TAG54 : 3、TAG54 : 4、TAG54 : 5、TAG54 : 6、TAG54 : 7、TAG54 : 8、TAG56 : 5、総S1P、総SA1P、総SPAおよび総SPH

から選択されるステップ、または

(b) 前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比を決定するステップであって、前記試料中の脂質 - 脂質濃度比が対照と比較して増加または減少していることにより前記治療が有効であろうことが示され、

その増加が対照と比較される1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が、

Glc / GalCer (d18 : 1 / 18 : 0) / TAG52 : 4、CE18 : 1 / スフィンゴシンd16 : 1、CE22 : 2 / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、CE20 : 3 / アポリポタンパク質A - I (mg / dL)、CE20 : 3 / HDLコレステロール (EDTA) (mg / dL)、Cer (d18 : 0 / 22 : 0) / PC16 : 0 / 18 : 2、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / Cer (d18 : 1 / 18 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / スフィンゴシンd16 : 1、Cer (d18 : 0 / 24 : 1) / FC、Cer (d18 : 1 / 16 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、Cer (d18 : 1 / 16 : 0) / トリグリセリド (EDTA) (mg / dL)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / アポリポタンパク質C - III (mg / dL)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / DAG16 : 0 / 18 : 1、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / PC18 : 0 / 22 : 6、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / トリグリセリド (EDTA) (mg / dL)、Cer (d18 : 1 / 24 : 0) / スフィンゴシンd16 : 1、Glc / GalCer (d18 : 1 / 18 : 0) / PC16 : 0 / 20 : 4、Glc / GalCer (d18 : 1 / 22 : 0) / LPC20 : 4、Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0) / PC16 : 0 / 20 : 4、Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0) / スフィンゴシンd16 : 1、GlcCer (d18 : 1 / 16 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、GlcCer (d18 : 1 / 18 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、LacCer (d18 : 1 / 18 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH) および PC16 : 0 / 16 : 0 / スフィンゴシンd16 : 1

から選択され、

その減少が対照と比較される1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が、

TAG58 : 10 / TAG60 : 12、CE18 : 2 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、CE18 : 3 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、CE20 : 3 / PC16 : 0 / 16 : 0、CE20 : 4 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、CE20 : 4 / SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH)、CE20 : 5 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、Cer (d18 : 0 / 22 : 0) / Cer (d18 : 1 / 22 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / FC、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / PC16 : 0 / 18 : 2、Cer (d18 : 1 / 16 : 0) / Glc / GalCer (d18 : 1 / 16 : 0)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、LPC16 : 1 / TAG56 : 5、LPC18 : 2 / LacCer (d18 : 1 / 16 : 0)、LPC18 : 2 / SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH) および PC18 : 2

10

20

30

40

50

/ 18 : 2 / SM ( d 18 : 1 / 16 : 0 ) ( d 18 : 1 / 15 : 1 - OH )  
から選択されるステップ  
を含む方法。

【請求項 25】

前記対象において前記治療が有効であろうことが決定されたら、前記脂質降下薬を前記対象に投与するステップをさらに含む、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

脂質降下薬治療に対する対象の適合性を決定することを含む、脂質降下薬を用いて対象を治療する方法であって、

( a ) 前記対象由来の試料中の 1 つまたは複数の脂質の濃度を決定するステップであって、前記試料中の濃度が対照と比較して低下または上昇していることにより良好な治療適合性が示され、

濃度の低下が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質が、

Glc / GalCer ( d 18 : 1 / 16 : 0 )、LacCer ( d 18 : 1 / 16 : 0 )、Cer ( d 18 : 1 / 16 : 0 )、CE16 : 0、CE16 : 1、CE18 : 1、CE20 : 3、Cer ( d 18 : 0 / 22 : 0 )、Cer ( d 18 : 0 / 24 : 0 )、Cer ( d 18 : 0 / 24 : 1 )、Cer ( d 18 : 1 / 18 : 0 )、Cer ( d 18 : 1 / 24 : 0 )、Cer ( d 18 : 1 / 26 : 0 )、Cer ( d 18 : 1 / 26 : 1 )、Glc / GalCer ( d 18 : 1 / 18 : 0 )、Glc / GalCer ( d 18 : 1 / 20 : 0 )、Glc / GalCer ( d 18 : 1 / 22 : 0 )、Glc / GalCer ( d 18 : 1 / 24 : 0 )、Glc / GalCer ( d 18 : 1 / 24 : 1 )、Glc / GalCer ( d 18 : 1 / 26 : 0 )、Glc / GalCer ( d 18 : 1 / 26 : 1 )、GlcCer ( d 18 : 1 / 16 : 0 )、GlcCer ( d 18 : 1 / 18 : 0 )、LacCer ( d 18 : 1 / 18 : 0 )、LacCer ( d 18 : 1 / 22 : 0 )、LacCer ( d 18 : 1 / 24 : 0 )、SM ( d 18 : 1 / 16 : 0 ) ( d 18 : 1 / 15 : 1 - OH )、TAG60 : 12、総Cer、総Glc / GalCerおよび総LacCer  
から選択され、

濃度の上昇が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質が、

LPC16 : 1、スフィンガニン d 18 : 0、スフィンガニン - 1 - リン酸 d 18 : 0、スフィンゴシン d 16 : 1、スフィンゴシン d 18 : 1、スフィンゴシン - 1 - リン酸 d 18 : 1、TAG49 : 2、TAG50 : 4、TAG52 : 4、TAG52 : 5、TAG53 : 3、TAG54 : 3、TAG54 : 4、TAG54 : 5、TAG54 : 6、TAG54 : 7、TAG54 : 8、TAG56 : 5、総SP、総SAIP、総SPAおよび総SPH

から選択されるステップ、または

( b ) 前記対象由来の試料中の 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比を決定するステップであって、前記試料中の脂質 - 脂質濃度比が対照と比較して減少または増加していることにより良好な治療適合性が示され、

濃度の減少が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が、

Glc / GalCer ( d 18 : 1 / 18 : 0 ) / TAG52 : 4、CE18 : 1 / スフィンゴシン d 16 : 1、CE22 : 2 / SM ( d 18 : 1 / 23 : 1 ) ( d 18 : 1 / 22 : 2 - OH )、CE20 : 3 / アポリポタンパク質 A - I ( mg / dL )、CE20 : 3 / HDL コレステロール ( EDTA ) ( mg / dL )、Cer ( d 18 : 0 / 22 : 0 ) / PC16 : 0 / 18 : 2、Cer ( d 18 : 0 / 24 : 0 ) / Cer ( d 18 : 1 / 18 : 0 )、Cer ( d 18 : 0 / 24 : 0 ) / スフィンゴシン d 16 : 1、Cer ( d 18 : 0 / 24 : 1 ) / FC、Cer ( d 18 : 1 / 16 : 0 ) / SM ( d 18 : 1 / 23 : 1 ) ( d 18 : 1 / 22 : 2 - OH )、Cer ( d 18 : 1 / 16 : 0 ) / トリグリセリド ( EDTA ) ( mg / dL )、Cer ( d 18 : 1 / 18 : 0 ) / アポリポタンパク質 C - III ( mg / dL )、Cer ( d 18 : 1 / 18 : 0 ) / DAG16 : 0 / 18 : 1、Cer ( d 18 : 1 / 18 : 0 ) / PC18 : 0 / 22 : 6、Cer ( d 18 :

10

20

30

40

50

1 / 18 : 0) / トリグリセリド (EDTA) (mg / dL)、Cer (d18 : 1 / 24 : 0) / スフィンゴシン d16 : 1、Glc / GalCer (d18 : 1 / 18 : 0) / PC16 : 0 / 20 : 4、Glc / GalCer (d18 : 1 / 22 : 0) / LPC20 : 4、Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0) / PC16 : 0 / 20 : 4、Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0) / スフィンゴシン d16 : 1、GlcCer (d18 : 1 / 16 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、GlcCer (d18 : 1 / 18 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、LacCer (d18 : 1 / 18 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH) および PC16 : 0 / 16 : 0 / スフィンゴシン d16 : 1

10

から選択され、

その増加が対照と比較される1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が、

TAG58 : 10 / TAG60 : 12、CE18 : 2 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、CE18 : 3 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、CE20 : 3 / PC16 : 0 / 16 : 0、CE20 : 4 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、CE20 : 4 / SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH)、CE20 : 5 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、Cer (d18 : 0 / 22 : 0) / Cer (d18 : 1 / 22 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / FC、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / PC16 : 0 / 18 : 2、Cer (d18 : 1 / 16 : 0) / Glc / GalCer (d18 : 1 / 16 : 0)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、LPC16 : 1 / TAG56 : 5、LPC18 : 2 / LacCer (d18 : 1 / 16 : 0)、LPC18 : 2 / SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH) および PC18 : 2 / 18 : 2 / SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH)

20

から選択されるステップ

を含む方法。

【請求項27】

(a) 前記脂質降下薬を前記対象に投与するステップ、および/または

(b) 良好な治療適合性が決定されたら、前記脂質降下薬の投与を継続すること

をさらに含む、請求項26に記載の方法。

30

【請求項28】

脂質降下薬がPCSK9阻害剤/サイレンサーである、請求項22から27までのいずれか1項に記載の方法。

【請求項29】

PCSK9阻害剤/サイレンサーを用いて対象を治療する方法であって、対象由来の試料中の1つもしくは複数の脂質の濃度または脂質 - 脂質濃度比が対照と比較され、前記1つまたは複数の前記脂質または脂質 - 脂質濃度比が、

Glc / GalCer (d18 : 1 / 16 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 16 : 0)、Cer (d18 : 1 / 16 : 0)、CE16 : 0、CE16 : 1、CE18 : 1、CE20 : 3、Cer (d18 : 0 / 22 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 1)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0)、Cer (d18 : 1 / 24 : 0)、Cer (d18 : 1 / 26 : 0)、Cer (d18 : 1 / 26 : 1)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 18 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 20 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 22 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 1)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 26 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 26 : 1)、GlcCer (d18 : 1 / 16 : 0)、GlcCer (d18 : 1 / 18 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 18 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 22 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 24 : 0)、SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH)、TAG60 : 12、総Cer、総Glc / GalCer および総LacCer、

40

50

LPC16:1、スフィンガニンd18:0、スフィンガニン-1-リン酸d18:0、スフィンゴシンd16:1、スフィンゴシンd18:1、スフィンゴシン-1-リン酸d18:1、TAG49:2、TAG50:4、TAG52:4、TAG52:5、TAG53:3、TAG54:3、TAG54:4、TAG54:5、TAG54:6、TAG54:7、TAG54:8、TAG56:5、総S1P、総SA1P、総SPA、総SPH、

Glc/GalCer(d18:1/18:0)/TAG52:4、CE18:1/スフィンゴシンd16:1、CE22:2/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、CE20:3/アポリポタンパク質A-I(mg/dL)、CE20:3/HDLコレステロール(EDTA)(mg/dL)、Cer(d18:0/22:0)/PC16:0/18:2、Cer(d18:0/24:0)/Cer(d18:1/18:0)、Cer(d18:0/24:0)/スフィンゴシンd16:1、Cer(d18:0/24:1)/FC、Cer(d18:1/16:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、Cer(d18:1/16:0)/トリグリセリド(EDTA)(mg/dL)、Cer(d18:1/18:0)/アポリポタンパク質C-II(mg/dL)、Cer(d18:1/18:0)/DAG16:0/18:1、Cer(d18:1/18:0)/PC18:0/22:6、Cer(d18:1/18:0)/トリグリセリド(EDTA)(mg/dL)、Cer(d18:1/24:0)/スフィンゴシンd16:1、Glc/GalCer(d18:1/18:0)/PC16:0/20:4、Glc/GalCer(d18:1/22:0)/LPC20:4、Glc/GalCer(d18:1/24:0)/PC16:0/20:4、Glc/GalCer(d18:1/24:0)/スフィンゴシンd16:1、GlcCer(d18:1/16:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、GlcCer(d18:1/18:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、LacCer(d18:1/18:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、PC16:0/16:0/スフィンゴシンd16:1、

TAG58:10/TAG60:12、CE18:2/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、CE18:3/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、CE20:3/PC16:0/16:0、CE20:4/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、CE20:4/SM(d18:1/16:0)(d18:1/15:1-OH)、CE20:5/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、Cer(d18:0/22:0)/Cer(d18:1/22:0)、Cer(d18:0/24:0)/FC、Cer(d18:0/24:0)/PC16:0/18:2、Cer(d18:1/16:0)/Glc/GalCer(d18:1/16:0)、Cer(d18:1/18:0)/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、LPC16:1/TAG56:5、LPC18:2/LacCer(d18:1/16:0)、LPC18:2/SM(d18:1/16:0)(d18:1/15:1-OH)およびPC18:2/18:2/SM(d18:1/16:0)(d18:1/15:1-OH)

から選択され、

前記対照が、

(a) PCSK9機能喪失型変異を有する1つまたは複数の対象に由来する試料または値、

(b) PCSK9機能喪失型脂質プロファイルを有する1つまたは複数の対象に由来する試料または値、または

(c) 公知の特異的なPCSK9阻害剤/サイレンサーを用いて治療した1つまたは複数の対象に由来する試料または値

であり、前記試料と対照中の前記1つもしくは複数の脂質または脂質-脂質濃度比の間に差異がないことにより前記PCSK9阻害剤/サイレンサーを用いた治療の特異性が示され、差異があることにより前記PCSK9阻害剤/サイレンサーまたは化合物によって非

10

20

30

40

50

特異的な影響、例えば、1つまたは複数の有害な副作用などが引き起こされることが示される方法。

【請求項30】

PCSK9機能喪失型脂質プロファイルが、対照由来の1つもしくは複数の脂質の濃度または脂質-脂質濃度比を決定することによって作成される、請求項29に記載の方法。

【請求項31】

前記PCSK9阻害剤/サイレンサーが、

- (a) PCSK9に対する1つまたは複数の抗体、
- (b) PCSK9の阻害薬物、
- (c) LDL-受容体とPCSK9の相互作用を阻害する小分子、
- (d) LDL-受容体のPCSK9との相互作用ドメインを模倣するペプチド、
- (e) PCSK9 mRNAに特異的な1つまたは複数のsiRNA、および/または
- (f) PCSK9 mRNAに特異的な1つまたは複数のアンチセンスオリゴヌクレオチド

である、請求項29から30までのいずれか1項に記載の方法。

【請求項32】

比較が行われる前記対象が、

- (a) PCSK9阻害剤/サイレンサーまたはPCSK9を標的とする別の化合物を用いた治療を受けている患者、
- (b) PCSK9阻害剤/サイレンサーまたはPCSK9を標的とする別の化合物を用いた治療を受けている試験動物、
- (c) PCSK9阻害剤/サイレンサー以外の脂質降下薬を用いた治療を受けている患者または試験動物、または
- (d) PCSK9阻害剤/サイレンサー、PCSK9を標的とする別の化合物またはPCSK9阻害剤/サイレンサー以外の脂質降下薬を用いた治療を受けたことがなく、現在も受けていない患者または試験動物

である、請求項22から31までのいずれか1項に記載の方法。

【請求項33】

比較が行われる前記対照が、脂質降下薬またはPCSK9阻害剤/サイレンサーをそれぞれ用いて治療する前、または前記治療を中断している間の同じ対象由来の対照試料である、請求項22から28までまたは請求項32のいずれか1項に記載の方法。

【請求項34】

比較が行われる前記対照が、

- (a) 以前にPCSK9阻害剤/サイレンサーを用いて治療されていない1つまたは複数の健康な対象から確立された対照値、
- (b) PCSK9阻害剤/サイレンサーを用いた治療を受けていない1つまたは複数の健康な対象から確立された対照値、
- (c) PCSK9遺伝子に任意の機能喪失型変異、例えば、R46L(rs11591147)などを有する1つまたは複数の対象由来の対照試料、または
- (d) PCSK9阻害剤/サイレンサーを用いた治療中であり、薬剤誘発性オフターゲット効果の徴候または履歴がない1つまたは複数の対象から確立された対照値

である、請求項22から32までのいずれか1項に記載の方法。

【請求項35】

前記対象または前記対象由来の試料におけるLDLコレステロールのレベルを決定または評価するステップをさらに含み、対象のLDLコレステロールレベルが低下していてもよい、請求項22から34までのいずれか1項に記載の方法。

【請求項36】

- (a) 試料が、血液、血漿、血清、もしくはその画分、例えば、リポタンパク質画分など、または組織生検材料であり、かつ/または
- (b) 脂質濃度および/または脂質比が、質量分析法、核磁気共鳴分光法、蛍光分光法

10

20

30

40

50

または二面偏波式干渉法、HPLCもしくはUPLCなどの高性能分離法、ELISAなどのイムノアッセイを使用すること、および/または分析物に特異的に結合することができる結合部分を用いることによって決定される、請求項22から35までのいずれか1項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、脂質のレベルおよび脂質 - 脂質濃度比を測定して、プロタンパク質転換酵素スプチリシン/ケキシン9型(PCSK9)を標的とする治療の薬効および特異性を測定することを伴う方法に関する。本発明は、とりわけ、PCSK9標的化治療が効率的に機能するか、およびPCSK9標的化合物がオフターゲット効果を示さないかを決定することに適用可能である。本発明は、PCSK9標的化治療に対する患者の適合性(compliance)を評価するためにも有用である。当該方法は、生体試料の脂質バイオマーカーレベルを分析し、それを対照と比較することを含む。

10

【背景技術】

【0002】

血漿低密度リポタンパク質(LDL)コレステロールは、冠状血管疾患に対する確立されたリスクファクターである。一般に、高血中コレステロールレベルはスタチンを用いて治療される。しかし、患者の最初の血漿中コレステロール値が高いまたは患者がスタチン治療に対する抵抗性を示す場合、高投与量のスタチンでさえ、コレステロールレベルを十分に低下させるために十分には効率的でない可能性がある。また、高スタチン投与量により、副作用のリスクが増加し得る。したがって、冠状血管疾患(CVD)を予防および治療するためには新しいコレステロール降下介入が必要である。

20

【0003】

ヒト遺伝的研究により、PCSK9が、血漿中LDLレベルの調節において中心的な役割を果たすことが示されている(Abifadel, M. et al. 2003. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. Nat Genet 34: 154-156)。PCSK9は、セリンプロテアーゼ、プロタンパク質転換酵素のファミリーに属する(Seidah, N. G. et al. 2003. The secretory proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase 1(NARC-1): liver regeneration and neuronal differentiation. Proc Natl Acad Sci U S A 100: 928-933)。しかし、その酵素活性とは関係なく、PCSK9は、細胞外でLDL-Rに結合し、そのリソソーム分解を容易にし、したがって、LDL-Rが細胞表面に戻って再利用されることを阻害することにより、肝細胞表面上で発現されるLDL-受容体(LDL-R)の数を減少させる(Horton, J. D. et al. 2009. PCSK9: a convertase that coordinates LDL catabolism. J Lipid Res 50 Suppl: S172-177)。PCSK9遺伝子に機能喪失型変異を有する個体では、血漿中LDLコレステロールレベルが低下しており、CVDから保護される(Cohen, J. et al. 2005. Low LDL cholesterol in individuals of African descent resulting from frequent nonsense mutations in PCSK9. Nat Genet 37: 161-165; Abifadel, M. et al. 2003. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. Nat Genet 34: 154-156)。対照的に、PCSK9遺伝子における機能獲得型変異は、血漿中LDLレベルの上昇および早発性CVDに関連することが示されている(Abifadel, M. et al. 2003)。さらに、マウスにおいてヒトD374Y機能獲得PCSK9を発現させることにより、D374Yマウスでは野生型マウスと比較してより多くのトリアシルグリセロールリッチリポタンパク質が循環中に分泌されることが示されたので、LDL-R活性の低下が高コレステロール血症の唯一の原因ではない可能性があることが示されている(Herbert, B. et al. 2010. Increased secretion of lipoproteins in transgenic mice expressing human D374Y PCSK9 under physiological genetic control. Arterioscler Thromb Vasc Biol 30: 1333-1339)。これらの知見により、PCSK9が高コレステロール血症の治療における潜在的な標的として位置づけられる。

30

40

50

## 【 0 0 0 4 】

マウスでは、P C S K 9 は主に肝臓、小腸、および腎臓において発現される (Zaid, A. et al. 2008. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9(PCSK9): hepatocyte-specific low-density lipoprotein receptor degradation and critical role in mouse liver regeneration. *Hepatology* 48: 646-654)。マウスにおける P C S K 9 の完全なノックアウトにより、循環している L D L コレステロールレベルがおよそ 4 0 % 低下することが示されている (Rashid, S. et al. 2005. Decreased plasma cholesterol and hyper sensitivity to statins in mice lacking Pcsk9. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102: 5374-5379)。H M G - 補酵素 A レダクターゼ阻害剤であるスタチンの投与により、L D L レベルがはるかに大きく低下することが示され、これは、C V D の治療におけるスタチンと P C S K 9 阻害の同時使用の潜在性を示している。しかし、P C S K 9 は、マウス肝臓再生において役割を果たすことが示されている (Zaid, A. et al. 2008. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9(PCSK9): hepatocyte-specific low-density lipoprotein receptor degradation and critical role in mouse liver regeneration. *Hepatology* 48: 646-654)。したがって、P C S K 9 機能の完全な阻害により、肝臓損傷時の合併症、さらには死亡のリスクが増す可能性がある。他方では、同じ試験において、P C S K 9 ヘテロ接合体ノックアウトマウスにおいて、P C S K 9 活性の 5 0 % 減少は有害ではなく、肝臓再生は損なわれないことが実証された。

10

## 【 0 0 0 5 】

最近、ヒトにおいて、スタチンおよび他の脂質降下薬物により、ステロール調節エレメント - 結合タンパク質 - 2 (S R E B P - 2) が活性化されることによって血清中 P C S K 9 タンパク質レベルが上昇することが示されている (Careskey, H. E. et al. 2008. A torvastatin increases human serum levels of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9. *J Lipid Res* 49: 394-398 および Konrad, R. J. et al. 2011. Effects of currently prescribed LDL-C-lowering drugs on PCSK9 and implications for the next generation of LDL-C-lowering agents. *Lipids Health Dis* 10: 38)。これらの知見により、スタチンまたは他の L D L 降下薬剤と組み合わせた P C S K 9 阻害が最も効率的な治療転帰を実現するために必要であることが示唆される。

20

## 【 0 0 0 6 】

P C S K 9 は脂質異常症を治療するための潜在的な標的であるので、本発明者は P C S K 9 欠乏の血漿中リピドームに対する影響を、ヘテロ接合体 P C S K 9 ノックアウトマウスおよびホモ接合体 P C S K 9 ノックアウトマウスにおいて、分子脂質のレベルでの脂質恒常性の変化を同定することを目的とした質量分析法適用を使用して調査した。そのような変化を、P C S K 9 遺伝子の既知の遺伝的バリエーションの機能性に関する現在の知見を利用することによってヒトにおいても調査した。要するに、既知の機能喪失型変異を有する対象におけるリピドミックプロファイルを、主要対立遺伝子を有する対象におけるものと比較した。そのような特異的な有効性の読み取りは、P C S K 9 に作用する新しい化合物の開発および選択ならびに P C S K 9 阻害剤の臨床的有効性のモニタリングの間に有用になる。定型かつ正確な有効性の読み取りを使用して、望ましくないオフターゲット効果を、そのような非特異的な潜在的に有害な薬物の影響を示す可能性がある所定の有効性プロファイルからの偏差としてモニタリングすることもできる。

30

40

## 【 0 0 0 7 】

本発明に従って、脂質をさまざまな技法によって分析することができる。本発明に関しては、エレクトロスプレーイオン質量分析法に基づくリピドミクスが好ましい技術である。ショットガンおよび標的化分析方法の優れた品質および特異性は、適切な環境でセットアップすれば、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準のガイドライン (G L P) などのストリンジентな規制基準に適合する。

最先端技術と比較して、本明細書において同定されるバイオマーカーは、その技術の感度と特異度の両方が高いので、最小の試料量からさえ分析することができる。

本発明では、P C S K 9 阻害薬の有効性および特異性を示すバイオマーカーを同定する

50

。バイオマーカーにより、個体が、的確なPCSK9阻害薬を的確な時間および用量で受けることを確実にし、それにより、この治療領域を、他のやり方ではより一般的に適用される医薬および/または治療レジメンを個別化することに向けて広げるという使命が容易なものになる。同定されたバイオマーカーは、PCSK9に対する新しい薬剤の開発者が、作用剤候補の中から特異的なリード化合物を選択するために使用することもできる。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明は、とりわけ、PCSK9阻害を示す脂質および脂質-脂質比を提供する。これは、リピドミックプラットフォームで分析されたものと同等の脂質組成を示す機能喪失型変異に関するノックアウト動物データおよびヒト変換データに基づく。同定された脂質を使用して、PCSK9阻害の程度およびその特異性をモニタリングすることができる。これにより、通常はLDLコレステロールの読み取りに依拠するPCSK9阻害の調査のための新規の改善された方法がもたらされる。しかし、LDLコレステロール測定では、PCSK9阻害により、望ましくない副作用が引き起こされる可能性がある、有益かつ必須の脂質の降下も起こらないかに関してはいかなる情報ももたらされない。患者に対する有害作用が引き起こされる可能性がある、LDLコレステロールのレベルの過度の低下が起こらないかも難題である。本明細書において同定される脂質マーカーにより、PCSK9阻害の有効性およびその特異性に関する改善された知見がもたらされる。

10

【0009】

PCSK9は脂質異常症を治療するための潜在的な標的であるので、本発明者はPCSK9欠乏の血漿中リピドームに対する影響を、ヘテロ接合体PCSK9ノックアウトマウスおよびホモ接合体PCSK9ノックアウトマウスにおいて、分子脂質のレベルでの脂質恒常性の変化を同定することを目的とする質量分析法適用を使用して調査した。PCSK9対立遺伝子の一方または両方を欠くマウスにおけるPCSK9欠乏の影響および高脂肪食によって引き起こされる脂質バイオマーカーの差異を調査するために、脂質プロファイル、通常固形飼料またはウェスタン固形飼料のいずれかを与えた野生型、ヘテロ接合体およびホモ接合体のPCSK9ノックアウトマウスから作成した。そのような変化を、PCSK9遺伝子の既知の遺伝的パリアントの機能性に関する現在の知見を利用することによってヒトにおいても調査した。要するに、既知の機能喪失型変異を有する対象由来の試料のリピドミックプロファイル、主要対立遺伝子を有する対象由来の試料のリピドミックプロファイルと比較した。そのような特異的な有効性の読み取りは、PCSK9に作用する新しい化合物の開発および選択ならびにPCSK9阻害剤の臨床的有効性のモニタリングの間に有用になる。定型かつ正確な有効性の読み取りを使用して、望ましくないオフターゲット効果を、そのような非特異的な潜在的に有害な薬物の影響を示す可能性がある所定の有効性プロファイルからの偏差としてモニタリングすることもできる。

20

30

【0010】

遺伝子の機能喪失型変異に起因する天然のPCSK9阻害により、この変異の保有者の冠動脈疾患(CAD)リスクが低い理由が少なくとも部分的に説明され得る、好都合な血漿中の分子脂質の変化が生じる。したがって、PCSK9機能の喪失に起因する変化からの偏差は望ましくない非特異的なオフターゲット効果に起因する可能性があるので、同定されたバイオマーカーを、PCSK9を標的とする任意の療法についての特異性指標として使用することができる。図1は、PCSK9阻害により、CADリスクを上昇させる脂質が降下することを示す。さらに、PCSK9阻害をスタチン治療の脂質効果作用と比較した。スタチンクラス薬物により、肝臓LDL-受容体が上方制御され、したがって、循環からのLDL-受容体媒介性脂質除去が増加することによって血漿脂質が降下する。PCSK9阻害によっても同様に、肝臓LDL-受容体の発現の増加および循環からのLDL-受容体媒介性脂質除去の増加に起因する脂質降下が引き起こされる。したがって、理論的には、これらの2つの治療モダリティにより、同様の血漿脂質変化が生じるはずである。図1は、PCSK9機能喪失に起因する特異的な脂質変化を、PCSK9を標的とす

40

50

る療法についての有効性および特異性の読み取りとして使用することができることを示す。この点について、図2は、スタチンが、多くの脂質バイオマーカーのレベルにPCSK9機能の喪失とは違うように影響を及ぼすことを示し、これにより、血漿脂質を低下させることに対するスタチンの効果が、特異的なPCSK9阻害剤/サイレンサーの効果よりも広範であり、特異性が低いことが示される。

#### 【0011】

本発明は、PCSK9を標的とする治療の薬効および特異性を測定するために脂質レベルを必要とする方法に関する。本発明は、とりわけ、PCSK9標的化治療が効率的に機能するか、およびPCSK9標的化合物がオフターゲット効果を有さないかを決定するために適用可能である。また、本発明を使用して、PCSK9標的化治療における患者の適合性を評価することができる。当該方法は、生体試料の脂質レベルを分析すること、およびそれを対照と比較することを含む。

10

本発明の一態様では、新しい薬物化合物の機能を分析するため、ならびにPCSK9を標的とする治療に関する患者における薬効および特異性を検出するための方法、リピドミックマーカー、抗体などの作用剤およびキットが本明細書で開示され、かつ/または特許請求されている。

本発明による方法は、例えば、a) PCSK9阻害薬を用いて治療されている、治療される予定の、または治療されていた対象または試験動物由来の生体試料を用意するステップ、b) 前記試料中の、本発明による有用なリピドミックマーカーであると本明細書において同定される1つもしくは複数の脂質の濃度(複数可)および/または1つもしくは複数の脂質比(複数可)を決定するステップ、ならびにc) 前記決定された脂質濃度(複数可)および/または脂質比(複数可)を対応する対照における脂質濃度(複数可)と比較するステップを含んでよい。

20

#### 【0012】

本発明のリピドミックマーカーにより、PCSK9阻害薬の有効性および特異性を高感度で特異的に検出することが可能になる。これにより、患者のケアおよび治療転帰の実現を改善すること、毒性症状の発生およびそれにさらされることを緩和すること、ならびに薬剤誘発性オフターゲット効果に関連する罹患率/死亡率の低下を実現することが容易になる。したがって、本明細書において記載され、特許請求されているリピドミックマーカーにより、PCSK9阻害薬を用いて治療された、または治療される予定の患者に関して薬物介入を個々に調整することが可能になる。また、本発明は、PCSK9阻害化合物を試験する動物実験に適用可能である。本発明により、新規の脂質降下薬剤に関するよりよい特異性評価を行うことが可能になる。

30

したがって、本発明の一態様では、対象における脂質降下薬物を用いた治療の有効性を決定するための方法であって、前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質の濃度(複数可)を決定するステップであって、前記試料中の濃度(複数可)が対照と比較して低下または上昇していることにより前記治療の有効性が高いことが示され、濃度の低下(複数可)が対照と比較される1つまたは複数の脂質が表2~5中の減少した脂質から選択され、濃度の上昇(複数可)が対照と比較される1つまたは複数の脂質が表2~5中の増加した脂質から選択されることを含む方法が提供される。

40

#### 【0013】

好ましい実施形態では、濃度の低下(複数可)が対照と比較される1つまたは複数の脂質は表4~5中の減少した脂質から選択され、濃度の上昇(複数可)が対照と比較される1つまたは複数の脂質は表4~5中の増加した脂質から選択される。

代替の実施形態では、本発明は、対象における脂質降下薬物を用いた治療の有効性を決定するための方法であって、前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質-脂質濃度比を決定するステップであって、前記試料中の脂質-脂質濃度比(複数可)が対照と比較して減少または増加していることにより前記治療の有効性が高いことが示され、その減少(複数可)が対照と比較される1つまたは複数の脂質-脂質濃度比が表2~5中の減少した脂質-脂質濃度比から選択され、その増加(複数可)が対照と比較される1つまたは複数

50

の脂質 - 脂質濃度比が表 2 ~ 5 中の増加した脂質 - 脂質濃度比から選択されるステップを含む方法に関する。

好ましい実施形態では、その減少（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比は表 4 ~ 5 中の減少した脂質 - 脂質濃度比から選択され、その増加（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比は表 4 ~ 5 中の増加した脂質 - 脂質濃度比から選択される。

【0014】

本発明の別の態様では、対象における（すなわち、脂質降下治療をまだ受けていない対象における）脂質降下薬物を用いた治療の有効性を予測するための方法であって、前記対象由来の試料中の 1 つまたは複数の脂質の濃度（複数可）を決定するステップであって、前記試料中の濃度（複数可）が対照と比較して上昇または低下していることにより前記治療が有効であろうことが示され、濃度の上昇（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質が表 2 ~ 5 中の減少した脂質から選択され、濃度の低下（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質が表 2 ~ 5 中の増加した脂質から選択されるステップを含む方法が提供される。

好ましい実施形態では、濃度の上昇（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質は表 4 ~ 5 中の減少した脂質から選択され、濃度の低下（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質は表 4 ~ 5 中の増加した脂質から選択される。

代替の実施形態では、本発明は、対象における（すなわち、脂質降下治療をまだ受けていない対象における）脂質降下薬物を用いた治療の有効性を予測するための方法であって、前記対象由来の試料中の 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比を決定するステップであって、前記試料中の脂質 - 脂質濃度比が対照と比較して増加または減少していることにより前記治療が有効であろうことが示され、濃度の上昇（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が表 2 ~ 5 中の減少した脂質 - 脂質濃度比から選択され、その減少（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が表 2 ~ 5 中の増加した脂質 - 脂質濃度比から選択されるステップを含む方法に関する。

好ましい実施形態では、その増加（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比は表 4 ~ 5 中の減少した脂質 - 脂質濃度比から選択され、その減少（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比は表 4 ~ 5 中の増加した脂質 - 脂質濃度比から選択される。

【0015】

上記の実施形態は前記脂質降下薬物を用いた治療をまだ受けていない対象に対して有用である。

さらに別の実施形態では、本発明は、脂質降下薬物治療に対する対象の適合性を決定するための方法であって、前記対象由来の試料中の 1 つまたは複数の脂質の濃度（複数可）を決定するステップであって、前記試料中の濃度（複数可）が対照と比較して低下または上昇していることにより良好な治療適合性が示され、濃度の低下（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質が表 2 ~ 5 中の減少した脂質から選択され、濃度の上昇（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質が表 2 ~ 5 中の増加した脂質から選択されるステップを含む方法に関する。

好ましい実施形態では、濃度の低下（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質は表 4 ~ 5 中の減少した脂質から選択され、濃度の上昇（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質は表 4 ~ 5 中の増加した脂質から選択される。

【0016】

代替の実施形態では、本発明は、脂質降下薬物治療に対する対象の適合性を決定するための方法であって、前記対象由来の試料中の 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比（複数可）を決定するステップであって、前記試料中の脂質 - 脂質濃度比（複数可）が対照と比較して減少または増加していることにより良好な治療適合性が示され、濃度の低下（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が表 2 ~ 5 中の減少した脂質 - 脂質濃度比から選択され、その増加（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質

- 脂質濃度比が表 2 ~ 5 中の増加した脂質 - 脂質濃度比から選択されるステップを含む方法に関する。

好ましい実施形態では、濃度の低下（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比は表 4 ~ 5 中の減少した脂質 - 脂質濃度比から選択され、濃度の上昇（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比は表 4 ~ 5 中の増加した脂質 - 脂質濃度比から選択される。

【 0 0 1 7 】

さらなる実施形態では、本発明は、脂質降下薬物として、または心血管疾患およびその合併症を治療するために有用である化合物を同定するための方法であって、前記化合物を用いた治療を受けている前記対象由来の試料中の 1 つまたは複数の脂質の濃度（複数可）を決定するステップであって、前記試料中の濃度（複数可）が対照と比較して低下または上昇していることにより脂質降下薬物としての有用性が示され、濃度の低下（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質が表 2 ~ 5 中の減少した脂質から選択され、濃度の上昇（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質が表 2 ~ 5 中の増加した脂質から選択されるステップを含む方法に関する。

好ましい実施形態では、濃度の低下（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質は表 4 ~ 5 中の減少した脂質から選択され、濃度の上昇（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質は表 4 ~ 5 中の増加した脂質から選択される。

【 0 0 1 8 】

代替の実施形態では、本発明は、脂質降下薬物として、または心血管疾患およびその合併症を治療するために有用である化合物を同定するための方法であって、前記対象由来の試料中の 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比を決定するステップであって、前記試料中の濃度（複数可）が対照と比較して低下または上昇していることにより脂質降下薬物としての有用性が示され、その減少（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が表 2 ~ 5 中の減少した脂質 - 脂質濃度比から選択され、その増加（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が表 2 ~ 5 中の増加した脂質 - 脂質濃度比から選択されるステップを含む方法に関する。

好ましい実施形態では、濃度の低下（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質は表 4 ~ 5 中の減少した脂質 - 脂質濃度比から選択され、濃度の上昇（複数可）が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質は表 4 ~ 5 中の増加した脂質 - 脂質濃度比から選択される。

本発明の方法または他の実施形態の任意の好ましい実施形態では、前記脂質降下薬物は P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーである。

【 0 0 1 9 】

本発明の方法は、循環している L D L のレベルを測定するステップをさらに含んでよい。投与後に L D L のレベルが上昇する場合、これにより、当該化合物が脂質降下薬物として有用ではないことが示される。逆に、投与後に L D L のレベルが低下する場合、これにより、当該化合物が脂質降下薬物として有用であることが示される。

あるいは、本発明の方法は、P C S K 9 が L D L 受容体に結合することを妨げる化合物の能力を測定するステップをさらに含んでよい。投与後に化合物により P C S K 9 が L D L 受容体に結合することが妨げられない場合、これにより、当該化合物が脂質降下薬物として有用ではないことが示される。投与後に化合物により P C S K 9 が L D L 受容体に結合することが妨げられる場合、これにより、当該化合物が脂質降下薬物として有用であることが示される。

さらなる実施形態では、本発明は、P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーの特異性を決定するための方法であって、対象由来の試料中の 1 つまたは複数の脂質の濃度または脂質 - 脂質濃度比を対照と比較するステップであって、前記 1 つもしくは複数の脂質または 1 つもしくは複数の脂質 - 脂質濃度比が表 2 ~ 5 中の脂質および脂質 - 脂質濃度比から選択され、対照が P C S K 9 機能喪失型変異を有する 1 つまたは複数の対象に由来する試料または値であるステップを含む方法に関する。

この方法の代替の実施形態では、対照は、P C S K 9 機能喪失型脂質プロファイルを有する1つまたは複数の対象に由来する試料または値である。P C S K 9 機能喪失型脂質プロファイルは、対照から1つもしくは複数の脂質の濃度（複数可）または脂質 - 脂質濃度比を決定することによって生成することができる。

この方法のさらに別の代替的な実施形態では、対照は、公知の特異的なP C S K 9 阻害剤 / サイレンサーを用いて治療された1つまたは複数の対象に由来する試料または値である。

#### 【0020】

この方法に従って試料中の前記1つもしくは複数の脂質または1つもしくは複数の脂質 - 脂質濃度比と対照中の前記1つもしくは複数の脂質または1つもしくは複数の脂質 - 脂質濃度比の間に差異がないことにより前記P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーを用いた治療の特異性が示される。逆に、試料中の前記1つもしくは複数の脂質または1つもしくは複数の脂質 - 脂質濃度比と対照中の前記1つもしくは複数の脂質または1つもしくは複数の脂質 - 脂質濃度比の間に差異があることにより前記P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーまたは化合物によって引き起こされる非特異的な影響、例えば、1つまたは複数の有害な副作用などが示される。

この方法の好ましい実施形態では、濃度の低下（複数可）が対照と比較される1つまたは複数の脂質は表4～5中の減少した脂質および脂質 - 脂質濃度比から選択され、濃度の上昇（複数可）が対照と比較される1つまたは複数の脂質は表4～5中の増加した脂質および脂質 - 脂質濃度比から選択される。

#### 【0021】

本明細書において記載され、特許請求されている本発明の全ての態様および実施形態に関連して、比較が行われる前記対象は、(a) P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーもしくはP C S K 9 を標的とする別の化合物を用いた治療を受けている患者；(b) P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーもしくはP C S K 9 を標的とする別の化合物を用いた治療を受けている試験動物；(c) P C S K 9 阻害剤 / サイレンサー以外の脂質降下薬物を用いた治療を受けている患者もしくは試験動物、または(d) P C S K 9 阻害剤 / サイレンサー、P C S K 9 を標的とする別の化合物もしくはP C S K 9 阻害剤 / サイレンサー以外の脂質降下薬物を用いた治療を受けたことがなく、現在も受けていない患者もしくは試験動物であってよい。

脂質降下薬物（例えば、P C S K 9 阻害剤 / サイレンサー）を用いた治療の有効性を決定するもしくは有効性を予測するため、脂質降下薬物治療（例えば、P C S K 9 阻害剤 / サイレンサー）に対する対象の適合性を決定するため、または脂質降下薬物（例えば、P C S K 9 阻害剤 / サイレンサー）として有用である化合物を同定するための、本明細書に開示されている方法に関して、比較が行われる対照は、同じ対象から、P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーを用いた治療の前にまたは前記治療を中断している間に得た対照試料であってよい。

#### 【0022】

本発明の目的に関して、対照試料は、(a) 患者の群から、例えば、集団由来の種々の試料を混合することによって得ることもできる。患者の群を使用する場合、次いで、集団由来のいくつかの脂質プロファイルを組み合わせ、この組合せからリポドミックマーカを創出する。本明細書において記載され、かつ / または特許請求されている方法の目的として、対象由来の試料中の個々の脂質のレベルもしくは量または脂質 - 脂質濃度比を対照における脂質のレベルもしくは量または脂質 - 脂質濃度比と比較する。

一実施形態では、比較が行われる対照は、以前にP C S K 9 阻害剤 / サイレンサーを用いて治療されていない1つまたは複数の健康な対象から確立された対照値であってよい。比較が行われる対照は、患者集団由来の試料の組合せを表す試料であってよい。あるいは、対照は、P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーを用いた治療を受けていない1つまたは複数の健康な対象から確立された対照値であってよい。別の代替として、対照は、本発明によるリポドミックマーカに関わるデータのセット、例えば、P C S K 9 遺伝子に任意の

10

20

30

40

50

機能喪失型変異、例えば R 4 6 L ( r s 1 1 5 9 1 1 4 7 ) などを有する 1 つまたは複数の対象由来の対照試料から取得した場合の試料中の本発明による脂質 ( 複数可 ) の濃度または脂質 - 脂質濃度比 ( 複数可 ) に関する情報であってよい。別の代替として、対照は、P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーを用いた治療中であり、薬剤誘発性オフターゲット効果の徴候または履歴がない 1 つまたは複数の対象から確立された対照値であってよい。

前記情報、したがって対応するデータのセットは、以前に決定、算出または推定されたものであってもよく、まだ決定、算出または推定されていないものであってもよく、文献から取得したものであってもよい。

対照試料は、血液、血漿、血清、尿または組織、またはそのリポタンパク質画分であることが好ましい。

#### 【 0 0 2 3 】

本発明の全ての態様および実施形態に関して、本明細書において特許請求され、かつ / または記載されている任意の方法は、前記対象または前記対象由来の試料における L D L コレステロールのレベルを決定または評価するステップをさらに含んでよい。一実施形態では、対象の L D L コレステロールレベルは低下している。

本発明の方法によると、試料は、血液、血漿、血清、または尿であってよい。試料は、血液、血漿、血清または尿の画分、例えば、リポタンパク質画分であってよい。血液試料を調製することができ、それから当業者に周知の技法を用いて血漿または血清、またはその画分を分離することができる。あるいは、対象由来の試料と対照試料の両方が組織試料 ( 例えば、組織生検材料 ) またはそのリポタンパク質画分であってよい。別の代替では、試料は、任意の哺乳動物細胞 ( 例えば、赤血球 ) であってよい。

#### 【 0 0 2 4 】

本発明の方法によるリポドミックマーカ ( すなわち、本明細書において記載され、特許請求されている脂質、脂質濃度、またはリポドミックマーカの組合せ ) に関する情報を対象の試料から収集すること、および対照試料からも収集することは、種々の化学的な高分解能分析技法によって実施することができる。特に適切な分析技法としては、これだけに限定されないが、質量分析法および核磁気共鳴分光法が挙げられる。実際に、個々の脂質または脂質のクラスを分解することおよびそれを使用して構造的な情報をもたらすことができる任意の高分解能技法を使用して、対象の試料から、および対照試料からも本発明によるリポドミックマーカを決定することができる。したがって、本発明の方法の目的に関しては、脂質濃度 ( 複数可 ) または脂質比 ( 複数可 ) は、質量分析法を使用することによって決定されることが好ましい。しかし、核磁気共鳴分光法、蛍光分光法もしくは二面偏波式干渉法、H P L C もしくは U P L C などの高性能分離方法、E L I S A などのイムノアッセイおよび / または脂質分析物に特異的に結合することができる結合部分の使用も、この点について有用である。

上に示されている通り、本発明の方法の代替のまたは別の実施形態に従って、試料中の脂質分析物を、分析物を分析物に特異的に結合することができる結合部分と結合させることによって検出し、かつ / または数量化することができる。結合部分は、例えば、リガンド - 受容体対、すなわち、特異的な結合相互作用を有することができる分子の対のメンバーを含んでよい。結合部分は、例えば、抗体 - 抗原、酵素 - 基質、核酸に基づくリガンド、他のタンパク質リガンド、または当技術分野で公知の他の特異的な結合対などの特異的な結合対のメンバーも含んでよい。

特に好ましい実施形態では、質量分析法 ( M S ) を用いて本発明のリポドミックマーカを決定し、M S 計器は、直接注入法および H P L C もしくは U P L C などの高性能分離方法と連結されてもよい。収集された脂質プロファイルを対照と比較する際に、収集されたリポドミックマーカにおける個々の脂質または脂質のクラスの量を使用する。

#### 【 0 0 2 5 】

本発明は、療法において使用するための P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーも包含する。そのような療法は、抗コレステロール血症の治療であることが好ましい。同様に、そのような療法により、アテローム性動脈硬化症、冠動脈疾患、急性心筋梗塞および / または脳

10

20

30

40

50

卒中などの心血管疾患のリスクが低下する、またはそれが治療されることが好ましい。本発明のこの態様に関しては、前記 P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーにより、対象における表 2 ~ 5 中の減少した脂質から選択される 1 つまたは複数の脂質の濃度が低下する。対応する治療方法も同様に包含される。

好ましい実施形態では、前記 P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーにより、対象における表 4 ~ 5 中の減少した脂質から選択される 1 つまたは複数の脂質が減少する。

代替の実施形態では、前記 P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーにより、対象における表 2 ~ 5 中の増加した脂質から選択される 1 つまたは複数の脂質が増加する。好ましい実施形態では、前記 P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーにより、対象における表 4 ~ 5 中の増加した脂質から選択される 1 つまたは複数の脂質が増加する。

10

#### 【 0 0 2 6 】

さらなる代替的な実施形態では、前記 P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーにより、表 2 ~ 5 中の減少した脂質 - 脂質濃度比から選択される 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が減少する。好ましい実施形態では、前記 P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーにより、表 4 ~ 5 中の減少した脂質 - 脂質濃度比から選択される 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が減少する。

さらに別の代替的な実施形態では、前記 P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーにより、表 2 ~ 5 中の増加した脂質 - 脂質濃度比から選択される 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が増加する。好ましい実施形態では、P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーにより、表 4 ~ 5 中の増加した脂質 - 脂質濃度比から選択される 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が増加する。

20

#### 【 0 0 2 7 】

本発明の目的に関して、P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーは、( a ) 1 つまたは複数の P C S K 9 に対する抗体、( b ) P C S K 9 の阻害薬物、( c ) L D L - 受容体と P C S K 9 の相互作用を阻害する小分子；( d ) L D L - 受容体の P C S K 9 との相互作用ドメインを模倣するペプチド、( e ) P C S K 9 に特異的な 1 つまたは複数の s i R N A、および / または ( e ) P C S K 9 に特異的な 1 つまたは複数のアンチセンスヌクレオチドから選択することができる。本発明の目的に関して、P C S K 9 に対する抗体が、脂質降下薬、または P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーとして特に好ましい。

脂質降下薬を用いた治療の有効性を予測または決定するための、表 2 ~ 5 において定義されている脂質のいずれか 1 つまたは脂質 - 脂質濃度比の脂質のいずれか 1 つに対する抗体の使用も、本発明に包含される。好ましい実施形態では、抗体は、表 4 ~ 5 において定義されている脂質のいずれか 1 つまたは脂質 - 脂質濃度比の脂質のいずれか 1 つに対する抗体である。対応する治療方法も同様に包含される。好ましい実施形態では、脂質降下薬物は P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーである。

30

対象における P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーを用いた治療に起因する 1 つまたは複数の有害な副作用を予防または治療するための、表 2 ~ 5 において定義されている脂質のいずれか 1 つまたは脂質 - 脂質濃度比の脂質のいずれか 1 つに対する抗体の使用も本発明の一部である。好ましい実施形態では、抗体は、表 4 ~ 5 において定義されている脂質のいずれか 1 つまたは脂質 - 脂質濃度比の脂質のいずれか 1 つに対するものである。対応する治療方法も同様に包含される。

40

本発明の目的に関して、P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーを用いた治療に起因する、またはそれによって引き起こされる有害な副作用は肝毒性であり得る。

#### 【 0 0 2 8 】

本明細書において記載され、かつ / または特許請求されている方法および使用を実施するためのキットであって、試薬および参照化合物を含むキットも、本発明に包含される。参照化合物は、これだけに限定されないが、以下の 1 つまたは複数であってよい：( a ) 表 2 ~ 5 中の脂質から選択される標準脂質 ( 複数可 )、( b ) 1 つまたは複数の対照マーカー ( 例えば、1 つまたは複数の脂質から、好ましくは本明細書において記載され、かつ / または特許請求されているリピドミックマーカーのいずれかに対応する脂質、または他

50

の脂質（複数可）、例えば、総PC、または別の分子、例えば、タンパク質、c) 陽性対照および/または陰性対照、d) 内部標準物質および/または外部標準物質、e) 校正線対照、(f) 表2～5中の脂質のいずれか1つに結合することができる抗体または他の結合部分。試薬は、前記方法または使用を実施するために有用な溶液（複数可）、溶媒（複数可）、および/または緩衝液（複数可）である。

#### 【0029】

本発明の一実施形態では、本明細書において記載され、かつ/または特許請求されている方法を実施するためのキットであって、試薬および参照化合物を含むキットが提供される。参照化合物は、これだけに限定されないが、以下の1つまたは複数であってよい：(a) 表2～5において定義されている脂質から選択される標準脂質（複数可）、場合によ

10

って、(b) 1つまたは複数の対照マーカ（例えば、1つまたは複数の脂質から、好ましくは本明細書において記載され、かつ/または特許請求されているリピドミックマーカのいずれかに対応する脂質、または別の脂質（複数可）、例えば、総PC、または別の分子、例えば、タンパク質）、(c) 陽性対照および/または陰性対照、(d) ヒトにおける化学修飾された分子、タグが付けられた分子または内在しない分子であってもなくてもよい、内部標準物質および/または外部標準物質、(e) 校正線対照、および(f) 表2～5中の脂質のいずれか1つに結合することができる抗体であってもよい作用剤から選択される1つまたは複数の別の参照化合物、ならびに(g) 前記方法または使用を実施するための試薬（複数可）。

#### 【0030】

本発明による好ましいキットは、例えば、上で列挙されている構成物の以下の組合せを含む：(a) および(b)、場合によって(g)；(a) および(c)、場合によって(g)；(a) および(d)、場合によって(g)；(a) および(e)、場合によって(g)；(a) および(f)、場合によって(g)；(a)、(b) および(c)、場合によって(g)；(a)、(b) および(d)、場合によって(g)；(a)、(b) および(e)、場合によって(g)；(a)、(b) および(f)、場合によって(g)；(a)、(c) および(d)、場合によって(g)；(a)、(c) および(e)、場合によって(g)；(a)、(c) および(f)、場合によって(g)；(a)、(d) および(e)、場合によって(g)；(a)、(d) および(f)、場合によって(g)；または(a)、(e) および(f)、場合によって(g)。

30

好ましい一実施形態では、特許請求されているキットの1つまたは複数の対照マーカ（複数可）は、臨床の場で定期的に測定される分子（複数可）である。例えば、1つまたは複数の前記対照マーカ（複数可）がapoA、apoB、アルブミンまたは総PC、またはそれらの組合せである実施形態が好ましい。

キットは、本発明の目的のいずれかのために使用され、そこで、対象由来の試料中の脂質濃度（複数可）、脂質比（複数可）またはその脂質の組合せ（複数可）を、質量分析法を使用することによって決定することが好ましい。試料は、質量分析法の前に精製および/または他の試料前調製ステップ（複数可）に供されてよい。精製ステップは、これだけに限定されないが、クロマトグラフィー、例えば、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）、超高速液体クロマトグラフィー（ultra performance liquid chromatography）（UPLC）および/または超高速液体クロマトグラフィー（ultra high performance liquid chromatography）（UHPLC）であってよい。試料前調製ステップは、これだけに限定されないが、固相抽出（SPE）、誘導体化、液液抽出、および/またはリポタンパク質分画であってよい。前記質量分析法による決定は、タンデム質量分析法によって行うことができる。

40

#### 【0031】

代替の好ましい実施形態では、キットを使用し、対象由来の試料中の脂質濃度（複数可）、脂質比（複数可）またはその脂質の組合せ（複数可）を、酵素結合免疫吸着検定法（ELISA）を使用することによって決定する。

50

本発明の別の実施形態では、本発明の方法を実施するためのイムノアッセイにおいて使用することができるキットが提供される。例示的なキットは、これだけに限定されないが、(a)表2～5中の脂質のいずれか1つに結合することができる抗体(複数可)、および、場合によって、以下の1つまたは複数:

- (b) 前記酵素に特異的な基質、
- (c) 停止液、
- (d) 表2～5中の脂質のいずれかに結合することができる抗体(複数可)でコーティングされたアッセイプレート、
- (e) 標準物質(複数可)および/または較正線用標準物質(複数可)、ならびに
- (f) アッセイを実施するために必要な緩衝液および/または試薬を含む。

10

#### 【0032】

別の例示的なキットは、これらに限定されないが、

(a) 酵素とコンジュゲートした、表2～5中の脂質のいずれか1つに結合することができる抗体(複数可)、および、場合によって、以下の1つまたは複数:

- (b) 前記酵素に特異的な基質、
- (c) 停止液、
- (d) 表2～5中の脂質のいずれかに結合することができる抗体(複数可)でコーティングされたアッセイプレート、
- (e) 標準物質(複数可)および/または較正線用標準物質(複数可)、ならびに
- (f) アッセイを実施するために必要な緩衝液および/または試薬を含む。

20

別の例示的なキットは、これらに限定されないが、

(a) 酵素とコンジュゲートした表2～5中の脂質のいずれか1つ(複数可)、および、場合によって、以下の1つまたは複数:

- (b) 前記酵素に特異的な基質、
- (c) 停止液、
- (d) 表2～5中の脂質のいずれかに結合することができる抗体(複数可)でコーティングされたアッセイプレート、
- (e) 標準物質(複数可)および/または較正線用標準物質(複数可)、ならびに
- (f) アッセイを実施するために必要な緩衝液および/または試薬を含む。

30

#### 【0033】

別の例示的なキットは、これらに限定されないが、

(a) 検出可能な標識、例えば、ビオチンとコンジュゲートした、表2～5中の脂質のいずれか1つに結合することができる抗体(複数可)、および、場合によって、以下の1つまたは複数:

- (b) 前記酵素に特異的な基質、
- (c) 停止液、
- (d) 表2～5中の脂質のいずれかに結合することができる抗体(複数可)でコーティングされたアッセイプレート、
- (e) 標準物質(複数可)および/または較正線用標準物質(複数可)、ならびに
- (f) アッセイを実施するために必要な緩衝液および/または試薬を含む。

40

#### 【0034】

さらに別の例示的なキットは、これらに限定されないが、

(a) 検出可能な標識とコンジュゲートした表2～5中の脂質のいずれか1つ(複数可)、および場合によって以下の1つまたは複数:

- (b) 前記酵素に特異的な基質、
- (c) 停止液、

50

(d) 表 2 ~ 5 中の脂質のいずれかに結合することができる抗体 (複数可) でコーティングされたアッセイプレート、

(e) 標準物質 (複数可) および / または較正線用標準物質 (複数可)、ならびに

(f) アッセイを実施するために必要な緩衝液および / または試薬を含む。

上記の実施形態による好ましいキットは、例えば、上で列挙されている構成物の以下の組合せを含む：(a) および (b)；(a) および (c)；(a) および (d)；(a) および (e)；(a) および (f)；(a)、(b) および (c)；(a)、(b) および (d)；(a)、(b) および (e)；(a)、(b) および (f)；(a)、(c) および (d)；(a)、(c) および (e)；(a)、(c) および (f)；(a)、(d) および (e)；(a)、(d) および (f)、(a)、(e) および (f)、(a)、(b)、(c) および (d)；(a) (c)、(d) および (e)；(a)、(d)、(e) および (f)；(a)、(b)、(c)、(d) および (e)；または (a)、(c)、(d)、(e) および (f)。

10

#### 【0035】

上記の実施形態のキットの別の好ましい例では、キットは、酵素とコンジュゲートしており、上記の実施形態の (a) の抗体に結合することができる抗体をさらに含む。

上記の実施形態のキットのさらに好ましい例では、キットは、検出可能な標識、例えば、ビオチンまたは蛍光標識とコンジュゲートしており、上記の実施形態の (a) の抗体に結合することができる抗体をさらに含む。

20

上記の実施形態のキットのさらに好ましい例では、キットは、上記の実施形態の (a) の抗体上の検出可能な標識に特異的である、タンパク質とコンジュゲートした酵素、例えば、ストレプトアビジンとコンジュゲートしたアルカリホスファターゼをさらに含む。

#### 【0036】

本発明は、本明細書において記載され、特許請求されている方法を実施するための、本発明のキットの使用も含む。この点で使用されるキットは、競合 E L I S A であってよく、

(a) 表 2 ~ 5 中の脂質のいずれか 1 つに対する抗体 (複数可) または抗血清、

(b) 酵素とコンジュゲートした、表 2 ~ 5 中のいずれか 1 つの脂質のいずれか 1 つ (複数可)、

30

(c) 標準物質 (複数可) および / または較正線用標準物質 (複数可)、

(d) 抗体に結合することができる抗体、例えば、ウサギ I g、ヤギ I g、マウス I g、モルモット I g、ラット I g、またはヒツジ I g に結合することができる抗体でコーティングされたアッセイプレート、

(e) 前記酵素に特異的な基質、

(f) 停止液、ならびに

(g) 前記方法または使用を実施するための試薬 (複数可)

を含む。

一例では、標準物質 (複数可) および / または較正線用標準物質 (複数可) は、表 2 ~ 5 中の脂質のいずれか 1 つで定義されている脂質から選択される標準脂質 (複数可) である。

40

#### 【0037】

この競合 E L I S A キットの例示的な使用は以下の通りである：

1. アッセイプレートのウェルを、ウサギ抗体に結合することができる抗体でコーティングする。

2. 試料をウェルに加え、場合によって較正線用標準物質 (複数可) を他のウェルに加える。

3. アルカリホスファターゼとコンジュゲートした表 2 ~ 5 中の脂質のいずれか 1 つの溶液を加え、その後、表 2 ~ 5 中の脂質のいずれか 1 つに結合することができるウサギポリクローナル抗体を加える。

50

4. 試料のインキュベート中にウサギポリクローナル抗体が、試料またはコンジュゲート中の表2～5中の脂質のいずれか1つに競合的に結合する。

5. プレートを洗浄し、結合した試料またはコンジュゲート中の脂質のみを残す。

6. 脂質コンジュゲート上のアルカリホスファターゼによって触媒されると呈色反応を生じる特異的な基質溶液を加える。

7. 反応を、特異的な停止液によって停止させ、各ウェルにおける色の発生を適切な光の長さ、例えば405nmにおいて読み取る。

8. 競合ELISAでは、色の強度は試料中の脂質の量に間接的に比例する。

#### 【0038】

本発明のキットの全てに、全てが本明細書で定義されている通り、(i)対象における脂質降下薬物を用いた治療の有効性を決定するため、(ii)対象における脂質降下薬物を用いた治療の有効性を予測するため、(iii)脂質降下薬物治療に対する対象の適合性を決定するため、(iv)脂質降下薬物として、もしくは心血管疾患およびその合併症を治療するために有用である化合物を同定するため、または(v)PCSK9阻害剤/サイレンサーの特異性を決定するためにそれを使用するための説明書が付随してよい。

10

#### 【0039】

本明細書に記載され、特許請求された本発明の全ての態様および実施形態に関して、脂質濃度(複数可)または脂質比(複数可)の決定は、一般には、アッセイを使用して実施される。

#### 【0040】

本明細書で提示されている本発明の教示に関して適用された当該技術および方法は、とりわけ以下の基準に起因して当分野の同様の試みとは区別される。試料の調製では、不適切な取扱いから生じる可能性がある潜在的な人為的結果を回避するために試料を厳密に制御し、等しく処理する。本発明に関連して、試料は、氷上でゆっくりと慎重に解凍され、その後、直接、液体の取扱いにおいて現在最も精度が高い特注の自動脂質抽出に供され、したがって、潜在的な誤差が最小になる。さらに、脂質安定性に劇的に影響を及ぼし得るので、試料凍結融解サイクルを厳密に制御する。自動脂質抽出は、クロロホルムおよびメタノールを使用するFolchおよび共同研究者による方法に基づく(Folch J, et al: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J Biol Chem 1957, 226(1):497-509)。この方法は、極性から非極性までの広範囲の脂質クラスを最適な回収率で、したがって、脂質種の喪失を防止して抽出すべき場合に好ましい。適用可能である場合、脂質クラスに特異的な非内在性脂質を内部標準物質として使用して、モニタリングされた分子脂質種の同定(偽陽性を最小にして)および数量化において最も高い精度を得た。この方法では、内在性分子脂質の絶対的または半絶対的な量を最も高い精度で決定し、これは現在の技術を用いて実現することができる。内在性脂質およびそれぞれの標準物質を分子脂質レベルでモニターした。このように、偽陽性同定を最小限にするだけでなく、分子脂質を正確に決定し数量化することができた。分析の質を新規の品質管理システムを使用して厳密に制御した。これは、主に、多数の内部標準物質(IS)、外部標準物質(ES)、IS/ES比、および計器対照試料によって制御した。これらの構成成分を厳密に制御することにより、技術的外れ値および生物学的外れ値を容易に同定し、さらなる分析から除いた。各分子脂質について感度、選択性および数量化において最良の精度を得るために、種々の標的化プラットフォームを使用した。いくつかの脂質は、質量分析法に基づく多数の反応モニタリング(MRM)と組み合わせた高速液体クロマトグラフィー(HPLC)、超高速液体クロマトグラフィー(UPLC)または超高速液体クロマトグラフィー(UHPLC)を使用して最もよく分析され、他の脂質は、質量分析法に基づくプレカーサーイオンスキミング(precursor ion scanning)およびニュートラルロススキミング(neutral loss scanning)技法と組み合わせた直接注入によって最もよく分析された。

30

40

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0041】

50

【図1】CVD合併症に起因して死亡した患者と安定CADの患者の間(A)、R46L機能喪失型変異の保有者と対照の間(B)、アトルバスタチンを用いた治療後の患者と治療前の同じ患者の間(C)、およびシンバスタチンを用いた治療後の患者と治療前の同じ患者の間(D)の脂質濃度の百分率の変化の平均を示すグラフである。Cerはセラミドであり、LacCerはラクトシルセラミドである。

【図2】特異的なPCSK9阻害によって引き起こされる脂質変化(PCSK9機能喪失遺伝子を1つ有する患者)を示すグラフである。脂質降下薬であるアトルバスタチンおよびシンバスタチンによって引き起こされる脂質変化も示されている。

【図3】通常固形飼料食またはウェスタン食を与えた(それぞれCおよびD)PCSK9<sup>-/-</sup>マウス(A)およびPCSK9<sup>+/+</sup>マウス(B)の、野生型(WT)と比較した血漿中の分子脂質平均濃度の百分率差を示すグラフである。有意性はスチューデントのt検定に基づく。各符号は、MSアプリケーションによって測定された特定のカテゴリーの脂質分子に対応する。

【図4】PCSK9遺伝子にR46Lバリエントを有するヒト男性CAD患者の、R46L変異を有さないCAD患者と比較した血漿中の分子脂質平均濃度の百分率差を示すグラフである。有意性はスチューデントのt検定に基づく。各点は、MSアプリケーションによって、または臨床的なキットによって測定された脂質分子に対応する。

【図5】本発明の一部の実施形態によるシステムの概略図である。具体的には、本図は、開示されているシステムおよび方法によるコンピュータシステム106の実行に使用することができる種々のハードウェア、ソフトウェア、およびその他のリソースを例示するものである。示されている実施形態では、コンピュータシステム106はオペレーティングシステムの制御下で、またはそれとの組み合わせで作動するランダムアクセスメモリに連結した1つまたは複数のプロセッサ110を含んでよい。複数の実施形態では、プロセッサ(複数可)110は1つまたは複数のサーバー、クラスター、または他のコンピュータもしくはハードウェアリソースに含まれていてもよく、クラウドベースのリソースを使用して実行されてもよい。オペレーティングシステムは、例えば、Linux(商標)オペレーティングシステム、Unix(商標)オペレーティングシステム、または他のオープンソースまたは所有権下のオペレーティングシステムまたはプラットフォームの配布であってよい。プロセッサ(複数可)110は、ハードドライブまたはドライブアレイ上に記憶されたデータベースなどのデータストア112と通信して、プログラム命令を他のデータにアクセスまたは記憶することができる。プロセッサ(複数可)110は、さらにネットワークインターフェース108を介して通信し、それが今度は1つまたは複数のネットワーク104、例えばインターネットまたは他の公的もしくは私的なネットワークを介して通信し、したがって、クライアント102、または他のデバイスもしくはサービスからクエリまたは他の要求を受信することができる。さらに、プロセッサ(複数可)110は、ネットワークインターフェース108を使用して、情報、命令、ワークフロークエリ部分ワークフロー、または他のデータをユーザーに1つまたは複数のネットワーク104を介して送信することができる。ネットワークインターフェース104は、1つまたは複数のサービスを含んでもよく、それに通信可能に連結されていてもよい。クライアント102は、例えば、インターネットに連結したパーソナルコンピュータであってよい。プロセッサ(複数可)110は、一般に、本明細書に開示されている方法を実行するための制御論理および制御作業が実行されるようにプログラムまたは設定されてよい。プロセッサ110は、さらに、コプロセッサ114に通信可能に連結(すなわち、通信チャンネルによって連結)してよい。コプロセッサ114は、本明細書に開示されている方法が実行されるように設定された専用のハードウェアおよび/またはファームウェア構成要素であってよい。したがって、本明細書に開示されている方法は、プロセッサ110および/またはコプロセッサ114によって実行することができる。コンピュータシステム106の他の設定、付随するネットワーク接続、および他のハードウェア、ソフトウェア、およびサービスリソースが可能である。

【発明を実施するための形態】

10

20

30

40

50

## 【0042】

## 定義

本明細書で使用されるいくつかの略語は以下の意味を有する：ADRは有害な薬物反応であり、MSは質量分析法であり、HPLCは高速液体クロマトグラフィーであり、UPLCは超高速液体クロマトグラフィーである。

冠状血管疾患/心血管疾患(CVD)は当技術分野におけるその一般的な意味を有し、体の心臓、心臓弁、血液、および脈管構造に影響を及ぼす多数の状態を分類するために使用される。心血管疾患としては、内皮機能障害、冠動脈疾患、狭心症、心筋梗塞、アテローム性動脈硬化症、うっ血性心不全、高血圧症、脳血管疾患、脳卒中、一過性脳虚血発作、深部静脈血栓症、末梢動脈疾患、心筋症、不整脈、大動脈弁狭窄症、および動脈瘤が挙げられる。そのような疾患には、頻繁にアテローム性動脈硬化症が伴う。本発明の好ましい実施形態では、心血管疾患はアテローム性動脈硬化症を伴う心血管疾患である。

CADは冠動脈疾患であり、AMIは急性心筋梗塞であり、ACSは急性冠状動脈症候群であり、CACは冠状動脈石灰化であり、RCTはコレステロール逆転送であり、LDLは低密度リポタンパク質であり、HDLは高密度リポタンパク質であり、LDL-Cは低密度リポタンパク質コレステロールであり、HDL-Cは高密度リポタンパク質コレステロールであり、ApoAはアポリポタンパク質Aであり、ApoBはアポリポタンパク質Bであり、ApoCはアポリポタンパク質Cであり、MSは質量分析法であり、HPLCは高速液体クロマトグラフィーであり、UPLCは超高速液体クロマトグラフィーである。

## 【0043】

本発明の目的に関して、脂質降下薬または薬剤は、PCSK9阻害剤またはサイレンサーであることが好ましい。

本明細書で使用される場合、対象とは、ヒトだけに限定することなく、非ヒト霊長類、イヌ、ネコ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ウシ、ウサギ、ブタおよびげっ歯類(例えば、マウスおよびラット)も含めた全ての哺乳動物を包含する。本発明による特に好ましい対象はヒトである。

本明細書で使用される場合、リスクが高い対象とは、一般には、薬効に影響を及ぼすまたは有害事象(例えば、甲状腺機能低下症、腎不全または肝疾患)のリスクを増加させる可能性がある疾患を有し、高薬物用量および/または多数の薬剤(薬物相互作用のリスクを引き起こす)を受けている対象、特にヒトである。

## 【0044】

試料は、本明細書で使用される場合、対象または対象の群もしくは集団から得た任意の生体試料と定義される。本発明の目的に関して、生体試料は、全血、血清、または血漿であってよく、血清および血漿が好ましい。患者の血液試料を取得することは、通常の臨床診察の一部である。血液試料は、例えば、患者のコレステロールレベルを測定することに関連して取得することができる。収集された血液試料は、当業者に周知の技法を用いて調製することができ、血清または血漿を分離することができる。静脈血液試料は、針およびBD Vacutainer(登録商標)Plastic TubeまたはVacutainer(登録商標)Plus Plastic Tube(BD Vacutainer(登録商標)SST(商標)Tubeはスプレーコーティングしたシリカ(silia)および血清分離用のポリマーゲルを含有する)を使用して患者から採取することができる。血清は、室温、1300RCFで10分遠心分離することによって分離し、小さなプラスチックチューブ中に入れて-80で保管することができる。試料は、全血、血漿または血清の画分、例えば、リポタンパク質画分であってもよい。別の好ましい実施形態では、試料は、組織試料、例えば、筋肉生検組織、または尿、またはその画分(例えば、リポタンパク質画分)であってもよい。

## 【0045】

本発明に従って比較が行われる対照中の脂質または他の分子は、本明細書では対照マーカーとも称される。

10

20

30

40

50

本明細書で使用される場合、対照とは、対照試料であってもよく、単に対照値であってもよい。対照が対照値である場合には、本発明の方法を開始する前にすでに決定、算出または推定されていてよいことが理解されよう。あるいは、対照値は、本発明の方法に従って前記1つもしくは複数の脂質の濃度（複数可）または前記1つまたは複数の脂質比（複数可）の決定を行った後に決定、算出または推定され得る。したがって、本発明による適切な対照値は文献から取得したものであり得ることが理解されよう。

本明細書で使用される場合、同じ対象由来または別の対象由来の対照試料への言及は、対照試料が前記対象から直接得られたものであることを意味し得る。しかし、その代わりに、対照試料が、前記対象から直接得たまたは取得した試料の物理的または化学的処理、例えば、遠心分離、分画、酵素による消化、沈殿などの結果として得られたものであることも意味し得る。本明細書における1つもしくは複数の対象由来、対象の群由来または対象の集団由来の対照試料への言及のいずれにも同じことが当てはまる。

#### 【0046】

1つもしくは複数の対象由来の対照試料、または対象の群由来の対照試料もしくは対象の集団由来の対照試料という用語は、本明細書で使用される場合、対照試料が、前記2つ以上の対象、対象の群または対象の集団を代表することを意味することがさらに好ましい。この場合、代表するとは、本発明に関して比較が行われる前記対照試料中の1つまたは複数の脂質の濃度（複数可）が、前記群または集団の対象由来の対応する個々の試料中の前記脂質（複数可）の平均濃度（複数可）に対応することを意味するものとする。前記対照試料中の全ての脂質の濃度が、前記群または集団の対象由来の対応する個々の試料中の前記脂質の平均濃度に対応することが好ましい。同様に、本発明に関して1つまたは複数の他の分子、例えば、他の脂質またはタンパク質、例えば、総PC、またはp o A、a p o B、またはアルブミンなどと比較を行う場合、それぞれ、代表する対照試料は、この（これらの）分子（複数可）の濃度（複数可）が、前記群または集団の対象由来の対応する個々の試料中の前記分子（複数可）の平均濃度（複数可）に対応する場合のものである。好ましい実施形態では、1つまたは複数の対象由来の対照試料、対象の群由来の対照試料または対象の集団由来の対照試料は、本発明の意味では、前記2つ以上の対象、群または集団の対象から直接得たまたは取得した等量の試料を混合することによって、または等量のその画分、構成物または反応生成物（例えば、酵素反応生成物または沈殿物）を混合することによって得られる。

#### 【0047】

本明細書で使用される場合、対照試料は、同じ種類の生体組織または供給源から、同じ、または基本的に同じ様式で得られた場合には、対象の試料に対応する。例えば、対象の試料が全血、血漿または血清試料、またはその画分である場合、対応する対照試料は、同様に、それぞれ全血、血漿または血清試料、またはその画分になる。そのような対応する対照試料は、対象の群もしくは集団由来の全血、血漿または血清試料、または特定のその画分を混合することによって得られる、全血、血漿または血清試料、またはその画分を含み得ることが理解されよう（本明細書および特許請求の範囲における、本発明による適切な対照試料に関するさらなる説明も参照されたい）。例えば、必要な変更を加えて、組織および尿試料に同じことが当てはまる。

対照試料と比較するという単語は、本明細書で使用される場合、対照試料が対象のリピドミックマーカに関して、すなわち、本発明の種々の態様および実施形態に関連して本明細書において具体的に記載され、かつ/または特許請求されている脂質（複数可）の1つまたは複数の濃度、脂質-脂質濃度比、または脂質-臨床濃度比、またはそれらの組合せに関して実際に分析される実施形態を包含するものと理解されよう。しかし、上記の単語は、前記対照試料中の前記リピドミックマーカに関する対応する情報が単に文献から取得されたもの、または以前に決定、算出または推定されたもの、または、まだ決定、算出または推定されていないものである実施形態も包含することが理解されよう。

#### 【0048】

コンピュータで実行される方法という用語は、本発明に関しては、目的を達するために

10

20

30

40

50

機械または装置を使用する方法を意味する。

プロセッサという用語は、命令を解釈し、実行することができるデバイスを意味する。詳細には、プロセッサは論理回路を用いて入力データを受信し、適切な出力データをもたらす。プロセッサはネットワークを介して互いに通信することができる。

脂質とは、本明細書で使用される場合、疎水性または両親媒性の小分子と定義される。

【0049】

本発明の目的に関して、脂質は、以下の命名法に従って呼ばれる：C Eはコレステリルエステルであり、D A Gはジアシルグリセロールであり、T A Gはトリアシルグリセロールであり、P Cはホスファチジルコリンであり、P C Oはアルキル連結P Cであり、P C Pはアルケニル連結P Cであり、L P Cはリゾホスファチジルコリンであり、P Eはホスファチジルエタノールアミンであり、P E Oはアルキル連結P Eであり、P E Pはアルケニル連結P Eであり、P Iはホスファチジルイノシトールであり、C e rはセラミドであり、G l c / G a l C e rはガラクトシル-またはグルコシルセラミドであり、L a c C e rはラクトシルセラミドであり、G b 3はグロボトリアオシルセラミドであり、S Mはスフィンゴミエリンであり、S 1 Pはスフィンゴシン-1-リン酸であり、S P Hはスフィンゴシンであり、S A 1 Pはスフィンガニン-1-リン酸であり、S P Aはスフィンガニンである。

命名法 X : Y は、X が分子の脂肪酸（複数可）部分の炭素原子の総数を示し、Y が分子の脂肪酸部分（複数可）の二重結合の総数を示す。

命名法 A / B は、D A G および P C の分子に関して、A 型および B 型の脂肪酸部分が分子のグリセロール骨格に付着していることを示す。

命名法 ( d C / A ) は、C e r、G b、G l c C e r、L a c C e r および S M の分子に関して、C はアミド連結を伴う長鎖塩基の種類を示し、A は脂肪酸部分を示す。

【0050】

対照と比較した「増加」、「減少」、または「差異」とは、本発明によると、それぞれ、( i ) 対象における脂質降下薬物を用いた治療の有効性を示すもの、( i i ) 対象における脂質降下薬物を用いた治療の有効性を予測するもの、( i i i ) 脂質降下薬物治療に対する対象の適合性を示すもの、( i v ) 脂質降下薬物として、または心血管疾患およびその合併症を治療するために有用である化合物を示すもの、または ( v ) P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーの特異性を示すものである。少なくとも 5 % の増加、減少または差異であることが好ましい。少なくとも 10 % の増加、減少または差異であることがより好ましい。他の好ましい本発明による対照と比較した増加、減少または差異は、少なくとも 15 %、より好ましくは少なくとも 20 %、なおより好ましくは少なくとも 25 %、50 %、75 % または 100 % の増加、減少または差異である。同様に、100 % 超の増加、減少または差異が特に好ましい。

【0051】

本発明の目的に関して、P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーは、P C S K 9 が L D L 受容体、特に肝臓に存在する L D L 受容体に結合することを妨げる分子である。本明細書で上記の通り、P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーは、( a ) P C S K 9 に対する抗体；( b ) P C S K 9 の阻害薬物；( c ) L D L - 受容体と P C S K 9 の相互作用を阻害する小分子；( d ) L D L - 受容体の P C S K 9 との相互作用ドメインを模倣するペプチド、( e ) P C S K 9、特に P C S K 9 m R N A に特異的な s i R N A；または ( f ) P C S K 9、特に P C S K 9 m R N A に特異的なアンチセンスオリゴヌクレオチドであることが好ましい。

好ましい実施形態では、P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーは、P C S K 9 が L D L 受容体に結合することを妨げる抗体である。そのような抗体は当技術分野で周知であり（例えば、全て参照により本明細書に組み込まれる W O 2 0 0 9 / 0 5 5 7 8 3、W O 2 0 0 8 / 0 6 3 3 8 2、W O 2 0 0 9 / 1 0 0 2 9 7、W O 2 0 0 8 / 1 2 5 6 2 3 または W O 2 0 0 9 / 0 2 6 5 5 8 を参照されたい）、本発明に関して適切に使用することができる。

。

10

20

30

40

50

## 【0052】

本明細書で使用される場合、抗体という用語は、前記脂質との特異的な結合を示すモノクローナル抗体およびポリクローナル抗体、全抗体、抗体断片、ならびに抗体サブ断片を包含する。したがって、適切な抗体は、任意のクラスの免疫グロブリン全体、例えば、IgG、IgM、IgA、IgD、IgE、二重または多数の抗原またはエピトープ特異性を有するキメラ抗体またはハイブリッド抗体、またはハイブリッド断片を含めた断片、例えば、F(ab')<sub>2</sub>、Fab'Fabなどであってよく、さらに、特異的な抗原に結合して複合体を形成することによって抗体のように作用する任意の免疫グロブリンまたは任意の天然、合成または遺伝子操作されたタンパク質を包含する。抗体という用語は、抗体の抗原結合性断片（例えば、単鎖抗体、単鎖可変ドメイン抗体、Fab断片、F(ab')<sub>2</sub>、Fd断片、Fv断片およびdAb断片）ならびに完全な抗体を包含する。例えば、E.coliのような遺伝的に形質転換した宿主においてFab分子を発現させ、組み立てることができる。したがって、先行抗体を生成する対象の多様性と等しいまたはそれを超える潜在的な多様性を有するFabの集団を発現させるために、ラムダベクターシステムが利用可能である。Huse WD, et al., Science 1989, 246:1275-81を参照されたい。そのようなFabは抗体の定義に含まれる。抗体断片またはサブ断片を含めた所与の分子の、抗体のように作用し、特異的な抗原に特異的に結合する能力は、当技術分野で公知の結合アッセイによって、例えば、対象の抗原を結合パートナーとして使用して決定することができる。

10

## 【0053】

本発明による脂質に対する抗体は、当業者に周知の方法によって調製することができる。例えば、マウスを、アジュバントを伴う脂質を用いて免疫化することができる。血清抗体価のために、隔週で試験出血を実施しながら免疫化を2週間おきに3回施したマウスから脾細胞をプールとして回収する。脾細胞を、融合実験にすぐに使用するか、今後の融合において使用するために液体窒素中で保管する3つの一定分量として調製する。

20

次いで、Stewart & Fuller, J. Immunol. Methods 1989, 123:45-53の手順に従って融合実験を実施する。成長しているハイブリッドのウェル由来の上清を、前記脂質をコーティングした96ウェルELISAプレート上で酵素結合免疫吸着検定法(ELISA)によってモノクローナル抗体(MAb)分泌腺についてスクリーニングする。ELISA陽性培養物を限界希釈によってクローニングし、一般には、2回の段階的なクローニング実験の後に単一のコロニーからハイブリドーマが確立される。

30

本明細書で使用される場合、小分子という用語は、低分子量の有機化合物を指す。本発明による小分子の分子量の上限は2,500ダルトンであることが好ましく、1,500ダルトンであることがより好ましく、800ダルトンであることが特に好ましい。本発明の小分子のサイズおよび電荷は、細胞膜を渡って急速に拡散することが可能になり、したがって、小分子が細胞内の作用部位に到達することができるようなものであることが好ましい。

PCSK9の阻害薬物は、本明細書で使用される場合、小分子であってよい。しかし、PCSK9の阻害薬物は、ポリマー、例えば、抗体以外のポリペプチド、糖タンパク質、プロテオグリカン、核酸、例えば、アプタマー、炭水化物、または脂質であってよい。

40

## 【実施例】

## 【0054】

## (例1)

## 材料および方法

野生型(Wt)動物、PCSK9ホモ接合体ノックアウト(Pcsk9<sup>-/-</sup>)動物、およびPCSK9ヘテロ接合体ノックアウト(Pcsk9<sup>+/-</sup>)動物由来の血漿試料をリピドミック分析のために使用した。各群は3ヶ月齢の雄のマウス18匹を有した。3ヶ月齢までマウスは同じ通常固形飼料食を受けていた(0日目)。その後、マウスにまず通常固形飼料食(regular chow-diet)(2018 Teklad Global, Harlan Laboratories)を2週間与えた後、各群から3匹

50

のマウスを組織試料採取のために屠殺した(15日目)。残りのマウスについて、標準ウェスタン食(Western diet)(TD.88137 Harlan Teklad)に切り換えて2週間後に残りのマウス全てを屠殺した(30日目)。ウェスタン食は糖、脂肪、およびコレステロールをそれぞれ34%、21%、および0.2%含有し、通常固形飼料食は、これらの成分をそれぞれ5%、6%、および0%含有した。

#### 【0055】

マウスを、出血前4時間にわたって絶食させた。EDTAを含有する500 $\mu$ lのマイクロコンテナ(BD)を使用して約250 $\mu$ lの頬出血を抜き取った。血液試料を4、3000rpmで15分遠心分離した。上清(50~100 $\mu$ l)をきれいなエッペンドルフチューブに移した。リポドミック分析前に、試料採取したらすぐに試料を凍結し、-80で保管した。

ショットガンリポドミック分析に関して、マウス血漿10 $\mu$ lを脂質抽出のために使用した。セラミドおよびセレブロシドを数量化するために、マウス血漿50 $\mu$ lを脂質抽出のために使用した。この試験設計により、通常固形飼料とウェスタン食の両方に関して完全な(-/-)PCSK9阻害または部分的な(+/-)PCSK9阻害によって誘導される典型的なリポドミックプロファイルを決定することが可能になった。

#### 【0056】

(例2)

材料および方法

この試験は、心血管疫学に関する大規模前向き試験であるLURIC試験のサブコホートである。LURICデータベースは、ベースラインの冠動脈造影および日常的な臨床検査室データを含めた、3000例の患者に関する臨床情報を含む。この試験では、既知の機能喪失型変異(R46L、rs11591147, Abifadel, M. et al. 2003. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. Nat Genet 34: 154-156)を有する対象のリポドミックプロファイルと、PCSK9機能が正常である、主要対立遺伝子を有する対象のリポドミックプロファイルを比較した。この比較により、発明者がPCSK9の部分的な欠乏によって誘導される典型的なリポドミックプロファイルを決定することが可能になった。臨床的特性が表1に記載されている。

#### 【0057】

【表1】

表1.リポドミクスを用いて分析したLURIC患者についてのバックグラウンド特性

変数	対照(n=541)	症例(n=12)
年齢(平均)	65.1	66.3
LDL-C (mg/dL)	116.8	108.3
HDL-C (mg/dL)	36.8	38.2
脂質降下使用者	248	2

#### 【0058】

分析方法

質量分析駆動リポドミクス

タンデム質量分析法と併せた直接注入、すなわちショットガンリポドミクス、トリアシルグリセロールリポドミクス、および液体クロマトグラフィータンデム質量分析(LC-MS/MS)手法、すなわちセラミドおよびセレブロシドおよびスフィンゴシン(sphingosine)リポドミクスを使用して、PCSK9濃度の減弱の影響を、ヒト血清およびマウス血清中の分子脂質種を分析することによって同定した。適用した方法は、特に、分子コレステリルエステル(CE)、遊離コレステロール(FC)、ホスファチジルコリン(PC)、リゾホスファチジルコリン(LPC)および他のリゾリン脂質(LPL)、アルキル連結ホスファチジルコリンおよびアルケニル連結ホスファチジルコリン(それぞれPC-OおよびPC-P)および他のアルキル連結リン脂質およびアルケニル連結リ

ン脂質（それぞれPL OおよびPL P）、ホスファチジルセリン（PS）、ホスファチジルエタノールアミン（PE）、ホスファチジルグリセロール（PG）、ホスファチジリンイノシトール（PI）、ホスファチジン酸（PA）、ジアシルグリセロール（DAG）、トリアシルグリセロール（タグ）、セラミド（Cer）、グルコシル/ガラクトシルセラミド（Glc/GalCer）、ラクトシルセラミド（LacCer）、グロボトリアシルセラミド（Gb3）、スフィンゴシン（SPH）、スフィンゴシン-1-リン酸（S1P）、スフィンガニン（SPA）、およびスフィンガニン-1-リン酸（SA1P）の数量化について最適化した。

#### 【0059】

方法に従って以下の材料を使用した。高速液体クロマトグラフィー（HPLC）またはLC-MSグレードのクロロホルム、メタノール、水、アセトニトリル、ギ酸、メタノール、イソプロパノール、酢酸アンモニウム、酢酸、塩化カリウムおよびブチル化ヒドロキシトルエン（BHT）はSigma-Aldrich（St. Louis, MO, USA）から購入した。

#### 【0060】

セラミドおよびセレブロシドリピドミクスでは、超高速液体クロマトグラフィー（UHPLC）カラム（Acquity BEH C18、2.1×50mm、id.1.7μm）をWaters（Milford, MA, USA）から購入した。HPLCプレカラム（Widepore C18 4×2.0mm）をPhenomenex（Torrance, CA, USA）から購入した。スフィンゴシンおよびスフィンゴシン-1-リン酸（リン酸（phosphate））リピドミクス、親水性相互作用液体クロマトグラフィー（HILIC）カラム（Atlantis HILIC 3mm 2.1×50mm）およびHPLCグレードカラム（Atlantis HILIC 3mm 2.1×10mm）をWaters（Milford, MA, USA）から購入した。抽出のために使用した実験器具は全てクロロホルムに対して抵抗性であった。エアロゾル抵抗性フィルターチップ（Molecular BioProducts）およびエッペンドルフ2mlセーフロックチューブ、96ウェルtwin.tec PCRプレート、およびPierce-it-lite thermo-sealing foilをVWR International（West Chester, PA, USA）から購入した。CO-RE Filet Tipおよび96ウェル2ml Whatman UniplatesをHamilton Robotics（Bonaduz, Switzerland）から購入した。合成標準脂質をAvanti Polar Lipids（Alabaster, AL, USA）、Matreya（Pleasant Gap, PA, USA）、およびCayman Chemical（Ann Arbor, MI, USA）から購入した。

#### 【0061】

脂質を、以下のプロトコールに従ってクロロホルム：メタノール中に抽出した。データの正規化および内在性脂質の数量化のために、試料に既知量の非内在性合成内部標準物質をスパイクした。抽出後スパイク非内在性合成外部標準物質を品質管理のために使用した。標準物質のストック溶液を、適切に秤量した各標準物質をクロロホルム：メタノール（2：1、v/v）中に溶解させて500μMまたは1000μMの最終濃度を実現することによって調製した。標準物質ストックのそれぞれを含有する内部標準物質混合物を創出し、脂質抽出において使用した。

#### 【0062】

ショットガンおよび/またはトリアシルグリセロールリピドミクスおよび/または遊離コレステロールの数量化のためにヒト血漿およびマウス血漿10μlを使用し、セラミドおよびセレブロシドリピドミクスならびに/またはスフィンゴシンおよびスフィンゴシン-1-リン酸（リン酸（phosphate））リピドミクスのためにヒト血漿およびマウス血漿それぞれ10μlおよび50μlを使用した。ヒト試料は、トリアシルグリセロール、遊離コレステロール、およびスフィンゴイド塩基については分析しなかった。脂質抽

10

20

30

40

50

出を、Hamilton MICROLAB STAR system (Hamilton Robotics, Switzerland) を使用して自動で行った。よく混合した試料を、氷冷メタノールおよび 0.1% BHT を含有する 96 ウェル 2 ml Whatman Uniplate 中に分注した。抽出プロトコルの各ステップの後に試料を徹底的に混合した。適切な体積の内部標準物質混合物およびクロロホルムおよびメタノールを加えることによって室温で抽出を進行させた。20 mM の酢酸を加え、プレートを 500 × g で 5 分遠心分離することにより、ショットガン、トリアシルグリセロール、セラミドおよびセレブロシド、ならびにスフィンゴシンおよびスフィンゴシン-1-リン酸 (phosphate) リピドミクスでは、有機相分離を容易にした。有機相を新しい 96 ウェル 2 ml Whatman Uniplate に移した。残った水含有相を、適切な体積のクロロホルムを加え、その後遠心分離することによって洗浄した。2 つの有機相をプールし、乾燥状態になるまで N<sub>2</sub> の下で蒸発させた。次いで、脂質抽出物を、合成外部標準物質の添加を含め、クロロホルム：メタノール (1 : 2、v/v) に再溶解させた。MS 分析の前に、抽出物を 2 ml のセーフロックエッペンドルフチューブ中、-20 で保管した。必要な体積の脂質抽出物をエッペンドルフ 96 ウェル twin.tec PCR プレート中に分注し、蒸発を回避するためにアルミ箔を用いてプレートをヒートシールした。

#### 【0063】

ショットガンおよびトリアシルグリセロールリピドミクスにおいてだけでなく、遊離コレステロールを数量化する際にも、ロボットナノフローイオン源 (NanoMate HD, Advion Biosciences) を備えたハイブリッドトリプル四重極/直線型イオントラップ質量分光計 (QTRAP 5500, AB Sciex) で脂質抽出物を分析した。この計器を陽イオンモードおよび陰イオンモードで作動させた。陽イオンモードでは、噴霧電圧を 1.0 ~ 1.4 kV に設定し、陰イオンモードでは、-1.0 ~ -1.4 kV にセットした。0.3 ~ 0.8 psi のガス圧を使用し、インターフェース加熱器を 60 に設定した。衝突エネルギー (CE) およびデクラスタリング電圧 (DP) を、各脂質クラスについて合成標準物質を使用して最適化した。質量分光計を、200 Da/s の走査スピードを使用して単位分解モードで作動させた。分子脂質を、Stahlman および共同研究者 (Stahlman M, et al: High-throughput shotgun lipidomics by quadrupole time-of-flight mass spectrometry. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2009) に記載されているプレカーサーイオンスキニング (MPLIS) およびニュートラルロススキニング (NLS) を使用して、陽イオンモードと陰イオンモードの両方で分析した。トリアシルグリセロールを、ニュートラルロススキニングを使用して陽イオンモードで分析した。遊離コレステロールを、分析前に塩化アセチルによって CE 2 : 0 に誘導体化した (Liebisch, G., et al., High throughput quantification of cholesterol and cholesteryl ester by electrospray ionization tandem mass spectrometry (ESI-MS/MS). Biochim Biophys Acta, 2006.1761(1): p. 121-8)。

#### 【0064】

セラミドおよびセレブロシドリピドミクスでは、LC-MS/MS 分析を以下のように行った。クロマトグラフィー装置は、CTC HTC PAL オートサンプラー (CTC Analytics AG, Switzerland)、Rheos Allegro UHPLC ポンプ (Flux Instruments AG, Switzerland)、セラミドおよびセレブロシドリピドミクスのために 60 に設定した外付けのカラムヒーター、およびインラインのプレカラムを伴う Acquity BEH C18 カラムからなった。抽出された試料それぞれ 10 μl を、500 μl/分の流速でプレカラム、その後分析カラムに注入し、質量分光計に送達した。セラミドおよびセレブロシドリピドミクスでは、脂質分析物を分離するために、0.1% ギ酸を含有する HPLC グレード水中 10 mM の酢酸アンモニウムを含む溶媒 A および 0.1% ギ酸を含有するアセトニトリル：イソプロパノール (4 : 3、v/v) 中 10 mM の酢酸アンモニウムの溶媒 B を用いた勾配を使用した。勾配を以下のように構築した：0 分 - 65% B ; 2 分 - 65% B ;

2.5分 - 75% B ; 17.5分 - 100% B ; 22.5分 - 100% B ; 22.6分 - 65% B ; 25分 - 65% B。

【0065】

スフィンゴシンおよびスフィンゴシン-1-リン酸リポドミクスでは、LC-MS/MS分析を以下のように行った。クロマトグラフィー装置は、CTC HTC PALオートサンプラー (CTC Analytics AG, Switzerland)、Rheos Allegro UHPLCポンプ (Flux Instruments AG, Switzerland)、50 に設定した外付けのカラムヒーター、およびインラインのガードカラムを伴うAtlantis HILICカラムからなった。抽出された試料それぞれ10 µlを、500 µl/分の流速で、ガードカラム、次いで分析カラムに注入し、質量分光計に送達した。スフィンゴシンおよびスフィンゴシン-1-リン酸リポドミクスでは、脂質分析物を分離するために、0.2%ギ酸を伴う超純水中50 mmol/lのギ酸アンモニウムを含む溶媒Aおよび0.2%ギ酸を伴うアセトニトリルの溶媒Bを用いた勾配を使用した。勾配を以下のように構築した：0分 - 95% B ; 0.70分 - 95% B ; 1.50分 - 75% B ; 1.51分 - 50% B ; 1.70分 - 50% B ; 1.71分 - 85% B ; 3.00分 - 85% B ; 3.10分 - 95% B ; 4.00分 - 95% B。

10

【0066】

セラミドおよびセレブロシドリポドミクスとスフィンゴシンおよびスフィンゴシン-1-リン酸リポドミクスのどちらにおいても、脂質抽出物をLC-MS/MSによって分析した。MS分析は、Turbo V (商標) Ion Source (4000 QTRAP, AB Sciex)を備えたハイブリッドトリプル四重極/直線型イオントラップ質量分光計で実施した。この計器は陽イオンモードで操作した。イオン源電圧は5500 Vに設定し、イオン源温度は400 に設定した。衝突エネルギー (CE) およびデクラスタリング電圧 (DP)を、各脂質クラスについて合成標準物質を使用して最適化した。各走査に対して20/25秒のデュエル時間を適用した。多重反応モニタリング (MRM) 走査モードを適用し、これはSullardsおよび共同研究者による説明に基づいた (Sullards MC, et al: Structure-specific, quantitative methods for analysis of sphingolipids by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: "inside-out" sphingolipidomics. Methods Enzymol 2007)。

20

30

データ処理を以下のように行った：最初に、保持時間 (LCモードで) および各ピークの同定を、内在標準物質を使用し、適用可能な場合には情報依存取得 (Information Dependent Acquisition) (IDA) 実験によって行った。生のデータを、検出されたピークおよび保持時間 (LCモードで) に応じて自動で処理した。実際の脂質ピークからバックグラウンドノイズを分離するために、ストリンジエントなカットオフを適用した。各試料を制御し、ストリンジエントな判定基準を満たした場合にのみ許容した。検出されたピークのピーク面積数 (cps) を対応する脂質の名称の一覧に変換した。脂質を、それらの濃度を引き出すために、それらのそれぞれの内部標準物質および試料体積に対して正規化した。

【0067】

40

合成内部標準物質 (IS) と対応する抽出後スパイク外部標準物質 (ES) の比、および抽出されたマトリックスおよび溶媒のMS分析が分析の品質管理 (QC) としての機能を果たした。さらに、この計器の性能、すなわち、アッセイ内の変動およびアッセイ間の変動をモニタリングするために、抽出された参照血漿試料を分析した。

試料分析の前に合成または単離された標準物質を使用して較正線を得た。合成標準物質は適用に基づいて選択し、内在性脂質または対象の分析物 (複数可) と同様の性質を有した。較正線は、最低限、予測される数量化範囲を包含する5つの標準物質の点からなった。較正線を使用して、モニタリングした各脂質クラスについての数量化のダイナミックレンジ、例えば、線形数量化限界を決定した。使用される内部標準物質は、内在性脂質種を数量化するために使用される内在性脂質と同様に挙動する。較正線は、内在性脂質を数量

50

化するために使用したのと同じ内部標準物質に基づいた。

各プラットフォームについて、実際の脂質ピークからバックグラウンドノイズを分離するために、ストリンジェントなカットオフを適用した。各試料を制御し、許容判定基準を満たした場合にのみ許容した。検出されたピークの質量および数に対応する脂質の名称の一覧に変換した。脂質を、それらの濃度を引き出すために、それらのそれぞれの内部標準物質および試料体積に対して正規化した。

#### 【0068】

統計解析

対照群と症例群の間の脂質濃度の百分率の変化を以下の通り算出した：

$100 * (\text{症例群における AVG [ C ]} - \text{対照群における AVG [ C ]}) / \text{対照群における AVG [ C ]}$ 。 10

統計的有意性を t 検定に基づいて割り当てた。

倫理

LURIC 試験は「Landesarztekammer Rheinland - Pfalz」(Mainz, Germany)において倫理審査委員会により認可された。書面のインフォームドコンセントを参加者のそれぞれから得た。マウス試験は IRCM bioethics committee for animal care により認可された。

#### 【0069】

結果 20

リピドミックバイオマーカーは PCSK9 活性の減弱の有意なバイオマーカーであると思われた。1つの Pcsk9 対立遺伝子の喪失が、Pcsk9<sup>-/-</sup>マウスにおいて見られるものと同様のスフィンゴ脂質濃度の有意な変化を誘導するために十分であった。スフィンゴミエリン [ SM ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 ) ] 種、セラミド [ Cer ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 ) ] 種、グルコシル/ガラクトシルセラミド [ Glc / GalCer ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 ) ] 種、およびラクトシルセラミド [ LacCer ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 ) ] 種を含有する脂肪酸 1 6 : 0 が、Pcsk9<sup>-/-</sup>マウスおよび Pcsk9<sup>+/-</sup>マウスの両方において、動物に固形飼料食を与えた場合に、最も影響を受けた脂質種であると思われた(それぞれ図 1 A および図 1 B、および表 2 a および表 2 b)。それどころか、トリアシルグリセロール ( TAG ) は、Pcsk9<sup>-/-</sup>マウスおよび Pcsk9<sup>+/-</sup>マウスの血漿 30

中に野生型 ( Wt ) マウスよりも有意に多く濃縮されることが示された。ウェスタン食 ( 図 1 C、表 2 c ) を与えた Pcsk9<sup>-/-</sup>マウスについて記録された有意な変化は通常固形飼料食条件と比較して明白に小さかった。興味深いことに、ウェスタン食では、脂質濃度の有意な変化が Pcsk9<sup>+/-</sup>マウスにおいて Pcsk9<sup>-/-</sup>マウスよりも大きいことが実証された ( 図 1 D、表 2 d )。ウェスタン食を与えた PCSK9 欠損マウスの血漿の典型的な変化は、長い脂肪性アシル鎖を有する Cer 種、Glc / GalCer 種、および LacCer 種、例えば、Glc / GalCer ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 )、Cer ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 ) および LacCer ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 ) などの減少であると思われた。

#### 【0070】 40

PCSK9 機能喪失型変異を有するヒトにおいて同様のリピドミック変化が観察された。PCSK9 遺伝子に公知の機能喪失型パリアント ( R 4 6 L ) を有するヒトにおいて最も有意に低下した脂質種には、Pcsk9<sup>-/-</sup>マウスモデルおよび Pcsk9<sup>+/-</sup>マウスモデルにおいてすでに観察されものと同じ Glc / GalCer 種、LacCer 種および SM 種が含まれた ( 図 2、表 3 )。しかし、ヒト試料の数は限られていたので、観察された変化の大部分は統計的有意性のレベルには達しなかった。さらに、空腹時ヒト血漿試料では、脂肪性アシル鎖長に基づく脂質種の分離を観察することができなかった。マウス血漿とは対照的に、ヒト血漿では、PCSK9 欠乏に起因して2つのコレステリルエステル種、CE 2 0 : 3 および CE 2 0 : 4 の濃度が有意に低下した。

#### 【0071】 50

この試験では、上記の通り全部で109種の分子脂質および257種のTAG脂肪酸を数量化した。これらのうち63種の分子脂質および105種のTAG脂肪酸が、設定基準に基づいて有意なバイオマーカーであった。分子脂質濃度に基づいて有意なバイオマーカー候補が表2および表3に示されている。ヒトでは、選択されたバイオマーカーの性能はLDLコレステロールなどの伝統的に使用されているバイオマーカーよりも改善されていた。従来のマーカーよりも性能が改善された個々の脂質は表3aに列挙されている。表3bには、個々の脂質よりも性能が改善された脂質-脂質濃度比が列挙されている。

同定されたバイオマーカー候補の中で選択された好ましい実施形態が表4および表5に列挙されている。

【0072】

表6には、brutto TAG種および各brutto種に寄与する、可能性のある脂肪酸組合せが提示されている。Brutto TAGは、3つの脂肪酸の合計およびTAG分子の二重結合の数を示す。表6には、各brutto TAG種の数例が提示されているが、他の組合せも同様に存在し得る。

【0073】

【表2】

表2a.野生型と比較して、通常固形飼料食を与えたPCSK9<sup>-/-</sup>マウスにおいて検出された個々の脂質または脂質-脂質濃度比測定値に基づく有意なバイオマーカー。種の名称、p値、および百分率の変化が示されている。種々の脂肪酸組成が表6に記載されている。

通常固形飼料食を与えたPCSK9 <sup>-/-</sup> マウス対野生型マウス					
脂質	百分率 の変化	p値	脂質	百分率 の変化	p値
減少			増加		
TAG 60:12 FA 20:4	-64.990	2.508E-04	TAG 50:5	156.815	1.316E-02
TAG 60:12	-64.990	2.508E-04	TAG 55:3	152.265	2.968E-02
TAG 58:10 FA 20:4	-64.073	1.341E-03	TAG 51:4 FA 15:0	86.98016	1.780E-02
TAG 58:10	-22.734	1.905E-01	TAG 51:4	145.866	9.870E-03
LacCer(d18:1/24:0)	-61.734	1.802E-06	TAG 50:2 FA 18:2	76.248	7.679E-02
Glc/GalCer(d18:1/20:0)	-61.304	5.021E-07	TAG 50:2	123.880	1.296E-01
Glc/GalCer(d18:1/18:0)	-60.966	7.032E-14	TAG 50:4 FA 14:0	77.875	2.216E-02
Glc/GalCer(d18:1/22:0)	-58.750	2.897E-06	TAG 50:4	128.492	7.890E-02
TAG 56:9 FA 20:4	-57.499	4.513E-04	TAG 54:3 FA 16:0	62.577	3.325E-02
TAG 56:9 FA 18:3	-37.299	1.072E-02	TAG 54:3 FA 18:2	99.394	1.796E-02
TAG 56:9	-28.883	1.264E-01	TAG 54:3	106.898	3.787E-02
Glc/GalCer(d18:1/16:0)	-56.593	4.968E-12	TAG 53:4 FA 18:2	88.635	8.278E-03
総Glc/GalCer	-55.866	6.261E-07	TAG 53:4	106.150	6.500E-03
SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	-54.947	2.058E-16	TAG 52:6	101.188	2.561E-02
LacCer(d18:1/16:0)	-54.523	8.517E-10	TAG 54:4 FA 18:2	84.418	2.500E-02
TAG 58:9 FA 20:4	-53.838	6.457E-04	TAG 54:4 FA 18:1	78.619	4.889E-02
TAG 58:9	-1.979	8.979E-01	TAG 54:4 FA 18:0	77.628	9.456E-03
Glc/GalCer(d18:1/24:1)	-53.028	6.967E-05	TAG 54:4	83.059	3.721E-02
総LacCer	-51.984	4.137E-08	TAG 52:4 FA 18:2	70.069	2.305E-02
CE 16:1	-51.509	3.221E-05	TAG 52:4 FA 16:0	64.013	2.820E-02
Glc/GalCer(d18:1/24:0)	-51.294	5.712E-05	TAG 52:4	73.643	2.485E-02
Glc/GalCer(d18:1/26:0)	-50.524	2.374E-04	TAG 56:4 FA 18:1	91.940	4.847E-02

【0074】

Cer(d18:1/22:0)	-49.683	9.847E-08	TAG 56:4	89.544	5.546E-02
Cer(d18:1/20:0)	-48.392	2.989E-09	TAG 54:5 FA 18:1	75.955	1.000E-02
SM (d18:1/16:1) (d18:1/15:2-OH)	-47.581	6.693E-07	TAG 54:5 FA 18:2	74.494	4.962E-03
Cer(d18:1/18:0)	-46.286	3.817E-06	TAG 54:5	70.166	1.239E-02
CE 14:0	-45.541	3.299E-05	TAG 52:5 FA 18:2	71.092	4.892E-02
CE 16:0	-45.218	1.010E-12	TAG 52:5 FA 18:3	61.858	3.526E-02
LacCer(d18:1/24:1)	-44.119	1.054E-05	TAG 52:5	69.317	4.417E-02
CE 18:1	-42.857	1.547E-10	TAG 54:6 FA 18:2	78.005	2.522E-03
CE 18:2	-41.802	6.076E-11	TAG 54:6 FA 18:1	65.617	1.854E-02
FC	-41.774	1.139E-10	TAG 54:6 FA 18:3	57.726	3.365E-02
CE 18:3	-41.356	2.182E-10	TAG 54:6	52.606	1.530E-02
LacCer(d18:1/22:0)	-41.134	1.239E-03	TAG 56:5 FA 18:2	71.286	2.510E-02
TAG 56:8 FA 20:4	-40.099	9.167E-03	TAG 56:5 FA 20:1	68.247	2.564E-02
TAG 56:8	8.278	6.507E-01	TAG 56:5	71.820	4.739E-02
CE 22:5	-39.993	1.070E-02	TAG 56:6 FA 18:2	58.754	3.922E-02
総CE	-39.638	1.073E-09	TAG 56:6	30.327	2.893E-01
PC 16:0/16:0	-39.452	4.758E-06	TAG 54:7 FA 18:2	52.396	2.256E-02
CE 22:6	-39.271	2.050E-08	TAG 54:7 FA 18:3	50.258	4.750E-02
PC 16:0/18:1	-39.038	8.272E-06	TAG 54:7	40.748	4.048E-02
総Cer	-38.285	5.399E-06	総TAG	47.255	4.230E-02
総LPE	-38.219	3.272E-02			
Glc/GalCer(d18:1/26:1)	-37.439	1.426E-02			
TAG 56:7 FA 20:4	-36.094	2.192E-03			
TAG 56:7	4.516	8.231E-01			
PC 18:0/18:1	-35.534	2.324E-05			
CE 20:4	-34.208	1.783E-05			
CE 20:3	-33.966	3.821E-02			
SM (d18:1/24:1) (d18:1/23:2-OH)	-33.856	7.152E-04			
Cer(d18:1/24:1)	-33.646	9.245E-05			
CE 17:1	-33.524	4.173E-03			
PC 18:1/18:1	-33.350	1.936E-02			
Cer(d18:1/24:0)	-33.095	1.606E-03			
CE 20:5	-32.845	8.999E-03			
総PC	-32.432	1.481E-07			
PC 16:0/20:3	-32.324	1.542E-02			
PC 16:0/18:2	-32.309	2.042E-07			
PC 18:0/18:2	-32.095	1.116E-05			
PC 18:0/22:6	-30.973	2.463E-04			
PC 18:1/20:4	-30.513	1.352E-02			
PC 16:0/22:6	-30.321	1.159E-05			

10

20

30

40

【 0 0 7 5 】

PI 18:0/20:4	-29.759	3.149E-06			
CE 15:0	-27.608	1.578E-02			
Cer(d18:1/16:0)	-26.897	1.773E-03			
Cer(d18:1/26:1)	-30.721	7.786E-03			
LPC 16:0	-20.017	4.196E-04			
総LPC	-17.349	9.137E-04			
通常固形飼料食を与えたPCSK9 <sup>-/-</sup> マウス対野生型マウス					
脂質-脂質濃度比	百分率 の変化	p値	脂質-脂質濃度比	百分率 の変化	p値
減少			増加		
Glc/GalCer(d18:1/16:0)/ LPC 18:2	-50.893	9.485E-10	Cer(d18:0/24:0)/ Glc/GalCer(d18:1/18:0)	185.871	3.695E-06
Cer(d18:1/18:0)/ スフィンゴシンd16:1	-51.057	1.878E-06	Cer(d18:0/24:0)/ LacCer(d18:1/16:0)	141.343	2.425E-05
Glc/GalCer(d18:1/18:0)/ PC 18:2/18:2	-51.694	1.060E-06	TAG 58:10/TAG 60:12	139.279	6.521E-07
CE 16:1/LPC 20:4	-52.821	7.039E-06	Cer(d18:0/24:0)/ SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	138.225	1.317E-06
Glc/GalCer(d18:1/16:0)/ スフィンガニン-1-リン酸d 18:0	-55.633	1.568E-07	Cer(d18:0/22:0)/ SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	119.864	1.274E-07
Glc/GalCer(d18:1/18:0)/ LPC 18:2	-55.805	2.189E-09	LPC 18:2/ SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	98.384	7.626E-12
LacCer(d18:1/16:0)/ スフィンゴシンd16:1	-57.265	5.627E-06	LPC 18:2/ LacCer(d18:1/16:0)	94.112	3.915E-10
SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)/ スフィンゴシンd16:1	-58.151	3.565E-08	Cer(d18:0/24:0)/PC	89.233	0.000E+00
Glc/GalCer(d18:1/16:0)/ スフィンゴシンd16:1	-61.257	1.345E-07	Cer(d18:1/26:1)/ Glc/GalCer(d18:1/18:0)	89.153	3.214E-05
CE 18:1/TAG 54:7	-62.395	8.602E-05	Cer(d18:0/22:0)/ Cer(d18:1/22:0)	82.249	1.926E-07
Glc/GalCer(d18:1/16:0)/ スフィンゴシンd18:1	-66.767	4.538E-06	Cer(d18:1/26:1)/ Glc/GalCer(d18:1/16:0)	81.958	5.201E-05
Cer(d18:1/18:0)/ TAG 52:5	-68.662	9.244E-05	LPC 16:0/ SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	79.420	2.663E-10
SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)/ TAG 54:6	-72.138	7.999E-05	PC 18:0/20:4/ SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	70.011	5.229E-08

10

20

30

40

【 0 0 7 6 】

Glc/GalCer(d18:1/20:0)/TAG 52:5	-79.327	9.153E-05	TAG 52:5/TAG 56:7	66.808	4.896E-07
Glc/GalCer(d18:1/18:0)/TAG 54:6	-79.363	3.995E-05	Cer(d18:1/16:0)/Glc/GalCer(d18:1/16:0)	63.539	2.374E-09
Glc/GalCer(d18:1/16:0)/TAG 52:3	-79.470	6.181E-05	CE 20:4/Glc/GalCer(d18:1/18:0)	62.767	2.045E-08
Glc/GalCer(d18:1/16:0)/TAG 54:3	-79.758	5.002E-05	Cer(d18:0/24:0)/PC 16:0/18:2	59.693	0.000E+00
Glc/GalCer(d18:1/16:0)/TAG 52:4	-79.855	3.166E-05	CE 22:6/Glc/GalCer(d18:1/18:0)	50.609	1.465E-07
Glc/GalCer(d18:1/18:0)/TAG 52:4	-82.312	4.937E-05			

10

【 0 0 7 7 】

【 表 3 】

表 2b.野生型と比較して、通常固形飼料食を与えた PCSK9<sup>+/-</sup>マウスにおいて検出された個々の脂質または脂質-脂質濃度比測定値に基づく有意なバイオマーカー。種の名称、p値、および百分率の変化が示されている。

20

通常固形飼料食を与えたPCSK9 <sup>+/-</sup> マウス対野生型マウス				
脂質	百分率 の変化	p値	脂質	百分率 の変化
減少			増加	
TAG 60:12 FA 20:4	-44.777		TAG 53:3 FA 17:0	135.356
TAG 60:12	-44.777		TAG 53:3 FA 18:2	110.794
Glc/GalCer(d18:1/22:0)	-38.116	1.072E-03	TAG 53:3 FA 18:1	63.497
TAG 58:7 FA 22:5	-36.296		TAG 53:3	98.444
TAG 58:7	-16.719		TAG 49:2 FA 18:2	128.655
Glc/GalCer(d18:1/20:0)	-36.166	1.126E-03	TAG 49:2 FA 15:0	81.288
TAG 58:9 FA 20:4	-35.280		TAG 49:2 FA 16:0	46.357
TAG 58:9	-12.061		TAG 49:2	81.946
総Glc/GalCer	-34.200	8.552E-04	TAG 54:8 FA 18:3	72.857
Glc/GalCer(d18:1/24:0)	-34.067	4.625E-03	TAG 54:8	45.668
TAG 54:7 FA 16:1	-31.485		TAG 50:4 FA 16:2	71.219
TAG 54:7 FA 20:4	-19.366		TAG 50:4 FA 14:0	65.347
TAG 54:7	25.776		TAG 50:4 FA 18:2	52.949
Glc/GalCer(d18:1/24:1)	-30.734	1.378E-02	TAG 50:4 FA 16:0	31.487
SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	-30.205	1.297E-08	TAG 50:4	46.374
TAG 58:10 FA 20:4	-29.587		TAG 56:3 FA 20:1	69.839
TAG 58:10	-6.838		TAG 56:3 FA 18:1	23.266
Glc/GalCer(d18:1/18:0)	-29.219	7.332E-06	TAG 56:3	41.617

30

40

【 0 0 7 8 】

TAG 56:9 FA 20:4	-28.188		TAG 54:3 FA 18:2	67.212
TAG 56:9	-25.833		TAG 54:3 FA 20:1	59.887
TAG 56:5 FA 20:3	-27.595		TAG 54:3 FA 16:0	40.549
TAG 56:5	9.946		TAG 54:3	57.889
Glc/GalCer(d18:1/16:0)	-27.063	6.051E-05	TAG 54:4 FA 18:0	63.987
LacCer(d18:1/24:0)	-35.343	2.402E-03	TAG 54:4 FA 18:2	45.810
TAG 54:4 FA 20:3	-25.768		TAG 54:4 FA 20:2	43.761
TAG 54:4	35.266		TAG 54:4 FA 18:1	28.831
TAG 58:8 FA 18:2	-24.677		TAG 54:4 FA 16:0	16.648
TAG 58:8	-3.510		TAG 54:4	35.266
総LacCer	-24.058	3.203E-03	TAG 50:2 FA 18:2	62.114
LacCer(d18:1/22:0)	-23.147	4.961E-02	TAG 50:2 FA 16:0	27.001
TAG 56:7 FA 20:4	-22.839		TAG 50:2 FA 14:0	25.767
TAG 56:	-10.897		TAG 50:2	35.859
Glc/GalCer(d18:1/26:0)	-22.797	6.959E-02	TAG 53:4 FA 18:2	61.260
Cer(d18:1/22:0)	-22.584	5.909E-03	TAG 53:4	43.469
TAG 56:8 FA 20:4	-21.569		TAG 54:6 FA 18:2	61.238
TAG 56:8	-6.916		TAG 54:6 FA 18:1	32.069
LacCer(d18:1/16:0)	-20.192	4.711E-03	TAG 54:6 FA 18:3	16.262
LacCer(d18:1/24:1)	-19.792	2.750E-02	TAG 54:6	32.549
CE 18:3	-19.265	4.349E-04	TAG 54:5 FA 18:2	61.074
Cer(d18:1/18:0)	-18.329	4.180E-02	TAG 54:5 FA 18:1	56.979
Cer(d18:0/22:0)	-17.737	1.486E-01	TAG 54:5	48.831
PC 18:0/22:6	-17.696	2.093E-02	TAG 50:3 FA 18:3	56.000
FC	-16.776	1.655E-03	TAG 50:3 FA 18:2	32.037
Glc/GalCer(d18:1/26:1)	-16.753	1.901E-01	TAG 50:3	14.123
Cer(d18:0/24:1)	-16.574	1.908E-01	TAG 56:5 FA 18:2	52.163
PC 16:0/16:0	-16.026	3.590E-02	TAG 56:5 FA 20:1	44.606
TAG 56:6 FA 20:4	-16.001		TAG 56:5 FA 20:2	28.250
TAG 56:6	-5.937		TAG 56:5	9.946
総Cer	-15.497	4.131E-02		

10

20

30

通常固形飼料食を与えたPCSK9 <sup>+/-</sup> マウス対野生型マウス					
脂質-脂質濃度比	百分率 の変化	p値	脂質-脂質濃度比	百分率 の変化	p値
減少			増加		
Cer(d18:0/22:0)/ PC 16:0/18:2	-12.964	0.000E+00	CE 20:5/Glc/ GalCer(d18:1/24:0)	82.189	7.377E-03
FC/PC 18:0/20:3	-25.581	3.816E-03	CE 20:5/Glc/ GalCer(d18:1/22:0)	82.061	2.129E-03
CE 18:3/CE 20:5	-26.155	3.455E-03	PC 18:2/18:2/ SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	63.587	9.679E-06

40

【 0 0 7 9 】

FC/LPC 16:1	-30.754	5.212E-03	CE 20:5/ SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	62.662	2.087E-04
Glc/GalCer(d18:1/18:0)/ PC 18:0/20:4	-31.147	2.324E-05	Cer(d18:0/24:0)/ LacCer(d18:1/24:0)	61.005	1.146E-02
Glc/GalCer(d18:1/16:0)/ LPC 18:2	-31.822	1.556E-05	LPC 16:1/ SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	57.606	2.495E-03
Glc/GalCer(d18:1/18:0)/ PC 16:0/20:4	-33.636	1.669E-05	PC 18:1/20:4/ SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	55.007	3.384E-04
CE 18:3/LPC 16:1	-34.274	5.376E-03	LPC 20:4/ SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	53.454	5.406E-04
SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)/ スフィンゴシンd16:1	-35.255	1.603E-04	PC 18:1/18:2/ SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	52.347	6.620E-05
Cer(d18:1/22:0)/ LPC 20:4	-35.825	3.493E-03	CE 20:5/ LacCer(d18:1/16:0)	51.636	9.063E-03
Glc/GalCer(d18:1/22:0)/ スフィンゴシンd16:1	-43.303	1.522E-02	CE 20:4/ SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	42.452	1.598E-05
Glc/GalCer(d18:1/22:0)/ PC 18:1/18:2	-44.396	9.622E-04	CE 20:5/FC	41.327	2.339E-03
Glc/GalCer(d18:1/20:0)/ LPC 16:1	-49.264	1.000E-02	LPC 16:0/ SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	40.008	1.817E-04
Glc/GalCer(d18:1/20:0)/ LPC 20:4	-49.948	6.554E-04	PI 18:0/20:4/ SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	33.148	7.497E-04
Glc/GalCer(d18:1/22:0)/ LPC 16:1	-50.721	8.458E-03	CE 20:5/ PC 16:0/16:0	31.095	2.629E-02
Glc/GalCer(d18:1/22:0)/ LPC 20:4	-51.506	8.433E-04	LPC 18:2/ LacCer(d18:1/16:0)	30.712	9.605E-03

10

20

30

【 0 0 8 0 】

【表4】

表2c.野生型と比較して、ウェスタン食を与えたPCSK9<sup>-/-</sup>マウスにおいて検出された個々の脂質または脂質-脂質濃度比測定値に基づく有意なバイオマーカー。種の名称、p値、および百分率の変化が示されている。

ウェスタン食を与えたPCSK9 <sup>-/-</sup> マウス対野生型マウス					
脂質	百分率 の変化	p値	脂質	百分率 の変化	p値
減少			増加		
CE 18:0	-53.952	3.305E-03	スフィンゴシン (SPH)d16:1	64.323	1.533E-03
TAG 56:5 FA 18:2	-69.447		TAG 50:2 FA 18:1	55.940	4.029E-02
TAG 56:5 FA 18:1	-40.184	3.929E-01	TAG 50:2 FA 16:0	47.004	4.740E-02
TAG 56:5 FA 20:2	-64.835		TAG 50:2 FA 14:0	21.986	3.838E-01
TAG 56:5 FA 20:3	-36.442	4.788E-01	TAG 50:2 FA 18:2	17.037	4.435E-01
TAG 56:5	-49.388	3.306E-01	TAG 50:2	47.040	5.626E-02
TAG 58:8 FA 18:1	-65.029				
TAG 58:8 FA 22:6	-56.332		総SPH	50.856	5.789E-03
TAG 58:8	-60.483		TAG 50:3 FA 16:1	50.410	2.678E-02
TAG 58:7 FA 18:1	-63.977		TAG 50:3 FA 18:3	37.040	
TAG 58:7 FA 22:5	-48.248		TAG 50:3 FA 18:2	33.534	1.033E-01
TAG 58:7	-55.754		TAG 50:3 FA 16:0	19.397	3.852E-01
TAG 56:8 FA 22:6	-48.846		TAG 50:3	39.099	5.636E-02
TAG 56:8 FA 16:0	-35.490		スフィンゴシン d18:1	49.840	7.175E-03
TAG 56:8 FA 18:2	-33.612		TAG 50:4 FA 16:1	47.909	
TAG 56:8	-46.650		TAG 50:4	16.664	
TAG 56:6 FA 18:1	-47.995		TAG 52:3 FA 16:1	43.537	6.661E-02
TAG 56:6 FA 20:4	-43.581		TAG 52:3 FA 18:0	35.461	
TAG 56:6 FA 20:3	-35.657		TAG 52:3 FA 18:1	26.714	2.263E-01
TAG 56:6 FA 18:2	-24.983		TAG 52:3	18.534	3.544E-01
TAG 56:6全体	-29.092		TAG 49:2 FA 16:0	42.140	
Cer(d18:0/24:0)	-36.791	2.958E-02	TAG 49:2 FA 15:0	15.169	
Cer(d18:1/26:1)	-32.004	2.558E-04	TAG 49:2全体	22.766	
Cer(d18:0/22:0)	-28.800	3.316E-02	スフィンガニン d18:0	41.602	8.815E-03
Glc/GalCer(d18:1/26:1)	-27.701	4.231E-03	TAG 53:3 FA 18:1	36.680	
Glc/GalCer(d18:1/16:0)	-26.867	2.746E-02	TAG 53:3	23.391	
Cer(d18:1/26:0)	-26.304	7.863E-03	TAG 52:2 FA 16:0	31.623	1.379E-01
Cer(d18:1/24:0)	-25.281	1.231E-03	TAG 52:2 FA 18:1	30.549	2.502E-01
Glc/GalCer(d18:1/24:0)	-25.124	1.452E-02	TAG 52:2	30.933	1.966E-01
CE 16:0	-22.506	1.299E-04	TAG 54:7 FA 18:2	29.707	
総Glc/GalCer	-22.165	1.058E-01	TAG 54:7 FA 18:3	16.926	

10

20

30

40

【 0 0 8 1 】

Cer(d18:1/22:0)	-22.045	1.310E-01	TAG 54:7	2.091	
Glc/GalCer(d18:1/20:0)	-20.419	2.949E-01	LPC 16:1	27.750	1.120E-01
LacCer(d18:1/24:0)	-20.357	1.060E-01	スフィンゴシン-1- リン酸(S1P) d18:1	21.375	5.453E-02
CE 18:1	-19.571	3.429E-02	総S1P	21.375	5.453E-02
Cer(d18:1/20:0)	-19.501	3.481E-01	総TAG	20.052	3.701E-01
LacCer(d18:1/22:0)	-19.021	7.362E-02	TAG 56:6 FA 22:4	17.596	
総Cer	-18.476	5.787E-02	TAG 56:6	-29.092	
PC 16:0/16:0	-18.244	1.262E-01	スフィンガニン-1- リン酸d18:0	16.834	2.617E-01
Glc/GalCer(d18:1/24:1)	-16.527	2.436E-01			
SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	-15.898	1.986E-01			
ウェスタン食を与えたPCSK9 <sup>-/-</sup> マウス対野生型マウス					
脂質-脂質濃度比	百分率 の変化	p値	脂質-脂質濃度比	百分率 の変化	p値
減少			増加		
CE 16:0/CE 20:3	-48.833	1.67E-04	LPC 16:1/TAG 56:5	117.120	4.74E-03
Cer(d18:0/24:0)/ Cer(d18:1/18:0)	-49.008	8.69E-04	Cer(d18:1/18:0)/ Cer(d18:1/26:1)	88.778	1.09E-02
Cer(d18:1/24:0)/ LPC 16:1	-49.150	3.63E-04	TAG 50:2/TAG 54:5	86.223	3.35E-02
CE 18:1/ スフィンゴシンd16:1	-49.803	1.16E-05	CE 20:3/Glc/ GalCer(d18:1/16:0)	84.705	1.31E-02
PC 16:0/16:0/ スフィンゴシンd16:1	-50.221	9.85E-06	CE 20:3/TAG 54:4	82.091	2.72E-02
Cer(d18:0/22:0)/ スフィンゴシンd16:1	-51.551	3.75E-05	PC 18:2/18:2/ TAG 56:5	76.494	4.27E-02
Cer(d18:1/24:0)/ スフィンゴシンd16:1	-51.685	4.14E-06	CE 20:3/ PC 16:0/16:0	70.816	7.47E-03
Cer(d18:0/24:0)/ PC 18:2/18:2	-52.891	8.28E-03	Cer(d18:1/18:0)/Glc/ GalCer(d18:1/24:0)	64.951	7.32E-03
Cer(d18:0/24:0)/ PC 16:0/20:4	-53.440	1.63E-02	CE 20:3/ SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	58.191	1.14E-02
Cer(d18:0/24:0)/ スフィンガニンd18:0	-54.294	9.41E-03	Cer(d18:1/18:0)/ Cer(d18:1/22:0)	54.941	1.35E-02
Cer(d18:1/26:1)/ LPC 16:1	-54.395	1.43E-03	LPC 16:1/ PC 16:0/16:0	53.424	3.69E-03
Cer(d18:0/24:0)/ PC 16:0/20:3	-54.574	2.28E-02	CE 20:3/FC	52.675	2.54E-02

10

20

30

40

Glc/GalCer(d18:1/16:0)/ スフィンゴシンd16:1	-54.630	1.22E-04	LPC 16:1/ SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	47.406	6.67E-03
Cer(d18:0/24:0)/ スフィンゴシンd16:1	-58.674	4.36E-04	Cer(d18:1/24:1)/ Cer(d18:1/26:1)	46.396	2.48E-03
Cer(d18:0/24:0)/LPC 16:1	-61.145	1.34E-03	スフィンゴシンd16:1 /スフィンゴシン-1- リン酸d18:1	37.012	2.81E-03
			PI 18:0/20:4/S M (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	36.227	9.39E-03

10

【 0 0 8 3 】

【 表 5 】

表2d.野生型と比較して、ウェスタン食を与えたPCSK9<sup>+/-</sup>マウスにおいて検出された個々の脂質または脂質-脂質濃度比測定値に基づく有意なバイオマーカー。種の名称、p値、および百分率の変化が示されている。

ウェスタン食を与えたPCSK9 <sup>+/-</sup> マウス対野生型マウス					
測定値の名称	百分率 の変化	p値	測定値の名称	百分率 の変化	p値
減少			増加		
Cer(d18:0/22:0)	-58.820	3.240E-05	スフィンゴシン (SPH)d16:1	107.934	4.509E-07
Cer(d18:0/24:0)	-57.003	5.688E-04	総SPH	75.244	4.162E-05
Glc/GalCer(d18:1/24:0)	-54.076	9.882E-07	スフィンゴシンd18:1	72.779	7.344E-05
Glc/GalCer(d18:1/26:1)	-51.762	5.315E-07	スフィンガニン-1- リン酸d18:0	70.319	1.192E-05
Cer(d18:0/24:1)	-51.729	4.012E-03	スフィンガニンd18:0	62.423	7.539E-05
Glc/GalCer(d18:1/24:1)	-48.741	6.131E-04	スフィンゴシン-1- リン酸d18:1	53.308	6.250E-06
Cer(d18:1/24:0)	-47.795	2.927E-08	CE 20:4	50.933	1.436E-02
Cer(d18:1/26:1)	-47.142	2.122E-07	SM (d18:1/24:0) (d18:1/23:1-OH)	49.321	4.971E-02
LacCer(d18:1/24:0)	-45.674	2.048E-04	PC 18:1/22:6	41.215	4.282E-02
Glc/GalCer(d18:1/26:0)	-43.777	3.426E-04	PC 18:1/20:4	39.998	4.105E-02
総Glc/GalCer	-43.704	1.188E-03	LPC 16:1	30.783	5.904E-02
Glc/GalCer(d18:1/22:0)	-43.038	9.953E-03	PC 16:0/20:3	30.331	1.023E-01
CE 18:0	-38.988	3.123E-02	PC 16:0/22:6	26.848	7.083E-02
LacCer(d18:1/22:0)	-38.829	2.682E-04	CE 22:6	26.051	1.431E-01
総Cer	-36.509	1.904E-04	CE 18:2	25.895	5.265E-02
Cer(d18:1/26:0)	-35.073	2.640E-04	総CE	25.389	4.560E-02
LacCer(d18:1/24:1)	-33.935	2.435E-04	PC 16:0/20:4	22.578	9.245E-02
Cer(d18:1/22:0)	-32.533	1.857E-02	CE 16:1	21.981	1.514E-01
Cer(d18:1/24:1)	-29.447	1.722E-02	CE 18:3	21.230	8.476E-02

20

30

40

【 0 0 8 4 】

総LacCer	-29.179	2.627E-04	Cer(d18:1/18:0)	20.846	2.314E-01
Glc/GalCer(d18:1/20:0)	-28.509	1.167E-01	PI 18:0/20:4	19.870	1.635E-01
Glc/GalCer(d18:1/16:0)	-24.831	2.714E-02	PC 18:2/18:2	19.299	1.191E-01
CE 16:0	-19.411	3.007E-04	LPC 20:4	16.370	2.785E-01
			PC 18:1/18:2	15.307	1.773E-01
ウェスタン食を与えたPCSK9 <sup>+/+</sup> マウス対野生型マウス					
脂質-脂質濃度比	百分率 の変化	p値	脂質-脂質濃度比	百分率 の変化	p値
減少			増加		
Cer(d18:0/24:1)/FC	-56.408	0.000E+00	CE 20:3/Glc/ GalCer(d18:1/26:1)	360.547	1.498E-03
LacCer(d18:1/16:0)/ スフィンゴシンd16:1	-56.691	9.211E-10	CE 20:3/ Cer(d18:0/24:0)	305.964	1.938E-04
Glc/GalCer(d18:1/24:0)/ PC 16:0/20:4	-61.038	2.913E-10	CE 20:3/ Cer(d18:1/24:0)	300.319	4.185E-04
CE 16:0/スフィンゴシン d16:1	-64.159	1.949E-08	CE 20:3/ Cer(d18:0/22:0)	299.250	1.003E-04
Glc/GalCer(d18:1/24:1)/ スフィンゴシンd18:1	-68.880	7.661E-06	CE 20:3/ Cer(d18:1/26:1)	282.779	9.631E-05
Cer(d18:1/24:0)/ スフィンゴシンd18:1	-69.354	7.730E-09	CE 20:4/ Cer(d18:0/22:0)	268.566	1.737E-06
Glc/GalCer(d18:1/24:0)/ スフィンゴシン-1-リン 酸d18:1	-69.806	1.083E-08	CE 20:5/ Cer(d18:0/22:0)	255.932	6.261E-06
Glc/GalCer(d18:1/24:0)/ スフィンゴシンd18:1	-72.584	4.488E-08	CE 20:4/ Cer(d18:0/24:0)	241.592	2.033E-05
Glc/GalCer(d18:1/24:0)/ スフィンガニン-1-リン 酸d18:0	-72.647	3.066E-08	CE 20:4/Glc/ GalCer(d18:1/24:0)	219.850	4.296E-08
Cer(d18:0/24:0)/ PC 18:1/20:4	-73.450	7.227E-04	CE 20:5/ Cer(d18:0/24:1)	210.249	2.136E-05
Cer(d18:1/24:0)/ スフィンゴシンd16:1	-75.303	5.327E-10	CE 22:6/ Cer(d18:0/22:0)	210.101	7.122E-06
Glc/GalCer(d18:1/24:0)/ スフィンゴシンd16:1	-78.076	1.085E-10	CE 16:1/ Cer(d18:0/22:0)	197.486	8.513E-06
Cer(d18:0/24:0)/ スフィンゴシンd16:1	-79.943	1.970E-06	Cer(d18:1/18:0)/Glc/ GalCer(d18:1/26:1)	176.575	6.844E-04
			CE 18:2/Glc/ GalCer(d18:1/24:0)	171.724	5.882E-09
			CE 18:3/Glc/ GalCer(d18:1/24:0)	157.031	4.734E-09
			Cer(d18:1/18:0)/Glc/ GalCer(d18:1/24:0)	155.600	1.811E-08
			LPC 16:1/ LacCer(d18:1/24:0)	129.430	4.599E-03

10

20

30

40

## 【表6】

表3a. ヒト試料における個々の脂質測定値に基づく有意なバイオマーカー。種の名称、p値、および百分率の変化が示されている。伝統的に使用されているバイオマーカーおよびそれらの百分率の変化およびp値も列挙されている。列挙されている個々の脂質バイオマーカーは、伝統的に使用されているバイオマーカー、例えばLDL-コレステロールと比較してPCSK9阻害の分離が改善されていた。

ヒトR46L対照		
測定値の名称	百分率 の変化	p値
減少		
CE 20:3	-29.391	1.547E-02
CE 20:5	-27.746	1.640E-01
CE 17:1	-27.380	1.629E-02
SM (d18:1/17:0) (d18:1/16:1-OH)	-25.747	1.721E-01
CE 20:4	-25.511	3.724E-02
CE 16:1	-25.210	1.962E-01
LPC 16:0	-22.167	3.356E-02
LacCer(d18:1/18:0)	-21.812	3.98E-04
CE 18:1	-21.788	4.631E-02
SM (d18:1/23:0) (d18:1/22:1-OH)	-19.747	1.492E-01
SM (d18:1/24:1) (d18:1/23:2-OH)	-19.672	1.301E-01
GlcCer(d18:1/18:0)	-19.105	2.016E-01
Cer(d18:1/18:0)	-19.012	1.895E-01
SM (d18:1/16:1) (d18:1/15:2-OH)	-18.823	4.836E-02
CE 14:0	-18.283	1.695E-01
Cer(d18:1/16:0)	-17.722	1.212E-01
Cer(d18:0/22:0)	-17.713	6.35E-02
CE 18:3	-17.559	2.100E-01
LacCer(d18:1/16:0)	-16.866	6.083E-02
SM (d18:1/18:0)	-16.804	1.568E-01
SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	-16.758	8.385E-02
CE 16:0	-15.966	5.712E-02
CE 15:0	-15.068	2.266E-01
GlcCer(d18:1/16:0)	-14.968	1.989E-01
CE 18:0	-14.770	2.346E-01
Cer(d18:1/20:0)	-14.495	5.55E-03
GlcCer(d18:1/24:0)	-13.668	7.13E-02
PC 18:0/20:3	-11.595	6.83E-02
PC 16:0/16:0	-11.403	5.19E-02
従来のマーカー		
LDLコレステロール(臨床)	-10.105	9.77E-02
総コレステロール(臨床)	-8.417	4.94E-02
トリグリセリド(臨床)	-4.372	5.98E-01
HDL-コレステロール(臨床)	-0.330	9.55E-01

10

20

30

40

【表7】

表3b. ヒト試料における脂質または脂質-脂質濃度比に基づく有意なバイオマーカー。種の名称、p値、および百分率の変化が示されている。

脂質-脂質比	百分率 の変化	P値
<b>減少</b>		
CE 22:2/SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)	-50.105	5.44E-04
LacCer(d18:1/18:0)/超高感度C反応性タンパク質(mg/L)	-49.645	3.60E-04
CE 20:0/SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)	-47.596	5.03E-03
CE 19:1/SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)	-41.469	8.90E-04
LacCer(d18:1/24:1)/超高感度C反応性タンパク質(mg/L)	-41.057	1.50E-02
Cer(d18:1/16:0)/SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)	-39.696	1.28E-04
DAG 16:0/18:1/リポタンパク質(a) (EDTA) (mg/dL)	-38.988	1.78E-02
CE 15:0/超高感度C反応性タンパク質(mg/L)	-38.142	4.22E-02
CE 20:0/PC O-18:0/20:4-アルケニル (PC O-18:1/20:4-アルキル)	-37.546	2.35E-02
CE 19:2/SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)	-36.841	1.40E-02
LacCer(d18:1/18:0)/SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)	-36.267	1.27E-06
GlcCer(d18:1/18:0)/SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)	-36.247	4.76E-06
CE 20:3/超高感度C反応性タンパク質(mg/L)	-35.784	3.48E-02
CE 18:0/超高感度C反応性タンパク質(mg/L)	-35.292	3.46E-02
GlcCer(d18:1/16:0)/SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)	-35.278	1.97E-05
Cer(d18:1/18:0)/PC 18:0/22:6	-34.301	3.77E-05
Cer(d18:1/18:0)/SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)	-34.006	2.53E-04
LacCer(d18:1/24:0)/SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)	-33.961	1.38E-05
CE 22:2/PC O-18:0/20:4-アルケニル (PC O-18:1/20:4-アルキル)	-33.340	2.11E-02
CE 16:1/SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)	-32.963	4.56E-04
LacCer(d18:1/16:0)/SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)	-31.627	1.65E-05
CE 22:2/DAG 16:0/18:1	-31.231	1.31E-02
GlcCer(d18:1/24:0)/SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)	-31.159	7.13E-05
Cer(d18:1/18:0)/PC O-18:0/20:4-アルケニル (PC O-18:1/20:4-アルキル)	-30.696	8.50E-05
LacCer(d18:1/22:0)/SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)	-30.368	6.54E-04
CE 14:0/SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)	-30.267	1.74E-03
CE 18:3/SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)	-30.194	7.31E-05
Cer(d18:1/16:0)/トリグリセリド(EDTA) (mg/dL)	-30.006	9.36E-07
Cer(d18:1/16:0)/トリグリセリド(EDTA) (mg/dL)	-30.006	9.36E-07
Cer(d18:1/18:0)/トリグリセリド(EDTA) (mg/dL)	-27.662	1.79E-07
Cer(d18:1/18:0)/DAG 16:0/18:1	-26.271	2E-05
Cer(d18:1/18:0)/アポリポタンパク質C-III (mg/dL)	-24.685	2.36E-05
CE 20:3/HDLコレステロール(EDTA) (mg/dL)	-24.559	3.19E-05
CE 20:3/アポリポタンパク質A-I (mg/dL)	-24.189	3.2E-05
<b>増加</b>		
PC 18:0/22:6/SM (d18:1/24:0) (d18:1/23:1-OH)	33.954	4.87E-02

10

20

30

40

【表 8】

表4a.標準固形飼料を与えたPCSK9<sup>-/-</sup>マウスのバイオマーカーの好ましい実施形態通常固形飼料食を与えたPCSK9<sup>-/-</sup>マウス対野生型マウス

脂質	百分率 の変化	p値	脂質	百分率 の変化	p値
減少			増加		
TAG 60:12	-64.990	2.508E-04	TAG 54:3	106.898	3.787E-02
Glc/GalCer(d18:1/20:0)	-61.304	5.021E-07	TAG 54:4	83.059	3.721E-02
Glc/GalCer(d18:1/18:0)	-60.966	7.032E-14	TAG 52:4	73.643	2.485E-02
Glc/GalCer(d18:1/22:0)	-58.750	2.897E-06	TAG 56:5	71.820	4.739E-02
Glc/GalCer(d18:1/16:0)	-56.593	4.968E-12	TAG 54:5	70.166	1.239E-02
総Glc/GalCer	-55.866	6.261E-07	TAG 52:5	69.317	4.417E-02
SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	-54.947	2.058E-16	TAG 54:6	52.606	1.530E-02
LacCer(d18:1/16:0)	-54.523	8.517E-10	TAG 54:7	40.748	4.048E-02
Glc/GalCer(d18:1/24:1)	-53.028	6.967E-05			
総LacCer	-51.984	4.137E-08			
CE 16:1	-51.509	3.221E-05			
脂質-脂質濃度比	百分率 の変化	p値	脂質-脂質濃度比	百分率 の変化	p値
減少			増加		
Glc/GalCer(d18:1/18:0)/ TAG 52:4	-82.312	4.937E-05	TAG 58:10/ TAG 60:12	139.279	6.521E-07
			LPC 18:2/ SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	98.384	7.626E-12
			LPC 18:2/ LacCer(d18:1/16:0)	94.112	3.915E-10
			Cer(d18:0/24:0)/FC	89.233	0.000E+00
			Cer(d18:0/22:0)/ Cer(d18:1/22:0)	82.249	1.926E-07
			Cer(d18:1/16:0)/Glc/ GalCer(d18:1/16:0)	63.539	2.374E-09
			Cer(d18:0/24:0)/ PC 16:0/18:2	59.693	0.000E+00

10

20

30

【 0 0 8 8 】

## 【表 9】

表4b.標準固形飼料を与えたPCSK9<sup>+/−</sup>のバイオマーカーの好ましい実施形態。

PCSK9 <sup>+/−</sup> マウス対野生型マウス、通常固形飼料食					
脂質	百分率 の変化	p値	脂質	百分率 の変化	p値
減少			増加		
Glc/GalCer(d18:1/22:0)	-38.116	1.072E-03	TAG 53:3	98.444	
Glc/GalCer(d18:1/20:0)	-36.166	1.126E-03	TAG 49:2	81.946	
総Glc/GalCer	-34.200	8.552E-04	TAG 54:3	57.889	
Glc/GalCer(d18:1/24:0)	-34.067	4.625E-03	TAG 54:5	48.831	
Glc/GalCer(d18:1/24:1)	-30.734	1.378E-02	TAG 50:4	46.374	
SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	-30.205	1.297E-08	TAG 54:8	45.668	
Glc/GalCer(d18:1/18:0)	-29.219	7.332E-06			
Glc/GalCer(d18:1/16:0)	-27.063	6.051E-05			
LacCer(d18:1/24:0)	-26.786	5.566E-02			
総LacCer	-24.058	3.203E-03			
脂質-脂質濃度比	百分率 の変化	p値	脂質-脂質濃度比	百分率 の変化	p値
減少			増加		
Cer(d18:0/22:0)/ PC 16:0/18:2	-12.964	0.000E+00	CE 20:5/Glc/ GalCer(d18:1/24:0)	82.189	7.377E-03
Glc/GalCer(d18:1/18:0)/ PC 16:0/20:4	-33.636	1.669E-05	PC 18:2/18:2/ SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	63.587	9.679E-06
Glc/GalCer(d18:1/22:0)/ LPC 20:4	-51.506	8.433E-04	CE 20:4/ SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)	42.452	1.598E-05

10

20

30

【 0 0 8 9 】

【表10】

表4c. ウェスタン食を与えたPCSK9<sup>-/-</sup>のバイオマーカーの好ましい実施形態。

PCSK9 <sup>-/-</sup> マウス対野生型マウス、ウェスタン食					
脂質	百分率 の変化	p値	脂質	百分率 の変化	p値
減少			増加		
Cer(d18:0/24:0)	-36.791	2.958E-02	スフィンゴシンd16:1	64.323	1.533E-03
Cer(d18:1/26:1)	-32.004	2.558E-04	総SPH	50.856	5.789E-03
Cer(d18:0/22:0)	-28.800	3.316E-02	スフィンゴシンd18:1	49.840	7.175E-03
Glc/ GalCer(d18:1/26:1)	-27.701	4.231E-03	スフィンガニンd18:0	41.602	8.815E-03
Glc/ GalCer(d18:1/16:0)	-26.867	2.746E-02	総SPA	41.602	8.815E-03
Cer(d18:1/26:0)	-26.304	7.863E-03	LPC 16:1	27.750	1.120E-01
Cer(d18:1/24:0)	-25.281	1.231E-03	スフィンゴシン-1-リ ン酸d18:1	21.375	5.453E-02
Glc/ GalCer(d18:1/24:0)	-25.124	1.452E-02	総S1P	21.375	5.453E-02
CE 16:0	-22.506	1.299E-04	スフィンガニン-1-リ ン酸d18:0	16.834	2.617E-01
総Glc/GalCer	-22.165	1.058E-01			
CE 18:1	-19.571	3.429E-02			
LacCer(d18:1/22:0)	-19.021	7.362E-02			
総Cer	-18.476	5.787E-02			
脂質-脂質濃度比	百分率 の変化	p値	脂質-脂質濃度比	百分率 の変化	p値
減少			増加		
Cer(d18:0/24:0)/ Cer(d18:1/18:0)	-49.008	8.69E-04	LPC 16:1/ TAG 56:5	117.120	4.74E-03
CE 18:1/ スフィンゴシンd16:1	-49.803	1.16E-05	CE 20:3/ PC 16:0/16:0	70.816	7.47E-03
PC 16:0/16:0/ スフィンゴシンd16:1	-50.221	9.85E-06	Cer(d18:1/18:0)/Glc/ GalCer(d18:1/24:0)	64.951	7.32E-03
Cer(d18:1/24:0)/ スフィンゴシンd16:1	-51.685	4.14E-06			
Cer(d18:0/24:0)/ スフィンゴシンd16:1	-58.674	4.36E-04			

【0090】

## 【表 1 1】

表4d. ウェスタン食を与えたPCSK9<sup>+/-</sup>バイオマーカーの好ましい実施形態。

PCSK9 <sup>+/-</sup> マウス対野生型マウス、ウェスタン食					
脂質	百分率 の変化	p値	脂質	百分率 の変化	p値
減少			増加		
Cer(d18:0/22:0)	-58.820	3.240E-05	スフィンゴシンd16:1	107.934	4.509E-07
Cer(d18:0/24:0)	-57.003	5.688E-04	総SPH	75.244	4.162E-05
Glc/ GalCer(d18:1/24:0)	-54.076	9.882E-07	スフィンゴシンd18:1	72.779	7.344E-05
Glc/ GalCer(d18:1/26:1)	-51.762	5.315E-07	スフィンガニン-1-リ ン酸d18:0	70.319	1.192E-05
Cer(d18:0/24:1)	-51.729	4.012E-03	総SA1P	70.319	1.192E-05
Glc/ GalCer(d18:1/24:1)	-48.741	6.131E-04	スフィンガニンd18:0	62.423	7.539E-05
Cer(d18:1/24:0)	-47.795	2.927E-08	総SPA	62.423	7.539E-05
Cer(d18:1/26:1)	-47.142	2.122E-07	スフィンゴシン-1-リ ン酸d18:1	53.308	6.250E-06
LacCer(d18:1/24:0)	-45.674	2.048E-04	総S1P	53.308	6.250E-06
Glc/ GalCer(d18:1/26:0)	-43.777	3.426E-04			
脂質-脂質濃度比	百分率 の変化	p値	脂質-脂質濃度比	百分率 の変化	p値
減少			増加		
Cer(d18:0/24:1)/FC	-56.408	0.000E+00	CE 18:3/Glc/ GalCer(d18:1/24:0)	157.031	4.734E-09
Glc/GalCer (d18:1/24:0)/ スフィンゴシンd16:1	-78.076	1.085E-10	CE 18:2/Glc/ GalCer(d18:1/24:0)	171.724	5.882E-09
Glc/GalCer(d18:1/24:0) /PC 16:0/20:4	-61.038	2.913E-10	Cer(d18:1/18:0)/Glc/ GalCer(d18:1/24:0)	155.600	1.811E-08
			CE 20:4/Glc/ GalCer(d18:1/24:0)	219.850	4.296E-08

【 0 0 9 1 】

10

20

30

## 【表 1 2】

表5.ヒトバイオマーカーの好ましい実施形態。

ヒトR46L対照		
脂質	百分率の変化	p値
減少		
CE 16:1	-23.1181918	1.91E-04
CE 20:3	-22.8724155	3.59E-05
Cer(d18:1/16:0)	-22.1234175	5.98E-04
Cer(d18:1/18:0)	-21.9814365	5.13E-04
LacCer(d18:1/18:0)	-21.8121857	3.98E-04
GlcCer(d18:1/18:0)	-18.6701034	2.55E-03
LacCer(d18:1/16:0)	-17.8457737	1.20E-04
GlcCer(d18:1/16:0)	-17.6341642	2.83E-03
CE 18:1	-17.5455244	2.72E-04
CE 16:0	-14.8193897	5.06E-04
脂質-脂質濃度比	百分率の変化	p値
減少		
CE 22:2/SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)	-50.105	5.44E-04
Cer(d18:1/16:0)/SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)	-39.696	1.28E-04
LacCer(d18:1/18:0)/SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)	-36.267	1.27E-06
GlcCer(d18:1/18:0)/SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)	-36.247	4.76E-06
GlcCer(d18:1/16:0)/SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)	-35.278	1.97E-05
Cer(d18:1/18:0)/PC 18:0/22:6	-34.301	3.77E-05
Cer(d18:1/16:0)/トリグリセリド(EDTA) (mg/dL)	-30.006	9.36E-07
Cer(d18:1/18:0)/トリグリセリド(EDTA) (mg/dL)	-27.662	1.79E-07
Cer(d18:1/18:0)/DAG 16:0/18:1	-26.271	2.00E-05
Cer(d18:1/18:0)/アポリポタンパク質C-III (mg/dL)	-24.685	2.36E-05
CE 20:3/HDLコレステロール(EDTA) (mg/dL)	-24.559	3.19E-05
CE 20:3/アポリポタンパク質A-I (mg/dL)	-24.189	3.20E-05

10

20

30

## 【 0 0 9 2】

## 【表 1 3】

表6.TAG brutto種による可能性のある脂肪酸組合せの例。

TAG brutto種	可能性のあるFA組合せ
TAG 49:2全体	TAG 49:2全体 (12:0/18:2/19:0)(15:0/16:0/18:2)(15:0/16:1/18:1)
TAG 50:2全体	TAG 50:2全体 (12:0/18:0/20:2)(12:0/18:1/20:1)(12:0/18:2/20:0)(14:0/16:0/20:2)(14:0/16:1/20:1)(14:0/18:0/18:2)(14:0/18:1/18:1)(15:0/15:0/20:2)(15:0/17:0/18:2)(16:0/16:0/18:2)(16:0/16:1/18:1)(16:1/16:1/18:0)
TAG 50:3全体	TAG 50:3全体 (12:0/18:0/20:3)(12:0/18:1/20:2)(12:0/18:2/20:1)(12:0/18:3/20:0)(14:0/16:0/20:3)(14:0/16:1/20:2)(14:0/18:0/18:3)(14:0/18:1/18:2)(16:0/16:0/18:3)(16:0/16:1/18:2)(16:1/16:1/18:1)
TAG 50:4全体	TAG 50:4全体 (12:0/18:0/20:4)(12:0/18:1/20:3)(12:0/18:2/20:2)(12:0/18:3/20:1)(14:0/16:0/20:4)(14:0/16:1/20:3)(14:0/16:2/20:2)(14:0/18:1/18:3)(14:0/18:2/18:2)(16:0/16:1/18:3)(16:0/16:2/18:2)(16:1/16:1/18:2)(16:1/16:2/18:1)(16:2/16:2/18:0)

40

50

## 【 0 0 9 3 】

TAG 50:5全体	TAG 50:5全体 (14:0/16:1/20:4)(14:0/18:2/18:3)(16:0/16:2/18:3)(16:1/16:1/18:3)(16:1/16:2/18:2)(16:2/16:2/18:1)	
TAG 51:4全体	TAG 51:4全体 (15:0/18:1/18:3)(15:0/18:2/18:2)(16:1/17:0/18:3)	
TAG 52:2全体	TAG 52:2全体 (14:0/18:0/20:2)(14:0/18:1/20:1)(15:0/17:0/20:2)(16:0/16:0/20:2)(16:0/16:1/20:1)(16:0/18:0/18:2)(16:0/18:1/18:1)(16:1/18:0/18:1)(17:0/17:0/18:2)	
TAG 52:3全体	TAG 52:3全体 (14:0/16:1/22:2)(14:0/16:2/22:1)(14:0/18:1/20:2)(14:0/18:2/20:1)(14:0/18:3/20:0)(16:0/16:1/20:2)(16:0/16:2/20:1)(16:0/18:0/18:3)(16:0/18:1/18:2)(16:1/16:1/20:1)(16:1/16:2/20:0)(16:1/18:0/18:2)(16:1/18:1/18:1)(16:2/18:0/18:1)(17:0/17:0/18:3)	10
TAG 52:4全体	TAG 52:4全体 (14:0/16:0/22:4)(14:0/16:1/22:3)(14:0/16:2/22:2)(14:0/18:0/20:4)(14:0/18:1/20:3)(14:0/18:3/20:1)(16:0/16:0/20:4)(16:0/16:1/20:3)(16:0/16:2/20:2)(16:0/18:1/18:3)(16:0/18:2/18:2)(16:1/16:1/20:2)(16:1/16:2/20:1)(16:1/18:0/18:3)(16:1/18:1/18:2)(16:2/16:2/20:0)(16:2/18:0/18:2)	
TAG 52:5全体	TAG 52:5全体 (14:0/16:0/22:5)(14:0/16:2/22:3)(14:0/18:1/20:4)(14:0/18:2/20:3)(14:0/18:3/20:2)(16:0/16:0/20:5)(16:0/16:1/20:4)(16:0/16:2/20:3)(16:0/18:2/18:3)(16:1/16:1/20:3)(16:1/16:2/20:2)(16:1/18:1/18:3)(16:1/18:2/18:2)(16:2/16:2/20:1)(16:2/18:1/18:2)	20
TAG 52:6全体	TAG 52:6全体 (14:0/16:0/22:6)(14:0/18:1/20:5)(14:0/18:2/20:4)(16:0/16:1/20:5)(16:0/16:2/20:4)(16:0/18:3/18:3)(16:1/16:1/20:4)(16:1/18:2/18:3)(16:2/18:1/18:3)(16:2/18:2/18:2)	20
TAG 53:3全体	TAG 53:3全体 (15:0/18:2/20:1)(16:1/18:2/19:0)(17:0/18:1/18:2)	
TAG 53:4全体	TAG 53:4全体 (16:1/17:0/20:3)(17:0/18:2/18:2)	
TAG 54:3全体	TAG 54:3全体 (16:0/16:0/22:3)(16:0/18:1/20:2)(16:0/18:2/20:1)(16:1/18:0/20:2)(16:1/18:1/20:1)(16:1/18:2/20:0)(18:0/18:1/18:2)(18:1/18:1/18:1)	
TAG 54:4全体	TAG 54:4全体 (16:0/16:0/22:4)(16:0/16:1/22:3)(16:0/16:2/22:2)(16:0/18:0/20:4)(16:0/18:1/20:3)(16:0/18:2/20:2)(16:0/18:3/20:1)(16:1/16:1/22:2)(16:1/16:2/22:1)(16:1/18:0/20:3)(16:1/18:1/20:2)(16:1/18:2/20:1)(16:1/18:3/20:0)(16:2/16:2/22:0)(16:2/18:0/20:2)(16:2/18:1/20:1)(18:0/18:1/18:3)(18:0/18:2/18:2)	30
TAG 54:5全体	TAG 54:5全体 (16:0/16:1/22:4)(16:0/16:2/22:3)(16:0/18:1/20:4)(16:0/18:2/20:3)(16:0/18:3/20:2)(16:1/16:1/22:3)(16:1/16:2/22:2)(16:1/18:0/20:4)(16:1/18:1/20:3)(16:1/18:2/20:2)(16:1/18:3/20:1)(16:2/16:2/22:1)(16:2/18:0/20:3)(16:2/18:1/20:2)(16:2/18:2/20:1)(18:0/18:2/18:3)	
TAG 54:6全体	TAG 54:6全体 (16:0/16:0/22:6)(16:0/16:1/22:5)(16:0/16:2/22:4)(16:0/18:1/20:5)(16:0/18:2/20:4)(16:0/18:3/20:3)(16:1/16:1/22:4)(16:1/16:2/22:3)(16:1/18:0/20:5)(16:1/18:1/20:4)(16:1/18:2/20:3)(16:1/18:3/20:2)(16:2/16:2/22:2)(16:2/18:0/20:4)(16:2/18:1/20:3)	
TAG 54:7全体	TAG 54:7全体 (16:0/16:1/22:6)(16:0/18:2/20:5)(16:0/18:3/20:4)(16:1/16:1/22:5)(16:1/18:1/20:5)(16:1/18:2/20:4)(16:1/18:3/20:3)(18:1/18:3/18:3)(18:2/18:2/18:3)	40
TAG 54:8全体	TAG 54:8全体 (16:0/18:3/20:5)(16:1/18:2/20:5)(16:1/18:3/20:4)(18:2/18:3/18:3)	
TAG 55:3全体	TAG 55:3全体 (18:1/18:2/19:0)	

## 【 0 0 9 4 】

TAG 56:3全体	TAG 56:3全体 (16:0/18:1/22:2)(16:0/18:2/22:1)(16:0/20:1/20:2)(16:1/18:0/22:2)(16:1/18:1/22:1)(16:1/20:0/20:2)(16:1/20:1/20:1)(18:0/18:1/20:2)(18:0/18:2/20:1)(18:1/18:1/20:1)(18:1/18:2/20:0)	
TAG 56:4全体	TAG 56:4全体 (16:0/18:1/22:3)(16:0/18:2/22:2)(16:0/18:3/22:1)(16:0/20:1/20:3)(16:0/20:2/20:2)(16:1/18:1/22:2)(16:1/18:2/22:1)(16:1/20:0/20:3)(16:1/20:1/20:2)(18:0/18:1/20:3)(18:0/18:2/20:2)(18:0/18:3/20:1)(18:1/18:1/20:2)(18:1/18:2/20:1)(18:1/18:3/20:0)(18:2/18:2/20:0)	
TAG 56:5全体	TAG 56:5全体 (16:0/18:0/22:5)(16:0/18:1/22:4)(16:0/18:2/22:3)(16:0/18:3/22:2)(16:0/20:1/20:4)(16:0/20:2/20:3)(18:0/18:1/20:4)(18:0/18:2/20:3)(18:0/18:3/20:2)(18:1/18:1/20:3)(18:1/18:2/20:2)(18:1/18:3/20:1)(18:2/18:2/20:1)(18:2/18:3/20:0)	10
TAG 56:6全体	TAG 56:6全体 (16:0/18:0/22:6)(16:0/18:1/22:5)(16:0/18:2/22:4)(16:0/18:3/22:3)(16:0/20:1/20:5)(16:0/20:2/20:4)(16:0/20:3/20:3)(18:0/18:2/20:4)(18:0/18:3/20:3)(18:1/18:1/20:4)(18:1/18:2/20:3)(18:1/18:3/20:2)(18:2/18:2/20:2)(18:2/18:3/20:1)	
TAG 56:7全体	TAG 56:7全体 (16:0/18:1/22:6)(16:0/18:2/22:5)(16:0/18:3/22:4)(16:0/20:2/20:5)(16:0/20:3/20:4)(16:1/18:1/22:5)(16:1/18:2/22:4)(16:1/20:2/20:4)(16:1/20:3/20:3)(18:1/18:1/20:5)(18:1/18:2/20:4)(18:1/18:3/20:3)(18:2/18:2/20:3)(18:2/18:3/20:2)	20
TAG 56:8全体	TAG 56:8全体 (16:0/18:2/22:6)(16:0/18:3/22:5)(16:0/20:3/20:5)(16:0/20:4/20:4)(16:1/18:2/22:5)(16:1/20:3/20:4) (18:0/18:3/20:5)(18:2/18:2/20:4)(18:2/18:3/20:3)	
TAG 56:9全体	TAG 56:9全体 (16:0/18:3/22:6)(16:0/20:4/20:5)(16:1/18:2/22:6)(16:1/20:4/20:4) (16:2/18:1/22:6)(18:1/18:3/20:5)(18:2/18:2/20:5)(18:2/18:3/20:4)	
TAG 58:7全体	TAG 58:7全体 (18:0/18:2/22:5)(18:1/18:1/22:5)(18:1/18:2/22:4) (18:2/18:2/22:3)	
TAG 58:8全体	TAG 58:8全体 (16:0/20:4/22:4)(18:0/18:2/22:6) (18:0/20:4/20:4) (18:1/18:1/22:6)(18:1/18:2/22:5)(18:2/18:2/22:4)	
TAG 58:9全体	TAG 58:9全体 (18:1/18:2/22:6) (18:1/20:3/20:5) (18:1/20:4/20:4)(18:2/18:2/22:5) (18:2/20:3/20:4)	30
TAG 58:10全体	TAG 58:10全体 (16:0/20:4/22:6)(16:0/20:5/22:5)(18:0/20:5/20:5)(18:1/18:3/22:6)(18:1/20:4/20:5) (18:2/18:2/22:6) (18:2/18:3/22:5) (18:2/20:4/20:4)	
TAG 60:12全体	TAG 60:12全体 (20:4/20:4/20:4) (18:2/20:4/22:6)	

## 【 0 0 9 5 】

要約すると、この試験は、PCSK9阻害剤およびサイレンサーの有効性および特異性を決定するための新規の脂質マーカーを提供する。LDLコレステロールの測定のみでは可能性のある有害な薬物反応に関する情報をもたらすために十分でないので、リポドミックスバイオマーカーは、PCSK9阻害剤およびサイレンサーの有効性についての、特異度および感度がより高いマーカーである。

## 【 0 0 9 6 】

上記を考慮して、本発明は以下の項目も包含することが理解されよう：

1. 脂質降下薬を用いて対象を治療する方法であって、

(a) 前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質の濃度(複数可)を決定するステップであって、前記試料中の濃度(複数可)が対照と比較して低下または上昇していることにより前記治療の有効性が高いことが示され、濃度の低下(複数可)が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、表2~5中の減少した脂質から、好ましくは

10

20

30

40

50

CE16:0、CE16:1、CE18:1、CE20:3、Cer(d18:0/22:0)、Cer(d18:0/24:0)、Cer(d18:0/24:1)、Cer(d18:1/16:0)、Cer(d18:1/18:0)、Cer(d18:1/24:0)、Cer(d18:1/26:0)、Cer(d18:1/26:1)、Glc/GalCer(d18:1/16:0)、Glc/GalCer(d18:1/18:0)、Glc/GalCer(d18:1/20:0)、Glc/GalCer(d18:1/22:0)、Glc/GalCer(d18:1/24:0)、Glc/GalCer(d18:1/24:1)、Glc/GalCer(d18:1/26:0)、Glc/GalCer(d18:1/26:1)、GlcCer(d18:1/16:0)、GlcCer(d18:1/18:0)、LacCer(d18:1/16:0)、LacCer(d18:1/18:0)、LacCer(d18:1/22:0)、LacCer(d18:1/24:0)、SM(d18:1/16:0)(d18:1/15:1-OH)、TAG60:12、総LacCer、総Glc/GalCerおよび総LacCer

10

から選択され、濃度の上昇(複数可)が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、表2~5中の増加した脂質から、好ましくは

LPC16:1、スフィンガニンd18:0、スフィンガニン-1-リン酸d18:0、スフィンゴシンd16:1、スフィンゴシンd18:1、スフィンゴシン-1-リン酸d18:1、TAG49:2、TAG50:4、TAG52:4、TAG52:5、TAG53:3、TAG54:3、TAG54:4、TAG54:5、TAG54:6、TAG54:7、TAG54:8、TAG56:5、総S1P、総SA1P、総SPAおよび総SPH

20

から選択されるステップ、または

【0097】

(b)前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質-脂質濃度比を決定するステップであって、前記試料中の脂質-脂質濃度比(複数可)が対照と比較して減少または増加していることにより前記治療の有効性が高いことが示され、

その減少(複数可)が対照と比較される1つまたは複数の脂質-脂質濃度比が、表2~5中の脂質-脂質濃度比から、好ましくは、

Glc/GalCer(d18:1/18:0)/TAG52:4、CE18:1/スフィンゴシンd16:1、CE22:2/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、CE20:3/アポリポタンパク質A-I(mg/dL)、CE20:3/HDLコレステロール(EDTA)(mg/dL)、Cer(d18:0/22:0)/PC16:0/18:2、Cer(d18:0/24:0)/Cer(d18:1/18:0)、Cer(d18:0/24:0)/スフィンゴシンd16:1、Cer(d18:0/24:1)/FC、Cer(d18:1/16:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、Cer(d18:1/16:0)/トリグリセリド(EDTA)(mg/dL)、Cer(d18:1/18:0)/アポリポタンパク質C-II(mg/dL)、Cer(d18:1/18:0)/DAG16:0/18:1、Cer(d18:1/18:0)/PC18:0/22:6、Cer(d18:1/18:0)/トリグリセリド(EDTA)(mg/dL)、Cer(d18:1/24:0)/スフィンゴシンd16:1、Glc/GalCer(d18:1/18:0)/PC16:0/20:4、Glc/GalCer(d18:1/22:0)/LPC20:4、Glc/GalCer(d18:1/24:0)/PC16:0/20:4、Glc/GalCer(d18:1/24:0)/スフィンゴシンd16:1、GlcCer(d18:1/16:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、GlcCer(d18:1/18:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、LacCer(d18:1/18:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)およびPC16:0/16:0/スフィンゴシンd16:1

30

40

50

から選択され、

【0098】

その増加（複数可）が対照と比較される1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が、表2～5中の増加した脂質 - 脂質濃度比から、好ましくは、

TAG58:10/TAG60:12、CE18:2/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、CE18:3/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、CE20:3/PC16:0/16:0、CE20:4/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、CE20:4/SM(d18:1/16:0)(d18:1/15:1-OH)、CE20:5/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、Cer(d18:0/22:0)/Cer(d18:1/22:0)、Cer(d18:0/24:0) / FC、Cer(d18:0/24:0)/PC16:0/18:2、Cer(d18:1/16:0)/Glc/GalCer(d18:1/16:0)、Cer(d18:1/18:0)/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、LPC16:1/TAG56:5、LPC18:2/LacCer(d18:1/16:0)、LPC18:2/SM(d18:1/16:0)(d18:1/15:1-OH)およびPC18:2/18:2/SM(d18:1/16:0)(d18:1/15:1-OH)

から選択されるステップ

を含む方法。

【0099】

2.(a)前記脂質降下薬を前記対象に投与するステップ、および/または(b)有効性が高いことが決定されたら、前記脂質降下薬の投与を継続することをさらに含む、項目1の方法。

【0100】

3.前記対象を治療する前に前記対象における前記治療の有効性を予測するステップを含む、脂質降下薬を用いて対象を治療する方法であって、

(a)前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質の濃度（複数可）を決定するステップであって、前記試料中の濃度（複数可）が対照と比較して上昇または低下していることにより前記治療が有効であることが示され、

濃度の上昇（複数可）が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、表2～5中の減少した脂質から、好ましくは

CE16:0、CE16:1、CE18:1、CE20:3、Cer(d18:0/22:0)、Cer(d18:0/24:0)、Cer(d18:0/24:1)、Cer(d18:1/16:0)、Cer(d18:1/18:0)、Cer(d18:1/24:0)、Cer(d18:1/26:0)、Cer(d18:1/26:1)、Glc/GalCer(d18:1/16:0)、Glc/GalCer(d18:1/18:0)、Glc/GalCer(d18:1/20:0)、Glc/GalCer(d18:1/22:0)、Glc/GalCer(d18:1/24:0)、Glc/GalCer(d18:1/24:1)、Glc/GalCer(d18:1/26:0)、Glc/GalCer(d18:1/26:1)、GlcCer(d18:1/16:0)、GlcCer(d18:1/18:0)、LacCer(d18:1/16:0)、LacCer(d18:1/18:0)、LacCer(d18:1/22:0)、LacCer(d18:1/24:0)、SM(d18:1/16:0)(d18:1/15:1-OH)、TAG60:12、総Cer、総Glc/GalCerおよび総LacCer

から選択され、

【0101】

濃度の低下（複数可）が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、表2～5中の増加した脂質から、好ましくは

LPC16:1、スフィンガニンd18:0、スフィンガニン-1-リン酸d18:0、スフィンゴシンd16:1、スフィンゴシンd18:1、スフィンゴシン-1-リン酸d18:1、TAG49:2、TAG50:4、TAG52:4、TAG52:5、TAG

10

20

30

40

50

5 3 : 3、T A G 5 4 : 3、T A G 5 4 : 4、T A G 5 4 : 5、T A G 5 4 : 6、T A G 5 4 : 7、T A G 5 4 : 8、T A G 5 6 : 5、総 S 1 P、総 S A 1 P、総 S P A および 総 S P H

から選択されるステップ、または

【 0 1 0 2 】

( b ) 前記対象由来の試料中の 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比を決定するステップであって、前記試料中の脂質 - 脂質濃度比が対照と比較して増加または減少していることにより前記治療が有効であろうことが示され

その増加 ( 複数可 ) が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が、表 2 ~ 5 中の減少した脂質 - 脂質濃度比から、好ましくは、

G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 ) / T A G 5 2 : 4、C E 1 8 : 1 / スフィンゴシン d 1 6 : 1、C E 2 2 : 2 / S M ( d 1 8 : 1 / 2 3 : 1 ) ( d 1 8 : 1 / 2 2 : 2 - O H )、C E 2 0 : 3 / アポリポタンパク質 A - I ( m g / d L )、C E 2 0 : 3 / H D L コレステロール ( E D T A ) ( m g / d L )、C e r ( d 1 8 : 0 / 2 2 : 0 ) / P C 1 6 : 0 / 1 8 : 2、C e r ( d 1 8 : 0 / 2 4 : 0 ) / C e r ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 )、C e r ( d 1 8 : 0 / 2 4 : 0 ) / スフィンゴシン d 1 6 : 1、C e r ( d 1 8 : 0 / 2 4 : 1 ) / F C、C e r ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 ) / S M ( d 1 8 : 1 / 2 3 : 1 ) ( d 1 8 : 1 / 2 2 : 2 - O H )、C e r ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 ) / トリグリセリド ( E D T A ) ( m g / d L )、C e r ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 ) / アポリポタンパク質 C - I I I ( m g / d L )、C e r ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 ) / D A G 1 6 : 0 / 1 8 : 1、C e r ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 ) / P C 1 8 : 0 / 2 2 : 6、C e r ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 ) / トリグリセリド ( E D T A ) ( m g / d L )、C e r ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 ) / スフィンゴシン d 1 6 : 1、G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 ) / P C 1 6 : 0 / 2 0 : 4、G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 2 2 : 0 ) / L P C 2 0 : 4、G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 ) / P C 1 6 : 0 / 2 0 : 4、G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 ) / スフィンゴシン d 1 6 : 1、G l c C e r ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 ) / S M ( d 1 8 : 1 / 2 3 : 1 ) ( d 1 8 : 1 / 2 2 : 2 - O H )、G l c C e r ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 ) / S M ( d 1 8 : 1 / 2 3 : 1 ) ( d 1 8 : 1 / 2 2 : 2 - O H )、L a c C e r ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 ) / S M ( d 1 8 : 1 / 2 3 : 1 ) ( d 1 8 : 1 / 2 2 : 2 - O H ) および P C 1 6 : 0 / 1 6 : 0 / スフィンゴシン d 1 6 : 1

から選択され、

【 0 1 0 3 】

その減少 ( 複数可 ) が対照と比較される 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が、表 2 ~ 5 中の増加した脂質 - 脂質濃度比から、好ましくは、

T A G 5 8 : 1 0 / T A G 6 0 : 1 2、C E 1 8 : 2 / G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 )、C E 1 8 : 3 / G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 )、C E 2 0 : 3 / P C 1 6 : 0 / 1 6 : 0、C E 2 0 : 4 / G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 )、C E 2 0 : 4 / S M ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 ) ( d 1 8 : 1 / 1 5 : 1 - O H )、C E 2 0 : 5 / G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 )、C e r ( d 1 8 : 0 / 2 2 : 0 ) / C e r ( d 1 8 : 1 / 2 2 : 0 )、C e r ( d 1 8 : 0 / 2 4 : 0 ) / F C、C e r ( d 1 8 : 0 / 2 4 : 0 ) / P C 1 6 : 0 / 1 8 : 2、C e r ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 ) / G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 )、C e r ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 ) / G l c / G a l C e r ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 )、L P C 1 6 : 1 / T A G 5 6 : 5、L P C 1 8 : 2 / L a c C e r ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 )、L P C 1 8 : 2 / S M ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 ) ( d 1 8 : 1 / 1 5 : 1 - O H ) および P C 1 8 : 2 / 1 8 : 2 / S M ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 ) ( d 1 8 : 1 / 1 5 : 1 - O H )

から選択されるステップ

を含む方法。

【 0 1 0 4 】

10

20

30

40

50

4. 前記対象において前記治療が有効であろうことが決定されたら、前記脂質降下薬を前記対象に投与するステップをさらに含む、項目3の方法。

【0105】

5. 脂質降下薬治療に対する対象の適合性を決定することを含む、脂質降下薬を用いて対象を治療する方法であって、

(a) 前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質の濃度(複数可)を決定するステップであって、前記試料中の濃度(複数可)が対照と比較して低下または上昇していることにより良好な治療適合性が示され、

濃度の低下(複数可)が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、表2~5中の減少した脂質から、好ましくは、

CE16:0、CE16:1、CE18:1、CE20:3、Cer(d18:0/22:0)、Cer(d18:0/24:0)、Cer(d18:0/24:1)、Cer(d18:1/16:0)、Cer(d18:1/18:0)、Cer(d18:1/24:0)、Cer(d18:1/26:0)、Cer(d18:1/26:1)、Glc/GalCer(d18:1/16:0)、Glc/GalCer(d18:1/18:0)、Glc/GalCer(d18:1/20:0)、Glc/GalCer(d18:1/22:0)、Glc/GalCer(d18:1/24:0)、Glc/GalCer(d18:1/24:1)、Glc/GalCer(d18:1/26:0)、Glc/GalCer(d18:1/26:1)、GlcCer(d18:1/16:0)、GlcCer(d18:1/18:0)、LacCer(d18:1/16:0)、LacCer(d18:1/18:0)、LacCer(d18:1/22:0)、LacCer(d18:1/24:0)、SM(d18:1/16:0)(d18:1/15:1-OH)、TAG60:12、総Cer、総Glc/GalCerおよび総LacCerから選択され、

【0106】

濃度の上昇(複数可)が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、表2~5中の増加した脂質から、好ましくは、

LPC16:1、スフィンガニンd18:0、スフィンガニン-1-リン酸d18:0、スフィンゴシンd16:1、スフィンゴシンd18:1、スフィンゴシン-1-リン酸d18:1、TAG49:2、TAG50:4、TAG52:4、TAG52:5、TAG53:3、TAG54:3、TAG54:4、TAG54:5、TAG54:6、TAG54:7、TAG54:8、TAG56:5、総S1P、総SA1P、総SPAおよび総SPH

から選択されるステップ、または

【0107】

(b) 前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質-脂質濃度比を決定するステップであって、前記試料中の脂質-脂質濃度比(複数可)が対照と比較して減少または増加していることにより良好な治療適合性が示され、

濃度の減少(複数可)が対照と比較される1つまたは複数の脂質-脂質濃度比が、表2~5中の減少した脂質-脂質濃度比から、好ましくは、

Glc/GalCer(d18:1/18:0)/TAG52:4、CE18:1/スフィンゴシンd16:1、CE22:2/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、CE20:3/アポリポタンパク質A-I(mg/dL)、CE20:3/HDLコレステロール(EDTA)(mg/dL)、Cer(d18:0/22:0)/PC16:0/18:2、Cer(d18:0/24:0)/Cer(d18:1/18:0)、Cer(d18:0/24:0)/スフィンゴシンd16:1、Cer(d18:0/24:1)/FC、Cer(d18:1/16:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、Cer(d18:1/16:0)/トリグリセリド(EDTA)(mg/dL)、Cer(d18:1/18:0)/アポリポタンパク質C-II(mg/dL)、Cer(d18:1/18:0)/DAG16:0/1

10

20

30

40

50

8 : 1、Cer ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 ) / PC 1 8 : 0 / 2 2 : 6、Cer ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 ) / トリグリセリド ( EDTA ) ( mg / d L )、Cer ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 ) / スフィンゴシン d 1 6 : 1、Glc / GalCer ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 ) / PC 1 6 : 0 / 2 0 : 4、Glc / GalCer ( d 1 8 : 1 / 2 2 : 0 ) / LPC 2 0 : 4、Glc / GalCer ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 ) / PC 1 6 : 0 / 2 0 : 4、Glc / GalCer ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 ) / スフィンゴシン d 1 6 : 1、GlcCer ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 ) / SM ( d 1 8 : 1 / 2 3 : 1 ) ( d 1 8 : 1 / 2 2 : 2 - OH )、GlcCer ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 ) / SM ( d 1 8 : 1 / 2 3 : 1 ) ( d 1 8 : 1 / 2 2 : 2 - OH )、LacCer ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 ) / SM ( d 1 8 : 1 / 2 3 : 1 ) ( d 1 8 : 1 / 2 2 : 2 - OH ) および PC 1 6 : 0 / 1 6 : 0 / スフィンゴシン d 1 6 : 1

10

から選択され、

【0108】

その増加 ( 複数可 ) が対照と比較される1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が、表2 ~ 5中の増加した脂質 - 脂質濃度比から、好ましくは、

TAG 5 8 : 1 0 / TAG 6 0 : 1 2、CE 1 8 : 2 / Glc / GalCer ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 )、CE 1 8 : 3 / Glc / GalCer ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 )、CE 2 0 : 3 / PC 1 6 : 0 / 1 6 : 0、CE 2 0 : 4 / Glc / GalCer ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 )、CE 2 0 : 4 / SM ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 ) ( d 1 8 : 1 / 1 5 : 1 - OH )、CE 2 0 : 5 / Glc / GalCer ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 )、Cer ( d 1 8 : 0 / 2 2 : 0 ) / Cer ( d 1 8 : 1 / 2 2 : 0 )、Cer ( d 1 8 : 0 / 2 4 : 0 ) / FC、Cer ( d 1 8 : 0 / 2 4 : 0 ) / PC 1 6 : 0 / 1 8 : 2、Cer ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 ) / Glc / GalCer ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 )、Cer ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 ) / Glc / GalCer ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 )、LPC 1 6 : 1 / TAG 5 6 : 5、LPC 1 8 : 2 / LacCer ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 )、LPC 1 8 : 2 / SM ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 ) ( d 1 8 : 1 / 1 5 : 1 - OH ) および PC 1 8 : 2 / 1 8 : 2 / SM ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 ) ( d 1 8 : 1 / 1 5 : 1 - OH )

20

から選択されるステップ

を含む方法。

【0109】

30

6 . ( a ) 前記脂質降下薬を前記対象に投与するステップ、および / または ( b ) 良好な治療適合性が決定されたら、前記脂質降下薬の投与を継続すること

をさらに含む、項目5の方法。

7 . 脂質降下薬が PCSK9 阻害剤 / サイレンサーである、項目1から6までのいずれか1つの方法。

【0110】

8 . PCSK9 阻害剤 / サイレンサーを用いて対象を治療する方法であって、対象由来の試料中の1つもしくは複数の脂質の濃度 ( 複数可 ) または脂質 - 脂質濃度比 ( 複数可 ) が対照と比較され、前記1つまたは複数の前記脂質 ( 複数可 ) または脂質 - 脂質濃度比 ( 複数可 ) が、表2 ~ 5中の脂質および脂質 - 脂質濃度比から、好ましくは、

40

CE 1 6 : 0、CE 1 6 : 1、CE 1 8 : 1、CE 2 0 : 3、Cer ( d 1 8 : 0 / 2 2 : 0 )、Cer ( d 1 8 : 0 / 2 4 : 0 )、Cer ( d 1 8 : 0 / 2 4 : 1 )、Cer ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 )、Cer ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 )、Cer ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 )、Cer ( d 1 8 : 1 / 2 6 : 0 )、Cer ( d 1 8 : 1 / 2 6 : 1 )、Glc / GalCer ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 )、Glc / GalCer ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 )、Glc / GalCer ( d 1 8 : 1 / 2 0 : 0 )、Glc / GalCer ( d 1 8 : 1 / 2 2 : 0 )、Glc / GalCer ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 )、Glc / GalCer ( d 1 8 : 1 / 2 4 : 1 )、Glc / GalCer ( d 1 8 : 1 / 2 6 : 0 )、Glc / GalCer ( d 1 8 : 1 / 2 6 : 1 )、GlcCer ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 )、GlcCer ( d 1 8 : 1 / 1 8 : 0 )、LacCer ( d 1 8 : 1 / 1 6 : 0 )、Lac

50

Cer (d18 : 1 / 18 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 22 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 24 : 0)、SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH)、TAG60 : 12、総Cer、総Glc / GalCerおよび総LacCer、  
【0111】

LPC16 : 1、スフィンガニンd18 : 0、スフィンガニン - 1 - リン酸d18 : 0、スフィンゴシンd16 : 1、スフィンゴシンd18 : 1、スフィンゴシン - 1 - リン酸d18 : 1、TAG49 : 2、TAG50 : 4、TAG52 : 4、TAG52 : 5、TAG53 : 3、TAG54 : 3、TAG54 : 4、TAG54 : 5、TAG54 : 6、TAG54 : 7、TAG54 : 8、TAG56 : 5、総S1P、総SA1P、総SPA、総SPH、

10

【0112】

Glc / GalCer (d18 : 1 / 18 : 0) / TAG52 : 4、CE18 : 1 / スフィンゴシンd16 : 1、CE22 : 2 / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、CE20 : 3 / アポリポタンパク質A - I (mg / dL)、CE20 : 3 / HDLコレステロール (EDTA) (mg / dL)、Cer (d18 : 0 / 22 : 0) / PC16 : 0 / 18 : 2、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / Cer (d18 : 1 / 18 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / スフィンゴシンd16 : 1、Cer (d18 : 0 / 24 : 1) / FC、Cer (d18 : 1 / 16 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、Cer (d18 : 1 / 16 : 0) / トリグリセリド (EDTA) (mg / dL)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / アポリポタンパク質C - III (mg / dL)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / DAG16 : 0 / 18 : 1、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / PC18 : 0 / 22 : 6、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / トリグリセリド (EDTA) (mg / dL)、Cer (d18 : 1 / 24 : 0) / スフィンゴシンd16 : 1、Glc / GalCer (d18 : 1 / 18 : 0) / PC16 : 0 / 20 : 4、Glc / GalCer (d18 : 1 / 22 : 0) / LPC20 : 4、Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0) / PC16 : 0 / 20 : 4、Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0) / スフィンゴシンd16 : 1、GlcCer (d18 : 1 / 16 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、GlcCer (d18 : 1 / 18 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、LacCer (d18 : 1 / 18 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、PC16 : 0 / 16 : 0 / スフィンゴシンd16 : 1、

20

30

TAG58 : 10 / TAG60 : 12、CE18 : 2 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、CE18 : 3 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、CE20 : 3 / PC16 : 0 / 16 : 0、CE20 : 4 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、CE20 : 4 / SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH)、CE20 : 5 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、Cer (d18 : 0 / 22 : 0) / Cer (d18 : 1 / 22 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / FC、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / PC16 : 0 / 18 : 2、Cer (d18 : 1 / 16 : 0) / Glc / GalCer (d18 : 1 / 16 : 0)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、LPC16 : 1 / TAG56 : 5、LPC18 : 2 / LacCer (d18 : 1 / 16 : 0)、LPC18 : 2 / SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH) および PC18 : 2 / 18 : 2 / SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH)

40

から選択され、

前記対照が、

(a) PCSK9機能喪失型変異を有する1つまたは複数の対象に由来する試料または値、

(b) PCSK9機能喪失型脂質プロファイルを有する1つまたは複数の対象に由来する試料または値、または

50

(c) 公知の特異的な PCSK9 阻害剤 / サイレンサーを用いて治療した 1 つまたは複数の対象に由来する試料または値であり、前記試料と対照中の前記 1 つもしくは複数の脂質または脂質 - 脂質濃度比 (複数可) の間に差異がないことにより前記 PCSK9 阻害剤 / サイレンサーを用いた治療の特異性が示され、差異があることにより前記 PCSK9 阻害剤 / サイレンサーまたは化合物によって非特異的な影響、例えば、1 つまたは複数の有害な副作用などが引き起こされることが示される方法。

【0113】

9. PCSK9 機能喪失型脂質プロファイルが、対照由来の 1 つもしくは複数の脂質の濃度 (複数可) または脂質 - 脂質濃度比を決定することによって作成される、項目 8 の方法。

10

【0114】

10. 前記 PCSK9 阻害剤 / サイレンサーが、  
 (a) PCSK9 に対する 1 つまたは複数の抗体、  
 (b) PCSK9 の阻害薬物、  
 (c) LDL - 受容体と PCSK9 の相互作用を阻害する小分子、  
 (d) LDL - 受容体の PCSK9 との相互作用ドメインを模倣するペプチド、  
 (e) PCSK9 mRNA に特異的な 1 つまたは複数の siRNA、および / または  
 (f) PCSK9 mRNA に特異的な 1 つまたは複数のアンチセンスオリゴヌクレオチド  
 である、項目 7 または 8 の方法。

20

【0115】

11. 比較が行われる前記対象が、  
 (a) PCSK9 阻害剤 / サイレンサーまたは PCSK9 を標的とする別の化合物を用いた治療を受けている患者、  
 (b) PCSK9 阻害剤 / サイレンサーまたは PCSK9 を標的とする別の化合物を用いた治療を受けている試験動物、  
 (c) PCSK9 阻害剤 / サイレンサー以外の脂質降下薬を用いた治療を受けている患者または試験動物、または  
 (d) PCSK9 阻害剤 / サイレンサー、PCSK9 を標的とする別の化合物または PCSK9 阻害剤 / サイレンサー以外の脂質降下薬を用いた治療を受けたことがなく、現在も受けていない患者または試験動物  
 である、項目 1 から 10 までのいずれか 1 つの方法。

30

12. 比較が行われる前記対照が、脂質降下薬または PCSK9 阻害剤 / サイレンサーをそれぞれ用いて治療する前、または、前記治療を中断している間の同じ対象由来の対照試料である、項目 1 から 7 までまたは項目 11 のいずれか 1 つの方法。

【0116】

13. 比較が行われる前記対照が、  
 (a) 以前に PCSK9 阻害剤 / サイレンサーを用いて治療されていない 1 つまたは複数の健康な対象から確立された対照値、  
 (b) PCSK9 阻害剤 / サイレンサーを用いた治療を受けていない 1 つまたは複数の健康な対象から確立された対照値、  
 (c) PCSK9 遺伝子に任意の機能喪失型変異、例えば、R46L (rs11591147) などを有する 1 つまたは複数の対象由来の対照試料、または  
 (d) PCSK9 阻害剤 / サイレンサーを用いた治療中であり、薬剤誘発性オフターゲット効果の徴候または履歴がない 1 つまたは複数の対象から確立された対照値  
 である、項目 1 から 12 までのいずれか 1 つの方法。

40

14. 前記対象または前記対象由来の試料における LDL コレステロールのレベルを決定または評価するステップをさらに含み、対象の LDL コレステロールレベルが低下していてもよい、項目 1 から 13 までのいずれか 1 つの方法。

50

## 【0117】

15. (a) 試料が、血液、血漿、血清、もしくはその画分、例えば、リポタンパク質画分など、または組織生検材料であり、かつ/または

(b) 脂質濃度(複数可)および/または脂質比(複数可)が、質量分析法、核磁気共鳴分光法、蛍光分光法または二面偏波式干渉法、HPLCもしくはUPLCなどの高性能分離法、ELISAなどのイムノアッセイを使用すること、および/または分析物に特異的に結合することができる結合部分を用いることによって決定される、項目1から14までのいずれか1つの方法。

## 【0118】

上記を考慮して、さらに、本発明が以下の態様も包含することが理解されよう：

1. 対象における脂質降下薬を用いた治療が有効であるかの決定において使用するためのデータを得る方法であって、

(a) 前記対象由来の試料中の、表2～5中の脂質から、好ましくは、

Glc/GalCer(d18:1/16:0)、LacCer(d18:1/16:0)、Cer(d18:1/16:0)、CE16:0、CE16:1、CE18:1、CE20:3、Cer(d18:0/22:0)、Cer(d18:0/24:0)、Cer(d18:0/24:1)、Cer(d18:1/18:0)、Cer(d18:1/24:0)、Cer(d18:1/26:0)、Cer(d18:1/26:1)、Glc/GalCer(d18:1/18:0)、Glc/GalCer(d18:1/20:0)、Glc/GalCer(d18:1/22:0)、Glc/GalCer(d18:1/24:0)、Glc/GalCer(d18:1/24:1)、Glc/GalCer(d18:1/26:0)、Glc/GalCer(d18:1/26:1)、GlcCer(d18:1/16:0)、GlcCer(d18:1/18:0)、LacCer(d18:1/18:0)、LacCer(d18:1/22:0)、LacCer(d18:1/24:0)、SM(d18:1/16:0)(d18:1/15:1-OH)、TAG60:12、総Cer、総Glc/GalCer、総LacCer、LPC16:1、スフィンガニンd18:0、スフィンガニン-1-リン酸d18:0、スフィンゴシンd16:1、スフィンゴシンd18:1、スフィンゴシン-1-リン酸d18:1、TAG49:2、TAG50:4、TAG52:4、TAG52:5、TAG53:3、TAG54:3、TAG54:4、TAG54:5、TAG54:6、TAG54:7、TAG54:8、TAG56:5、総S1P、総SA1P、総SPAおよび総SPH

から選択される1つまたは複数の脂質の濃度(複数可)を決定するステップ、または

## 【0119】

(b) 前記対象由来の試料中の、表2～5中の脂質-脂質濃度から、好ましくは、

Glc/GalCer(d18:1/18:0)/TAG52:4、CE18:1/スフィンゴシンd16:1、CE22:2/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、CE20:3/アポリポタンパク質A-I(mg/dL)、CE20:3/HDLコレステロール(EDTA)(mg/dL)、Cer(d18:0/22:0)/PC16:0/18:2、Cer(d18:0/24:0)/Cer(d18:1/18:0)、Cer(d18:0/24:0)/スフィンゴシンd16:1、Cer(d18:0/24:1)/FC、Cer(d18:1/16:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、Cer(d18:1/16:0)/トリグリセリド(EDTA)(mg/dL)、Cer(d18:1/18:0)/アポリポタンパク質C-II(mg/dL)、Cer(d18:1/18:0)/DAG16:0/18:1、Cer(d18:1/18:0)/PC18:0/22:6、Cer(d18:1/18:0)/トリグリセリド(EDTA)(mg/dL)、Cer(d18:1/24:0)/スフィンゴシンd16:1、Glc/GalCer(d18:1/18:0)/PC16:0/20:4、Glc/GalCer(d18:1/22:0)/LPC20:4、Glc/GalCer(d18:1/24:0)/PC16:0/20:4、G

10

20

30

40

50

Glc/GalCer(d18:1/24:0)/スフィンゴシンド16:1、GlcCer(d18:1/16:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、GlcCer(d18:1/18:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、LacCer(d18:1/18:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、PC16:0/16:0/スフィンゴシンド16:1、

【0120】

TAG58:10/TAG60:12、CE18:2/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、CE18:3/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、CE20:3/PC16:0/16:0、CE20:4/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、CE20:4/SM(d18:1/16:0)(d18:1/15:1-OH)、CE20:5/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、Cer(d18:0/22:0)/Cer(d18:1/22:0)、Cer(d18:0/24:0)/FC、Cer(d18:0/24:0)/PC16:0/18:2、Cer(d18:1/16:0)/Glc/GalCer(d18:1/16:0)、Cer(d18:1/18:0)/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、LPC16:1/TAG56:5、LPC18:2/LacCer(d18:1/16:0)、LPC18:2/SM(d18:1/16:0)(d18:1/15:1-OH)およびPC18:2/18:2/SM(d18:1/16:0)(d18:1/15:1-OH)

から選択される1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比を決定するステップを含む方法。

【0121】

2. 対象における脂質降下薬を用いた治療が有効であるかの予測において使用するためのデータを得る方法であって、

(a) 前記対象由来の試料中の、表2~5中の脂質から、好ましくは、

Glc/GalCer(d18:1/16:0)、LacCer(d18:1/16:0)、Cer(d18:1/16:0)、CE16:0、CE16:1、CE18:1、CE20:3、Cer(d18:0/22:0)、Cer(d18:0/24:0)、Cer(d18:0/24:1)、Cer(d18:1/18:0)、Cer(d18:1/24:0)、Cer(d18:1/26:0)、Cer(d18:1/26:1)、Glc/GalCer(d18:1/18:0)、Glc/GalCer(d18:1/20:0)、Glc/GalCer(d18:1/22:0)、Glc/GalCer(d18:1/24:0)、Glc/GalCer(d18:1/24:1)、Glc/GalCer(d18:1/26:0)、Glc/GalCer(d18:1/26:1)、GlcCer(d18:1/16:0)、GlcCer(d18:1/18:0)、LacCer(d18:1/18:0)、LacCer(d18:1/22:0)、LacCer(d18:1/24:0)、SM(d18:1/16:0)(d18:1/15:1-OH)、TAG60:12、総Cer、総Glc/GalCer、総LacCer、

【0122】

LPC16:1、スフィンガニンd18:0、スフィンガニン-1-リン酸d18:0、スフィンゴシンド16:1、スフィンゴシンド18:1、スフィンゴシン-1-リン酸d18:1、TAG49:2、TAG50:4、TAG52:4、TAG52:5、TAG53:3、TAG54:3、TAG54:4、TAG54:5、TAG54:6、TAG54:7、TAG54:8、TAG56:5、総S1P、総SA1P、総SPAおよび総SPH

から選択される1つまたは複数の脂質の濃度(複数可)を決定するステップ、または

【0123】

(b) 前記対象由来の試料中の、表2~5中の脂質 - 脂質濃度から、好ましくは、

Glc/GalCer(d18:1/18:0)/TAG52:4、CE18:1/スフィンゴシンド16:1、CE22:2/SM(d18:1/23:1)(d18:1/2

10

20

30

40

50

2 : 2 - OH)、CE20 : 3 / アポリポタンパク質 A - I (mg / dL)、CE20 : 3 / HDL コレステロール (EDTA) (mg / dL)、Cer (d18 : 0 / 22 : 0) / PC16 : 0 / 18 : 2、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / Cer (d18 : 1 / 18 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / スフィンゴシン d16 : 1、Cer (d18 : 0 / 24 : 1) / FC、Cer (d18 : 1 / 16 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、Cer (d18 : 1 / 16 : 0) / トリグリセリド (EDTA) (mg / dL)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / アポリポタンパク質 C - III (mg / dL)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / DAG16 : 0 / 18 : 1、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / PC18 : 0 / 22 : 6、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / トリグリセリド (EDTA) (mg / dL)、Cer (d18 : 1 / 24 : 0) / スフィンゴシン d16 : 1、Glc / GalCer (d18 : 1 / 18 : 0) / PC16 : 0 / 20 : 4、Glc / GalCer (d18 : 1 / 22 : 0) / LPC20 : 4、Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0) / PC16 : 0 / 20 : 4、Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0) / スフィンゴシン d16 : 1、GlcCer (d18 : 1 / 16 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、GlcCer (d18 : 1 / 18 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、LacCer (d18 : 1 / 18 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、PC16 : 0 / 16 : 0 / スフィンゴシン d16 : 1、

10

20

30

40

50

【0124】

TAG58 : 10 / TAG60 : 12、CE18 : 2 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、CE18 : 3 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、CE20 : 3 / PC16 : 0 / 16 : 0、CE20 : 4 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、CE20 : 4 / SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH)、CE20 : 5 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、Cer (d18 : 0 / 22 : 0) / Cer (d18 : 1 / 22 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / FC、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / PC16 : 0 / 18 : 2、Cer (d18 : 1 / 16 : 0) / Glc / GalCer (d18 : 1 / 16 : 0)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、LPC16 : 1 TAG56 : 5、LPC18 : 2 / LacCer (d18 : 1 / 16 : 0)、LPC18 : 2 / SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH) および PC18 : 2 / 18 : 2 / SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH) から選択される1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比を決定するステップを含む方法。

【0125】

3. 対象における脂質降下薬を用いた治療の有効性を決定するための方法であって、(a) 前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質の濃度(複数可)を決定するステップであって、前記試料中の濃度(複数可)が対照と比較して低下または上昇していることにより前記治療の有効性が高いことが示され、濃度の低下(複数可)が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、表2~5中の減少した脂質から、好ましくは、Glc / GalCer (d18 : 1 / 16 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 16 : 0)、Cer (d18 : 1 / 16 : 0)、CE16 : 0、CE16 : 1、CE18 : 1、CE20 : 3、Cer (d18 : 0 / 22 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 1)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0)、Cer (d18 : 1 / 24 : 0)、Cer (d18 : 1 / 26 : 0)、Cer (d18 : 1 / 26 : 1)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 18 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 20 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 22 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 1)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 26 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 26 : 1)、GlcCer (d18 : 1 / 16 : 0)、GlcCer (d18 : 1 / 18 : 0)、Lac

Cer (d 18 : 1 / 18 : 0)、LacCer (d 18 : 1 / 22 : 0)、LacCer (d 18 : 1 / 24 : 0)、SM (d 18 : 1 / 16 : 0) (d 18 : 1 / 15 : 1 - OH)、TAG 60 : 12、総Cer、総Glc / GalCerおよび総LacCerから選択され、

【0126】

濃度の上昇（複数可）が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、表2～5中の増加した脂質から、好ましくは、

LPC 16 : 1、スフィンガニン d 18 : 0、スフィンガニン - 1 - リン酸 d 18 : 0、スフィンゴシン d 16 : 1、スフィンゴシン d 18 : 1、スフィンゴシン - 1 - リン酸 d 18 : 1、TAG 49 : 2、TAG 50 : 4、TAG 52 : 4、TAG 52 : 5、TAG 53 : 3、TAG 54 : 3、TAG 54 : 4、TAG 54 : 5、TAG 54 : 6、TAG 54 : 7、TAG 54 : 8、TAG 56 : 5、総S1P、総SA1P、総SPAおよび総SPH

から選択されるステップ、または

【0127】

(b) 前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比を決定するステップであって、前記試料中の脂質 - 脂質濃度比（複数可）が対照と比較して減少または増加していることにより前記治療の有効性が高いことが示され、

その減少（複数可）が対照と比較される1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が、表2～5中の減少した脂質 - 脂質濃度から、好ましくは、

Glc / GalCer (d 18 : 1 / 18 : 0) / TAG 52 : 4、CE 18 : 1 / スフィンゴシン d 16 : 1、CE 22 : 2 / SM (d 18 : 1 / 23 : 1) (d 18 : 1 / 22 : 2 - OH)、CE 20 : 3 / アポリポタンパク質 A - I (mg / dL)、CE 20 : 3 / HDL コレステロール (EDTA) (mg / dL)、Cer (d 18 : 0 / 22 : 0) / PC 16 : 0 / 18 : 2、Cer (d 18 : 0 / 24 : 0) / Cer (d 18 : 1 / 18 : 0)、Cer (d 18 : 0 / 24 : 0) / スフィンゴシン d 16 : 1、Cer (d 18 : 0 / 24 : 1) / FC、Cer (d 18 : 1 / 16 : 0) / SM (d 18 : 1 / 23 : 1) (d 18 : 1 / 22 : 2 - OH)、Cer (d 18 : 1 / 16 : 0) / トリグリセリド (EDTA) (mg / dL)、Cer (d 18 : 1 / 18 : 0) / アポリポタンパク質 C - III (mg / dL)、Cer (d 18 : 1 / 18 : 0) / DAG 16 : 0 / 18 : 1、Cer (d 18 : 1 / 18 : 0) / PC 18 : 0 / 22 : 6、Cer (d 18 : 1 / 18 : 0) / トリグリセリド (EDTA) (mg / dL)、Cer (d 18 : 1 / 24 : 0) / スフィンゴシン d 16 : 1、Glc / GalCer (d 18 : 1 / 18 : 0) / PC 16 : 0 / 20 : 4、Glc / GalCer (d 18 : 1 / 22 : 0) / LPC 20 : 4、Glc / GalCer (d 18 : 1 / 24 : 0) / PC 16 : 0 / 20 : 4、Glc / GalCer (d 18 : 1 / 24 : 0) / スフィンゴシン d 16 : 1、GlcCer (d 18 : 1 / 16 : 0) / SM (d 18 : 1 / 23 : 1) (d 18 : 1 / 22 : 2 - OH)、GlcCer (d 18 : 1 / 18 : 0) / SM (d 18 : 1 / 23 : 1) (d 18 : 1 / 22 : 2 - OH)、LacCer (d 18 : 1 / 18 : 0) / SM (d 18 : 1 / 23 : 1) (d 18 : 1 / 22 : 2 - OH) および PC 16 : 0 / 16 : 0 / スフィンゴシン d 16 : 1

から選択され、

【0128】

その増加（複数可）が対照と比較される1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が、表2～5中の増加した脂質 - 脂質濃度から、好ましくは、

TAG 58 : 10 / TAG 60 : 12、CE 18 : 2 / Glc / GalCer (d 18 : 1 / 24 : 0)、CE 18 : 3 / Glc / GalCer (d 18 : 1 / 24 : 0)、CE 20 : 3 / PC 16 : 0 / 16 : 0、CE 20 : 4 / Glc / GalCer (d 18 : 1 / 24 : 0)、CE 20 : 4 / SM (d 18 : 1 / 16 : 0) (d 18 : 1 / 15 : 1 - OH)、CE 20 : 5 / Glc / GalCer (d 18 : 1 / 24 : 0)、Cer (d 1

10

20

30

40

50

8 : 0 / 22 : 0 ) / Cer ( d 18 : 1 / 22 : 0 )、Cer ( d 18 : 0 / 24 : 0 ) / FC、Cer ( d 18 : 0 / 24 : 0 ) / PC 16 : 0 / 18 : 2、Cer ( d 18 : 1 / 16 : 0 ) / Glc / Gal Cer ( d 18 : 1 / 16 : 0 )、Cer ( d 18 : 1 / 18 : 0 ) / Glc / Gal Cer ( d 18 : 1 / 24 : 0 )、LPC 16 : 1 TAG 56 : 5、LPC 18 : 2 / Lac Cer ( d 18 : 1 / 16 : 0 )、LPC 18 : 2 / SM ( d 18 : 1 / 16 : 0 ) ( d 18 : 1 / 15 : 1 - OH ) および PC 18 : 2 / 18 : 2 / SM ( d 18 : 1 / 16 : 0 ) ( d 18 : 1 / 15 : 1 - OH )

から選択されるステップを含む方法。

【0129】

4 . 対象における脂質降下薬を用いた治療の有効性を予測するための方法であって、( a ) 前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質の濃度 ( 複数可 ) を決定するステップであって、前記試料中の濃度 ( 複数可 ) が対照と比較して上昇または低下していることにより前記治療が有効であろうことが示され、濃度の上昇 ( 複数可 ) が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、表2 ~ 5 中の減少した脂質から、好ましくは、

Glc / Gal Cer ( d 18 : 1 / 16 : 0 )、Lac Cer ( d 18 : 1 / 16 : 0 )、Cer ( d 18 : 1 / 16 : 0 )、CE 16 : 0、CE 16 : 1、CE 18 : 1、CE 20 : 3、Cer ( d 18 : 0 / 22 : 0 )、Cer ( d 18 : 0 / 24 : 0 )、Cer ( d 18 : 0 / 24 : 1 )、Cer ( d 18 : 1 / 18 : 0 )、Cer ( d 18 : 1 / 24 : 0 )、Cer ( d 18 : 1 / 26 : 0 )、Cer ( d 18 : 1 / 26 : 1 )、Glc / Gal Cer ( d 18 : 1 / 18 : 0 )、Glc / Gal Cer ( d 18 : 1 / 20 : 0 )、Glc / Gal Cer ( d 18 : 1 / 22 : 0 )、Glc / Gal Cer ( d 18 : 1 / 24 : 0 )、Glc / Gal Cer ( d 18 : 1 / 24 : 1 )、Glc / Gal Cer ( d 18 : 1 / 26 : 0 )、Glc / Gal Cer ( d 18 : 1 / 26 : 1 )、Glc Cer ( d 18 : 1 / 16 : 0 )、Glc Cer ( d 18 : 1 / 18 : 0 )、Lac Cer ( d 18 : 1 / 18 : 0 )、Lac Cer ( d 18 : 1 / 22 : 0 )、Lac Cer ( d 18 : 1 / 24 : 0 )、SM ( d 18 : 1 / 16 : 0 ) ( d 18 : 1 / 15 : 1 - OH )、TAG 60 : 12、総 Cer、総 Glc / Gal Cer および総 Lac Cer から選択され、

【0130】

濃度の低下 ( 複数可 ) が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、表2 ~ 5 中の増加した脂質から、好ましくは、

LPC 16 : 1、スフィンガニン d 18 : 0、スフィンガニン - 1 - リン酸 d 18 : 0、スフィンゴシン d 16 : 1、スフィンゴシン d 18 : 1、スフィンゴシン - 1 - リン酸 d 18 : 1、TAG 49 : 2、TAG 50 : 4、TAG 52 : 4、TAG 52 : 5、TAG 53 : 3、TAG 54 : 3、TAG 54 : 4、TAG 54 : 5、TAG 54 : 6、TAG 54 : 7、TAG 54 : 8、TAG 56 : 5、総 S 1 P、総 S A 1 P、総 S P A および総 S P H

から選択されるステップ、または

【0131】

( b ) 前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比を決定するステップであって、前記試料中の脂質 - 脂質濃度比が対照と比較して増加または減少していることにより前記治療が有効であろうことが示され、

その増加 ( 複数可 ) が対照と比較される1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が、表2 ~ 5 中の減少した脂質 - 脂質濃度から、好ましくは、

Glc / Gal Cer ( d 18 : 1 / 18 : 0 ) / TAG 52 : 4、CE 18 : 1 / スフィンゴシン d 16 : 1、CE 22 : 2 / SM ( d 18 : 1 / 23 : 1 ) ( d 18 : 1 / 22 : 2 - OH )、CE 20 : 3 / アポリポタンパク質 A - I ( mg / d L )、CE 20 : 3 / HDL コレステロール ( EDTA ) ( mg / d L )、Cer ( d 18 : 0 / 22 : 0 ) / PC 16 : 0 / 18 : 2、Cer ( d 18 : 0 / 24 : 0 ) / Cer ( d 18 : 1 /

10

20

30

40

50

18:0)、Cer(d18:0/24:0)/スフィンゴシンd16:1、Cer(d18:0/24:1)/FC、Cer(d18:1/16:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、Cer(d18:1/16:0)/トリグリセリド(EDTA)(mg/dL)、Cer(d18:1/18:0)/アポリポタンパク質C-II(mg/dL)、Cer(d18:1/18:0)/DAG16:0/18:1、Cer(d18:1/18:0)/PC18:0/22:6、Cer(d18:1/18:0)/トリグリセリド(EDTA)(mg/dL)、Cer(d18:1/24:0)/スフィンゴシンd16:1、Glc/GalCer(d18:1/18:0)/PC16:0/20:4、Glc/GalCer(d18:1/22:0)/LPC20:4、Glc/GalCer(d18:1/24:0)/PC16:0/20:4、Glc/GalCer(d18:1/24:0)/スフィンゴシンd16:1、GlcCer(d18:1/16:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、GlcCer(d18:1/18:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)、LacCer(d18:1/18:0)/SM(d18:1/23:1)(d18:1/22:2-OH)およびPC16:0/16:0/スフィンゴシンd16:1

から選択され、

【0132】

その減少(複数可)が対照と比較される1つまたは複数の脂質-脂質濃度比が、表2~5中の増加した脂質-脂質濃度から、好ましくは、

TAG58:10/TAG60:12、CE18:2/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、CE18:3/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、CE20:3/PC16:0/16:0、CE20:4/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、CE20:4/SM(d18:1/16:0)(d18:1/15:1-OH)、CE20:5/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、Cer(d18:0/22:0)/Cer(d18:1/22:0)、Cer(d18:0/24:0)/FC、Cer(d18:0/24:0)/PC16:0/18:2、Cer(d18:1/16:0)/Glc/GalCer(d18:1/16:0)、Cer(d18:1/18:0)/Glc/GalCer(d18:1/24:0)、LPC16:1TAG56:5、LPC18:2/LacCer(d18:1/16:0)、LPC18:2/SM(d18:1/16:0)(d18:1/15:1-OH)およびPC18:2/18:2/SM(d18:1/16:0)(d18:1/15:1-OH)

から選択されるステップ

を含む方法。

【0133】

5. 脂質降下薬治療に対する対象の適合性を決定するための方法であって、

(a) 前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質の濃度(複数可)を決定するステップであって、前記試料中の濃度(複数可)が対照と比較して低下または上昇していることにより良好な治療適合性が示され、濃度の低下(複数可)が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、表2~5中の減少した脂質から、好ましくは、

Glc/GalCer(d18:1/16:0)、LacCer(d18:1/16:0)、Cer(d18:1/16:0)、CE16:0、CE16:1、CE18:1、CE20:3、Cer(d18:0/22:0)、Cer(d18:0/24:0)、Cer(d18:0/24:1)、Cer(d18:1/18:0)、Cer(d18:1/24:0)、Cer(d18:1/26:0)、Cer(d18:1/26:1)、Glc/GalCer(d18:1/18:0)、Glc/GalCer(d18:1/20:0)、Glc/GalCer(d18:1/22:0)、Glc/GalCer(d18:1/24:0)、Glc/GalCer(d18:1/24:1)、Glc/GalCer(d18:1/26:0)、Glc/GalCer(d18:1/26:1)、GlcCer(d18:1/16:0)、GlcCer(d18:1/18:0)、Lac

10

20

30

40

50

Cer (d 18 : 1 / 18 : 0)、LacCer (d 18 : 1 / 22 : 0)、LacCer (d 18 : 1 / 24 : 0)、SM (d 18 : 1 / 16 : 0) (d 18 : 1 / 15 : 1 - OH)、TAG 60 : 12、総Cer、総Glc / GalCerおよび総LacCerから選択され、

【0134】

濃度の上昇（複数可）が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、表2～5中の増加した脂質から、好ましくは、

LPC 16 : 1、スフィンガニン d 18 : 0、スフィンガニン - 1 - リン酸 d 18 : 0、スフィンゴシン d 16 : 1、スフィンゴシン d 18 : 1、スフィンゴシン - 1 - リン酸 d 18 : 1、TAG 49 : 2、TAG 50 : 4、TAG 52 : 4、TAG 52 : 5、TAG 53 : 3、TAG 54 : 3、TAG 54 : 4、TAG 54 : 5、TAG 54 : 6、TAG 54 : 7、TAG 54 : 8、TAG 56 : 5、総S1P、総SA1P、総SPAおよび総SPH

から選択されるステップ、または

【0135】

(b) 前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比を決定するステップであって、前記試料中の脂質 - 脂質濃度比（複数可）が対照と比較して減少または増加していることにより良好な治療適合性が示され、

濃度の減少（複数可）が対照と比較される1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が、表2～5中の減少した脂質 - 脂質濃度から、好ましくは、

Glc / GalCer (d 18 : 1 / 18 : 0) / TAG 52 : 4、CE 18 : 1 / スフィンゴシン d 16 : 1、CE 22 : 2 / SM (d 18 : 1 / 23 : 1) (d 18 : 1 / 22 : 2 - OH)、CE 20 : 3 / アポリポタンパク質 A - I (mg / dL)、CE 20 : 3 / HDL コレステロール (EDTA) (mg / dL)、Cer (d 18 : 0 / 22 : 0) / PC 16 : 0 / 18 : 2、Cer (d 18 : 0 / 24 : 0) / Cer (d 18 : 1 / 18 : 0)、Cer (d 18 : 0 / 24 : 0) / スフィンゴシン d 16 : 1、Cer (d 18 : 0 / 24 : 1) / FC、Cer (d 18 : 1 / 16 : 0) / SM (d 18 : 1 / 23 : 1) (d 18 : 1 / 22 : 2 - OH)、Cer (d 18 : 1 / 16 : 0) / トリグリセリド (EDTA) (mg / dL)、Cer (d 18 : 1 / 18 : 0) / アポリポタンパク質 C - III (mg / dL)、Cer (d 18 : 1 / 18 : 0) / DAG 16 : 0 / 18 : 1、Cer (d 18 : 1 / 18 : 0) / PC 18 : 0 / 22 : 6、Cer (d 18 : 1 / 18 : 0) / トリグリセリド (EDTA) (mg / dL)、Cer (d 18 : 1 / 24 : 0) / スフィンゴシン d 16 : 1、Glc / GalCer (d 18 : 1 / 18 : 0) / PC 16 : 0 / 20 : 4、Glc / GalCer (d 18 : 1 / 22 : 0) / LPC 20 : 4、Glc / GalCer (d 18 : 1 / 24 : 0) / PC 16 : 0 / 20 : 4、Glc / GalCer (d 18 : 1 / 24 : 0) / スフィンゴシン d 16 : 1、GlcCer (d 18 : 1 / 16 : 0) / SM (d 18 : 1 / 23 : 1) (d 18 : 1 / 22 : 2 - OH)、GlcCer (d 18 : 1 / 18 : 0) / SM (d 18 : 1 / 23 : 1) (d 18 : 1 / 22 : 2 - OH)、LacCer (d 18 : 1 / 18 : 0) / SM (d 18 : 1 / 23 : 1) (d 18 : 1 / 22 : 2 - OH) および PC 16 : 0 / 16 : 0 / スフィンゴシン d 16 : 1

から選択され、

【0136】

その増加（複数可）が対照と比較される1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が、表2～5中の増加した脂質 - 脂質濃度から、好ましくは、

TAG 58 : 10 / TAG 60 : 12、CE 18 : 2 / Glc / GalCer (d 18 : 1 / 24 : 0)、CE 18 : 3 / Glc / GalCer (d 18 : 1 / 24 : 0)、CE 20 : 3 / PC 16 : 0 / 16 : 0、CE 20 : 4 / Glc / GalCer (d 18 : 1 / 24 : 0)、CE 20 : 4 / SM (d 18 : 1 / 16 : 0) (d 18 : 1 / 15 : 1 - OH)、CE 20 : 5 / Glc / GalCer (d 18 : 1 / 24 : 0)、Cer (d 1

10

20

30

40

50

8 : 0 / 22 : 0 ) / Cer ( d 18 : 1 / 22 : 0 )、Cer ( d 18 : 0 / 24 : 0 ) / FC、Cer ( d 18 : 0 / 24 : 0 ) / PC16 : 0 / 18 : 2、Cer ( d 18 : 1 / 16 : 0 ) / Glc / Gal Cer ( d 18 : 1 / 16 : 0 )、Cer ( d 18 : 1 / 18 : 0 ) / Glc / Gal Cer ( d 18 : 1 / 24 : 0 )、LPC16 : 1 TAG56 : 5、LPC18 : 2 / LacCer ( d 18 : 1 / 16 : 0 )、LPC18 : 2 / SM ( d 18 : 1 / 16 : 0 ) ( d 18 : 1 / 15 : 1 - OH ) および PC18 : 2 / 18 : 2 / SM ( d 18 : 1 / 16 : 0 ) ( d 18 : 1 / 15 : 1 - OH )

から選択されるステップを含む方法。

【0137】

6 . 脂質降下薬として、または心血管疾患およびその合併症を治療するために有用である化合物を同定するための方法であって、

( a ) 前記化合物を用いた治療を受けている前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質の濃度 ( 複数可 ) を決定するステップであって、前記試料中の濃度 ( 複数可 ) が対照と比較して低下または上昇していることにより脂質降下薬としての有用性が示され、濃度の低下 ( 複数可 ) が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、表2 ~ 5中の減少した脂質から、好ましくは、

Glc / Gal Cer ( d 18 : 1 / 16 : 0 )、LacCer ( d 18 : 1 / 16 : 0 )、Cer ( d 18 : 1 / 16 : 0 )、CE16 : 0、CE16 : 1、CE18 : 1、CE20 : 3、Cer ( d 18 : 0 / 22 : 0 )、Cer ( d 18 : 0 / 24 : 0 )、Cer ( d 18 : 0 / 24 : 1 )、Cer ( d 18 : 1 / 18 : 0 )、Cer ( d 18 : 1 / 24 : 0 )、Cer ( d 18 : 1 / 26 : 0 )、Cer ( d 18 : 1 / 26 : 1 )、Glc / Gal Cer ( d 18 : 1 / 18 : 0 )、Glc / Gal Cer ( d 18 : 1 / 20 : 0 )、Glc / Gal Cer ( d 18 : 1 / 22 : 0 )、Glc / Gal Cer ( d 18 : 1 / 24 : 0 )、Glc / Gal Cer ( d 18 : 1 / 24 : 1 )、Glc / Gal Cer ( d 18 : 1 / 26 : 0 )、Glc / Gal Cer ( d 18 : 1 / 26 : 1 )、GlcCer ( d 18 : 1 / 16 : 0 )、GlcCer ( d 18 : 1 / 18 : 0 )、LacCer ( d 18 : 1 / 18 : 0 )、LacCer ( d 18 : 1 / 22 : 0 )、LacCer ( d 18 : 1 / 24 : 0 )、SM ( d 18 : 1 / 16 : 0 ) ( d 18 : 1 / 15 : 1 - OH )、TAG60 : 12、総Cer、総Glc / Gal Cerおよび総LacCer

から選択され、

【0138】

濃度の上昇 ( 複数可 ) が対照と比較される1つまたは複数の脂質が、表2 ~ 5中の増加した脂質から、好ましくは、

LPC16 : 1、スフィンガニン d 18 : 0、スフィンガニン - 1 - リン酸 d 18 : 0、スフィンゴシン d 16 : 1、スフィンゴシン d 18 : 1、スフィンゴシン - 1 - リン酸 d 18 : 1、TAG49 : 2、TAG50 : 4、TAG52 : 4、TAG52 : 5、TAG53 : 3、TAG54 : 3、TAG54 : 4、TAG54 : 5、TAG54 : 6、TAG54 : 7、TAG54 : 8、TAG56 : 5、総S1P、総SA1P、総SPAおよび総SPH

から選択されるステップ、または

【0139】

( b ) 前記対象由来の試料中の1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比を決定するステップであって、前記試料中の脂質 - 脂質濃度比 ( 複数可 ) が対照と比較して減少または増加していることにより脂質降下薬としての有用性が示され、

その減少 ( 複数可 ) が対照と比較される1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が、表2 ~ 5中の減少した脂質 - 脂質濃度から、好ましくは、

Glc / Gal Cer ( d 18 : 1 / 18 : 0 ) / TAG52 : 4、CE18 : 1 / スフィンゴシン d 16 : 1、CE22 : 2 / SM ( d 18 : 1 / 23 : 1 ) ( d 18 : 1 / 22 : 2 - OH )、CE20 : 3 / アポリポタンパク質 A - I ( mg / d L )、CE20 :

10

20

30

40

50

3 / HDL コレステロール (EDTA) (mg/dL)、Cer (d18:0/22:0) / PC16:0/18:2、Cer (d18:0/24:0) / Cer (d18:1/18:0)、Cer (d18:0/24:0) / スフィンゴシン d16:1、Cer (d18:0/24:1) / FC、Cer (d18:1/16:0) / SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)、Cer (d18:1/16:0) / トリグリセリド (EDTA) (mg/dL)、Cer (d18:1/18:0) / アポリポタンパク質 C - III (mg/dL)、Cer (d18:1/18:0) / DAG16:0/18:1、Cer (d18:1/18:0) / PC18:0/22:6、Cer (d18:1/18:0) / トリグリセリド (EDTA) (mg/dL)、Cer (d18:1/24:0) / スフィンゴシン d16:1、Glc / GalCer (d18:1/18:0) / PC16:0/20:4、Glc / GalCer (d18:1/22:0) / LPC20:4、Glc / GalCer (d18:1/24:0) / PC16:0/20:4、Glc / GalCer (d18:1/24:0) / スフィンゴシン d16:1、GlcCer (d18:1/16:0) / SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)、GlcCer (d18:1/18:0) / SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH)、LacCer (d18:1/18:0) / SM (d18:1/23:1) (d18:1/22:2-OH) および PC16:0/16:0 / スフィンゴシン d16:1

から選択され、

【0140】

その増加 (複数可) が対照と比較される1つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比が、表2~5中の増加した脂質 - 脂質濃度から、好ましくは、

TAG58:10 / TAG60:12、CE18:2 / Glc / GalCer (d18:1/24:0)、CE18:3 / Glc / GalCer (d18:1/24:0)、CE20:3 / PC16:0/16:0、CE20:4 / Glc / GalCer (d18:1/24:0)、CE20:4 / SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)、CE20:5 / Glc / GalCer (d18:1/24:0)、Cer (d18:0/22:0) / Cer (d18:1/22:0)、Cer (d18:0/24:0) / FC、Cer (d18:0/24:0) / PC16:0/18:2、Cer (d18:1/16:0) / Glc / GalCer (d18:1/16:0)、Cer (d18:1/18:0) / Glc / GalCer (d18:1/24:0)、LPC16:1 TAG56:5、LPC18:2 / LacCer (d18:1/16:0)、LPC18:2 / SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH) および PC18:2/18:2 / SM (d18:1/16:0) (d18:1/15:1-OH)

から選択されるステップ

を含む方法。

【0141】

7. 脂質降下薬が PCSK9 阻害剤 / サイレンサーであり、前記 PCSK9 阻害剤 / サイレンサーが、

- (a) PCSK9 に対する抗体、
- (b) PCSK9 の阻害薬物、
- (c) LDL - 受容体と PCSK9 の相互作用を阻害する小分子、
- (d) LDL - 受容体の PCSK9 との相互作用ドメインを模倣するペプチド、
- (e) PCSK9 に特異的なアンチセンスオリゴヌクレオチド、または
- (f) PCSK9 に特異的な低分子干渉 RNA (siRNA)

であってもよい、態様1から6までのいずれか1つの方法。

【0142】

8. PCSK9 阻害剤 / サイレンサーの特異性を決定するための方法であって、対象由来の試料中の1つもしくは複数の脂質の濃度 (複数可) または脂質 - 脂質濃度比 (複数可) が対照と比較され、前記1つまたは複数の前記脂質 (複数可) または脂質 - 脂質濃度比

10

20

30

40

50

(複数可)が、表2～5中の脂質および脂質 - 脂質濃度比から、好ましくは、

Glc / GalCer (d18 : 1 / 16 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 16 : 0)、Cer (d18 : 1 / 16 : 0)、CE16 : 0、CE16 : 1、CE18 : 1、CE20 : 3、Cer (d18 : 0 / 22 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 1)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0)、Cer (d18 : 1 / 24 : 0)、Cer (d18 : 1 / 26 : 0)、Cer (d18 : 1 / 26 : 1)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 18 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 20 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 22 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 1)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 26 : 0)、Glc / GalCer (d18 : 1 / 26 : 1)、GlcCer (d18 : 1 / 16 : 0)、GlcCer (d18 : 1 / 18 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 18 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 22 : 0)、LacCer (d18 : 1 / 24 : 0)、SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH)、TAG60 : 12、総Cer、総Glc / GalCer、総LacCer、  
【0143】

10

LPC16 : 1、スフィンガニンd18 : 0、スフィンガニン - 1 - リン酸d18 : 0、スフィンゴシンd16 : 1、スフィンゴシンd18 : 1、スフィンゴシン - 1 - リン酸d18 : 1、TAG49 : 2、TAG50 : 4、TAG52 : 4、TAG52 : 5、TAG53 : 3、TAG54 : 3、TAG54 : 4、TAG54 : 5、TAG54 : 6、TAG54 : 7、TAG54 : 8、TAG56 : 5、総S1P、総SA1P、総SPA、総SPH

20

Glc / GalCer (d18 : 1 / 18 : 0) / TAG52 : 4、CE18 : 1 / スフィンゴシンd16 : 1、CE22 : 2 / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、CE20 : 3 / アポリポタンパク質A - I (mg / dL)、CE20 : 3 / HDLコレステロール (EDTA) (mg / dL)、Cer (d18 : 0 / 22 : 0) / PC16 : 0 / 18 : 2、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / Cer (d18 : 1 / 18 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / スフィンゴシンd16 : 1、Cer (d18 : 0 / 24 : 1) / FC、Cer (d18 : 1 / 16 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、Cer (d18 : 1 / 16 : 0) / トリグリセリド (EDTA) (mg / dL)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / アポリポタンパク質C - III (mg / dL)、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / DAG16 : 0 / 18 : 1、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / PC18 : 0 / 22 : 6、Cer (d18 : 1 / 18 : 0) / トリグリセリド (EDTA) (mg / dL)、Cer (d18 : 1 / 24 : 0) / スフィンゴシンd16 : 1、Glc / GalCer (d18 : 1 / 18 : 0) / PC16 : 0 / 20 : 4、Glc / GalCer (d18 : 1 / 22 : 0) / LPC20 : 4、Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0) / PC16 : 0 / 20 : 4、Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0) / スフィンゴシンd16 : 1、GlcCer (d18 : 1 / 16 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、GlcCer (d18 : 1 / 18 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、LacCer (d18 : 1 / 18 : 0) / SM (d18 : 1 / 23 : 1) (d18 : 1 / 22 : 2 - OH)、PC16 : 0 / 16 : 0 / スフィンゴシンd16 : 1、

30

40

TAG58 : 10 / TAG60 : 12、CE18 : 2 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、CE18 : 3 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、CE20 : 3 / PC16 : 0 / 16 : 0、CE20 : 4 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、CE20 : 4 / SM (d18 : 1 / 16 : 0) (d18 : 1 / 15 : 1 - OH)、CE20 : 5 / Glc / GalCer (d18 : 1 / 24 : 0)、Cer (d18 : 0 / 22 : 0) / Cer (d18 : 1 / 22 : 0)、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / FC、Cer (d18 : 0 / 24 : 0) / PC16 : 0 / 18 : 2、Cer (d18 : 1 / 16 : 0) / Glc / GalCer (d18 : 1 / 16 : 0)、Cer (d18 :

50

1 / 18 : 0 ) / G l c / G a l C e r ( d 18 : 1 / 24 : 0 )、L P C 16 : 1 T A  
G 56 : 5、L P C 18 : 2 / L a c C e r ( d 18 : 1 / 16 : 0 )、L P C 18 : 2  
/ S M ( d 18 : 1 / 16 : 0 ) ( d 18 : 1 / 15 : 1 - O H ) および P C 18 : 2 /  
18 : 2 / S M ( d 18 : 1 / 16 : 0 ) ( d 18 : 1 / 15 : 1 - O H )

から選択され、

【0144】

前記対照が、

( a ) P C S K 9 機能喪失型変異を有する1つまたは複数の対象に由来する試料または値

、  
( b ) P C S K 9 機能喪失型脂質プロファイルを有する1つまたは複数の対象に由来する  
試料または値、または

( c ) 公知の特異的な P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーを用いて治療した1つまたは複数の  
対象に由来する試料または値

であり、前記試料と対照中の前記1つもしくは複数の脂質または脂質 - 脂質濃度比 ( 複数  
可 ) の間に差異がないことにより前記 P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーを用いた治療の特  
異性が示され、差異があることにより前記 P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーまたは化合物  
によって非特異的な影響、例えば、1つまたは複数の有害な副作用などが引き起こされる  
ことが示される方法。

【0145】

9 . P C S K 9 機能喪失型脂質プロファイルが、対照由来の1つもしくは複数の脂質の  
濃度 ( 複数可 ) または脂質 - 脂質濃度比を決定することによって作成される、態様8の方  
法。

【0146】

10 . 比較が行われる前記対象が、

( a ) P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーまたは P C S K 9 を標的とする別の化合物を用い  
た治療を受けている患者、

( b ) P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーまたは P C S K 9 を標的とする別の化合物を用い  
た治療を受けている試験動物、

( c ) P C S K 9 阻害剤 / サイレンサー以外の脂質降下薬を用いた治療を受けている患者  
または試験動物、または

( d ) P C S K 9 阻害剤 / サイレンサー、P C S K 9 を標的とする別の化合物または P C  
S K 9 阻害剤 / サイレンサー以外の脂質降下薬を用いた治療を受けたことがなく、現在も  
受けていない患者または試験動物である、態様1から9までのいずれか1つの方法。

11 . 比較が行われる前記対照が、脂質降下薬または P C S K 9 阻害剤 / サイレンサー  
をそれぞれ用いて治療する前、または、前記治療を中断している間の同じ対象由来の対照  
試料である、態様1から7までまたは10のいずれか1つの方法。

【0147】

12 . 比較が行われる前記対照が、

( a ) 以前に P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーを用いて治療されていない1つまたは複数の  
健康な対象から確立された対照値

( b ) P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーを用いた治療を受けていない1つまたは複数の健  
康な対象から確立された対照値、

( c ) P C S K 9 遺伝子に任意の機能喪失型変異、例えば、R 46 L ( r s 115911  
47 ) などを有する1つまたは複数の対象由来の対照試料、または

( d ) P C S K 9 阻害剤 / サイレンサーを用いた治療中であり、薬剤誘発性オフターゲッ  
ト効果の徴候または履歴がない1つまたは複数の対象から確立された対照値

である、態様1から10までのいずれか1つの方法。

13 . 前記対象または前記対象由来の試料における L D L コレステロールのレベルを決  
定または評価するステップをさらに含み、対象の L D L コレステロールレベルが低下して  
いてもよい、態様1から12までのいずれか1つの方法。

10

20

30

40

50

## 【0148】

14. (a) 試料が、血液、血漿、血清、もしくはその画分、例えば、リポタンパク質画分など、または組織生検材料であり、かつ/または

(b) 脂質濃度(複数可)および/または脂質比(複数可)が、質量分析法、核磁気共鳴分光法、蛍光分光法または二面偏波式干渉法、HPLCもしくはUPLCなどの高性能分離法、ELISAなどのイムノアッセイを使用すること、および/または分析物に特異的に結合することができる結合部分を用いることによって決定される、態様1から13までのいずれか1つの方法。

15. PCSK9阻害剤/サイレンサーが、

(a) PCSK9に対する1つまたは複数の抗体、

(b) PCSK9の阻害薬物、

(c) LDL-受容体とPCSK9の相互作用を阻害する小分子、

(c) LDL-受容体のPCSK9との相互作用ドメインを模倣するペプチド、

(d) PCSK9 mRNAに特異的な1つまたは複数のsiRNA、および/または

(e) PCSK9 mRNAに特異的な1つまたは複数のアンチセンスオリゴヌクレオチド

から選択される、態様7から14までのいずれか1つの方法。

## 【0149】

16. 1つまたは複数の有害な副作用が肝毒性である、態様8の方法。

17. コンピュータにより実行される方法である、態様1~16のいずれか1つに記載の方法。

18.

(i) 少なくとも1つのプロセッサにより、前記試料中の前記1つもしくは複数の脂質の濃度(複数可)または前記1つまたは複数の脂質-脂質濃度比を反映する情報を得るステップ、

(ii) 少なくとも1つのプロセッサにより、前記試料中の前記1つもしくは複数の脂質の濃度(複数可)または前記1つまたは複数の脂質-脂質濃度比を決定するステップ、および

(iii) 前記試料中の前記1つもしくは複数の脂質の濃度(複数可)または前記1つまたは複数の脂質-脂質濃度比を、使用者が読むことができる形式で出力するステップ

をさらに含む、態様17に記載の方法。

## 【0150】

19. (iv) 少なくとも1つのプロセッサにより、対照と前記試料中の前記1つもしくは複数の脂質の濃度(複数可)または前記1つまたは複数の脂質-脂質濃度比の間の百分率差を決定するステップ、および

(v) 決定するステップ(iv)において得られた百分率差を、使用者が読むことができる形式で出力するステップ

をさらに含む、態様18に記載の方法。

20. 出力するステップにおいて得られた百分率差に基づいて、

対象における脂質降下薬を用いた治療が有効であることを決定するステップ、

対象における脂質降下薬を用いた治療が有効であることを予測するステップ、

対象が脂質降下薬治療に適合しているかを決定するステップ、

脂質降下薬として、または心血管疾患およびその合併症を治療するために有用である化合物を同定するステップ、または

PCSK9阻害剤/サイレンサーの特異性を決定するステップ

をさらに含む、態様19に記載の方法。

## 【0151】

21. 決定するステップの後に、決定するステップにおいて得られた前記1つもしくは複数の脂質の濃度(複数可)または前記1つまたは複数の脂質-脂質濃度比に基づいて、前記対象にすでに施された治療を変化させる、それを補う、またはそれを維持するステッ

10

20

30

40

50

ブをさらに含む、態様 1 ~ 19 のいずれかに記載の方法。

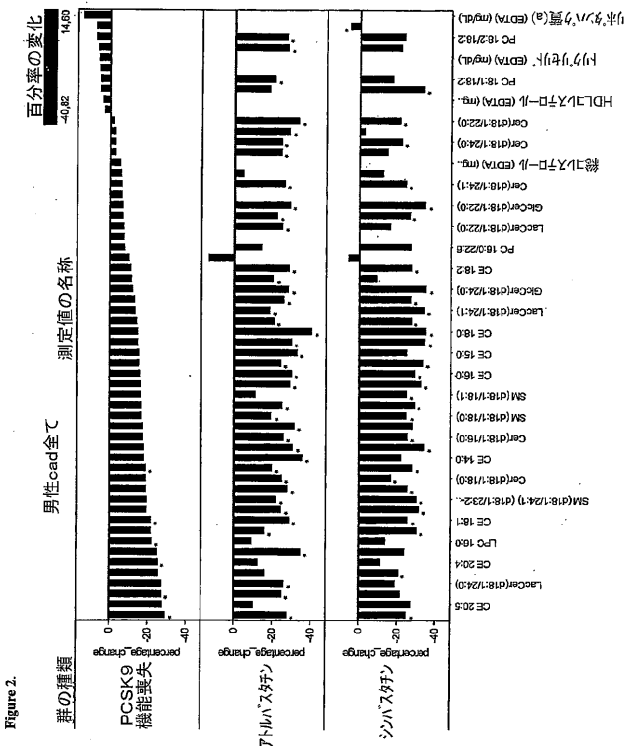
22. 決定するステップの後に、決定するステップにおいて得られた前記 1 つもしくは複数の脂質の濃度 (複数可) または前記 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比に基づいて前記対象を治療するステップをさらに含む、態様 1 ~ 20 のいずれかに記載の方法。

23. 前記 1 つもしくは複数の脂質の濃度 (複数可) または前記 1 つまたは複数の脂質 - 脂質濃度比を決定するステップが、アッセイを使用して行われる、態様 1 ~ 22 のいずれか 1 つに記載の方法。

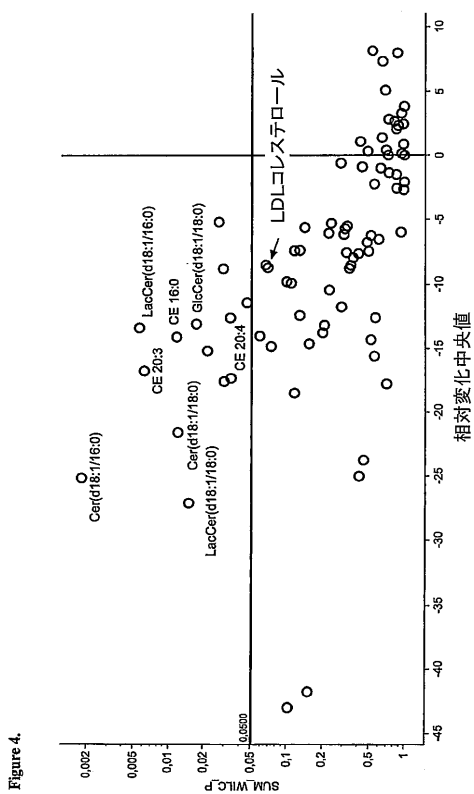
【0152】

当業者は、「実施例」および特許の記載全体の本文の両方に本明細書に記載されている特定の項目、実施形態および態様の多数の等価物を、常套的な実験だけを使用して理解し、または確認することができる。そのような等価物は、本発明の範囲内であるとみなされ、以下の特許請求の範囲に包含される。

【図 2】

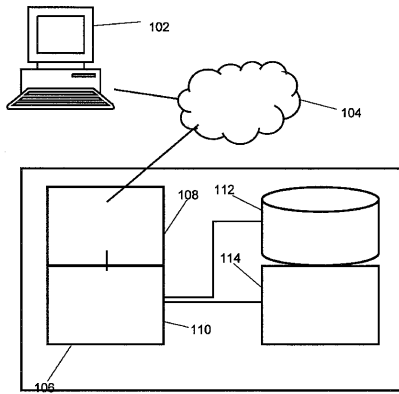


【図 4】



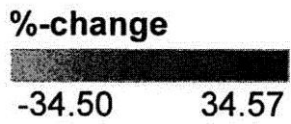
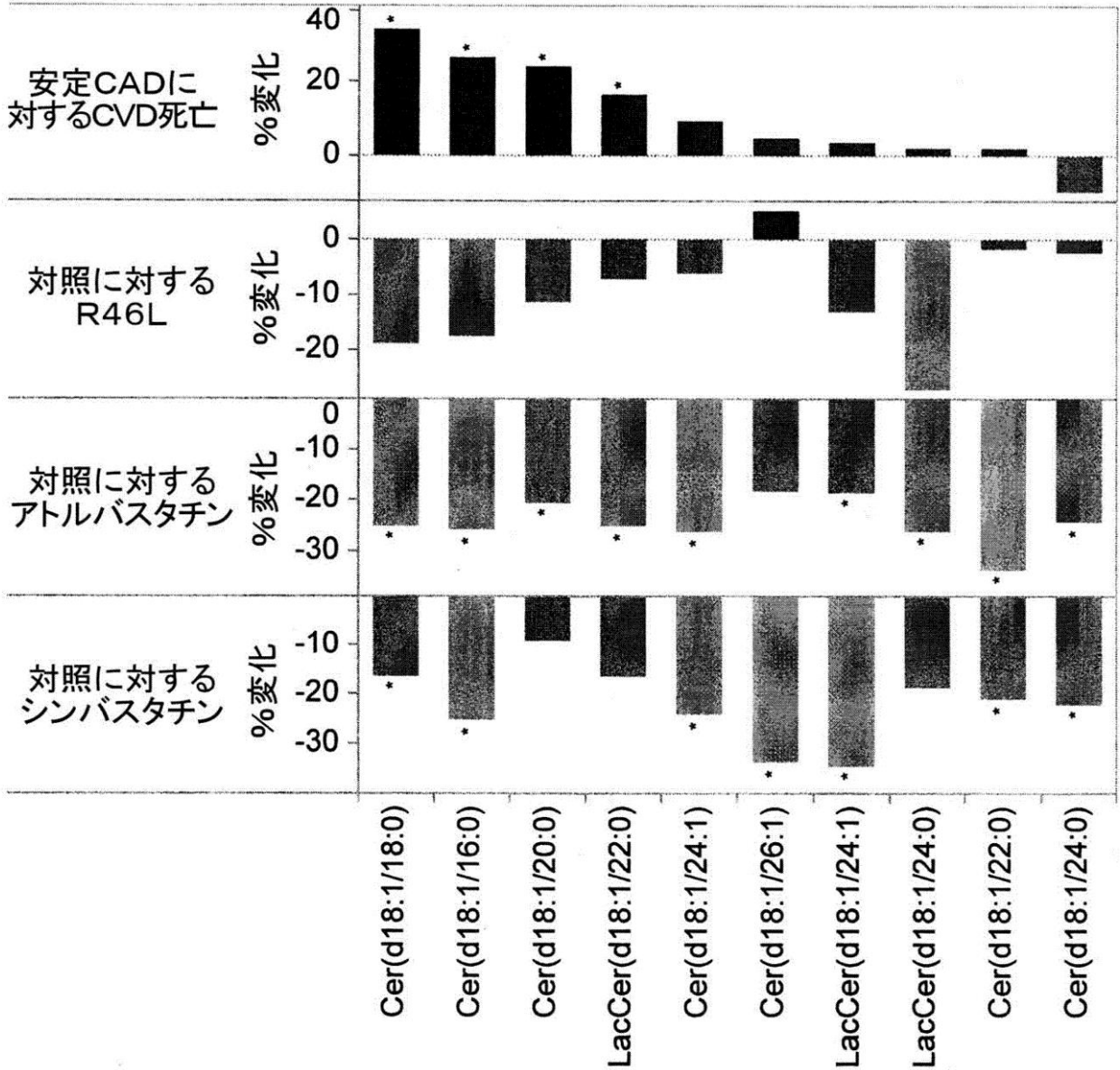
【 図 5 】

Figure 5.



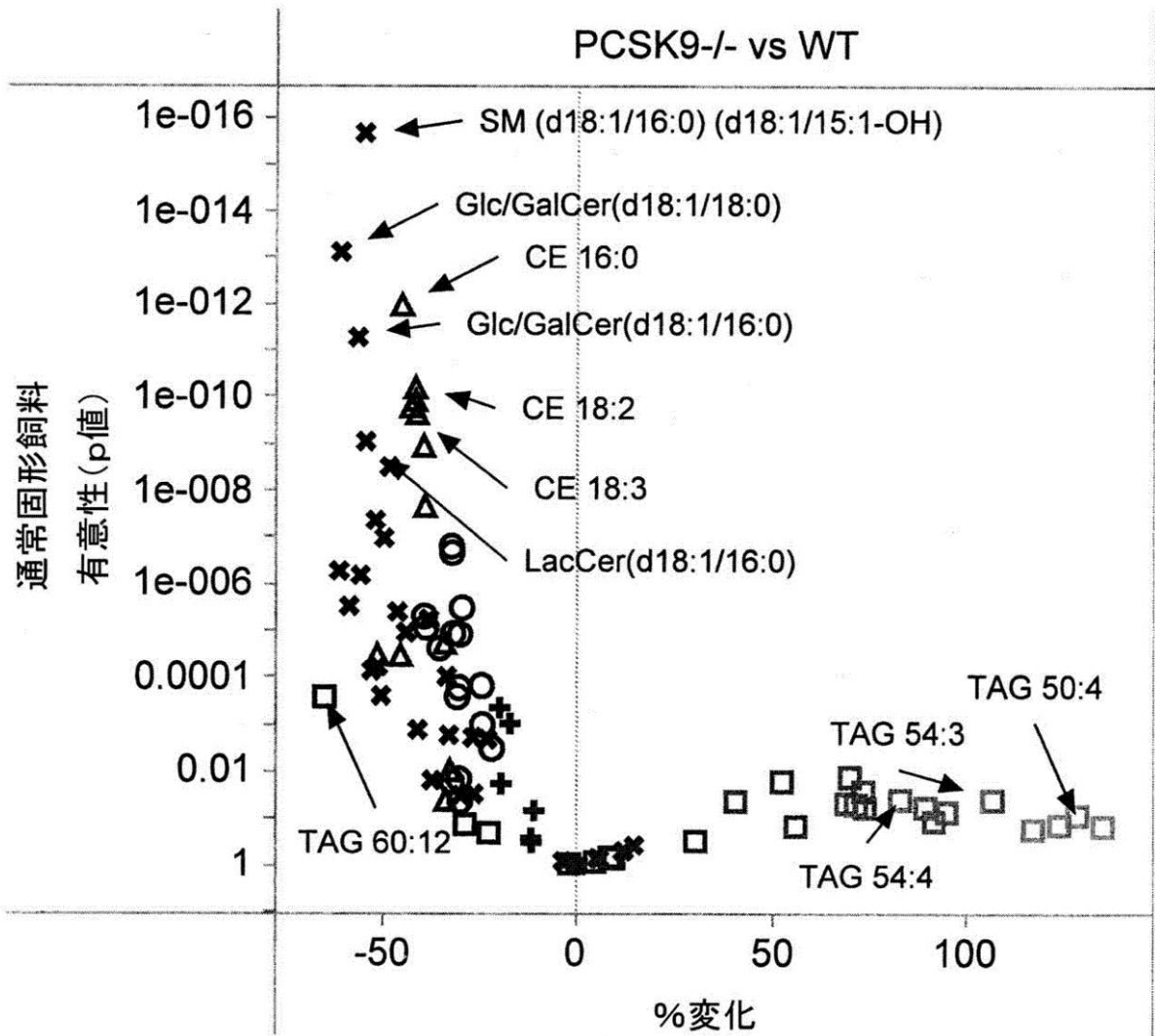
【 図 1 】

Figure 1.



【図 3 A】

Figure 3A.

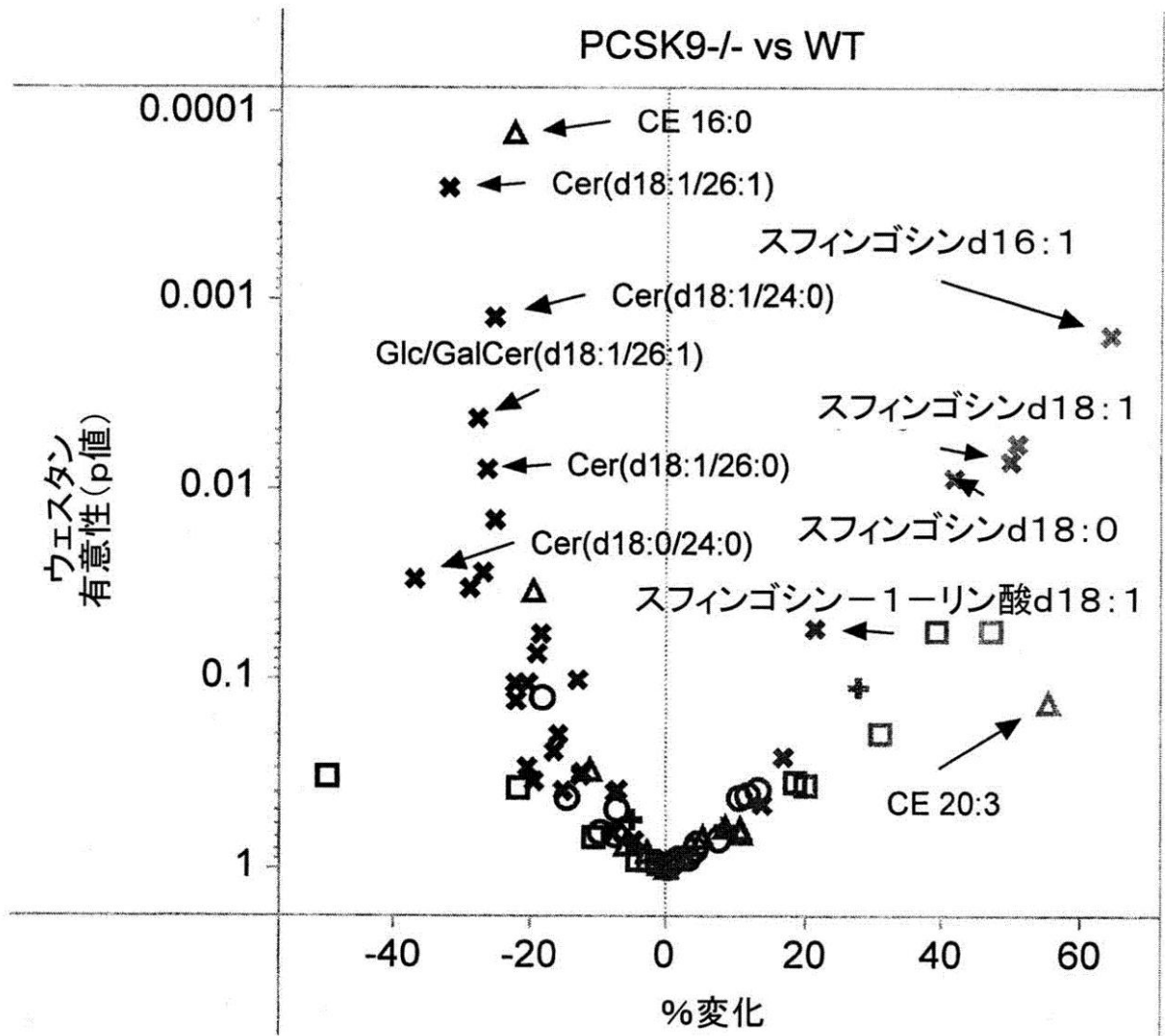


%変化



【図3B】

Figure 3B.



脂質カテゴリー

□ グリセロ脂質

○ グリセロリン脂質

⊕ リゾグリセロリン脂質

✱ スフィンゴ脂質

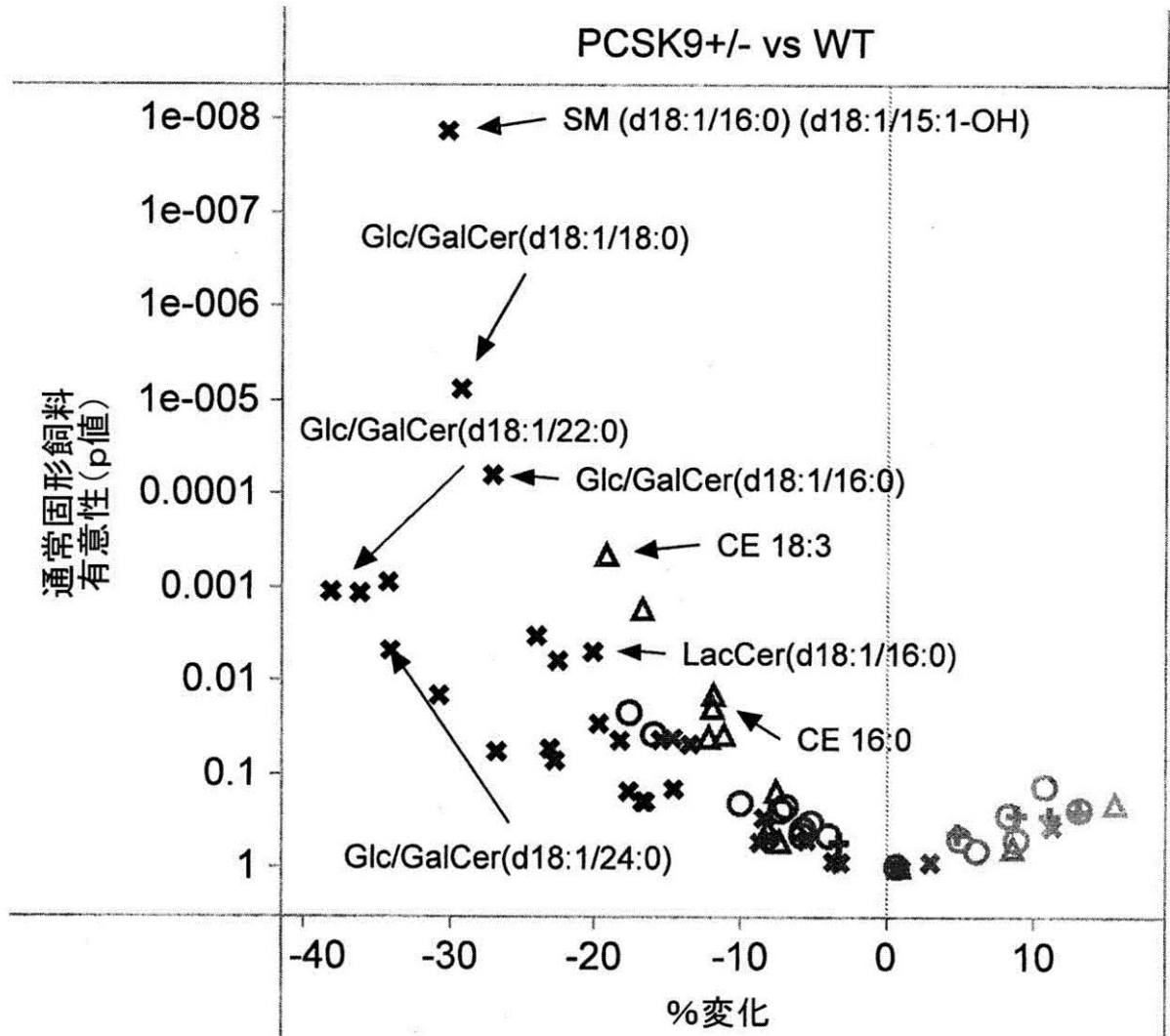
△ ステロール

%変化

-49.4 64.3

【 図 3 C 】

Figure 3C.



脂質カテゴリー

○ グリセロリン脂質

⊕ リゾグリセロリン脂質

✱ スフィンゴ脂質

△ ステロール

%変化

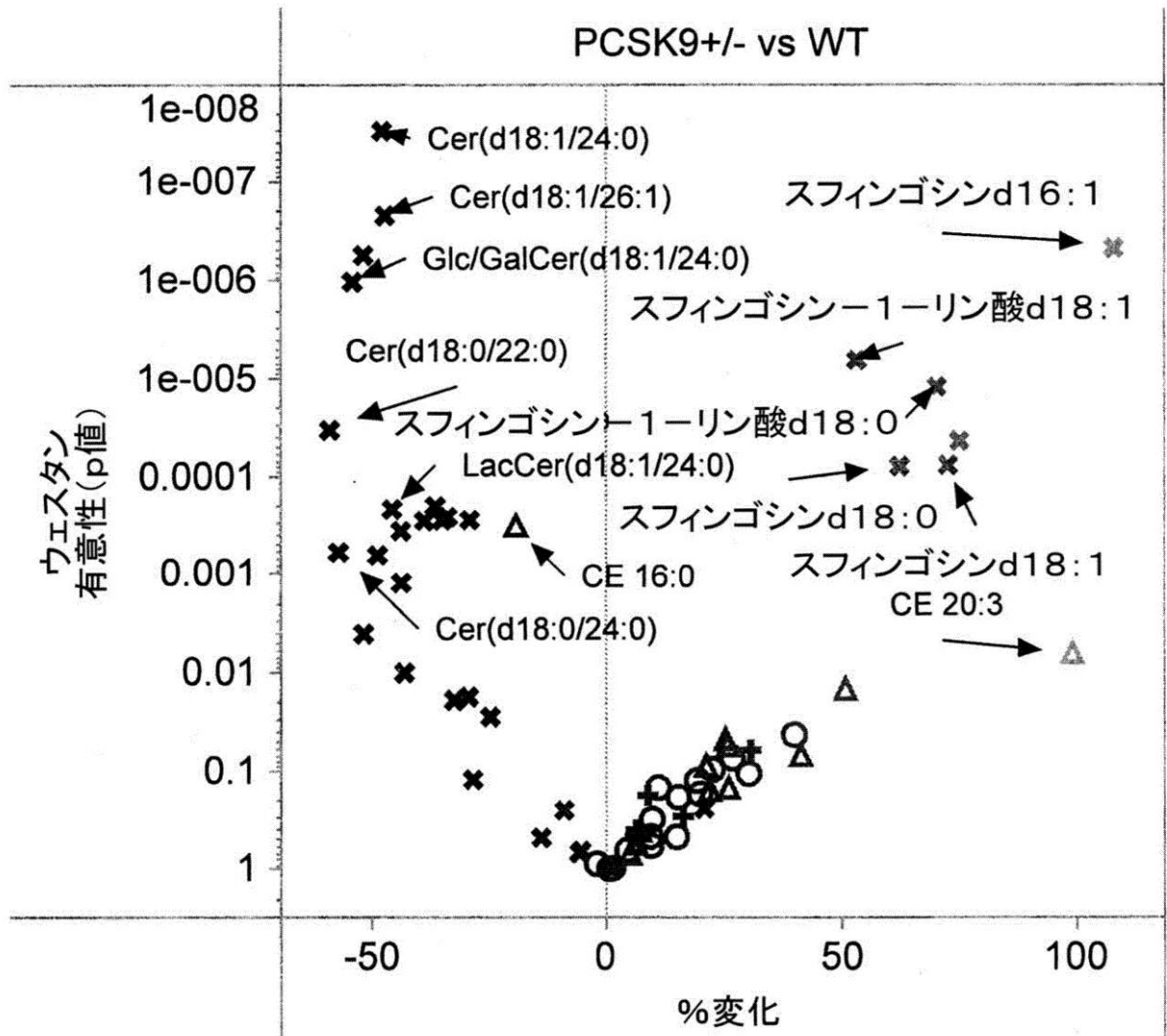


-38.12

15.52

【図3D】

Figure 3D.



脂質カテゴリー

- グリセロリン脂質
- + リゾグリセロリン脂質
- × スフィンゴ脂質
- △ ステロール

%変化



## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2013/060816

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. G01N33/92 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N C12Q		
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, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, FSTA, PAJ, CHEM ABS Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 2 385 374 A1 (ZORA BIOSCIENCES OY [FI]) 9 November 2011 (2011-11-09)	1-4, 22-27, 35,36
Y	paragraphs [0037], [0039], [0050], [0051], [0054], [0062], [0068], [0077]	5,8-12, 15,28, 32-34
X	----- M T Jānis ET AL: "PCSK9 DEFICIENCY CAUSES SIGNIFICANT DECREASES IN PLASMA SPHINGOLIPIDS IN MOUSE AND MAN", 3 May 2012 (2012-05-03), XP055069684, Retrieved from the Internet: URL:http://www.kenes.com/eas2012/abstracts /pdf/842.pdf [retrieved on 2013-07-04] abstract -----	1-5, 8-12,15, 22-28, 32-36
	----- -/--	
<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
5 July 2013		17/09/2013
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  Lunter, Pim

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2013/060816

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	D. STEINBERG ET AL: "Inhibition of PCSK9: A powerful weapon for achieving ideal LDL cholesterol levels", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, vol. 106, no. 24, 16 June 2009 (2009-06-16), pages 9546-9547, XP055038133, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/pnas.0904560106 abstract	5,8-12, 15,28, 32-34
A	----- RIMA KADDURAH-DAOUK ET AL: "Lipidomic analysis of variation in response to simvastatin in the Cholesterol and Pharmacogenetics Study", METABOLOMICS, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS-PLENUM PUBLISHERS, NL, vol. 6, no. 2, 1 April 2010 (2010-04-01), pages 191-201, XP019833336, ISSN: 1573-3890 abstract; figure 1b	1-5, 8-12,15, 22-28, 32-36
A	----- WO 2007/127192 A2 (UNIV DUKE [US]; CHILDREN S HOSPITAL OAKLAND RE [US]; LIPOMICS TECHNOLO) 8 November 2007 (2007-11-08) pages 2-4,23 pages 33,34; claims 12,16	1-5, 8-12,15, 22-28, 32-36
A	----- WO 2011/161062 A2 (ZORA BIOSCIENCES OY [FI]; LAAKSONEN REIJO [FI]; EKROOS KIM [FI]; HURME) 29 December 2011 (2011-12-29) pages 25-26 pages 39-40,56	1-5, 8-12,15, 22-28, 32-36
A	----- WO 2011/067243 A1 (METANOMICS HEALTH GMBH [DE]; CHARITE UNIVERSITAETSMEDIZIN [DE]; RESZKA) 9 June 2011 (2011-06-09) pages 13-15; table 4	1-5, 8-12,15, 22-28, 32-36
X,P	----- EP 2 592 422 A1 (ZORA BIOSCIENCES OY [FI]) 15 May 2013 (2013-05-15) paragraphs [0026], [0042] - [0043], [0051], [0067], [0068], [0075], [0091] - [0092]	1-5, 8-12,15, 22-28, 32-36
	----- -/--	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2013/060816
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	EP 2 592 423 A1 (ZORA BIOSCIENCES OY [FI]) 15 May 2013 (2013-05-15)  paragraphs [0046], [0048], [0052], [0054], [0068], [0072], [0074], [0076], [0098] -----	1-5, 8-12,15, 22-28, 32-36

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/EP2013/060816**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
- 1-5, 8-12, 15, 22-28, 32-36(all partially)

**Remark on Protest**

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/ EP2013/ 060816

**FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210**

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-5, 8-12, 15, 22-28, 32-36(all partially)

Methods for determining efficacy of treatment with a lipid lowering drug; methods for predicting the efficacy of treatment with a lipid lowering drug; method for determining compliance; method for identifying compounds useful as lipid lowering drugs; methods of treatment, comprising determining the concentration of Glc/GalCer(d18:1/16:0)

---

2-94. claims: 1-5, 8-12, 15, 22-28, 32-36(all partially)

Methods for determining efficacy of treatment with a lipid lowering drug; methods for predicting the efficacy of treatment with a lipid lowering drug; method for determining compliance; method for identifying compounds useful as lipid lowering drugs; methods of treatment, comprising determining a claimed lipid concentration or lipid:lipid ratio

---

95. claims: 6, 7, 29-31(completely); 8-12, 15, 32-36(partially)

Method for determining specificity of a PCSK9 inhibitor comprising measuring a claimed lipid concentration or lipid:lipid ratio

---

96. claims: 13, 14(completely); 15(partially)

A PCSK9 inhibitor for use in therapy

---

97. claims: 16, 17

Use of an antibody against a claimed lipid for predicting the efficacy of treatment with a lipid lowering drug

---

98. claims: 18, 19

Use of an antibody against a claimed lipid for preventing or treating one or more adverse side effects due to treatment with a PCSK9 inhibitor

---

99. claims: 20, 21

Kit and use of kit

---

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2013/060816

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 2385374	A1	09-11-2011	CA 2798238 A1	10-11-2011
			CN 102971633 A	13-03-2013
			EP 2385374 A1	09-11-2011
			EP 2567240 A1	13-03-2013
			JP 2013527449 A	27-06-2013
			US 2013045217 A1	21-02-2013
			WO 2011138419 A1	10-11-2011
-----				
WO 2007127192	A2	08-11-2007	NONE	
-----				
WO 2011161062	A2	29-12-2011	CA 2801459 A1	29-12-2011
			CN 103154742 A	12-06-2013
			EP 2583107 A2	24-04-2013
			JP 2013531238 A	01-08-2013
			US 2013216560 A1	22-08-2013
			WO 2011161062 A2	29-12-2011
-----				
WO 2011067243	A1	09-06-2011	AU 2010326737 A1	07-06-2012
			CA 2782415 A1	09-06-2011
			DE 112010004626 T5	18-10-2012
			EP 2507633 A1	10-10-2012
			JP 2013512444 A	11-04-2013
			US 2012238028 A1	20-09-2012
			WO 2011067243 A1	09-06-2011
-----				
EP 2592422	A1	15-05-2013	EP 2592422 A1	15-05-2013
			WO 2013068374 A2	16-05-2013
-----				
EP 2592423	A1	15-05-2013	EP 2592423 A1	15-05-2013
			WO 2013068373 A2	16-05-2013
-----				

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)	
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 P	9/00	(2006.01)	A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 P	9/10	(2006.01)	A 6 1 P	9/10	1 0 1
G 0 1 N	27/62	(2006.01)	A 6 1 P	9/10	
C 1 2 N	15/113	(2010.01)	G 0 1 N	27/62	V
			C 1 2 N	15/00	G

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, T M), 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, R S, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, 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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, H U, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, 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, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC

(74)代理人 100123777  
弁理士 市川 さつき

(74)代理人 100137626  
弁理士 田代 玄

(72)発明者 ラークソネン レイヨ  
フィンランド エフイー - 3 7 5 0 0 レンパーラ ヒンミンポルク 1 1

Fターム(参考) 2G041 CA01 EA03 FA10 GA09  
2G045 AA02 AA16 AA24 AA25 AA29 AA40 BA13 BB03 CA25 CA26  
CB01 CB03 CB17 DA60 DA61 DA62 DA69 DA70 FA29 FA34  
FB01 FB03 FB06 FB15 GC10 GC12 JA01 JA06  
4B024 AA01 CA11 CA12 HA17  
4C084 AA17 NA05 NA10 ZA362 ZA402 ZC202 ZC332  
4H045 AA11 AA30 BA10 DA56 DA76 EA27 FA71 FA74

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	<a href="#">JP2015526696A5</a>	公开(公告)日	2016-11-10
申请号	JP2015513220	申请日	2013-05-24
申请(专利权)人(译)	佐拉生物科学Osake Yukichua		
[标]发明人	ラクソネンレイヨ		
发明人	ラクソネン レイヨ		
IPC分类号	G01N33/483 G01N33/53 G01N33/543 C07K16/18 A61P3/06 A61K45/00 A61P9/00 A61P43/00 A61P9/10 G01N27/62 C12N15/113		
CPC分类号	G01N33/92 G01N2500/00 G01N2560/00 G01N2570/00 G01N2800/52		
FI分类号	G01N33/483.Z G01N33/53.S G01N33/543.545.A C07K16/18 A61P3/06 A61K45/00 A61P9/00 A61P43/00.111 A61P9/10.101 A61P9/10 G01N27/62.V C12N15/00.G		
F-TERM分类号	2G041/CA01 2G041/EA03 2G041/FA10 2G041/GA09 2G045/AA02 2G045/AA16 2G045/AA24 2G045/AA25 2G045/AA29 2G045/AA40 2G045/BA13 2G045/BB03 2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/CB01 2G045/CB03 2G045/CB17 2G045/DA60 2G045/DA61 2G045/DA62 2G045/DA69 2G045/DA70 2G045/FA29 2G045/FA34 2G045/FB01 2G045/FB03 2G045/FB06 2G045/FB15 2G045/GC10 2G045/GC12 2G045/JA01 2G045/JA06 4B024/AA01 4B024/CA11 4B024/CA12 4B024/HA17 4C084/AA17 4C084/NA05 4C084/NA10 4C084/ZA362 4C084/ZA402 4C084/ZC202 4C084/ZC332 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/DA56 4H045/DA76 4H045/EA27 4H045/FA71 4H045/FA74		
代理人(译)	山崎 一夫		
优先权	61/651569 2012-05-25 US 2012169517 2012-05-25 EP		
其他公开文献	JP2015526696A		

#### 摘要(译)

本发明是，除其他外，前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/可心类型9功效，并使用（PCSK9），生物样品的脂质的浓度的特异性抑制剂治疗，和/或脂质 - 检测脂质浓度比，通过与控件及其使用进行比较。当PCSK9抑制剂有效降低血清低密度脂蛋白（LDL）水平并且PCSK9抑制剂不显示任何不良副作用如肝毒性时，本发明特别有用。或者确定是否可能。在检测药物功效和可能的有害药物诱导的副作用方面，提供比目前可用的临床标志物更高的特异性和灵敏度的脂质标记物。还提供了针对所述脂质的抗体及其用于预测和诊断PCSK9抑制剂诱导的不良反应的用途。本发明进一步涉及试剂盒，其包含用于确定PCSK9抑制剂和药物诱导的不良反应的有效性的脂质，和/或其抗体。