

(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2008-546373

(P2008-546373A)

(43) 公表日 平成20年12月25日(2008.12.25)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A	4 B O 2 4
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	4 B O 6 3
A 6 1 K 38/26 (2006.01)	A 6 1 K 37/28	4 B O 6 4
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 D	4 B O 6 5
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N	4 C O 8 4
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 87 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2008-504018 (P2008-504018)
 (86) (22) 出願日 平成17年12月22日 (2005.12.22)
 (85) 翻訳文提出日 平成19年11月14日 (2007.11.14)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2005/046884
 (87) 国際公開番号 W02007/081302
 (87) 国際公開日 平成19年7月19日 (2007.7.19)
 (31) 優先権主張番号 PCT/US2005/097175
 (32) 優先日 平成17年3月28日 (2005.3.28)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 503054122
 セントカー・インコーポレーテッド
 アメリカ合衆国ペンシルベニア州1935
 5マルバーン・グレートバレイパークウエ
 イ200
 (74) 代理人 110000741
 特許業務法人小田島特許事務所
 (72) 発明者 オニール, カリン・テイ
 アメリカ合衆国ペンシルベニア州1934
 8ケネットスクエア・カークブレロード2
 22
 (72) 発明者 ピチャ, クリステン
 アメリカ合衆国ペンシルベニア州1935
 5マルバーン・イエロースプリングス20
 65

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ヒトGLP-1ミメティボディ、組成物、方法および用途

(57) 【要約】

本発明は、最低1種のGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションをコードする単離された核酸、GLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーション、ベクター、宿主細胞、トランスジェニック動物若しくは植物を包含する最低1種の新規ヒトGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーション、ならびに、治療的組成物、方法および装置を包含するそれらの作成および使用方法に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

配列番号 2 若しくは 4 のアミノ酸配列をコードする最低 1 種のポリヌクレオチド、またはそれらに相補的なポリヌクレオチドを含んでなる、最低 1 種の GLP - 1 CH 1 欠失ミメティボディ核酸。

【請求項 2】

配列番号 7 ~ 14 から選択される最低 1 種を含んでなるアミノ酸配列をコードする最低 1 種のポリヌクレオチド、若しくはそれらに相補的なポリヌクレオチドを含んでなる、最低 1 種の GLP - 1 CH 1 欠失ミメティボディ核酸。

【請求項 3】

式 (I) :

$$(Pep(n) - L(o) - V(p) - H(q) - CH_2(r) - CH_3(s))(t)$$

、
式中、P は最低 1 種の生物活性 GLP - 1 ペプチド、バリエーション若しくは誘導体であり、L は、該ミメティボディが代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低 1 種のリンカー配列であり、V は、免疫グロブリン可変領域の C 末端の少なくとも一部分であり、H は免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり、CH₂ は免疫グロブリン CH₂ 定常領域の少なくとも一部分であり、CH₃ は免疫グロブリン CH₃ 定常領域の少なくとも一部分であり、n は 1 から 10 までの整数であり、ならびに、o、p、q、r、s および t は独立に 0 から 10 までの整数であり得る、

のポリペプチドをコードする最低 1 種のポリヌクレオチドを含んでなる、最低 1 種の GLP - 1 CH 1 欠失ミメティボディ核酸。

【請求項 4】

配列番号 2 若しくは 4 の連続するアミノ酸の全部を含んでなる、最低 1 種の GLP - 1 CH 1 欠失ミメティボディポリペプチド。

【請求項 5】

配列番号 7 ~ 14 の最低 1 種の連続するアミノ酸の全部を含んでなる、最低 1 種の GLP - 1 CH 1 欠失ミメティボディポリペプチド。

【請求項 6】

式 (I) :

$$(Pep(n) - L(o) - V(p) - H(q) - CH_2(r) - CH_3(s))(t)$$

、
式中、P は配列番号 1 および 6 から選択される最低 1 種の生物活性 GLP - 1 ペプチドであり、L は、GS、GGS、GGGS (配列番号 16)、GSGGS (配列番号 17)、GGS GGS (配列番号 18)、GGS GGS GG (配列番号 19) および GGS GGS GG (配列番号 20) から選択され；V は、GTLVTSS (配列番号 21)、GTLVAVSS (配列番号 22)、GTAVTSS (配列番号 23)、TVSS (配列番号 24) および AVSS (配列番号 25) から選択され；H は EPKSCDKTHTCPPCPAPELGGP (配列番号 26) であり、CH₂ は SVFLFPPKP
KDTLMISRTPVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL
LPAPIEKTKISKAK (配列番号 43) であり、CH₃ は GQPREPQVYTL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEA
LHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 44) であり、n は 1 から 10 までの整数であり、ならびに、o、p、q、r、s および t は独立に 0 から 10 までの整数であり得る、

のポリペプチドを含んでなる、最低 1 種の GLP - 1 CH 1 欠失ミメティボディポリペプチド。

10

20

30

40

50

【請求項 7】

式 (I) :

(Pep(n) - L(o) - V(p) - H(q) - CH₂(r) - CH₃(s))(t)

、
 式中、Pは配列番号6の最低1種の生物活性GLP-1ペプチドであり、Lは、GS、GGS、GGGS(配列番号16)、GSGGS(配列番号17)、GSGGS(配列番号18)、GSGGS(配列番号19)およびGSGGS(配列番号20)から選択され；Vは、GTLVTVSS(配列番号21)、GTLVAVSS(配列番号22)、GTA VTVSS(配列番号23)、TVSS(配列番号24)およびAVSS(配列番号25)から選択され；HはESKYGPPCPSCPAPFLG
 GP(配列番号27)であり、CH₂はSVFLFPKPKDTLMISRTP EVT
 CVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY
 RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISSKAK
 (配列番号45)であり、CH₃はGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL
 TCVLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
 FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS
 LGK(配列番号46)であり、nは1から10までの整数であり、ならびに、o、p、q、r、sおよびtは独立に0から10までの整数であり得る、
 のポリペプチドを含んでなる、最低1種のGLP-1 CH₁欠失ミメティボディポリペ
 プチド。

10

20

【請求項 8】

式 (I) :

(Pep(n) - L(o) - V(p) - H(q) - CH₂(r) - CH₃(s))(t)

、
 式中、Pは配列番号6の最低1種の生物活性GLP-1ペプチドであり、Lは、GS、GGS、GGGS(配列番号16)、GSGGS(配列番号17)、GSGGS(配列番号18)、GSGGS(配列番号19)およびGSGGS(配列番号20)から選択され；Vは、GTLVTVSS(配列番号21)、GTLVAVSS(配列番号22)、GTA VTVSS(配列番号23)、TVSS(配列番号24)およびAVSS(配列番号25)から選択され；HはESKYGPPCPPCPAPEAAG
 GP(配列番号28)であり、CH₂はSVFLFPKPKDTLMISRTP EVT
 CVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY
 RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISSKAK
 (配列番号45)であり、CH₃はGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL
 TCVLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
 FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS
 LGK(配列番号46)であり、nは1から10までの整数であり、ならびに、o、p、q、r、sおよびtは独立に0から10までの整数であり得る、
 のポリペプチドを含んでなる、最低1種のGLP-1 CH₁欠失ミメティボディポリペ
 プチド。

30

40

【請求項 9】

式 (I) :

(Pep(n) - L(o) - V(p) - H(q) - CH₂(r) - CH₃(s))(t)

、
 式中、Pは最低1種の生物活性GLP-1ペプチド、バリエーション若しくは誘導体であり、Lは、該ミメティボディが代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低1種のリンカー配列であり、Vは免疫グロブリン可変領域のC末端の少なくとも一部分であり、Hは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり、CH₂はSVFLFPKPKDTLMISRTP
 EVT
 CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN

50

STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (配列番号43) であり、CH3はGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSL SLS PGK (配列番号44) であり、nは1から10までの整数であり、ならびに、o、p、q、r、sおよびtは独立に0から10までの整数であり得る、のポリペプチドを含んでなる、最低1種のGLP-1 CH1欠失ミメティボディポリペプチド。

【請求項10】

式(I) :

$$(Pep(n) - L(o) - V(p) - H(q) - CH2(r) - CH3(s))(t)$$

式中、Pは最低1種の生物活性GLP-1ペプチド、バリエーション若しくは誘導体であり、Lは、該ミメティボディが代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低1種のリンカー配列であり、Vは免疫グロブリン可変領域のC末端の少なくとも一部分であり、Hは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり、CH2はSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK (配列番号45) であり、CH3はGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSL SLS LGK (配列番号46) であり、nは1から10までの整数であり、ならびに、o、p、q、r、sおよびtは独立に0から10までの整数であり得る、のポリペプチドを含んでなる、最低1種のGLP-1 CH1欠失ミメティボディポリペプチド。

【請求項11】

式(I) :

$$(Pep(n) - L(o) - V(p) - H(q) - CH2(r) - CH3(s))(t)$$

式中、Pは配列番号6の最低1種の生物活性GLP-1ペプチドであり、Lは、該ミメティボディが代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低1種のリンカー配列であり、Vは免疫グロブリン可変領域のC末端の少なくとも一部分であり、Hは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり、CH2は免疫グロブリンCH2定常領域の少なくとも一部分であり、CH3は免疫グロブリンCH3定常領域の少なくとも一部分であり、nは1から10までの整数であり、ならびに、o、p、q、r、sおよびtは独立に0から10までの整数であり得る、のポリペプチドを含んでなる、最低1種のGLP-1 CH1欠失ミメティボディポリペプチド。

【請求項12】

式(I) :

$$(Pep(n) - L(o) - V(p) - H(q) - CH2(r) - CH3(s))(t)$$

式中、Pは最低1種の生物活性GLP-1ペプチド、バリエーション若しくは誘導体であり、Lは、GS、GGS、GGGS (配列番号16)、GSGGS (配列番号17)、GSGGS (配列番号18)、GSGGS (配列番号19) およびGGGS (配列番号20) から選択され；Vは免疫グロブリン可変領域のC末端の少なくとも一部分であり、Hは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり、CH2は免疫グロブリンCH2定常領域の少なくとも一部分であり、CH3は免疫グロブリン

10

20

30

40

50

CH3定常領域の少なくとも一部分であり、nは1から10までの整数であり、ならびに、o、p、q、r、sおよびtは独立に0から10までの整数であり得る、のポリペプチドを含んでなる、最低1種のGLP-1 CH1欠失ミメティボディポリペプチド。

【請求項13】

式(I)：

$(Pep(n) - L(o) - V(p) - H(q) - CH2(r) - CH3(s))(t)$

式中、Pは最低1種の生物活性GLP-1ペプチド、バリエーション若しくは誘導体であり；Lは、該ミメティボディが代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低1種のリンカー配列であり；Vは、GTLVTVSS(配列番号21)、GTLVAVSS(配列番号22)、GTAVTVSS(配列番号23)、TVSS(配列番号24)およびAVSS(配列番号25)から選択され；Hは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり；CH2は免疫グロブリンCH2定常領域の少なくとも一部分であり；CH3は免疫グロブリンCH3定常領域の少なくとも一部分であり；nは1から10までの整数であり、ならびに、o、p、q、r、sおよびtは独立に0から10までの整数であり得る、のポリペプチドを含んでなる、最低1種のGLP-1 CH1欠失ミメティボディポリペプチド。

10

【請求項14】

式(I)：

$(Pep(n) - L(o) - V(p) - H(q) - CH2(r) - CH3(s))(t)$

式中、Pは最低1種の生物活性GLP-1ペプチド、バリエーション若しくは誘導体であり、Lは、該ミメティボディが代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低1種のリンカー配列であり、Vは免疫グロブリン可変領域のC末端の少なくとも一部分であり、Hは、EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP(配列番号26)、ESKYGPPCPCPCPAPEFLGGP(配列番号27)およびESKYGPPCPCPCPAPEAAGGP(配列番号28)から選択され、CH2は免疫グロブリンCH2定常領域の少なくとも一部分であり、CH3は免疫グロブリンCH3定常領域の少なくとも一部分であり、nは1から10までの整数であり、ならびに、o、p、q、r、sおよびtは独立に0から10までの整数であり得る、のポリペプチドを含んでなる、最低1種のGLP-1 CH1欠失ミメティボディポリペプチド。

20

30

【請求項15】

式(I)：

$(Pep(n) - L(o) - V(p) - H(q) - CH2(r) - CH3(s))(t)$

式中、Pは最低1種の生物活性GLP-1ペプチド、バリエーション若しくは誘導体であり、Lは、該ミメティボディが代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低1種のリンカー配列であり、Vは免疫グロブリン可変領域のC末端の少なくとも一部分であり、Hは、EPKSAADKTHTCPPCPCPAPEAAGGP(配列番号29)、EPKSAADKTHTCPPCPCPAPELAGGP(配列番号30)、EPKSAADKTHTCPPCPCPAPEALGGP(配列番号31)、EPKSAADKTHTCPPCPCPAPELEGGP(配列番号32)、EPKSSDKTHTCPPCPCPAPEFLGGP(配列番号33)、EPKSAADKTHACPPCPCPAPELLGGP(配列番号34)、EPKSAADKAHTCPCPCPAPELLGGP(配列番号35)およびEPKSAADKTHTCPPCPCPAPELLGGP(配列番号36)、ADKTHTCPPCPCPAPELLGGP(配列番号37)、THT

40

50

C P P C P A P E L L G G P (配列番号38)、E S K Y G P P C P S C P A P E A A G G P (配列番号39)、E S K Y G P P C P P C P A P E L L G G P (配列番号40)、C P P C P A P E L L G G P (配列番号41)ならびにC P P C P A P E A A G G P (配列番号42)から選択され、C H 2は免疫グロブリンC H 2定常領域の少なくとも一部分であり、C H 3は免疫グロブリンC H 3定常領域の少なくとも一部分であり、nは1から10までの整数であり、ならびに、o、p、q、r、sおよびtは独立に0から10までの整数であり得る、

のポリペプチドを含んでなる、最低1種のG L P - 1 C H 1欠失ミメティボディポリペプチド。

【請求項16】

式(I)：

(P e p (n) - L (o) - V (p) - H (q) - C H 2 (r) - C H 3 (s)) (t)

、
式中、Pは最低1種の生物活性G L P - 1ペプチド、バリエーション若しくは誘導体であり、Lは、該ミメティボディが代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低1種のリンカー配列であり、Vは免疫グロブリン可変領域のC末端の少なくとも一部分であり、Hは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり、C H 2は免疫グロブリンC H 2定常領域の少なくとも一部分であり、C H 3は免疫グロブリンC H 3定常領域の少なくとも一部分であり、nは1から10までの整数であり、ならびに、o、p、q、r、sおよびtは独立に0から10までの整数であり得る、

の最低1種のG L P - 1 C H 1欠失ミメティボディポリペプチド。

【請求項17】

請求項1～16のいずれかに記載のC L P - 1 C H 1欠失ミメティボディ核酸、若しくは、G L P - 1 C H 1欠失ミメティボディポリペプチド(前記ポリペプチドは最低1種のPポリペプチドの最低1種の活性を有する)。

【請求項18】

請求項4～16のいずれかに記載の最低1種のG L P - 1 C H 1欠失ミメティボディポリペプチドを特異的に結合する、抗イデオタイプモノクローナル若しくはポリクローナル抗体、融合タンパク質またはそれらのフラグメント。

【請求項19】

請求項1～3のいずれかに記載の、または請求項4～18のいずれかに記載の最低1種のG L P - 1 C H 1欠失ミメティボディポリペプチド若しくはC L P - 1 C H 1欠失ミメティボディ抗体をコードする、G L P - 1 C H 1欠失ミメティボディ核酸、あるいはそれらに相補的なポリヌクレオチド。

【請求項20】

請求項19に記載の最低1種の単離された核酸を含んでなる、G L P - 1 C H 1欠失ミメティボディベクター。

【請求項21】

請求項19に記載の単離された核酸を含んでなる、G L P - 1 C H 1欠失ミメティボディ宿主細胞。

【請求項22】

前記宿主細胞が、C O S - 1、C O S - 7、H E K 2 9 3、B H K 2 1、C H O、B S C - 1、H e p G 2、6 5 3、S P 2 / 0、2 9 3、N S O、D G 4 4 C H O、C H O K 1、H e L a、骨髄腫若しくはリンパ腫細胞、またはそれらのいずれかの誘導体、不死化若しくは形質転換細胞から選択される最低1種である、請求項21に記載のG L P - 1 C H 1欠失ミメティボディ宿主細胞。

【請求項23】

G L P - 1 C H 1欠失ミメティボディ若しくは抗体が検出可能な若しくは回収可能な量で発現されるような*in vitro*、*in vivo*若しくは*in situ*条件下

10

20

30

40

50

で請求項 19 に記載の核酸を翻訳することを含んでなる、最低 1 種の GLP - 1 CH 1 欠失ミメティボディポリペプチド若しくは GLP - 1 CH 1 欠失ミメティボディ抗体の製造方法。

【請求項 24】

請求項 1 ~ 19 のいずれかに記載の最低 1 種の GLP - 1 CH 1 欠失ミメティボディ核酸、GLP - 1 CH 1 欠失ミメティボディポリペプチド、若しくは GLP - 1 CH 1 欠失ミメティボディ抗体を含んでなる組成物。

【請求項 25】

前記組成物が最低 1 種の製薬学的に許容できる担体若しくは希釈剤をさらに含んでなる、請求項 24 に記載の組成物。

10

【請求項 26】

糖尿病若しくはインスリン代謝に関連する薬物、検出可能な標識若しくはレポーター、TNFアンタゴニスト、抗感染症薬、心血管(CV)系薬、中枢神経系(CNS)薬、自律神経系(ANS)薬、気道薬、胃腸(GI)管薬、ホルモン薬、液体若しくは電解質バランスのための薬物、血液製剤、抗腫瘍薬、免疫調節薬、眼、耳若しくは鼻の薬物、局所薬、栄養薬、サイトカイン若しくはサイトカインアンタゴニストの最低 1 種から選択される最低 1 種の化合物、組成物若しくはポリペプチドの治療上有効な量を含んでなる最低 1 種の組成物をさらに含んでなる、請求項 24 に記載の組成物。

【請求項 27】

液体、気体、若しくは乾燥物、溶液、混合物、懸濁液、乳液若しくはコロイド、凍結乾燥調製物または粉末から選択される最低 1 種の形態の、請求項 24 に記載の組成物。

20

【請求項 28】

(a) 請求項 1 ~ 19 のいずれかに記載の最低 1 種の GLP - 1 CH 1 欠失ミメティボディの核酸、ポリペプチド若しくは抗体の有効量を含んでなる組成物を、細胞、組織、器官若しくは動物と接触させるか若しくはそれらに投与することを含んでなる、前記細胞、組織、器官若しくは動物における GLP - 1 関連の状態の診断若しくは処置方法。

【請求項 29】

GLP - 1 関連の状態が糖尿病若しくはうっ血性心不全である、請求項 28 に記載の方法。

30

【請求項 30】

前記有効量が、前記細胞、組織、器官若しくは動物 1 キログラムあたり、0.0001 ~ 50 mg の GLP - 1 CH 1 欠失ミメティボディ抗体；0.1 ~ 500 mg の前記 GLP - 1 CH 1 欠失ミメティボディ；若しくは 0.0001 ~ 100 μg の前記 GLP - 1 CH 1 欠失ミメティボディ核酸である、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 31】

前記接触させること若しくは前記投与することが、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、動脈内、気管支内、腹腔内(intraabdominal)、関節包内、軟骨内、洞内、腹腔内(intracelial)、小脳内、脳室内、結腸内、頸管内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内(intraperitoneal)、胸膜腔内、前立腺内、肺内、直腸内、腎内、網膜内、髄腔内、滑液嚢内、胸腔内、子宮内、膀胱内、病変内、ポラス、膈、直腸、頬側、舌下、鼻内若しくは経皮から選択される最低 1 様式による、請求項 28 に記載の方法。

40

【請求項 32】

前記(a)の接触若しくは投与することの前、同時に若しくは後に、糖尿病若しくはインスリン代謝に関連する薬物、検出可能な標識若しくはレポーター、TNFアンタゴニスト、抗感染症薬、心血管(CV)系薬、中枢神経系(CNS)薬、自律神経系(ANS)薬、気道薬、胃腸(GI)管薬、ホルモン薬、液体若しくは電解質バランスのための薬物、血液製剤、抗腫瘍薬、免疫調節薬、眼、耳若しくは鼻の薬物、局所薬、栄養薬、サイトカイン若しくはサイトカインアンタゴニストの最低 1 種から選択される最低 1 種の化合物

50

若しくはポリペプチドの有効量を含んでなる最低 1 種の組成物を投与することをさらに含んでなる、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 33】

前記有効量が、その必要な動物で血糖値を低下させる、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 34】

前記有効量が、インスリン産生細胞からのインスリン分泌を増大させる、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 35】

前記有効量が、インスリン産生細胞のアポトーシスを予防する、請求項 28 に記載の方法。

10

【請求項 36】

前記有効量が、インスリン産生細胞の増殖を増大させる、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 37】

請求項 1 ~ 19 のいずれかに記載の最低 1 種の GLP-1 CH1 欠失ミメティポディの核酸、ポリペプチド若しくは抗体の有効量を含んでなる組成物を、細胞、組織、器官若しくは動物と接触させるか若しくはそれらに投与することを含んでなる、前記細胞、組織、器官若しくは動物の処置方法。

【請求項 38】

前記有効量が、前記細胞、組織、器官若しくは動物 1 キログラムあたり、0.0001 ~ 50 mg の GLP-1 CH1 欠失ミメティポディ抗体；0.1 ~ 500 mg の前記 GLP-1 CH1 欠失ミメティポディ；若しくは 0.0001 ~ 100 μ g の前記 GLP-1 CH1 欠失ミメティポディ核酸である、請求項 37 に記載の方法。

20

【請求項 39】

前記接触させること若しくは前記投与することが、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、動脈内、気管支内、腹腔内 (intraabdominal)、関節包内、軟骨内、洞内、腹腔内 (intracelial)、小脳内、脳室内、結腸内、頸管内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内 (intraperitoneal)、胸膜腔内、前立腺内、肺内、直腸内、腎内、網膜内、髄腔内、滑液嚢内、胸腔内、子宮内、膀胱内、病変内、ポーラス、膺、直腸、頬側、舌下、鼻内若しくは経皮から選択される最低 1 様式による、請求項 37 に記載の方法。

30

【請求項 40】

前記 (a) の接触若しくは投与することの前、同時に若しくは後に、糖尿病若しくはインスリン代謝に関連する薬物、検出可能な標識若しくはレポーター、TNF アンタゴニスト、抗感染症薬、心血管 (CV) 系薬、中枢神経系 (CNS) 薬、自律神経系 (ANS) 薬、気道薬、胃腸 (GI) 管薬、ホルモン薬、液体若しくは電解質バランスのための薬物、血液製剤、抗腫瘍薬、免疫調節薬、眼、耳若しくは鼻の薬物、局所薬、栄養薬、サイトカイン若しくはサイトカインアンタゴニストの最低 1 種から選択される最低 1 種の化合物若しくはポリペプチドの有効量を含んでなる最低 1 種の組成物を投与することをさらに含んでなる、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 41】

前記有効量が、その必要な動物で血糖値を低下させる、請求項 37 に記載の方法。

40

【請求項 42】

前記有効量が、インスリン産生細胞からのインスリン分泌を増大させる、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 43】

前記有効量が、インスリン産生細胞のアポトーシスを予防する、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 44】

前記有効量が、インスリン産生細胞の増殖を増大させる、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 45】

50

請求項 1 ~ 19 のいずれかに記載の、最低 1 種の単離された G L P - 1 C H 1 欠失ミメティボディのポリペプチド、抗体若しくは核酸を含んでなる装置であって、前記装置が、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、動脈内、気管支内、腹腔内 (i n t r a a b d o m i n a l)、関節包内、軟骨内、洞内、腹腔内 (i n t r a c e l l i a l)、小脳内、脳室内、結腸内、頸管内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内 (i n t r a p e r i t o n e a l)、胸膜腔内、前立腺内、肺内、直腸内、腎内、網膜内、髄腔内、滑液嚢内、胸腔内、子宮内、膀胱内、病変内、ポラス、膻、直腸、頬側、舌下、鼻内若しくは経皮から選択される最低 1 様式により前記 G L P - 1 C H 1 欠失ミメティボディのポリペプチド、抗体若しくは核酸の前記最低 1 種を接触若しくは投与するのに適する、上記装置。

10

【請求項 46】

包装資材、および請求項 1 ~ 19 のいずれかに記載の最低 1 種の単離された G L P - 1 C H 1 欠失ミメティボディのポリペプチド、抗体若しくは核酸を含んでなる容器を含んでなる、ヒトの製薬学的若しくは診断的使用のための製品。

【請求項 47】

前記容器が、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、動脈内、気管支内、腹腔内 (i n t r a a b d o m i n a l)、関節包内、軟骨内、洞内、腹腔内 (i n t r a c e l l i a l)、小脳内、脳室内、結腸内、頸管内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内 (i n t r a p e r i t o n e a l)、胸膜腔内、前立腺内、肺内、直腸内、腎内、網膜内、髄腔内、滑液嚢内、胸腔内、子宮内、膀胱内、病変内、ポラス、膻、直腸、頬側、舌下、鼻内若しくは経皮送達装置若しくは系の一成分である、請求項 46 に記載の製品。

20

【請求項 48】

前記ポリペプチド、抗体若しくは核酸を検出可能な若しくは回収可能な量で発現することが可能な最低 1 種の宿主細胞、トランスジェニック動物、トランスジェニック植物、植物細胞を提供することを含んでなる、請求項 1 ~ 19 のいずれかに記載の最低 1 種の単離された G L P - 1 C H 1 欠失ミメティボディのポリペプチド、抗体若しくは核酸の製造方法。

【請求項 49】

請求項 48 に記載の方法により製造される、最低 1 種の G L P - 1 C H 1 欠失ミメティボディのポリペプチド、抗体若しくは核酸。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、生物学的に活性のタンパク質、フラグメント若しくはリガンドに特異的な哺乳動物 G L P - 1 ミメティボディ (m i m e t i b o d y)、指定された部分およびバリエーション、G L P - 1 ミメティボディをコードするおよび相補的な核酸、宿主細胞、ならびに、治療的製剤、投与および装置を包含するそれらの作成および使用方法に関する。

【背景技術】

【0002】

組換えタンパク質は治療薬の新生の一分類である。こうした組換え治療薬は、タンパク質製剤および化学修飾の進歩を引き起こした。(例えばタンパク質分解酵素へのそれらの曝露を阻害することにより)半減期を延長するか、生物学的活性を高めるか、若しくは好ましくない副作用を低減させることによるようなこうした修飾は、治療的タンパク質の治療的有用性を潜在的に高め得る。1 種のこうした修飾は、エンテラセプト (e n t e r a c e p t) のような、受容体タンパク質に融合させた免疫グロブリンフラグメントの使用である。治療的タンパク質は、より長い半減期を提供すること、若しくは F c 受容体結合、プロテイン A 結合および補体固定のような機能を組み込むことを試みるために、F c ドメインを使用してもまた構築されている。

40

【0003】

糖尿病は、効果的な薬物療法を待つ間に 2025 年までに 3 億超の人々を冒すと推定さ

50

れている、増大しつつある疫病である。2型糖尿病が全症例の90～95%を占める。持続的な上昇した血漿グルコースレベルから生じる合併症は、心血管系疾患、腎症、ニューロパシーおよび網膜症を包含する。加えて、2型糖尿病の後期の間に、膵の細胞が死滅しそして従ってインスリンを分泌することを停止する。糖尿病の現在の処置は、低血糖および体重増加を包含する多様な有害な副作用を伴う。加えて、2型糖尿病の現在の処置は該疾患を治癒しないが、しかし患者がインスリン治療を必要とするまでの時間を単に延長する。

【0004】

グルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) は、経口グルコース投与後に腸のL細胞から分泌される37アミノ酸のペプチドである。第6と第7の位置の間のその後の内因性切断が生物学的に活性のGLP-1 (7-37) ペプチドを生じる。GLP-1 (7-37) ペプチド配列は2個の構造ドメインに分割し得る。該ペプチドのアミノ末端ドメインはシグナル伝達に關与する一方、該ペプチドの残部はらせん状のコンホメーションのGLP-1受容体の細胞外ループに結合するようである。グルコースに応答して、活性のGLP-1は膵のGLP-1受容体に結合し、そしてインスリン分泌の増大を引き起こす(インスリン分泌作用)。加えて、GLP-1が、循環中に放出されるグルコースの塊(bolus)を減少させかつ食物摂取を低下させうる胃排出を低下させることが示されている。これらの作用はともに血糖値を低下させる。GLP-1はまた、膵の細胞のアポトーシスを阻害しかつ増殖を増大させることも示されている。従って、GLP-1は、糖尿病患者の血糖を低下させかつ膵の細胞を保存するための魅力的な治療薬である。加えて、GLP-1活性は血糖値により制御される。血糖値がある閾値レベルに下落する場合、GLP-1は活性でない。従って、GLP-1を伴う処置に關連する低血糖の危険性は存在しない。

【0005】

GLP-1療法の実現可能性は診察室で立証されている。6週のGLP-1注入は、2型糖尿病患者で空腹時および8時間平均血糖値を効果的に低下させた。GLP-1療法はまた細胞の機能の改善ももたらした。エクセナチド(Exenatide)は現在臨床試験中のGLP-1アナログである。エクセナチド(Exenatide)はアメリカドクトカゲの唾液中で最初に同定され、そしてGLP-1に53%同一である。エクセナチド(Exenatide)はGLP-1受容体を結合しかつGLP-1 (7-37)に結合している多数の活性の原因のシグナル伝達カスケードを開始し得る。今日までに、それは、2型糖尿病を伴う患者のHbA1cレベルおよび血清フルクトサミンレベルを低下させることが示された。加えて、それは健康志願者で胃排出を遅らせかつ食物摂取を阻害した。

【0006】

しかしながら、GLP-1は、プロテアーゼ、ジペプチジルペプチダーゼIV (DPP-IV)によりin vivoで急速に不活性化される。従って、GLP-1ペプチドを伴う治療の有用性は、それらの迅速な消失および短い半減期により制限されている。例えば、GLP-1 (7-37)はわずか3ないし5分の血清半減期を有する。GLP-1 (7-36)アミドは、皮下に投与される場合に約50分の作用時間を有する。内因性プロテアーゼの切断に抵抗性であるアナログおよび誘導体でさえ、24時間にわたって反復投与を回避するのに十分に長い半減期を有しない。例えば、エクセナチドはDPP-IVに抵抗性であるが、それでもそれは、短い半減期およびin vivoの薬物動態の大きな変動性のために1日2回の食前投与をなお必要とする。現在臨床試験中の別の化合物、NN2211は脂質付加したGLP-1アナログである。それは1日1回投与されることが期待される。

【0007】

治療薬の迅速な消失は、該剤の高血中濃度を長時間にわたり維持することが望ましい場合に不便である。その場合は反復投与が必要であろうからである。さらに、過去の処置レジメンが経口医薬品のみを服用することを必要とした糖尿病患者にとって、長時間作用型

10

20

30

40

50

の化合物がとりわけ重要である。これらの患者は、医薬品の複数回注入を必要とするレジメンに移行する極めて困難な時間をしばしば有する。増大された半減期を有するGLP-1療法は、開発中の他のGLP-1ペプチドおよび化合物を上回る大きな利点を有するとみられる。

【0008】

従って、これらおよび当該技術分野で既知の他の問題のもう一つを克服する、改良および/若しくは改変されたバージョンのGLP-1治療的タンパク質を提供する必要性が存在する。ミメティポディ技術はペプチド治療薬の新規送達基盤を提供する。GLP-1ミメティポディは、持続性の様式でGLP-1ペプチドを送達する手段を提供することができ、現在開発中のGLP-1ペプチドを上回る改良を提供する。さらに、その二量体構造およびその組織分布の特徴に基づけば、GLP-1ミメティポディは、インスリン分泌、細胞保存および食物摂取に関して識別可能な特徴を有し得る。

【発明の開示】

【0009】

[発明の要約]

本発明は、当該技術分野で既知であるものと組合せの、本明細書に記述かつ/若しくは可能にされるところの、改変された免疫グロブリン、切断生成物ならびにそれらの他の指定された部分およびバリエーションを包含するヒトGLP-1ミメティポディ、ならびにGLP-1ミメティポディの組成物、コードする若しくは相補的な核酸、ベクター、宿主細胞、組成物、製剤、装置、トランスジェニック動物、トランスジェニック植物、ならびにそれらの作成および使用方法を提供する。

【0010】

本発明はまた、本明細書に記述されかつ/若しくは当該技術分野で既知のところの最低1種の単離されたGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションも提供する。GLP-1ミメティポディは、場合によっては、最低1種のGLP-1治療的ペプチド(P)に直接結合されている任意のリンカー配列(L)と直接結合されている最低1種の部分的可変領域(V)と直接結合されている最低1種のヒンジ領域若しくはそのフラグメントの少なくとも一部分(H)と直接結合されている最低1種のCH2領域と直接結合されている最低1種のCH3領域を含み得る。

【0011】

好ましい一態様において、一对のCH3-CH2-ヒンジ-部分的V領域配列-リンカー-治療的ペプチド配列(該対は、場合によっては、会合、あるいは限定されるものでないが最低1個のCys-Cysジスルフィド結合または最低1種のCH4若しくは他の免疫グロブリン配列を挙げることができる共有結合により連結される)。一態様において、GLP-1ミメティポディは、限定されるものでないがIgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgM、IgD、IgE、若しくはそれらのいずれかのサブクラスなどを挙げることができる多様なタイプの免疫グロブリン分子を模倣する、式(I)：

a. (P(n) - L(o) - V(p) - H(q) - CH2(r) - CH3(s)) (t)

[式中、Pは最低1種の生物活性GLP-1ペプチド、バリエーション若しくは誘導体であり、Lは該ミメティポディが代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低1種のリンカー配列であり、Vは免疫グロブリン可変領域のC末端の少なくとも一部分であり、Hは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり、CH2は免疫グロブリンCH2定常領域の少なくとも一部分であり、CH3は免疫グロブリンCH3定常領域の少なくとも一部分であり、nは1から10までの整数であり、ならびに、o、p、q、r、sおよびtは独立に0から10までの整数であり得る]、

またはそれらのいずれかの組合せを含んでなる。

【0012】

10

20

30

40

50

抗体配列の可変領域は、限定されるものでないが、対応する配列番号 1 ~ 9 を伴い 2004 年 6 月 24 日出願かつ 2005 年 1 月 20 日公開の PCT 公開第 WO 05/05604 号 (第 PCT US 04/19898 号) 明細書の図 1 ~ 9 にさらに記述されることの最低 1 個の置換、挿入若しくは欠失をさらに場合によっては含んでなる、配列番号 47 ~ 55 若しくは表 1 に記述されることのそれらのフラグメントの最低 1 種の少なくとも一部分を挙げることができる。CH2、CH3 およびヒンジ領域は、限定されるものでないが、対応する配列番号 32 ~ 40 を伴い 2004 年 6 月 24 日出願かつ 2005 年 1 月 20 日公開の PCT 公開第 WO 05/05604 号 (第 PCT US 04/19898 号) 明細書の図 32 ~ 40 にさらに記述されることの最低 1 個の置換、挿入若しくは欠失をさらに場合によっては含んでなる、配列番号 56 ~ 64 若しくは表 1 に記述されることのそれらのフラグメントの最低 1 種の少なくとも一部分を挙げることができる。

10

【0013】

従って、本発明の GLP-1 ミメティポディは、GLP-1 治療的ペプチドおよびその固有の若しくは獲得された *in vitro*、*in vivo* 若しくは *in situ* 特性若しくは活性を提供しつつその固有の特性および機能を伴う抗体すなわち免疫グロブリンの構造若しくは機能の少なくとも一部分を模倣する。抗体の多様な部分および本発明の GLP-1 ミメティポディの治療的ペプチド部分は、当該技術分野で既知であるものとともに、本明細書に記述されるとおり変動し得る。

【0014】

本発明はまた、限定されるものでないが、本明細書に記述されるか若しくは当該技術分野で既知のところの式 (I) の P 部分に対応する最低 1 種の生物活性 GLP-1 ペプチド若しくはポリペプチドの既知の生物学的活性を挙げることができる最低 1 種の活性を有する、最低 1 種の単離された GLP-1 ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションも提供する。

20

【0015】

一局面において、本発明は、配列番号 1 の、または本明細書に記述されるか若しくは当該技術分野で既知のところの 1 個若しくはそれ以上の置換、欠失若しくは挿入を場合によっては伴う最低 1 種のポリペプチド配列を含んでなる最低 1 種の単離されたヒト GLP-1 ミメティポディを提供する。別の局面において、本発明の最低 1 種の GLP-1 ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションは、最低 1 ~ 3 を含んでなる最低 1 個のエピトープ、最低 1 種のリガンド (例えば、限定されるものでないが GLP-1 受容体) のアミノ酸配列全体、またはそれらのフラグメントへの、最低 1 種の GLP-1 ペプチド若しくは式 (I) 中のミメティポディの P 部分に対応するポリペプチドの結合を模倣し、該リガンドは、配列番号 1 の、または本明細書に記述されるか若しくは当該技術分野で既知のところの 1 個若しくはそれ以上の置換、欠失若しくは挿入を場合によっては伴う少なくとも一部分に結合する。該最低 1 種の GLP-1 ミメティポディは、場合によっては、最低 10^{-9} M、最低 10^{-10} M、最低 10^{-11} M 若しくは最低 10^{-12} M の親和性で GLP-1 受容体を結合し得る。GLP-1 ミメティポディは、従って、限定されるものでないが受容体若しくはそのフラグメントに対する結合活性を挙げることができる対応する活性について既知の方法に従ってスクリーニングし得る。

30

40

【0016】

本発明はさらに、本発明の最低 1 種の GLP-1 ミメティポディに対する最低 1 種の抗イディオタイプ抗体を提供する。抗イディオタイプ抗体若しくはフラグメントは、本発明の最低 1 種の GLP-1 ミメティポディを特異的に結合する。抗イディオタイプ抗体は、限定されるものでないが、本発明の最低 1 種の GLP-1 ミメティポディの GLP-1 リガンド結合領域を競合的に結合する、H 若しくは L 鎖の最低 1 個の相補性決定領域 (CDR) またはそれらのリガンド結合部分、H 鎖若しくは L 鎖可変領域、H 鎖若しくは L 鎖定常領域、枠組み領域あるいはそれらのいずれかの部分を挙げることができる免疫グロブリン分子の少なくとも一部分を含んでなる、いかなるタンパク質若しくはペプチド含有分子も包含する。本発明のこうしたイディオタイプ抗体は、限定されるものでないがヒト、マ

50

ウス、ウサギ、ラット、げっ歯類、霊長類などを挙げるができるいかなる哺乳動物も包含し得るか、若しくはそれらに由来し得る。

【0017】

本発明は、一局面において、最低1種の指定された配列、それらのドメイン、部分若しくはバリエーションを含んでなる、最低1種のGLP-1ミメティポディ若しくはGLP-1ミメティポディ抗イデオタイプ抗体、またはそれらの指定された部分若しくはバリエーションをコードするポリヌクレオチドを含んでなる、それらに相補的、それらに対する有意の同一性を有する、若しくはそれらにハイブリダイズする、単離された核酸分子を提供する。本発明はさらに、前記単離されたGLP-1ミメティポディ若しくはGLP-1ミメティポディ抗イデオタイプ抗体をコードする核酸分子の最低1種を含んでなる組換えベクター、こうした核酸および/若しくは組換えベクターを含有する宿主細胞、ならびに、こうしたGLP-1ミメティポディ若しくはGLP-1ミメティポディ抗イデオタイプ抗体の核酸、ベクターおよび/若しくは宿主細胞の作成および/若しくは使用方法を提供する。

10

【0018】

最低1種の単離された哺乳動物のGLP-1ミメティポディ若しくはGLP-1ミメティポディ抗イデオタイプ抗体をコードする単離された核酸；該単離された核酸を含んでなる単離された核酸ベクター、および/または該単離された核酸を含んでなる原核生物若しくは真核生物宿主細胞もまた提供される。宿主細胞は、場合によっては、COS-1、COS-7、HEK293、BHK21、CHO、BSC-1、HepG2、653、SP2/0、293、Hela、骨髄腫若しくはリンパ腫細胞、またはそれらのいずれかの誘導体、不死化若しくは形質転換細胞から選択される最低1種であり得る。

20

【0019】

本発明はまた、最低1種のGLP-1ミメティポディ若しくはGLP-1ミメティポディ抗イデオタイプ抗体、または指定された部分若しくはバリエーションが検出可能かつ/若しくは回収可能な量で発現される条件下で、本明細書に記述されかつ/若しくは当該技術分野で既知のところの宿主細胞を培養することを含んでなる、宿主細胞中での最低1種のGLP-1ミメティポディ若しくはGLP-1ミメティポディ抗イデオタイプ抗体、または指定された部分若しくはバリエーションの最低1種の発現方法も提供する。GLP-1ミメティポディ若しくはGLP-1ミメティポディ抗イデオタイプ抗体が検出可能な若しくは回収可能な量で発現されるような*in vitro*、*in vivo*若しくは*in situ*条件下で、GLP-1ミメティポディ若しくはGLP-1ミメティポディ抗イデオタイプ抗体をコードする核酸を翻訳することを含んでなる、最低1種のGLP-1ミメティポディ若しくはGLP-1ミメティポディ抗イデオタイプ抗体の製造方法もまた提供される。

30

【0020】

GLP-1ミメティポディ、若しくはGLP-1抗イデオタイプ抗体を回収可能な量で発現することが可能な宿主細胞またはトランスジェニック動物若しくはトランスジェニック植物を提供することを含んでなる、本発明の最低1種の単離されたヒトGLP-1ミメティポディ若しくはGLP-1抗イデオタイプ抗体の製造方法もまた提供される。

40

【0021】

上の方法により製造された最低1種のGLP-1ミメティポディが本発明でさらに提供される。

【0022】

本発明はまた、(a)本明細書に記述されるところの単離されたGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションをコードする核酸および/若しくはGLP-1ミメティポディ；ならびに(b)適する担体若しくは希釈剤を含んでなる最低1種の組成物も提供する。担体若しくは希釈剤は、場合によっては、既知の方法により製薬学的に許容できることができる。組成物は、場合によっては最低1種のさらなる化合物、タンパク質若しくは組成物をさらに含み得る。

50

【0023】

最低1種の単離されたヒトGLP-1ミメティポディおよび最低1種の製薬学的に許容できる担体若しくは希釈剤を含んでなる組成物もまた提供される。組成物は、場合によっては、検出可能な標識若しくはレポーター、抗感染症薬、糖尿病若しくはインスリン代謝に関連する薬物、心血管(CV)系薬、中枢神経系(CNS)薬、自律神経系(ANS)薬、気道薬、胃腸(GI)管薬、ホルモン薬、液体若しくは電解質バランスのための薬物、血液製剤、抗腫瘍薬、免疫調節薬、眼、耳若しくは鼻の薬物、局所薬、栄養薬、TNFアンタゴニスト、抗リウマチ薬、筋弛緩薬、麻薬、非ステロイド性抗炎症薬(NTHE)、鎮痛薬、麻酔薬、鎮静薬、局所麻酔薬、神経筋遮断薬、抗菌薬、抗乾癬薬、コルチコステロイド、蛋白同化ステロイド、エリスロポエチン、免疫化、免疫グロブリン、免疫抑制薬、成長ホルモン、ホルモン補充薬、放射性医薬品、抗うつ薬、抗精神病薬、興奮剤、喘息薬、アゴニスト、吸入ステロイド、エピネフリン若しくはアナログ、サイトカイン若しくはサイトカインアンタゴニストの最低1種から選択される最低1種の化合物若しくはタンパク質の有効量をさらに含み得る。

10

【0024】

本発明はまた、治療上若しくは予防上有効な量の本発明の最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションの最低1種の組成物、装置および/若しくは送達方法も提供する。

【0025】

本発明はさらに、当該技術分野で既知かつ/若しくは本明細書に記載されるものの、細胞、組織、器官、動物若しくは患者においてかつ/または関連する状態の前、後若しくは間に最低1種のGLP-1に関連した状態を調節若しくは処置するために治療上有効な量を投与するための、最低1種のGLP-1ミメティポディの方法若しくは組成物を提供する。

20

【0026】

本発明はさらに、当該技術分野で既知のところの、細胞、組織、器官、動物若しくは患者においてかつ/または限定されるものでないが関連疾患若しくは処置状態の前、後若しくは間を挙げることができる多くの多様な状態で必要とされるものの最低1種の代謝、免疫、心血管、感染性、悪性および/若しくは神経学的疾患の症状を処置若しくは低減させるための調節のために治療上有効な量で投与される場合の方法若しくは組成物における最低1種のGLP-1ミメティポディ、指定された部分若しくはバリエーションを提供する。

30

【0027】

本発明はさらに、当該技術分野で既知のところの、限定されるものでないが関連疾患若しくは処置状態の前、後若しくは間を挙げることができる多くの多様な状態で必要とされるものの、糖尿病若しくはインスリン代謝に関連する障害、骨および関節の障害、心血管障害、歯若しくは口腔障害、皮膚科障害、耳、鼻若しくは喉の障害、内分泌若しくは代謝障害、胃腸障害、婦人科障害、肝若しくは胆嚢の障害、産科障害、血液学的障害、免疫学的若しくはアレルギー性障害、感染性疾患、筋骨格障害、腫瘍学的障害、神経学的障害、栄養障害、眼科障害、小児科障害、中毒障害、精神障害、腎障害、肺障害、またはいずれかの他の既知の障害(例えばThe Merck Manual、第17版、Merck Research Laboratories、Merck and Co.、ニュージャージー州ホワイトハウスステーション(1999)(引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる)を参照されたい)の最低1種の症状を処置若しくは低減させるための調節のために治療上有効な量で投与される場合の方法若しくは組成物における最低1種のGLP-1ミメティポディ、指定された部分若しくはバリエーションを提供する。

40

【0028】

本発明はまた、本発明の最低1種のGLP-1ミメティポディのGPL-1に関連した状態を診断するための最低1種の組成物、装置および/若しくは送達方法も提供する。

【0029】

50

本発明はさらに、当該技術分野で既知かつ/若しくは本明細書に記述されるところの、細胞、組織、器官、動物若しくは患者におけるかつ/または関連した状態の前、後若しくは間の最低1種のGLP-1に関連した状態を診断するための最低1種のGLP-1ミメティポディの方法若しくは組成物を提供する。

【0030】

(a)本発明の最低1種の単離されたヒトGLP-1ミメティポディの有効量を含んでなる組成物を、細胞、組織、器官若しくは動物と接触若しくはそれらに投与することを含んでなる、細胞、組織、器官若しくは動物における疾患状態の診断若しくは処置方法もまた提供される。該方法は、場合によっては、0~24時間、1~7日、1~52週、1~24か月、1~30年またはその中のいずれかの範囲若しくは値あたりに、細胞、組織、器官若しくは動物1キログラムあたり0.001~50mgの有効量を使用することをさらに含み得る。該方法は、場合によっては、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、動脈内、気管支内、腹腔内(intraabdominal)、関節包内、軟骨内、洞内、腹腔内(intracelial)、小脳内、脳室内、結腸内、頸管内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内(intraperitoneal)、胸膜腔内、前立腺内、肺内、直腸内、腎内、網膜内、髄腔内、滑液嚢内、胸腔内、子宮内、膀胱内、ポラス、膣、直腸、頬側、舌下、鼻内若しくは経皮から選択される最低1様式により接触若しくは投与することを使用することをさらに含み得る。該方法は、検出可能な標識若しくはレポーター、抗感染症薬、糖尿病若しくはインスリン代謝に関連する薬物、心血管(CV)系薬、中枢神経系(CNS)薬、自律神経系(ANS)薬、気道薬、胃腸(GI)管薬、ホルモン薬、液体若しくは電解質バランスのための薬物、血液製剤、抗腫瘍薬、免疫調節薬、眼、耳若しくは鼻の薬物、局所薬、栄養薬、TNFアンタゴニスト、抗リウマチ薬、筋弛緩薬、麻薬、非ステロイド性抗炎症薬(NSAID)、鎮痛薬、麻酔薬、鎮静薬、局所麻酔薬、神経筋遮断薬、抗菌薬、抗乾癬薬、コルチコステロイド、蛋白同化ステロイド、エリスロポエチン、免疫化、免疫グロブリン、免疫抑制薬、成長ホルモン、ホルモン補充薬、放射性医薬品、抗うつ薬、抗精神病薬、興奮剤、喘息薬、アゴニスト、吸入ステロイド、エピネフリン若しくはアナログ、サイトカイン若しくはサイトカインアンタゴニストの最低1種から選択される最低1種の化合物若しくはタンパク質の有効量を含んでなる最低1種の組成物を、(a)の接触若しくは投与することの前、同時に若しくは後に投与することを場合によってはさらに含み得る。

10

20

30

【0031】

本発明の最低1種の単離されたヒトGLP-1ミメティポディを含んでなる医療機器もまた提供され、該装置は、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、動脈内、気管支内、腹腔内(intraabdominal)、関節包内、軟骨内、洞内、腹腔内(intracelial)、小脳内、脳室内、結腸内、頸管内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内、胸膜腔内、前立腺内、肺内、直腸内、腎内、網膜内、髄腔内、滑液嚢内、胸腔内、子宮内、膀胱内、ポラス、膣、直腸、頬側、舌下、鼻内若しくは経皮から選択される最低1様式により最低1種のGLP-1ミメティポディを接触若しくは投与するのに適する。

40

【0032】

包装資材、および溶液若しくは凍結乾燥された形態の本発明の最低1種の単離されたヒトGLP-1ミメティポディを含んでなる容器を含んでなる、ヒトの製薬学的若しくは診断的使用のための製品もまた提供される。該製品は、場合によっては、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、動脈内、気管支内、腹腔内(intraabdominal)、関節包内、軟骨内、洞内、腹腔内(intracelial)、小脳内、脳室内、結腸内、頸管内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内(intraperitoneal)、胸膜腔内、前立腺内、肺内、直腸内、腎内、網膜内、髄腔内、滑液嚢内、胸腔内、子宮内、膀胱内、ポラス、膣、直腸、頬側、舌下、鼻内若しくは経皮送達装置若しくは系の一成分として該容器を有することを含み得る。

50

【0033】

本発明はさらに、本明細書に記述されるいかなる発明も提供する。

【0034】

[発明の詳細な記述]

本発明は、単離された、組換えのかつ／若しくは合成のミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーション、ならびに最低1種のGLP-1ミメティボディをコードする最低1種のポリヌクレオチドを含んでなる組成物およびコードする核酸分子を提供する。本発明のこうしたミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションは、特定のGLP-1ミメティボディ配列、それらのドメイン、フラグメントおよび指定されたバリエーション、ならびに、治療的組成物、方法および装置を包含する、前記核酸およびミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションの作成および使用方法を含んでなる。

10

【0035】

本発明はまた、本明細書に記述されかつ／若しくは当該技術分野で既知のところの最低1種の単離されたGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションも提供する。GLP-1ミメティボディは、場合によっては、最低1種のGLP-1治療的ペプチド(P)に直接結合されている任意のリンカー配列(L)と直接結合されている最低1種の部分的可変領域(V)と直接結合されている最低1種のヒンジ領域若しくはそのフラグメント(H)と直接結合されている最低1種のCH2領域と直接結合されている最低1種のCH3領域を含み得る。

【0036】

好ましい一態様において、GLP-1ミメティボディは、限定されるものでないがIgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgM、IgD、IgE若しくはそれらのいずれかのサブクラスなどを挙げることができる多様なタイプの免疫グロブリン分子を模倣する、式(I)：

20

$((P(n) - L(o) - V(p) - H(q) - CH_2(r) - CH_3(s)) (t))$ 、
またはそれらのいずれかの組合せを含んでなり、式中、Pは最低1種の生物活性GLP-1ポリペプチドであり、Lは、該ミメティボディが代替の方向および結合特性を有することを可能にすることにより構造の柔軟性を提供するポリペプチドであり得る最低1種のリンカー配列であり、Vは免疫グロブリン可変領域のC末端の少なくとも一部分であり、Hは免疫グロブリン可変ヒンジ領域の少なくとも一部分であり、CH2は免疫グロブリンCH2定常領域の少なくとも一部分であり、CH3は免疫グロブリンCH3定常領域の少なくとも一部分であり、m、n、o、p、q、r、sおよびtは独立に0と10の間かつそれらを包含する整数であり得る。

30

【0037】

従って、本発明のGLP-1ミメティボディは、治療的ペプチドおよびその固有の若しくは獲得された*in vitro*、*in vivo*若しくは*in situ*の特性若しくは活性を提供しつつその固有の特性および機能を伴う抗体構造を模倣する。t=1の好ましい一態様において、単量体CH3-CH2-ヒンジ-部分的J配列-リンカー-治療的ペプチドは、会合、若しくは限定されるものでないがCys-Cysジスルフィド結合を挙げることができる共有結合により他の単量体に連結され得る。抗体の多様な部分および本発明の最低1種のGLP-1ミメティボディのGLP-1治療的ペプチド部分は、当該技術分野で既知であるものとともに本明細書に記述されるとおり変動し得る。

40

【0038】

CH3-CH2-ヒンジの部分は、本発明により広範囲に修飾されてバリエーションを形成しうるが、但し、救済受容体への結合が維持される。こうしたバリエーションでは、本発明の融合分子により必要とされない構造上の特徴若しくは機能的活性を提供する1個若しくはそれ以上の天然の部位を除去しうる。例えば、残基を置換若しくは欠失すること、部位に残基を挿入すること、または該部位を含有する部分を切断することによりこれらの部位を除去しうる。挿入若しくは置換された残基は、ペプチド模倣物若しくはD-アミノ酸のような変えられたアミノ酸でもまたありうる。CH3-CH2-ヒンジの1バリエーションは、(1)ジスルフィド結合形成、(2)選択された宿主細胞との不適合性、(3)選択され

50

、低級アルキル（例えばC₁ - C₆）低級アシル、ハロゲン（例えばCl、Br）、CN、NH₂、フェニルなどのような、いかなる立体障害のない基によってもさらに置換されうる。例示的-非ペプチドリナーは、100ないし5000kD、好ましくは100ないし500kDの分子量を有するPEGリンカーである。ペプチドリナーは、上述されたと同一の様式で誘導体を形成するように変えてもよい。

【0042】

本明細書で使用される「GLP-1ペプチド」または「GLP-1ペプチド、バリエーション若しくは誘導体」は、最低1種のGLP-1ペプチド、GLP-1フラグメント、GLP-1ホモログ、GLP-1アナログ若しくはGLP-1誘導体であり得る。GLP-1ペプチドは、それらが膵の細胞のGLP-1受容体に結合することによりインスリン分泌活性を表すような、天然のGLP-1（7-37）に対する十分な相同性を有する約25から約45個までの天然に存在するか若しくは天然に存在しないアミノ酸を有する。GLP-1（7-37）は、配列番号15：

H i s - A l a - G l u - G l y - T h r - P h e - T h r - S e r - A s p - V a l -
S e r - S e r - T y r - L e u - G l u - G l y - G l n - A l a - A l a - L y s -
G l u - P h e - I l e - A l a - T r p - L e u - V a l - L y s - G l y - A r g -
G l y

のアミノ酸配列を有する。

【0043】

GLP-1フラグメントは、GLP-1（7-37）またはそのアナログ若しくは誘導体のN末端および/若しくはC末端からの1個若しくはそれ以上のアミノ酸の切断後に得られるポリペプチドである。GLP-1ホモログは、1個若しくはそれ以上のアミノ酸がGLP-1（7-37）またはそのフラグメント若しくはアナログのN末端および/若しくはC末端に付加されたペプチドである。GLP-1アナログは、GLP-1（7-37）の1個若しくはそれ以上のアミノ酸が修飾かつ/若しくは置換されているペプチドである。GLP-1アナログは、GLP-1（7-37）若しくは該アナログがインスリン分泌活性を有するようなGLP-1（7-37）のフラグメントに対する十分な相同性を有する。GLP-1誘導体は、GLP-1ペプチド、GLP-1ホモログ若しくはGLP-1アナログのアミノ酸配列を有するが、しかしそのアミノ酸側基、-炭素原子、末端アミノ基若しくは末端カルボン酸基の1個若しくはそれ以上の化学修飾を付加的に有する分子と定義される。

【0044】

多数の活性のGLP-1フラグメント、アナログおよび誘導体が当該技術分野で既知であり、そして、これらのアナログおよび誘導体のいずれもまた本発明のGLP-1ミメティボディの一部であり得る。当該技術分野で既知の数種のGLP-1アナログおよびGLP-1フラグメントは、米国特許第5,118,666号、同第5,977,071号および同第5,545,618号明細書、ならびにAdelhorstら、J. Biol. Chem., 269:6275(1994)に開示されている。例は、限定されるものでないがGLP-1（7-34）、GLP-1（7-35）、GLP-1（7-36）、Gln⁹-GLP-1（7-37）、D-Gln⁹-GLP-1（7-37）、Thr¹⁶-Lys¹⁸-GLP-1（7-37）およびLys¹⁸-GLP-1（7-37）を挙げることができる。

【0045】

「GLP-1ミメティボディ」、「GLP-1ミメティボディ部分」若しくは「GLP-1ミメティボディフラグメント」および/または「GLP-1ミメティボディバリエーション」などは、限定されるものでないが配列番号1の最低1種を挙げることができる最低1種のGLP-1ペプチド、バリエーション若しくは誘導体の限定されるものでないが*in vitro*、*in situ* および/若しくは好ましくは*in vivo*のリガンド結合を挙げることができる最低1種の生物学的活性を有するか、模倣するか若しくは刺激する。例えば、適するGLP-1ミメティボディ、指定された部分若しくはバリエーションはまた

、最低1種のGLP-1受容体のシグナル伝達または他の測定可能若しくは検出可能な活性も調節、増大、修飾、活性化し得る。

【0046】

本発明の方法および組成物で有用なGLP-1ミメティポディは、タンパク質リガンド、例えばGLP-1受容体に結合する適する親和性、および場合によってはかつ好ましくは低毒性を有することを特徴とする。とりわけ、可変領域、定常領域（CH1部分を含まない）および枠組みの部分、またはそのいずれかの部分（例えば可変H若しくはL鎖のJ、D若しくはV領域の一部；最低1種のヒンジ領域、定常H鎖若しくはL鎖の少なくとも一部分など）のような個々の成分が個別にかつ/若しくは集的に場合によってはかつ好ましくは低免疫原性を有するGLP-1ミメティポディが、本発明で有用である。本発明で使用し得るミメティポディは、症状の良好ないし優れた緩和および低毒性を伴い長期間患者を処置するそれらの能力を場合によっては特徴とする。低免疫原性および/若しくは高親和性、ならびに他の定義されない特性が、達成される治療成績に貢献しうる。「低免疫原性」は、処置される患者の約75%未満、または好ましくは約50、45、40、35、30、35、20、15、10、9、8、7、6、5、4、3、2および/若しくは1%未満で有意のHAMA、HACA若しくはHAAH A応答を生じさせること、ならびに/あるいは処置される患者で低力価（二重抗原エンザイムイムノアッセイで測定される約300未満、好ましくは100未満）を生じさせることと本明細書で定義する（例えばElliotら、Lancet 344:1125-1127(1994)を参照されたい）。

10

20

【0047】

利用性。本発明の単離された核酸は、限定されるものでないが糖尿病関連障害、インスリン代謝関連障害、免疫障害若しくは疾患、心血管障害若しくは疾患、感染性、悪性および/若しくは神経学的障害若しくは疾患、ならびに他の既知の若しくは指定されたタンパク質に関連した状態の最低1種から選択される最低1種のタンパク質に関連した状態を調節、処置、緩和する、その発生を予防するのを助ける、若しくはその症状を低下させることを細胞、組織、器官若しくは動物（哺乳動物およびヒトを包含する）で遂げるために使用し得る、最低1種のGLP-1ミメティポディ、そのフラグメント若しくは指定されたバリエーションの製造に使用し得る。

30

【0048】

こうした方法は、症状、効果若しくは機構のこうした調節、処置、緩和、予防若しくは低下の必要な細胞、組織、器官、動物若しくは患者に最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションを含んでなる組成物若しくは製薬学的組成物の有効量を投与することを含み得る。有効量は、本明細書に記述されるか若しくは関連技術で既知のところの既知の方法を使用して行われかつ決定されるとおり、単一若しくは複数投与あたり約0.0001ないし500mg/kgの、あるいは単一若しくは複数投与あたり0.01~5000μg/ml血清濃度またはその中のいずれかの有効範囲若しくは値の血清濃度を達成するための量を含み得る。

【0049】

引用。本明細書で引用される全部の刊行物若しくは特許は、それらが本発明の時点での従来技術を示すために、かつ/若しくは本発明の記述および使用可能性を提供するために、引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる。刊行物は、いかなる学術的若しくは特許刊行物、または全部の録音・録画、電子若しくは印刷形式を包含するいずれかの媒体形式で利用可能ないかなる他の情報も指す。以下の参考文献は引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる：Ausubelら編、*Current Protocols in Molecular Biology*、John Wiley & Sons, Inc.、ニューヨーク州ニューヨーク(1987-2003)；Sambrookら、*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*、第2版、ニューヨーク州コールドスプリングハーバー(1989)；HarlowとLane、*Antibodies, a Laboratory Manual*

40

50

1、ニューヨーク州コールドスプリングハーバー(1989); Colliganら編、*Current Protocols in Immunology*、John Wiley & Sons, Inc.、ニューヨーク(1994-2003); Colliganら、*Current Protocols in Protein Science*、John Wiley & Sons、ニューヨーク州ニューヨーク(1997-2003)。

【0050】

本発明のミメティボディ。GLP-1ミメティボディは、場合によっては、最低1種のGLP-1治療的ペプチド(P)に直接結合されている任意のリンカー配列(L)と直接結合されている最低1種の部分的可変領域(V)と直接結合されている最低1種のヒンジ領域を含んでなるような最低1種のヒンジ領域フラグメントの少なくとも一部分(H)と直接結合されている最低1種のCH₂領域と直接結合されている最低1種のCH₃領域を含み得る。好ましい一態様において、一对のCH₃-CH₂-H-V-L-Pは、会合、若しくは限定されるものでないがCys-Cysジスルフィド結合を挙げることができる共有結合により連結され得る。従って、本発明のGLP-1ミメティボディは、治療的ペプチドおよびその固有の若しくは獲得された*in vitro*、*in vivo*若しくは*in situ*の特性若しくは活性を提供しつつその固有の特性および機能を伴う抗体構造を模倣する。抗体の多様な部分および本発明の最低1種のGLP-1ミメティボディの治療的ペプチド部分は、当該技術分野で既知であるものとともに本明細書に記述されるとおり変動し得る。

10

20

【0051】

本発明のミメティボディは、従って、限定されるものでないが、延長された半減期、増大された活性、より特異的な活性、増大された親和性、増大若しくは減少されたオフ率(off rate)、活性の選択された若しくはより適するサブセット、より小さい免疫原性、最低1種の所望の治療効果の増大された質若しくは持続期間、より少ない副作用などの最低1種を挙げることができる、既知のタンパク質と比較して最低1種の適する特性を提供する。

【0052】

式(I)のミメティボディのフラグメントは、当該技術分野で既知かつ/若しくは本明細書に記述されるところの酵素的切断、合成若しくは組換え技術により製造し得る。ミメティボディはまた、1個若しくはそれ以上の終止コドンが天然の終止部位の上流に導入された抗体遺伝子を使用して、多様な切断型でも製造し得る。ミメティボディの多様な部分を慣習的技術により化学的に一緒に結合し得るか、若しくは遺伝子工学技術を使用して連続したタンパク質として製造し得る。例えば、ヒト抗体鎖の定常領域の少なくとも1つをコードする核酸を発現させて、本発明のミメティボディでの使用のための連続したタンパク質を製造し得る。例えば、一本鎖抗体に関して、Ladnerら、米国特許第4,946,778号明細書およびBird, R.E.ら、*Science*、242:423-426(1988)を参照されたい。

30

【0053】

本明細書で使用されるところの「ヒトミメティボディ」という用語は、該タンパク質の実質的にすべての部分(例えば、GLP-1ペプチド、C_Hドメイン(例えばC_H2、C_H3)、ヒンジ、V)が、ただ小さな配列の変化若しくは変動を伴いヒトで実質的に非免疫原性であることが期待される抗体を指す。こうした変化若しくは変動は、場合によってはかつ好ましくは、改変されないヒト抗体若しくは本発明のミメティボディに関してヒトでの免疫原性を保持若しくは低下する。従って、本発明のヒト抗体および対応するGLP-1ミメティボディはキメラ若しくはヒト化抗体と異なる。GLP-1ミメティボディを、ヒト免疫グロブリン(例えばH鎖および/若しくはL鎖)遺伝子を発現することが可能であるヒト以外の動物若しくは細胞により産生させ得ることが指摘される。

40

【0054】

それらの最低1種のタンパク質リガンドに特異的であるヒトミメティボディを、単離さ

50

れた G L P - 1 受容体若しくは（合成ペプチドのような合成分子を包含する）その一部分のような適切なリガンドに対し設計し得る。こうしたミメティボディの製造は、最低 1 種のタンパク質若しくはその部分のリガンド結合領域若しくは配列を同定かつ特徴付けするための既知技術を使用して実施する。

【 0 0 5 5 】

好ましい一態様において、本発明の最低 1 種の G L P - 1 ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションは、最低 1 種の細胞株、混合細胞株、不死化細胞、または不死化かつ若しくは培養細胞のクローン集団により産生される。不死化タンパク質産生細胞は適する方法を使用して製造し得る。好ましくは、最低 1 種の G L P - 1 ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションは、機能的に再配列されているか若しくは機能的再配列を受け得、かつ、限定されるものでないが、当該技術分野で既知のところの式（ I ） [式中、 C 末端可変領域の部分を V に、ヒンジ領域を H に、 C H 2 を C H 2 におよび C H 3 を C H 3 に使用し得る] を挙げることができる本明細書に記述されるところのミメティボディ構造をさらに含んでなる最低 1 種のヒト免疫グロブリン遺伝子座由来の若しくはそれに実質的に類似の配列を有する D N A を含んでなる核酸若しくはベクターを提供することにより生成される。

10

【 0 0 5 6 】

本明細書で使用されるところの「機能的に再配列される」という用語は、 V (D) J 組換えを受けておりそれにより一免疫グロブリン鎖（例えば H 鎖）若しくはそのいずれかの部分をコードする免疫グロブリン遺伝子を生じさせる、免疫グロブリン遺伝子座からの核酸のセグメントを指す。機能的に再配列された免疫グロブリン遺伝子は、例えば、ヌクレオチド配列決定、遺伝子セグメント間のコーディング接合部にアニーリングし得るプローブを使用するハイブリダイゼーション（例えばサザンブロッティング、ノーザンブロッティング）、若しくは遺伝子セグメント間のコーディング接合部にアニーリングし得るプライマーを用いる免疫グロブリン遺伝子の酵素的増幅（例えばポリメラーゼ連鎖反応）のような適する方法を使用して、直接若しくは間接的に同定し得る。特定の可変領域、若しくは特定の配列（例えば最低 1 種の P 配列）を含んでなる可変領域を含んでなる G L P - 1 ミメティボディまたは部分若しくはバリエーションを細胞が産生するかどうかもまた、適する方法を使用して決定し得る。

20

【 0 0 5 7 】

本発明のミメティボディ、指定された部分およびバリエーションは、それらの乳中でこうしたミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションを産生するヤギ、ウシ、ウマ、ヒツジなどのようなトランスジェニック動物若しくは哺乳動物を提供するように、最低 1 種の G L P - 1 ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションをコードする核酸を使用してもまた製造し得る。こうした動物は、抗体をコードする配列に適用されるところの既知の方法を使用して提供され得る。例えば、限定されるものでないが米国特許第 5, 8 2 7, 6 9 0 号；同第 5, 8 4 9, 9 9 2 号；同第 4, 8 7 3, 3 1 6 号；同第 5, 8 4 9, 9 9 2 号；同第 5, 9 9 4, 6 1 6 号；同第 5, 5 6 5, 3 6 2 号；同第 5, 3 0 4, 4 8 9 号明細書など（それらのそれぞれは引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる）を参照されたい。

30

40

【 0 0 5 8 】

本発明のミメティボディ、指定された部分およびバリエーションは、植物部分若しくはそれらから培養された細胞中でこうしたミメティボディ、指定された部分若しくはバリエーションを産生するトランスジェニック植物および培養植物細胞（限定されるものでないがタバコおよびトウモロコシを挙げることができる）を提供するように、最低 1 種の G L P - 1 ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションをコードする核酸を使用して付加的に製造し得る。制限しない一例として、組換えタンパク質を発現するトランスジェニックタバコ葉が、例えば誘導可能なプロモーターを使用して、大量の組換えタンパク質を提供するのに成功裏に使用されている。例えば、Cramerら、Curr. Top. Microbiol. Immunol. 240: 95 - 118 (1999) およびその中に引用

50

される参考文献を参照されたい。また、トランスジェニックトウモロコシ (maize) すなわちトウモロコシ (corn) が、他の組換え系で産生若しくは天然の供給源から精製されたものに同等な生物学的活性を伴い、商業生産レベルで哺乳動物タンパク質を発現させるのに使用されている。例えば、Hoodら、Adv. Exp. Med. Biol. 464: 127-147 (1999) およびその中に引用される参考文献を参照されたい。一本鎖ミメティポディ (scFv) のような抗体フラグメントを包含する抗体は、タバコ種子およびパレイショ塊茎を包含するトランスジェニック植物種子からもまた大量に産生されている。例えば、Conradら、Plant Mol. Biol. 38: 101-109 (1998) およびその中に引用される参考文献を参照されたい。従って、本発明のミメティポディ、指定された部分およびバリエーションはまた、既知の方法に従ってトランスジェニック植物を使用しても産生させ得る。例えば、Fischerら、Biotechnol. Appl. Biochem. 30: 99-108 (Oct, 1999)、Maら、Trends Biotechnol. 13: 522-7 (1995); Maら、Plant Physiol. 109: 341-6 (1995); Whitelamら、Biochem. Soc. Trans. 22: 940-944 (1994); およびそれらの中で引用される参考文献もまた参照されたい。上の参考文献は、引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる。

10

【0059】

本発明のミメティポディは広範な親和性 (K_D) でヒトタンパク質リガンドを結合し得る。好ましい一態様において、本発明の最低1種のヒトGLP-1ミメティポディは、場合によっては最低1種のタンパク質リガンドを高親和性で結合し得る。例えば、本発明の最低1種のGLP-1ミメティポディは、約 10^{-7} M に等しいか若しくはそれ未満の K_D 、あるいはより好ましくは約 $0.1 \sim 9.9$ (またはその中のいずれかの範囲若しくは値) $\times 10^{-7}$ 、 10^{-8} 、 10^{-9} 、 10^{-10} 、 10^{-11} 、 10^{-12} 若しくは 10^{-13} M に等しいか若しくはそれ未満の K_D 、またはその中のいずれかの範囲若しくは値で最低1種のタンパク質リガンドを結合し得る。

20

【0060】

最低1種のタンパク質リガンドに対するGLP-1ミメティポディの親和性 (affinity) すなわち親和性 (avidity) は、例えば抗体-抗原結合の親和性 (affinity) すなわち親和性 (avidity) を測定するのに使用されるところのいずれかの適する方法を使用して実験的に測定し得る。(例えば、Fundamental Immunology、Paul, W. E. 編、Raven Press: ニューヨーク州ニューヨーク (1984) 中、Berzofskyら、"Antibody-Antigen Interactions,"; Kubly, Janis Immunology、W. H. Freeman and Company: ニューヨーク州ニューヨーク (1992); およびその中に記述される方法を参照されたい)。特定のGLP-1ミメティポディとリガンドの相互作用の測定される親和性は、異なる条件 (例えば塩濃度、pH) 下で測定される場合に変動し得る。従って、親和性および他のリガンド結合パラメータ (例えば K_D 、 K_a 、 K_d) の測定は、好ましくは、GLP-1ミメティポディおよびリガンドの標準化された溶液、ならびに本明細書に記述されるか若しくは当該技術分野で既知の緩衝液のような標準化された緩衝液を用いて行う。

30

40

【0061】

核酸分子。指定されたフラグメント、バリエーション若しくはそれらのコンセンサス配列をさらに含んでなる、配列番号1および6の少なくとも一方、ならびに抗体の少なくとも一部分の連続するアミノ酸の最低90~100%をコードするヌクレオチド配列 (上の配列は本発明のGLP-1ミメティポディを提供するために式(I)のP配列として挿入される) のような本明細書に提供される情報、またはこれらの配列の最低1種を含んでなる寄託されたベクターを使用して、最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションをコードする本発明の核酸分子を、本明細書に記述されるか若しくは当該技術分野で既知のところの方法を使用して得ることができる。

50

【0062】

本発明の核酸分子は、mRNA、hnRNA、tRNA若しくはいずれかの他の形態のようなRNAの形態、または、限定されるものでないがクローニングにより得られたか若しくは合成で製造されたcDNAおよびゲノムDNAを挙げることができるDNAの形態、あるいはそれらのいずれかの組合せであり得る。DNAは三本鎖、二本鎖若しくは一本鎖、またはそれらのいずれかの組合せであり得る。DNA若しくはRNAの最低1本の鎖のいずれの部分も、センス鎖としてもまた知られるコーディング鎖であり得るか、または、それは、アンチセンス鎖ともまた称される非コーディング鎖であり得る。

【0063】

本発明の単離された核酸分子は、場合によっては1個若しくはそれ以上のイントロンを含むオープンリーディングフレーム(ORF)を含んでなる核酸分子、GLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションのコーディング配列を含んでなる核酸分子；および、上述されたものと実質的に異なるヌクレオチド配列を含んでなるがしかし遺伝暗号の縮重により本明細書に記述されかつ/若しくは当該技術分野で既知のところの最低1種のGLP-1ミメティポディをなおコードする核酸分子を包含し得る。もちろん遺伝暗号は当該技術分野で公知である。従って、本発明の特定のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションをコードするこうした縮重核酸バリエーションを生成させることは当業者に慣例であろう。例えばAusubelら、上記を参照されたく、そして、こうした核酸バリエーションは本発明に包含される。

【0064】

本明細書に示されるとおり、GLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションをコードする核酸を含んでなる本発明の核酸分子は、限定されるものでないが、GLP-1ミメティポディフラグメントのアミノ酸配列を独力でコードするもの；GLP-1ミメティポディ全体若しくはその一部分のコーディング配列；GLP-1ミメティポディ、フラグメント若しくは部分のコーディング配列、ならびに最低1種のシグナルリーダー、または、限定されるものでないが、転写、スプライシングおよびポリアデニル化シグナルを包含するmRNAプロセッシングにおいてある役割(例えば-mRNAのリボソーム結合および安定性)を演じる転写され翻訳されない配列のような非コーディング5'および3'配列を挙げることができる付加的な非コーディング配列と一緒にした最低1種のイントロンのような前述の付加的なコーディング配列を伴う若しくは伴わない融合ペプチドのコーディング配列のような付加的な配列；付加的な機能性を提供するもののような付加的なアミノ酸をコードする付加的なコーディング配列を挙げることができる。従って、GLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションをコードする配列は、融合されたGLP-1ミメティポディ、またはGLP-1ミメティポディフラグメント若しくは部分を含んでなる指定された部分若しくはバリエーションの精製を容易にするペプチドをコードする配列のようなマーカー配列に融合させ得る。

【0065】

本明細書に記述されるところのポリヌクレオチドに選択的にハイブリダイズするポリヌクレオチド。本発明は、本明細書に開示されるポリヌクレオチド、またはその指定されたバリエーション若しくは部分を含む本明細書に開示される他者に選択的にハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズする、単離された核酸を提供する。従って、本態様のポリヌクレオチドは、こうしたポリヌクレオチドを含んでなる核酸を単離、検出かつ/若しくは定量するために使用し得る。

【0066】

低若しくは中程度の緊縮性のハイブリダイゼーション条件は、典型的に、しかし独占的にでなく、相補配列に関して低下された配列の同一性を有する配列とともに使用される。中程度および高緊縮性の条件は、場合によってはより大きな同一性の配列に使用し得る。低緊縮性条件は、約40~99%の配列の同一性を有する配列の選択的にハイブリダイゼーションを可能にし、そして、オルソログ若しくはパラログ配列を同定するのに使用し得る。

10

20

30

40

50

【0067】

場合によっては、本発明のポリヌクレオチドは、本明細書に記述されるポリヌクレオチドによりコードされるGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションの少なくとも一部分をコードすることができる。本発明のポリヌクレオチドは、本発明のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションをコードするポリヌクレオチドへの選択的ハイブリダイゼーションに使用し得る核酸配列を包含する。例えばAusubel、上記；Colligan、上記（それぞれそっくりそのまま引用することより本明細書に組み込まれる）を参照されたい。

【0068】

核酸の構築。本発明の単離された核酸は、当該技術分野で公知のところの（a）組換え法、（b）合成技術、（c）精製技術、若しくはそれらの組合せを使用して作成し得る。

【0069】

核酸は、便宜的に、本発明のポリヌクレオチドに加えて配列を含み得る。例えば、1個若しくはそれ以上のエンドヌクレアーゼ制限部位を含んでなるマルチクローニング部位を、ポリヌクレオチドの単離で補助するために核酸に挿入し得る。また、翻訳可能な配列を、本発明の翻訳されたポリヌクレオチドの単離で補助するために挿入し得る。例えば、ヘキサヒスチジンマーカ配列は、本発明のタンパク質を精製するための便宜的手段を提供する。本発明の核酸（コーディング配列を除外する）は、場合によっては、本発明のポリヌクレオチドのクローニングおよび/若しくは発現のためのベクター、アダプター若しくはリンカーである。

【0070】

付加的な配列を、クローニングおよび/若しくは発現においてそれらの機能を最適化するため、ポリヌクレオチドの単離で補助するため、または細胞中へのポリヌクレオチドの導入を向上させるために、こうしたクローニングおよび/若しくは発現配列に付加し得る。クローニングベクター、発現ベクター、アダプターおよびリンカーの使用は当該技術分野で公知である。例えばAusubel、上記；若しくはSambrook、上記を参照されたい。

【0071】

核酸の組換え構築方法。RNA、cDNA、ゲノムDNA若しくはそれらのいずれかの組合せのような本発明の単離された核酸組成物は、当業者に既知のいずれかの数のクローニングの方法論を使用して生物学的供給源から得ることができる。いくつかの態様において、適する緊縮性の条件下で本発明のポリヌクレオチドに選択的にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドプローブを使用して、cDNA若しくはゲノムDNAライブラリー中の所望の配列を同定する。RNAの単離ならびにcDNAおよびゲノムライブラリーの構築は当業者に公知である。（例えば、Ausubel、上記；若しくはSambrook、上記を参照されたい）。

【0072】

核酸の合成構築方法。本発明の単離された核酸は既知の方法による直接化学合成によってもまた製造し得る（例えばAusubelら、上記を参照されたい）。化学合成は、一般に一本鎖オリゴヌクレオチドを生じ、それを相補配列とのハイブリダイゼーションにより、若しくは鋳型として該一本鎖を使用するDNAポリメラーゼでの重合により二本鎖DNAに転化し得る。当業者は、DNAの化学合成は約100若しくはそれ以上の塩基の配列に制限され得る一方で、より長い配列をより短い配列の連結により得ることができることを認識するであろう。

【0073】

組換え発現カセット。本発明はさらに、本発明の核酸を含んでなる組換え発現カセットを提供する。本発明の核酸配列、例えば本発明のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションをコードするcDNA若しくはゲノム配列を使用して、最低1種の所望の宿主細胞に導入し得る組換え発現カセットを構築し得る。組換え発現カセットは、典型的には、意図される宿主細胞中でのポリヌクレオチドの転写を指図することが

10

20

30

40

50

できる転写開始制御配列に作動可能に連結されている本発明のポリヌクレオチドを含むことができる。異種および非異種（すなわち内因性）双方のプロモーターを、本発明の核酸の発現を指図するのに使用し得る。

【0074】

いくつかの態様において、プロモーター、エンハンサー若しくは他の要素としてはたらく単離された核酸を、本発明のポリヌクレオチドの発現を上方若しくは下方制御するように、非異種の形態の本発明のポリヌクレオチドの適切な位置（上流、下流若しくはイントロン中）に導入し得る。例えば、内因性プロモーターは、当該技術分野で既知のところの突然変異、欠失および/若しくは置換により *in vivo* 若しくは *in vitro* で変えることができる。本発明のポリヌクレオチドは、所望のとおりセンス若しくはアンチセンスいずれの向きでも発現させ得る。センス若しくはアンチセンスいずれかの向きでの遺伝子発現の制御が、観察可能な特徴に対する直接の影響を有し得ることが認識されるであろう。別の抑制方法はセンス抑制である。センスの向きに構成された核酸の導入は、標的遺伝子の転写を阻害するための有効な手段であることが示されている。

10

【0075】

ベクターおよび宿主細胞。本発明はまた、本発明の単離された核酸分子を包含するベクター、該組換えベクターで遺伝子的に工作されている宿主細胞、および当該技術分野で公知であるところの組換え技術による最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはパリアントの製造にも関する。例えば Sambrookら、上記； Ausubelら、上記（それぞれ引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる）を参照されたい。

20

【0076】

ポリヌクレオチドは、場合によっては、宿主中での増殖のための選択可能なマーカ含有ベクターに結合し得る。一般に、プラスミドベクターは、電気穿孔法などのような適する既知の方法を使用して細胞に導入され、他の既知の方法は、リン酸カルシウム沈殿のような沈殿物として、若しくは荷電した脂質との複合体中でのベクターの使用を包含する。ベクターがウイルスである場合、適切なパッケージング細胞株を使用してそれを *in vitro* でパッケージングし得、そしてその後宿主細胞中に形質導入し得る。

【0077】

DNA挿入物は適切なプロモーターに効果的に連結すべきである。発現構築物はさらに、場合によっては転写開始、終止の最低一方のための部位、および転写された領域中に翻訳のためのリボソーム結合部位を含有することができる。該構築物により発現される成熟転写物のコーディング部分は、好ましくは、翻訳されるべきmRNAのはじめの翻訳開始および終わりに適切に配置された終止コドン（例えばUAA、UGA若しくはUAG）を包含することができ、UAAおよびUAGが哺乳動物若しくは真核生物細胞発現に好ましい。

30

【0078】

発現ベクターは、好ましくは、しかし場合によっては、最低1種の選択可能なマーカ含有ベクターを包含することができる。こうしたマーカは、限定されるものでないが、真核生物細胞培養物のためのメトトレキサート（MTX）、ジヒドロ葉酸還元酵素（DHFR、米国特許第4,399,216号；同第4,634,665号；同第4,656,134号；同第4,956,288号；同第5,149,636号；同第5,179,017号明細書、アンピシリン、ネオマイシン（G418）、ミコフェノール酸若しくはグルタミン合成酵素（GS、米国特許第5,122,464号；同第5,770,359号；同第5,827,739号明細書）耐性、ならびに大腸菌（*E. coli*）および他の細菌若しくは原核生物中での培養のためのテトラサイクリン若しくはアンピシリン耐性遺伝子（上の特許はここに引用することによりそっくりそのまま組み込まれる）を挙げることができる。上述された宿主細胞に適切な培地および培養条件は当該技術分野で既知である。適するベクターは当業者に容易に明らかであろう。ベクター構築物の宿主細胞中への導入は、リン酸カルシウムトランスフェクション、DEAE-デキストラン媒介性トランスフェクショ

40

50

ン、陽イオン性脂質媒介性トランスフェクション、電気穿孔法、形質導入、感染若しくは他の既知の方法により遂げることができる。こうした方法は、Sambrook、上記、第1～4章および第16～18章；Ausubel、上記、第1、9、13、15、16章のような当該技術分野で記述されている。

【0079】

本発明の最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションは、融合タンパク質のような改変された形態で発現させ得、そして分泌シグナルのみならず、しかしまた付加的な異種機能的領域も包含し得る。例えば、付加的なアミノ酸、とりわけ荷電したアミノ酸の一領域を、宿主細胞中、精製の間、若しくはその後の取扱および貯蔵の間の安定性および難分解性を向上させるために、GLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションのN末端に付加し得る。また、精製を容易にするために、本発明のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションにペプチド部分を付加し得る。こうした領域は、GLP-1ミメティポディ若しくはその最低1種のフラグメントの最終調製前に除去し得る。こうした方法は、Sambrook、上記、第17.29～17.42章および第18.1～18.74章；Ausubel、上記、第16、17および18章のような多くの標準的実験室手引書に記述されている。

10

【0080】

当業者は、本発明のタンパク質をコードする核酸の発現に利用可能な多数の発現系を知っている。

【0081】

ミメティポディ、それらの指定された部分若しくはバリエーションの製造に有用な細胞培養物を具体的に説明するのは哺乳動物細胞である。哺乳動物細胞系は、しばしば細胞の単層の形態にあることができるとは言え、哺乳動物細胞懸濁液若しくはバイオリクターもまた使用し得る。無傷のグリコシル化されたタンパク質を発現することが可能な多数の適する宿主細胞株が当該技術分野で開発されており、そして、COS-1（例えばATCC CRL 1650）、COS-7（例えばATCC CRL-1651）、HEK293、BHK21（例えばATCC CRL-10）、CHO（例えばATCC CRL 1610、DG-44）およびBSC-1（例えばATCC CRL-26）細胞株、hepG2細胞、P3X63Ag8.653、SP2/0-Ag14、293細胞、HeLa細胞などを包含し、これらは例えばAmerican Type Culture Collection、バージニア州マナサスから容易に入手可能である。好ましい宿主細胞は骨髄腫およびリンパ腫細胞のようなリンパ系起源の細胞を包含する。とりわけ好ましい宿主細胞は、P3X63Ag8.653細胞（ATCC受託番号CRL-1580）およびSP2/0-Ag14細胞（ATCC受託番号CRL-1851）である。

20

30

【0082】

これらの細胞の発現ベクターは、限定されるものでないが、複製起点；プロモーター（例えば後期若しくは初期SV40プロモーター、CMVプロモーター（例えば米国特許第5,168,062号；同第5,385,839号明細書）、HSV tkプロモーター、pgk（ホスホグリセリン酸キナーゼ）プロモーター、EF-1プロモーター（例えば米国特許第5,266,491号明細書）、最低1種のヒト免疫グロブリンプロモーター；エンハンサー、および/若しくはリボソーム結合部位、RNAスプライス部位、ポリアデニル化部位（例えばSV40ラージT AgポリA付加部位）のようなプロセッシング情報部位、ならびに転写終止配列を挙げることができる発現制御配列の1種若しくはそれ以上を包含し得る。例えばAusubelら、上記；Sambrookら、上記を参照されたい。本発明の核酸若しくはタンパク質の製造に有用な他の細胞は、例えばAmerican Type Culture Collectionの細胞株およびハイブリドーマのカタログ（Catalogue of Cell Lines and Hybridomas）（www.atcc.org）または他の既知の若しくは商業的供給源から既知かつ/若しくは入手可能である。

40

【0083】

50

真核生物宿主細胞を使用する場合、ポリアデニル化若しくは転写終止配列が典型的にベクターに組み込まれる。終止配列の一例はウシ成長ホルモン遺伝子からのポリアデニル化配列である。転写物の正確なスプライシングのための配列もまた包含し得る。スプライシング配列の一例は、SV40からのVP1イントロン(Spragueら、J. Virol. 45:773-781(1983))である。加えて、宿主細胞中での複製を制御する遺伝子配列を、当該技術分野で既知のとおり、ベクターに組み込み得る。

【0084】

GLP-1ミメティポディまたはその指定された部分若しくはバリエーションの精製。GLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションは、限定されるものではないが、プロテインA精製、硫酸アンモニウム若しくはエタノール沈殿、酸抽出、陰イオン若しくは陽イオン交換クロマトグラフィー、ホスホセルロースクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィーおよびレクチンクロマトグラフィーを挙げることができる公知の方法により、組換え細胞培養物から回収かつ精製し得る。高速液体クロマトグラフィー(「HPLC」)もまた精製に使用し得る。例えば、Colligan、Current Protocols in Immunology、若しくはCurrent Protocols in Protein Science、John Wiley & Sons、ニューヨーク州ニューヨーク(1997-2003)、例えば第1、4、6、8、9、10章(それぞれ引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる)を参照されたい。

10

20

【0085】

本発明のミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションは、天然に精製される産物、化学合成手順の生成物、ならびに組換え技術により例えば酵母、高等植物、昆虫および哺乳動物細胞を包含する真核生物宿主から製造される生成物を包含する。組換え製造手順で使用される宿主に依存して、本発明のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションはグリコシル化され得るか、若しくはグリコシル化されないことができ、グリコシル化が好ましい。こうした方法は、Sambrook、上記、第17.37~17.42節; Ausubel、上記、第10、12、13、16、18および20章、Colligan、Protein Science、上記、第12~14章(全部は引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる)のような多くの標準的実験室手引書に記述されている。

30

【0086】

ミメティポディ、指定されたフラグメントおよび/若しくはバリエーション。本発明の単離されたミメティポディは、本明細書により完全に論考されるところの本発明のポリヌクレオチドのいずれか1種によりコードされるGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーション、あるいはいずれかの単離若しくは製造されたGLP-1ミメティポディまたはその指定された部分若しくはバリエーションを含んでなる。

【0087】

好ましくは、GLP-1ミメティポディまたはリガンド結合部分若しくはバリエーションは、最低1種のGLP-1タンパク質リガンドを結合し、そしてそれにより、対応するタンパク質若しくはそのフラグメントの最低1種のGLP-1の生物学的活性を提供する。多様な治療上若しくは診断上意義のあるタンパク質が当該技術分野で公知であり、また、こうしたタンパク質の適するアッセイ若しくは生物学的活性もまた当該技術分野で公知である。

40

【0088】

本発明に適するGLP-1ペプチド、バリエーションおよび誘導体の制限しない例は、配列番号1: His - Xaa2 - Xaa3 - Gly - Xaa5 - Xaa6 - Xaa7 - Xaa8 - Xaa9 - Xaa10 - Xaa11 - Xaa12 - Xaa13 - Xaa14 - Xaa15 - Xaa16 - Xaa17 - Xaa18 - Xaa19 - Xaa20 - Xaa21 - Phe - Xaa23 - Xaa24 - Xaa25 - Xaa26 - Xaa27 - Xaa28 - X

50

a a 2 9 - X a a 3 0 - X a a 3 1 (式 中 : X a a 2 は A l a 、 G l y 、 S e r 、 T h r
 、 L e u 、 I l e 、 V a l 、 G l u 、 A s p 若 し く は L y s で あり ; X a a 3 は G l u 、
 A s p 若 し く は L y s で あり ; X a a 5 は T h r 、 A l a 、 G l y 、 S e r 、 L e u 、 I
 l e 、 V a l 、 A r g 、 H i s 、 G l u 、 A s p 若 し く は L y s で あり ; X a a 6 は P h
 e 、 H i s 、 T r p 若 し く は T y r で あり ; X a a 7 は T h r 若 し く は A s n で あり ; X
 a a 8 は S e r 、 A l a 、 G l y 、 T h r 、 L e u 、 I l e 、 V a l 、 G l u 、 A s p 若
 し く は L y s で あり ; X a a 9 は A s p 若 し く は G l u で あり ; X a a 1 0 は V a l 、 A
 l a 、 G l y 、 S e r 、 T h r 、 L e u 、 I l e 、 M e t 、 T y r 、 T r p 、 H i s 、 P
 h e 、 G l u 、 A s p 若 し く は L y s で あり ; X a a 1 1 は S e r 、 V a l 、 A l a 、 G
 l y 、 T h r 、 L e u 、 I l e 、 G l u 、 A s p 若 し く は L y s で あり ; X a a 1 2 は S
 e r 、 V a l 、 A l a 、 G l y 、 T h r 、 L e u 、 I l e 、 G l u 、 A s p 若 し く は L y
 s で あり ; X a a 1 3 は T y r 、 P h e 、 T r p 、 G l u 、 A s p 若 し く は L y s で あり
 ; X a a 1 4 は L e u 、 A l a 、 M e t 、 G l y 、 S e r 、 T h r 、 L e u 、 I l e 、 V
 a l 、 G l u 、 A s p 若 し く は L y s で あり ; X a a 1 5 は G l u 、 A l a 、 T h r 、 S
 e r 、 G l y 、 G l n 、 A s p 若 し く は L y s で あり ; X a a 1 6 は G l y 、 A l a 、 S
 e r 、 T h r 、 L e u 、 I l e 、 V a l 、 G l n 、 A s n 、 A r g 、 C y s 、 G l u 、 A
 s p 若 し く は L y s で あり ; X a a 1 7 は G l n 、 A s n 、 A r g 、 H i s 、 G l u 、 A
 s p 若 し く は L y s で あり ; X a a 1 8 は A l a 、 G l y 、 S e r 、 T h r 、 L e u 、 I
 l e 、 V a l 、 A r g 、 G l u 、 A s p 若 し く は L y s で あり ; X a a 1 9 は A l a 、 G
 l y 、 S e r 、 T h r 、 L e u 、 I l e 、 V a l 、 M e t 、 G l u 、 A s p 若 し く は L y
 s で あり ; X a a 2 0 は L y s 、 A r g 、 H i s 、 G l n 、 T r p 、 T y r 、 P h e 、 G
 l u 若 し く は A s p で あり ; X a a 2 1 は G l u 、 L e u 、 A l a 、 H i s 、 P h e 、 T
 y r 、 T r p 、 A r g 、 G l n 、 T h r 、 S e r 、 G l y 、 A s p 若 し く は L y s で あり
 ; X a a 2 3 は I l e 、 A l a 、 V a l 、 L e u 若 し く は G l u で あり ; X a a 2 4 は A
 l a 、 G l y 、 S e r 、 T h r 、 L e u 、 I l e 、 V a l 、 H i s 、 G l u 、 A s p 若 し
 く は L y s で あり ; X a a 2 5 は T r p 、 P h e 、 T y r 、 G l u 、 A s p 若 し く は L y
 s で あり ; X a a 2 6 は L e u 、 G l y 、 A l a 、 S e r 、 T h r 、 I l e 、 V a l 、 G
 l u 、 A s p 若 し く は L y s で あり ; X a a 2 7 は V a l 、 L e u 、 G l y 、 A l a 、 S
 e r 、 T h r 、 I l e 、 A r g 、 G l u 、 A s p 若 し く は L y s で あり ; X a a 2 8 は L
 y s 、 A s n 、 A r g 、 H i s 、 G l u 若 し く は A s p で あり ; X a a 2 9 は G l y 、 A
 l a 、 S e r 、 T h r 、 L e u 、 I l e 、 V a l 、 A r g 、 T r p 、 T y r 、 P h e 、 P
 r o 、 H i s 、 G l u 、 A s p 若 し く は L y s で あり ; X a a 3 0 は A r g 、 H i s 、 T
 h r 、 S e r 、 T r p 、 T y r 、 P h e 、 G l u 、 A s p 若 し く は L y s で あり ; お よ び
 X a a 3 1 は G l y 、 A l a 、 S e r 、 T h r 、 L e u 、 I l e 、 V a l 、 A r g 、 T r
 p 、 T y r 、 P h e 、 H i s 、 G l u 、 A s p 、 L y s である) と して 現 れ る 。

【 0 0 8 9 】

G L P - 1 ペ プ チ ド 、 バ リ ア ン ト 若 し く は 誘 導 体 の 別 の 好 ま し い 群 は 、 配 列 番 号 6 : H
 i s - X a a 2 - X a a 3 - G l y - T h r - X a a 6 - X a a 7 - X a a 8 - X a a 9
 - X a a 1 0 - S e r - X a a 1 2 - T y r - X a a 1 4 - G l u - X a a 1 6 - X a a
 1 7 - X a a 1 8 - X a a 1 9 - L y s - X a a 2 1 - P h e - X a a 2 3 - A l a - T
 r p - L e u - X a a 2 7 - X a a 2 8 - G l y - X a a 3 0 (式 中 : X a a 2 は A l a
 、 G l y 若 し く は S e r で あり ; X a a 3 は G l u 若 し く は A s p で あり ; X a a 6 は P
 h e 若 し く は T y r で あり ; X a a 7 は T h r 若 し く は A s n で あり ; X a a 8 は S e r
 、 T h r 若 し く は A l a で あり ; X a a 9 は A s p 若 し く は G l u で あり ; X a a 1 0 は
 V a l 、 L e u 、 M e t 若 し く は I l e で あり ; X a a 1 2 は S e r 若 し く は L y s で あり
 ; X a a 1 4 は L e u 、 A l a 若 し く は M e t で あり ; X a a 1 6 は G l y 、 A l a 、
 G l u 若 し く は A s p で あり ; X a a 1 7 は G l n 若 し く は G l u で あり ; X a a 1 8 は
 A l a 若 し く は L y s で あり ; X a a 1 9 は A l a 、 V a l 、 I l e 、 L e u 若 し く は M
 e t で あり ; X a a 2 1 は G l u 若 し く は L e u で あり ; X a a 2 3 は I l e 、 A l a 、
 V a l 、 L e u 若 し く は G l u で あり ; X a a 2 7 は V a l 若 し く は L y s で あり ; X a

a 2 8 は L y s 若しくは A s n であり ; および X a a 3 0 は A r g 若しくは G l u である) に例示される。

【 0 0 9 0 】

これらのペプチドは、当該技術分野で開示されかつ / 若しくは既知の方法により製造し得る。該配列中の (および、 特定の場合に別の方法で明記されない限り本明細書を通じて) X a a は、 指定されたアミノ酸残基、 それらの誘導体若しくは改変されたアミノ酸を包含する。 酵素ジペプチジルペプチダーゼ I V (D P P - I V) が、 投与された G L P - 1 の観察される迅速な i n v i v o 不活性化の現存でありうるため、 ミメティボディの状況で D P P - I V の活性から保護される G L P - 1 ペプチド、 ホモログ、 アナログおよび誘導体が好ましい。

10

【 0 0 9 1 】

最低 1 種の G L P - 1 の生物学的活性を部分的に若しくは好ましくは実質的に提供する G L P - 1 ミメティボディまたはその指定された部分若しくはバリエーションは、 G L P - 1 リガンドを結合し得、 そしてそれにより、 G L P - 1 受容体のような最低 1 種のリガンドへの G L P - 1 の結合、 または他のタンパク質依存性若しくは媒介性の機構により別の方法で媒介される最低 1 種の活性を提供し得る。 本明細書で使用される「 G L P - 1 ミメティボディ活性」という用語は、 最低 1 種の G L P - 1 依存性の活性をアッセイに依存して約 2 0 ~ 1 0 , 0 0 0 %、 好ましくは最低約 6 0、 7 0、 8 0、 9 0、 9 1、 9 2、 9 3、 9 4、 9 5、 9 6、 9 7、 9 8、 9 9、 1 0 0、 1 1 0、 1 2 0、 1 3 0、 1 4 0、 1 5 0、 1 6 0、 1 7 0、 1 8 0、 1 9 0、 2 0 0、 2 5 0、 3 0 0、 3 5 0、 4 0 0、 4 5 0、 5 0 0、 5 5 0、 6 0 0、 7 0 0、 8 0 0、 9 0 0、 1 0 0 0、 2 0 0 0、 3 0 0 0、 4 0 0 0、 5 0 0 0、 6 0 0 0、 7 0 0 0、 8 0 0 0、 9 0 0 0 % 若しくはそれ以上調節し得るか若しくは引き起こし得る G L P - 1 ミメティボディを指す。

20

【 0 0 9 2 】

最低 1 種のタンパク質依存性の活性を提供する G L P - 1 ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションの能力は、 好ましくは、 本明細書に記述されかつ / 若しくは当該技術分野で既知のところの最低 1 種の適するタンパク質の生物学的アッセイにより評価される。 本発明のヒト G L P - 1 ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションは、 いずれかのクラス (I g G、 I g A、 I g M など) 若しくはアイソタイプに類似し得、 また、 若しくは L 鎖の少なくとも一部分を含み得る。 一態様において、 ヒト G L P - 1 ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションは、 アイソタイプ例えば I g G 1、 I g G 2、 I g G 3 若しくは I g G 4 の最低 1 種の I g G H 鎖可変フラグメント、 ヒンジ領域、 C H 2 および C H 3 を含んでなる。

30

【 0 0 9 3 】

本発明の最低 1 種の G L P - 1 ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションは、 最低 1 種のリガンド、 サブユニット、 フラグメント、 部分若しくはそれらのいずれかの組合せを結合する。 本発明の最低 1 種の G L P - 1 ミメティボディ、 指定された部分若しくはバリエーションの最低 1 種の G L P - 1 ペプチド、 バリエーション若しくは誘導体は、 リガンドの最低 1 種の指定されたエピトープを場合によっては結合し得る。 該結合エピトープは、 G L P - 1 受容体若しくはその部分のような、 タンパク質リガンドの配列の連続するアミノ酸の最低 1 ~ 3 アミノ酸ないし指定された部分全体の最低 1 種のアミノ酸配列のいかなる組合せも含み得る。

40

【 0 0 9 4 】

こうしたミメティボディは、 既知の技術を使用して G L P - 1 ミメティボディの式 (I) の多様な部分を一緒に結合することにより、 組換え D N A 技術の既知技術を使用して G L P - 1 ミメティボディをコードする最低 1 種の核酸分子を製造かつ発現することにより、 若しくは化学合成のようないずれかの他の適する方法を使用することにより製造し得る。

【 0 0 9 5 】

受容体のようなヒト G L P - 1 リガンドに結合しかつ規定された H 若しくは L 鎖可変領

50

域またはそれらの部分を含んでなるミメティボディは、ファージディスプレイ (Katsube, Y. ら、Int J Mol Med、1 (5) : 863 - 868 (1998)) のような適する方法、若しくは当該技術分野で既知のところのトランスジェニック動物を使用する方法を使用して製造し得る。GLP-1 ミメティボディ、指定された部分若しくはバリエーションは、適する宿主細胞中でコードする核酸若しくはその部分を使用して発現させ得る。

【0096】

本発明はまた、本明細書に記述されるアミノ酸配列と実質的に同一である配列中のアミノ酸を含んでなるミメティボディ、リガンド結合フラグメントおよび免疫グロブリン鎖にも関する。好ましくは、こうしたミメティボディ若しくはそのリガンド結合フラグメントは、高親和性 (例えば約 10^{-7} M 未満若しくはそれに等しい K_D) で受容体のようなヒト GLP-1 リガンドを結合し得る。本明細書に記述される配列と実質的に同一であるアミノ酸配列は、保存的アミノ酸置換ならびにアミノ酸の欠失および/若しくは挿入を含んでなる配列を包含する。保存的アミノ酸置換は、第一のアミノ酸の特性に類似である化学および/若しくは物理特性 (例えば電荷、構造、極性、疎水性/親水性) を有する第二のアミノ酸による第一のアミノ酸の置換を指す。保存的置換は、以下の群、すなわちリシン (K)、アルギニン (R) およびヒスチジン (H); アスパラギン酸 (D) およびグルタミン酸 (E); アスパラギン (N)、グルタミン (Q)、セリン (S)、トレオニン (T)、チロシン (Y)、K、R、H、D および E; アラニン (A)、バリン (V)、ロイシン (L)、イソロイシン (I)、プロリン (P)、フェニルアラニン (F)、トリプトファン (W)、メチオニン (M)、システイン (C) およびグリシン (G); F、W および Y; C、S および T 内の別のものによる 1 種のアミノ酸の置換を包含する。

10

20

【0097】

アミノ酸記号。本発明のミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションを構成するアミノ酸はしばしば略記される。アミノ酸の呼称は、当該技術分野で十分に理解されるところのその一文字記号、その三文字記号、名称、若しくは 3 ヌクレオチコドン (1 種若しくは複数) によりアミノ酸を呼称することにより示し得る (Alberts, B. ら、Molecular Biology of The Cell、第 3 版、Garland Publishing, Inc.、ニューヨーク、1994 を参照されたい)。

30

【0098】

一文字記号	三文字記号	名称	3 ヌクレオチコドン (1 種若しくは複数)
A	Ala	アラニン	GCA、GCC、GCG、GCU
C	Cys	システイン	UGC、UGU
D	Asp	アスパラギン酸	GAC、GAU
E	Glu	グルタミン酸	GAA、GAG
F	Phe	フェニルアラニン	UUC、UUU
G	Gly	グリシン	GGA、GGC、GGG、GGU
H	His	ヒスチジン	CAC、CAU
I	Ile	イソロイシン	AUA、AUC、AUU
K	Lys	リシン	AAA、AAG
L	Leu	ロイシン	UUA、UUG、CUA、CUC、CUG、CUU
M	Met	メチオニン	AUG
N	Asn	アスパラギン	AAC、AAU
P	Pro	プロリン	CCA、CCC、CCG、CCU
Q	Gln	グルタミン	CAA、CAG
R	Arg	アルギニン	AGA、AGG、CGA、CGC、CGG、CGU
S	Ser	セリン	AGC、AGU、UCA、UCC、

40

50

			U C G、U C U
T	T h r	トレオニン	A C A、A C C、A C G、A C U
V	V a l	バリン	G U A、G U C、G U G、G U U
W	T r p	トリプトファン	U G G
Y	T y r	チロシン	U A C、U A U

【0099】

本発明のGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションは、本明細書に明記されるところの天然の突然変異若しくは人的操作のいずれかからの1個若しくはそれ以上のアミノ酸置換、欠失若しくは付加を包含し得る。本発明で使用し得るこうした若しくは他の配列は、限定されるものでないが、抗体配列の部分的可変領域が、限定されるものでないが対応する配列番号1~9を伴い2004年6月24日出願かつ2005年1月20日公開のPCT公開第WO 05/05604号(第PCT US04/19898号)明細書の図1~9にさらに記述されるところの最低1個の置換、挿入若しくは欠失をさらに場合によっては含んでなる、配列番号47~55の最低1種の少なくとも一部分若しくは表1に記述されるところのそれらのフラグメントを挙げることができる、配列番号47~64の指定された部分に対応して示されるところの表1に提示される配列を挙げることができる。CH2、CH3およびヒンジ領域は、限定されるものでないが、対応する配列番号32~40を伴い2004年6月24日出願かつ2005年1月20日公開のPCT公開第WO 05/05604号(第PCT US04/19898号)明細書の図32~40にさらに記述されるところの最低1個の置換、挿入若しくは欠失をさらに場合によっては含んでなる、配列番号56~64の最低1種の少なくとも一部分若しくは表1に記述されるところのそれらのフラグメントを挙げることができる。もちろん、当業者が作成するとみられるアミノ酸置換の数は上述されたものを包含する多くの因子に依存する。一般的に言って、GLP-1ミメティボディの最低1種のアミノ酸置換、挿入若しくは欠失の数は、本明細書に明記されるところの1~30またはその中のいずれかの範囲若しくは値のような、40、30、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、1アミノ酸を超えないことができる。

10

20

【0100】

本発明の式I((P(n)-L(o)-V(p)-H(q)-CH2(r)-CH3(s))(t))において、式IのV、H、CH2、CH3部分は、例えば表1に提示されるところのいずれかの適するヒト若しくはヒト適合性の配列であり得、ここで、抗体配列の部分的可変領域は、限定されるものでないが、対応する配列番号1~9を伴い2004年6月24日出願かつ2005年1月20日公開のPCT公開第WO 05/05604号(第PCT US04/19898号)明細書の図1~9にさらに記述されるところの最低1個の置換、挿入若しくは欠失をさらに場合によっては含んでなる、配列番号47~55の最低1種の少なくとも一部分若しくは表1に記述されるところのそれらのフラグメントを挙げることができ；また、ここで、CH2、CH3およびヒンジ領域は、限定されるものでないが、対応する配列番号32~40を伴い2004年6月24日出願かつ2005年1月20日公開のPCT公開第WO 05/05604号(第PCT US04/19898号)明細書の図32~40にさらに記述されるところの、若しくは当該技術分野で既知のところの最低1個の置換、挿入若しくは欠失をさらに場合によっては含んでなる、配列番号56~64の最低1種の少なくとも一部分若しくは表1に記述されるところのそれらのフラグメント、またはそれらのいずれかの組合せ若しくはコンセンサス配列、あるいは好ましくはヒト起源の若しくはヒトに投与される場合の免疫原性を最小限にするように工作されたそれらのいずれかの融合タンパク質を挙げることができる。

30

40

【0101】

P部分は、限定されるものでないが配列番号1に提示されるもの、またはそれらのいずれかの組合せ若しくはコンセンサス配列、あるいはそれらのいずれかの融合タンパク質を挙げることができる、当該技術分野で既知若しくは本明細書に記述される最低1種のGL

50

P - 1 治療的ペプチドを含み得る。好ましい一態様において、P 部分は、配列番号 6 の最低 1 種の配列を有する最低 1 種の GLP - 1 ペプチド、またはそれらのいずれかの組合せ若しくはコンセンサス配列、あるいはそれらのいずれかの融合タンパク質を含み得る。

【0102】

任意のリンカー配列は当該技術分野で既知のところのいずれかの適するペプチドリナーであり得る。好ましい配列は、G および S のいずれかの組合せ、例えば X₁ - X₂ - X₃ - X₄ - ... - X_n を包含し、式中、X は G 若しくは S であり得、また、n は 5 ~ 30 であり得る。制限しない例は、GS、GGS、GGGS (配列番号 16)、GSGGS (配列番号 17)、GGS GGS (配列番号 18)、GGS GGS GG (配列番号 19) および GGS GGS GG (配列番号 20) ; などを包含する。

10

【0103】

機能に不可欠である本発明の GLP - 1 ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーション中のアミノ酸は、部位特異的突然変異誘発若しくはアラニン走査突然変異誘発 (例えば Ausubel、上記、第 8、15 章; Cunningham と Wells、Science 244: 1081 - 1085 (1989)) のような当該技術分野で既知の方法により同定し得る。後者の処置は分子中のすべての残基で単一アラニン突然変異を導入する。生じる変異体分子をその後、本明細書に明記されるか若しくは当該技術分野で既知のところの、限定されるものでないが最低 1 種のタンパク質関連の活性を挙げることができる生物学的活性について試験する。GLP - 1 ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションの結合に決定的に重要である部位は、結晶化、核磁気共鳴若しくは光親和性標識のような構造解析によってもまた同定し得る (Smithら、J. Mol. Biol. 224: 899 - 904 (1992) および de Vosら、Science 255: 306 - 312 (1992))。

20

【0104】

本発明のミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションは、式 (I) の P 部分として、例えば、限定されるものでないが、配列番号 1 および 6 の少なくとも一方の少なくとも一部分を含み得る。GLP - 1 ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションはさらに、場合によっては、式 (I) の P 部分として最低 1 種のポリペプチドの最低 1 個の機能的部分、配列番号 1 および 6 の少なくとも一方の最低 90 ~ 100 % を含み得る。上の列挙された活性の最低 1 種を高め得るか若しくは維持し得る制限しないバリエーションは、限定されるものでないが、前記 GLP - 1 ミメティポディの適する生物学的活性若しくは機能に有意に影響を及ぼさない最低 1 個の置換、挿入若しくは欠失に対応する最低 1 個の突然変異をさらに含んでなる上のポリペプチドのいずれかを挙げることができる。

30

【0105】

一態様において、P のアミノ酸配列若しくはその部分は、配列番号 1 および 6 の少なくとも一方の対応する部分の対応するアミノ酸配列に対する約 90 ~ 100 % の同一性 (すなわち 90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100 またはその中のいずれかの範囲若しくは値) を有する。好ましくは、90 ~ 100 % のアミノ酸同一性 (すなわち 90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100 またはその中のいずれかの範囲若しくは値) は、当該技術分野で既知のところの適するコンピュータアルゴリズムを使用して決定される。

40

【0106】

本発明のミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションは、本発明の GLP - 1 ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションからのいずれかの数の連続するアミノ酸残基を含み得、その数は、GLP - 1 ミメティポディ中の連続する残基の数の 10 ~ 100 % からよりなる整数の群から選択される。場合によっては、連続するアミノ酸のこの下位配列は、長さが最低約 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、40、50、60、70、80、90、100、11

50

0、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250若しくはそれ以上のアミノ酸、またはその中のいずれかの範囲若しくは値である。さらに、こうした下位配列の数は、最低2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20若しくはそれ以上のような1から20までよりなる群から選択されるいずれの整数でもあり得る。

【0107】

当業者が認識するであろうとおり、本発明は、本発明の最低1種の生物学的に活性のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションを包含する。生物学的に活性のミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションは、天然の(非合成の)、内因性の若しくは関連したおよび既知の挿入若しくは融合されたタンパク質または指定された部分若しくはバリエーションの比活性の最低20%、30%若しくは40%、および好ましくは最低50%、60%若しくは70%、ならびに最も好ましくは最低80%、90%若しくは95%~100%の比活性を有する。酵素活性および基質特異性の尺度のアッセイおよび定量方法は当業者に公知である。

10

【0108】

別の局面において、本発明は、有機部分の共有結合により修飾されている、本明細書に記述されるヒトミメティポディおよびリガンド結合フラグメントに関する。こうした修飾は、改良された薬物動態特性(例えば増大されたin vivo血清半減期)をもつGLP-1ミメティポディ若しくはリガンド結合フラグメントを生じ得る。該有機部分は、直鎖状若しくは分枝状の親水ポリマー基、脂肪酸基若しくは脂肪酸エステル基であり得る。特定の態様において、親水ポリマー基は約800ないし約120,000ダルトンの分子量を有し得、そしてポリアルカングリコール(例えばポリエチレングリコール(PEG)、ポリプロピレングリコール(PPG))、炭水化物ポリマー、アミノ酸ポリマー若しくはポリビニルピロリドンであり得、また、脂肪酸若しくは脂肪酸エステル基は約8から約40個までの炭素原子を含み得る。

20

【0109】

本発明の修飾ミメティポディおよびリガンド結合フラグメントは、GLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションに直接若しくは間接的に共有結合されている1個若しくはそれ以上の有機部分を含み得る。本発明のGLP-1ミメティポディ若しくはリガンド結合フラグメントに結合されている各有機部分は、独立に、親水ポリマー基、脂肪酸基若しくは脂肪酸エステル基であり得る。本明細書で使用される「脂肪酸」という用語はモノカルボン酸およびジカルボン酸を包含する。該用語が本明細書で使用される「親水ポリマー基」は、オクタン中でよりも水中でより溶解性である有機ポリマーを指す。例えば、ポリリシンはオクタン中でよりも水中でより溶解性である。従って、ポリリシンの共有結合により修飾されたGLP-1ミメティポディは本発明により包含される。本発明のミメティポディを修飾するのに適する親水ポリマーは直鎖状若しくは分枝状であり得、そして、例えばポリアルカングリコール(例えばPEG、モノメトキシポリエチレングリコール(mPEG)、PPGなど)、炭水化物(例えばデキストラン、セルロース、オリゴ糖、多糖など)、親水性アミノ酸のポリマー(例えばポリリシン、ポリアルギニン、ポリアスパラギン酸など)、ポリアルカンオキシド(例えばポリエチレンオキシド、ポリプロピレンオキシドなど)およびポリビニルピロリドンを包含する。好ましくは、本発明のGLP-1ミメティポディを修飾する親水ポリマーは、別個の分子実体として約800ないし約150,000ダルトンの分子量を有する。例えば、PEG₂₅₀₀、PEG₅₀₀₀、PEG₇₅₀₀、PEG₉₀₀₀、PEG₁₀₀₀₀、PEG₁₂₅₀₀、PEG₁₅₀₀₀およびPEG_{20,000}(ここで下付き数字はポリマーの平均分子量(ダルトン)である)を使用し得る。

30

40

【0110】

親水ポリマー基は、1ないし約6個のアルキル、脂肪酸若しくは脂肪酸エステル基で置換し得る。脂肪酸若しくは脂肪酸エステル基で置換されている親水ポリマーは、適する方

50

法を使用することにより製造し得る。例えば、アミン基を含んでなるポリマーを脂肪酸若しくは脂肪酸エステルのカルボキシレートに結合し得、そして、脂肪酸若しくは脂肪酸エステル上の活性化されたカルボキシレート（例えばN, N - カルボニルジイミダゾールで活性化された）をポリマー上のヒドロキシル基に結合し得る。

【0111】

本発明のミメティポディを修飾するのに適する脂肪酸および脂肪酸エステルは、飽和であり得るか、または1個若しくはそれ以上の不飽和単位を含有し得る。本発明のミメティポディを修飾するのに適する脂肪酸は、例えば、n - ドデカノエート（C₁₂、ラウレート）、n - テトラデカノエート（C₁₄、ミリストート）、n - オクタデカノエート（C₁₈、ステアレート）、n - エイコサノエート（C₂₀、アラキデート）、n - ドコサノエート（C₂₂、ベヘネート）、n - トリアコンタノエート（C₃₀）、n - テトラコンタノエート（C₄₀）、cis - 9 - オクタデカノエート（C₁₈、オレエート）、全cis - 5, 8, 11, 14 - エイコサテトラエノエート（C₂₀、アラキドネート）、オクタン二酸、テトラデカン二酸、オクタデカン二酸、ドコサン二酸などを包含する。適する脂肪酸エステルは、直鎖状若しくは分枝状低級アルキル基を含んでなるジカルボン酸のモノエステルを包含する。該低級アルキル基は、1から約12まで、好ましくは1ないし約6個の炭素原子を含み得る。

【0112】

修飾されたヒトミメティポディおよびリガンド結合フラグメントは、1種若しくはそれ以上の修飾剤との反応によるような適する方法を使用して製造し得る。該用語が本明細書で使用されるところの「修飾剤」は、活性化基を含んでなる適する有機基（例えば親水ポリマー、脂肪酸、脂肪酸エステル）を指す。「活性化基」は、適切な条件下で第二の化学基と反応してそれにより修飾剤と該第二の化学基との間に共有結合を形成し得る化学部分すなわち官能基である。例えば、アミン反応性の活性化基は、トシレート、メシレート、ハロ（クロロ、プロモ、フルオロ、ヨード）、N - ヒドロキシスクシンイミジルエステル（NHS）などのような親電子基を包含する。チオールと反応し得る活性化基は、例えばマレイミド、ヨードアセチル、アクリロリル、ピリジジスルフィド、5 - チオール - 2 - ニトロ安息香酸チオール（TNB - チオール）などを包含する。アルデヒド官能基はアミン若しくはヒドラジドを含有する分子と結合させ得、また、アジド基は三価のリン基と反応させてホスホルアミデート若しくはホスホルイミド結合を形成させ得る。分子中への活性化基の適する導入方法は当該技術分野で既知である（例えば、Hermanson, G. T., Bioconjugate Techniques, Academic Press: カリフォルニア州サンディエゴ（1996）を参照されたい）。活性化基は、有機基（例えば親水ポリマー、脂肪酸、脂肪酸エステル）に直接、または、リンカー部分、例えば、1個若しくはそれ以上の炭素原子が酸素、窒素若しくはイオウのようなヘテロ原子により置換され得る二価のC₁ - C₁₂基により結合し得る。適するリンカー部分は、例えば、テトラエチレングリコール、- (CH₂)₃ -、- NH - (CH₂)₆ - NH -、- (CH₂)₂ - NH - および - CH₂ - O - CH₂ - CH₂ - O - CH₂ - CH₂ - O - CH - NH - を包含する。リンカー部分を含んでなる修飾剤は、例えば、モノ - Boc - アルキルジアミン（例えばモノ - Boc - エチレンジアミン、モノ - Boc - ジアミノヘキサン）を、1 - エチル - 3 - (3 - ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド（EDC）の存在下に脂肪酸と反応させて、遊離アミンと脂肪酸のカルボキシレートの間でアミド結合を形成させることにより製造し得る。Boc保護基は、一級アミンを露出させるためのトリフルオロ酢酸（TFA）での処理により生成物から除去することができ、一級アミンは記述されたとおり別のカルボキシレートに結合させ得るか、若しくは、無水マレイン酸と反応させ得、そして生じる生成物を環化させて脂肪酸の活性化マレイミド誘導体を生じさせ得る（例えば、Thompsonら、第WO 92/16221号明細書（その教示全体は引用することにより本明細書に組み込まれる）を参照されたい。）。

【0113】

本発明の修飾ミメティポディは、ヒトGLP - 1ミメティポディ若しくはリガンド結合

フラグメントを修飾剤と反応させることにより製造し得る。例えば、アミン反応性の修飾剤、例えばPEGのNHSEステルを使用することにより、有機部分を部位非特異的様式でGLP-1ミメティポディに結合し得る。修飾ヒトミメティポディ若しくはリガンド結合フラグメントはまた、GLP-1ミメティポディ若しくはリガンド結合フラグメントのジスルフィド結合（例えば鎖内ジスルフィド結合）を還元することによっても製造し得る。還元されたGLP-1ミメティポディ若しくはリガンド結合フラグメントをその後チオール反応性の修飾剤と反応させて、本発明の修飾GLP-1ミメティポディを製造し得る。本発明のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションの特定の部位に結合されている有機部分を含んでなる修飾ヒトミメティポディおよびリガンド結合フラグメントは、逆タンパク質分解（Fischら、Bioconjugate Chem.、3：147-153（1992）；Werlenら、Bioconjugate Chem.、5：411-417（1994）；Kumaranら、Protein Sci. 6（10）：2233-2241（1997）；Itohら、Bioorg. Chem.、24（1）：59-68（1996）；Capellasら、Biotecnol. Bioeng.、56（4）：456-463（1997））、およびHermanson, G. T., Bioconjugate Techniques, Academic Press: カリフォルニア州サンディエゴ（1996）に記述される方法のような適する方法を使用して製造し得る。

10

【0114】

GLP-1ミメティポディ組成物。本発明はまた、天然に存在しない組成物、混合物若しくは形態で提供される、本明細書に記述されかつ/若しくは当該技術分野で既知のところの最低1、最低2、最低3、最低4、最低5、最低6種若しくはそれ以上のミメティポディまたはそれらの指定された部分若しくはバリエーションを含んでなる、最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションの組成物も提供する。こうした組成物のパーセンテージは、当該技術分野で既知若しくは本明細書に記述されるところの液体若しくは乾燥溶液（dry solution）、混合物、懸濁液、乳液またはコロイドとしての重量、容量、濃度、モル濃度若しくは重量モル濃度である。

20

【0115】

こうした組成物は、当該技術分野で既知若しくは本明細書に記述されるところの液体、気体若しくは乾燥溶液、混合物、懸濁液、乳液またはコロイドとして0.00001~99.9999重量、容量、濃度、モル濃度若しくは重量モル濃度パーセントを含むことができ、その中のいずれかの範囲若しくは値で、例えば、限定されるものでないが0.00001、0.00003、0.00005、0.00009、0.0001、0.0003、0.0005、0.0009、0.001、0.003、0.005、0.009、0.01、0.02、0.03、0.05、0.09、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4.0、4.3、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、99.1、99.2、99.3、99.4、99.5、99.6、99.7、99.8、99.9%を挙げることができる。本発明のこうした組成物は、従って、限定されるものでないが0.00001~100mg/mlおよび/若しくは0.00001~100mg/gを包含する。

30

40

【0116】

該組成物は、場合によっては、糖尿病若しくはインスリン代謝に関連する薬物、抗感染薬、心血管（CV）系薬、中枢神経系（CNS）薬、自律神経系（ANS）薬、気道薬、胃腸（GI）管薬、ホルモン薬、液体若しくは電解質バランスのための薬物、血液製剤

50

、抗腫瘍薬、免疫調節薬、眼、耳若しくは鼻の薬物、局所薬、栄養薬などの最低1種から選択される最低1種の化合物若しくはタンパク質の有効量をさらに含み得る。本明細書に提示されるそれぞれの製剤、適応症、投薬および投与を包含するこうした薬物は当該技術分野で公知である（例えば、Nursing 2001 Handbook of Drugs、第21版、Springhouse Corp.、ペンシルバニア州スプリングハウス、2001；Health Professional's Drug Guide 2001、Shannon、Wilson、Stang編、Prentice-Hall, Inc.、ニュージャージー州アッパーサドルリバー；Pharmacotherapy Handbook、Wellsら編、Appleton & Lange、コネチカット州スタンフォード（それぞれそっくりそのまま引用することにより本明細書に組み込まれる）を参照されたい）。

10

【0117】

糖尿病関連薬は、グリタゾン、インスリンおよび誘導体、スルホニル尿素、メグリチニド、ピグアニド、 α -グルコシダーゼ阻害剤、タンパク質チロシンホスファターゼ-1B、グリコーゲン合成酵素キナーゼ3、糖新生阻害剤、ピルビン酸脱水素酵素キナーゼ（PDH）阻害剤、脂肪分解阻害剤、脂肪酸化阻害剤、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼIおよび/若しくはII阻害剤、 β -3アドレナリン受容体アゴニスト、ナトリウムおよびグルコース共輸送体（SGLT）阻害剤、または：自己免疫抑制、免疫調節、T細胞の活性化、増殖、移動および/若しくはサブレッサー細胞機能、T細胞受容体/ペプチド/MHC-II相互作用の阻害、T細胞アネルギーの誘導、自己反応性T細胞の除去、血液脳関門を横断する輸送の低下、炎症前（Th1）および免疫調節（Th2）サイトカインのバランスの変化、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤の阻害、神経保護、神経膠症の低下、再ミエリン形成の促進の最低1種の1種若しくはそれ以上に作用する化合物の最低1つであり得る。

20

【0118】

抗感染症薬は、殺アメーバ薬若しくは抗原虫薬、駆虫薬、抗真菌薬、抗マラリア薬、抗結核薬若しくは抗らい薬、アミノグリコシド、ペニシリン、セファロsporin、テトラサイクリン、スルホンアミド、フルオロキノロン、抗ウイルス薬、マクロライド抗感染薬および雑多な抗感染薬から選択される最低1種であり得る。CV薬は、変力薬、抗不整脈薬、抗狭心症薬、降圧薬、抗高脂血症薬および雑多な心血管薬から選択される最低1種であり得る。CNS薬は、非麻薬性鎮痛薬から選択される最低1種、または解熱薬、非ステロイド性抗炎症薬、麻薬性若しくはオピオイド鎮痛薬、鎮痛睡眠薬、抗痙攣薬、抗うつ薬、抗不安薬、抗精神病薬、中枢神経系興奮薬、抗パーキンソン病薬および雑多な中枢神経系薬から選択される最低1種であり得る。ANS薬は、コリン作動薬（副交感神経興奮薬）、抗コリン薬、アドレナリン作動薬（交感神経興奮薬）、アドレナリン遮断薬（交感神経遮断薬）、骨格筋弛緩薬および神経筋遮断薬から選択される最低1種であり得る。気道薬は、抗ヒスタミン薬、気管支拡張薬、去痰薬若しくは鎮咳薬、および雑多な呼吸器官用薬から選択される最低1種であり得る。GI管薬は、制酸剤、吸着剤、抗鼓腸薬、消化酵素、胆石溶解剤、止瀉薬、緩下剤、制吐剤および抗潰瘍薬から選択される最低1種であり得る。ホルモン薬は、コルチコステロイド、アンドロゲン、蛋白同化ステロイド、エストロゲン、プロゲスチン、ゴナドトロピン、抗糖尿病薬、最低1種のグルカゴン、甲状腺ホルモン、甲状腺ホルモンアンタゴニスト、下垂体ホルモンおよび副甲状腺様薬物から選択される最低1種であり得る。液体および電解質バランスのための薬物は、利尿薬、電解質、補給溶液（replacement solution）、酸性化薬およびアルカリ性化薬から選択される最低1種であり得る。血液製剤は、造血剤、抗凝固薬、血液誘導体および血栓溶解酵素から選択される最低1種であり得る。抗腫瘍薬は、アルキル化剤、代謝拮抗薬、抗生物質性抗腫瘍薬、ホルモンバランスを変える抗腫瘍薬および雑多な抗腫瘍薬から選択される最低1種であり得る。免疫調節薬は、免疫抑制薬、ワクチン、類毒素、抗毒素、抗蛇毒、免疫血清および生物学的応答調節剤から選択される最低1種であり得る。眼、耳および鼻の薬物は、眼の抗感染薬、眼の抗炎症薬、縮瞳薬、散瞳薬、眼血管収縮薬お

30

40

50

よび雑多な眼科用薬、耳用薬、鼻用薬から選択される最低1種であり得る。局所薬は、局所抗感染薬、抗疥癬薬、殺シラミ薬および局所コルチコステロイドから選択される最低1種であり得る。栄養薬はビタミン、ミネラルおよび熱素から選択される最低1種であり得る。例えば、Nursing 2001 Drug Handbook、上記の内容を参照されたい。

【0119】

最低1種の殺アメーバ薬若しくは抗原虫薬は、アトバクオン、塩酸クロロキン、リン酸クロロキン、メトロニダゾール、塩酸メトロニダゾールおよびイセチオン酸ペンタミジンから選択される最低1種であり得る。最低1種の駆虫薬はメベンダゾール、パモ酸ピランテルおよびチアベンダゾールから選択される最低1種であり得る。最低1種の抗真菌薬は、
 10
 アムホテリシンB、アムホテリシンB硫酸コレステリル複合体、アムホテリシンB脂質複合体、アムホテリシンBリボソーム製剤、フルコナゾール、フルシトシン、グリセオフルビン微粒子(microsize)、グリセオフルビン超微粒子(ultramicrosize)、イトラコナゾール、ケトコナゾール、ナスタチンおよび塩酸テルピナフィンから選択される最低1種であり得る。最低1種の抗マラリア薬は、塩酸クロロキン、リン酸クロロキン、ドキシサイクリン、硫酸ヒドロキシクロロキン、塩酸メフロキン、リン酸プリマキン、ピリメタミン、およびスルファドキシンを伴うピリメタミンから選択される最低1種であり得る。最低1種の抗結核薬若しくは抗らい薬は、クロファジミン、シクロセリン、ダブソン、塩酸エタンブトール、イソニアジド、ピラジナミド、リファブチン、
 20
 リファンピン、リファペンチンおよび硫酸ストレプトマイシンから選択される最低1種であり得る。最低1種のアミノグリコシドは、硫酸アミカシン、硫酸ゲンタマイシン、硫酸ネオマイシン、硫酸ストレプトマイシンおよび硫酸トラマイシンから選択される最低1種であり得る。最低1種のペニシリンは、アモキシシリン/クラブラン酸カリウム、アモキシシリン三水和物、アンピシリン、アンピシリンナトリウム、アンピシリン三水和物、アンピシリンナトリウム/スルバクタムナトリウム、クロキサシリンナトリウム、ジクロキサシリンナトリウム、メズロシリンナトリウム、ナフシリンナトリウム、オキサシリンナトリウム、ペニシリンGベンザチン、ペニシリンGカリウム、ペニシリンGプロカイン、ペニシリンGナトリウム、ペニシリンVカリウム、ピペラシリンナトリウム、ピペラシリンナトリウム/タゾバクタムナトリウム、チカルシリン二ナトリウムおよびチカルシリン二ナトリウム/クラブラン酸カリウムから選択される最低1種であり得る。最低1種
 30
 のセファロスポリンは、セファクロル、セファドロキシル、セファゾリンナトリウム、セフジニル、塩酸セフェピム、セフィキシム、セフメタゾールナトリウム、セフォニシドナトリウム、セフォペラゾンナトリウム、セフォタキシムナトリウム、セフォタンニナトリウム、セフォキシチンナトリウム、セフポドキシムプロキセチル、セフプロジル、セフトジジム、セフチブテン、セフチゾキシムナトリウム、セフトリアキソンナトリウム、セフロキシムアキセチル、セフロキシムナトリウム、塩酸セファレキシン、セファレキシン一水和物、セフラジン、ロラカルベフの最低1種から選択される最低1種であり得る。最低1種のテトラサイクリンは、塩酸デメクロサイクリン、ドキシサイクリンカルシウム、ドキシサイクリンヒクラート、塩酸ドキシサイクリン、ドキシサイクリン一水和物、塩酸ミノサイクリン、塩酸テトラサイクリンから選択される最低1種であり得る。最低1種
 40
 のスルホンアミドは、コトリモオキサゾール(trimoxazole)、スルファジアジン、スルファメトキサゾール、スルフィソキサゾール、スルフィソキサゾールアセチルから選択される最低1種であり得る。最低1種のフルオロキノロンは、メシル酸アラトロフロキサシン、シプロフロキサシン、エノキサシン、レボフロキサシン、塩酸ロメフロキサシン、ナリジクス酸、ノルフロキサシン、オフロキサシン、スパルフロキサシン、メシル酸トロバフロキサシンから選択される最低1種であり得る。最低1種のフルオロキノロンは、メシル酸アラトロフロキサシン、シプロフロキサシン、エノキサシン、レボフロキサシン、塩酸ロメフロキサシン、ナリジクス酸、ノルフロキサシン、オフロキサシン、スパルフロキサシン、メシル酸トロバフロキサシンから選択される最低1種であり得る。最低1種の抗ウイルス薬は、硫酸アバカビル、アシクロビルナトリウム、塩酸
 50

アマンタジン、アンブレナビル、シドフォビル、メシル酸デラビルジン、ジダノシン、エファビレンズ、ファムシクロビル、フォミビルセンナトリウム、ホスカルネットナトリウム、ガンシクロビル、硫酸インジナビル、ラミブジン、ラミブジン/ジドブジン、メシル酸ネルフィナビル、ネビラピン、リン酸オセルタミビル、リバビリン、塩酸リマンタジン、リトナビル、サキナビル、メシル酸サキナビル、スタブジン、塩酸バラシクロビル、ザルシタピン、ザナミビル、ジドブジンから選択される最低1種であり得る。最低1種のマクロライン抗感染薬は、アジトロマイシン、クラリスロマイシン、ジリトロマイシン、エリスロマイシン塩基、エリスロマイシンエステル、エチルコハク酸エリスロマイシン、ラクトピオン酸エリスロマイシン、ステアリン酸エリスロマイシンから選択される最低1種であり得る。最低1種の雑多な抗感染薬は、アズトレオナム、バシトラシン、コハク酸クロラムフェニコールナトリウム、塩酸クリンダマイシン、塩酸パルミチン酸クリンダマイシン、リン酸クリンダマイシン、イミペネムおよびシラスタチンナトリウム、メロペネム、ニトロフラントイン大結晶、ニトロフラントイン微結晶、キヌプリスチン/ダルホプリスチン、塩酸スペクチノマイシン、トリメトプリム、塩酸バンコマイシンから選択される最低1種であり得る(例えばNursing 2001 Drug Handbookのpp. 24~214を参照されたい。)

10

【0120】

最低1種の変力薬は、乳酸アムリノン、ジゴキシン、乳酸ミルリノンから選択される最低1種であり得る。最低1種の抗不整脈薬は、アデノシン、塩酸アミオダロン、硫酸アトロピン、トシル酸ブレチリウム、塩酸ジルチアゼム、ジソピラミド、リン酸ジソピラミド、塩酸エスモロール、酢酸フレカイニド、フマル酸イブチリド、塩酸リドカイン、塩酸メキシレチン、塩酸モリシジン、フェニトイン、フェニトインナトリウム、塩酸プロカインアミド、塩酸プロパフェノン、塩酸プロプラノロール、硫酸水素キニジン、グルコン酸キニジン、ポリガラクトン酸キニジン、硫酸キニジン、ソタロール、塩酸トカイニド、塩酸ベラパミルから選択される最低1種であり得る。最低1種の抗狭心症薬は、ベシル酸アムロジピン、亜硝酸アミル、塩酸ベプリジル、塩酸ジルチアゼム、硝酸イソソルビド、一硝酸イソソルビド、ナドロール、塩酸ニカルジピン、ニフェジピン、ニトログリセリン、塩酸プロプラノロール、ベラパミル、塩酸ベラパミルから選択される最低1種であり得る。最低1種の降圧薬は、塩酸アセプトロール、ベシル酸アムロジピン、アテノロール、塩酸ベナゼプリル、塩酸ベタキソロール、フマル酸ピソプロロール、カンデサルタンシレキセチル、カプトプリル、塩酸カルテオロール、カルベジロール、クロニジン、塩酸クロニジン、ジアゾキシド、塩酸ジルチアゼム、メシル酸ドキサゾシン、エナラプリラート、マレイン酸エナラプリル、メシル酸エプロサルタン、フェロジピン、メシル酸フェノルドパム、ホシノプリルナトリウム、酢酸グアナベンズ、硫酸グアナドレル、塩酸グアンファシン、塩酸ヒドララジン、イルベサルタン、イスラジピン、塩酸ラベタロール、リシノプリル、ロサルタンカリウム、メチルドパ、メチルドペート(methyl dopate)塩酸塩、コハク酸メトプロロール、酒石酸メトプロロール、ミノキシジル、塩酸モエキシプリル、ナドロール、塩酸ニカルジピン、ニフェジピン、ニソルジピン、ニトロプルシドナトリウム、硫酸ペンブトロール、ペリンドプリルエルブミン、メシル酸フェントラミン、ピンドロール、塩酸プラゾシン、塩酸プロプラノロール、塩酸キナプリル、ラミプリル、テルミサルタン、塩酸テラゾシン、マレイン酸チモロール、トランドラプリル、バルサルタン、塩酸ベラパミルから選択される最低1種であり得る。最低1種の抗高脂血症薬は、アトロバスタチンカルシウム、セリバスタチンナトリウム、コレステラミン、塩酸コレステポール、フェノフィブラート(微粉末)、フルバスタチンナトリウム、ゲムフィブロジル、ロバスタチン、ナイアシン、プラバスタチンナトリウム、シンバスタチンから選択される最低1種であり得る。最低1種の雑多なCV薬は、アブシキシマブ、アルプロスタジル、塩酸アルブタミン、シロスタゾール、重硫酸クロピドグレル、ジピリダモール、エプチフィバチド、塩酸ミドドリン、ペントキシフィリン、塩酸チクロピジン、塩酸チロフィバンから選択される最低1種であり得る(例えば、Nursing 2001 Drug Handbookのpp. 215~336を参照されたい。)

20

30

40

50

【 0 1 2 1 】

最低1種の非麻薬性鎮痛薬若しくは解熱薬は、アセトアミノフェン、アスピリン、コリンマグネシウムトリサリチル酸、ジフルニサル、サリチル酸マグネシウムから選択される最低1種であり得る。最低1種の非ステロイド性抗炎症薬は、セレコキシブ、ジクロフェナクカリウム、ジクロフェナクナトリウム、エトドラク、フェノプロフェンカルシウム、フルルビプロフェン、イブプロフェン、インドメタシン、インドメタシンナトリウム三水和物、ケトプロフェン、ケトロラクトロメタミン、ナブメトン、ナブロキセン、ナブロキセンナトリウム、オキサプロジン、ピロキシカム、ロフェコキシブ、スリンダクから選択される最低1種であり得る。最低1種の麻薬性若しくはオピオイド鎮痛薬は、塩酸アルフェentanil、塩酸ブプレノルフィン、酒石酸ブトルファノール、リン酸コデイン、硫酸コデイン、クエン酸フェンタニル、フェンタニル経皮系、フェンタニル経粘膜、塩酸ヒドロモルホン、塩酸メペリジン、塩酸メサドン、塩酸モルヒネ、硫酸モルヒネ、酒石酸モルヒネ、塩酸ナルブフィン、塩酸オキシコドン、ペクチン酸オキシコドン、塩酸オキシモルホン、塩酸ペンタゾシン、塩酸ペンタゾシンおよび塩酸ナロキソン、乳酸ペンタゾシン、塩酸プロボキシフェン、ナブシル酸プロボキシフェン、塩酸レミフェンタニル、クエン酸スフェンタニル、塩酸トラマドールから選択される最低1種であり得る。最低1種の鎮静睡眠薬は、抱水クロラール、エスタゾラム、塩酸フルラゼパム、ペントバルビタール、ペントバルビタールナトリウム、フェノバルビタールナトリウム、セコバルビタールナトリウム、テマゼパム、トリアゾラム、ザレブロン、酒石酸ゾルピデムから選択される最低1種であり得る。最低1種の抗痙攣薬は、アセタゾラミドナトリウム、カルバマゼピン、クロナゼパム、クロラゼブ酸ニカリウム、ジアゼパム、ジバルプロエックスナトリウム、エトスクシムド、ホスフェニトインナトリウム、ギャバペンチン、ラモトリジン、硫酸マグネシウム、フェノバルビタール、フェノバルビタールナトリウム、フェニトイン、フェニトインナトリウム、フェニトインナトリウム（徐放性）、プリミドン、塩酸タイアガピン、トピラメート、バルプロ酸ナトリウム、バルプロ酸から選択される最低1種であり得る。最低1種の抗うつ薬は、塩酸アミトリプチリン、パモ酸アミトリプチリン、アモキサピン、塩酸ブプロピオン、臭化水素酸シタロプラム、塩酸クロミプラミン、塩酸デシプラミン、塩酸ドキセピン、塩酸フルオキセチン、塩酸イミプラミン、パモ酸イミプラミン、ミルタザピン、塩酸ネファゾドン、塩酸ノルトリプチリン、塩酸パロキセチン、硫酸フェネルジン、塩酸セルトラリン、硫酸トラニルシプロミン、マレイン酸トリミプラミン、塩酸ベンラファキシンから選択される最低1種であり得る。最低1種の抗不安薬は、アルプラゾラム、塩酸ブスピロン、クロルジアズGLP-1キシド(chlordiaz GLP-1 xide)、塩酸クロルジアズGLP-1キシド(chlordiaz GLP-1 xide)、クロラゼブ酸ニカリウム、ジアゼパム、塩酸ドキセピン、ヒドロキシジンエンボネート、塩酸ヒドロキシジン、パモ酸ヒドロキシジン、ロラゼパム、メフロバメート、塩酸ミダゾラム、オキサゼパムから選択される最低1種であり得る。最低1種の抗精神病薬は、塩酸クロルプロマジン、クロザピン、デカン酸フルフェナジン、エナント酸フルフェナジン、塩酸フルフェナジン、ハロペリドール、デカン酸ハロペリドール、乳酸ハロペリドール、塩酸ロキサピン、コハク酸ロキサピン、ベシル酸メソリダジン、塩酸モリンドン、オランザピン、ペルフェナジン、ピモジド、プロクロルペラジン、フマル酸ケチアピン、リスペリドン、塩酸チオリダジン、チオチキセン、塩酸チオチキセン、塩酸トリフロペラジンから選択される最低1種であり得る。最低1種の中樞神経系興奮薬は、硫酸アンフェタミン、カフェイン、硫酸デキストロアンフェタミン、塩酸ドキサプラム、塩酸メタンフェタミン、塩酸メチルフェニデート、モダフィニル、ペモリン、塩酸フェンテルミンから選択される最低1種であり得る。最低1種の抗パーキンソン病薬は、塩酸アマンタジン、メシル酸ベンズトロピン、塩酸ピペリデン、乳酸ピペリデン、メシル酸プロモクリプチン、カルビドパ-レボドパ、エンタカポン、レボドパ、メシル酸ベルゴリド、二塩酸プラミペキソール(pramipexole dihydrochloride)、塩酸ロピニロール、塩酸セレギリン、トルカポン、塩酸トリヘキシフェニジルから選択される最低1種であり得る。最低1種の雑多な中樞神経系薬は、塩酸ブプロピオン、塩酸ドネペジル

10

20

30

40

50

、ドロペリドール、マレイン酸フルボキサミン、炭酸リチウム、クエン酸リチウム、塩酸ナラトリプタン、ニコチンポラクリレックス、ニコチン経皮系、プロポフォル、安息香酸リザトリプタン、塩酸シブトラミン水和物、コハク酸スマトリプタン、塩酸タクリン、ゾルミトリプタンから選択される最低1種であり得る(例えば、Nursing 2001 Drug Handbookのpp. 337~530を参照されたい。)

【0122】

最低1種のコリン作動薬(例えば副交感神経興奮薬)は、塩化ベタネコール、塩化エドロホニウム、臭化ネオスチグミン、メチル硫酸ネオスチグミン、サリチル酸フィゾスチグミン、臭化ピリドスチグミンから選択される最低1種であり得る。最低1種の抗コリン作動薬は、硫酸アトロピン、塩酸ジシクロミン、グリコピロール酸、ヒヨスチアミン、硫酸ヒヨスチアミン、臭化プロパンテリン、スコポラミン、ブチル臭化スコポラミン、臭化水素酸スコポラミンから選択される最低1種であり得る。最低1種のアドレナリン作動薬(交感神経興奮薬)は、塩酸ドブタミン、塩酸ドーパミン、酒石酸水素メタラミノール、酒石酸水素ノルエピネフリン、塩酸フェニレフリン、塩酸プソイドエフェドリン、硫酸プソイドエフェドリンから選択される最低1種であり得る。最低1種のアドレナリン遮断薬(交感神経遮断薬)は、メシル酸ジヒドロエルゴタミン、酒石酸エルゴタミン、マレイン酸メチセルギド、塩酸プロプラノロールから選択される最低1種であり得る。最低1種の骨格筋弛緩薬は、バクロフェン、カリソプロドール、クロルゾキサゾン、塩酸シクロベンザプリン、ダントロレンナトリウム、メトカルバモール、塩酸チザニジンから選択される最低1種であり得る。最低1種の神経筋遮断薬は、ベシル酸アトラクリウム、ベシル酸シサトクリウム、塩化ドキサクリウム、塩化ミバクリウム、臭化パンクロニウム、臭化ピペクロニウム、臭化ラパクロニウム、臭化ロクロニウム、塩化スクシニルコリン、塩化ツボクラリン、臭化ベクロニウムから選択される最低1種であり得る(例えば、Nursing 2001 Drug Handbookのpp. 531~84を参照されたい。)

【0123】

最低1種の抗ヒスタミン薬は、マレイン酸ブロムフェニラミン、塩酸セチリジン、マレイン酸クロルフェニラミン、フマル酸クレマスチン、塩酸シプロヘプタジン、塩酸ジフェンヒドラミン、塩酸フェキソフェナジン、ロラタジン、塩酸プロメタジン、テオクル酸プロメタジン、塩酸トリプロリジンから選択される最低1種であり得る。最低1種の気管支拡張薬は、アルブテロール、硫酸アルブテロール、アミノフィリン、硫酸アトロピン、硫酸エフェドリン、エピネフリン、酒石酸水素エピネフリン、塩酸エピネフリン、臭化イpratropium、イソプロテレノール、塩酸イソプロテレノール、硫酸イソプロテレノール、塩酸レバルブテロール、硫酸メタプロテレノール、オキシトリフィリン、酢酸ビルブテロール、キシナホ酸サルメテロール、硫酸テルブタリン、テオフィリンから選択される最低1種であり得る。最低1種の子痰薬若しくは鎮咳薬は、ベンゾナテート、リン酸コデイン、硫酸コデイン、臭化水素酸デキストラメトルファン、塩酸ジフェンヒドラミン、グアイフェネシン、塩酸ヒドロモルホンから選択される最低1種であり得る。最低1種の雑多な呼吸器用薬は、アセチルシステイン、ジプロピオン酸ベクロメタゾン、ベラクタント、ブデソニド、カルファクタント、クロモリンナトリウム、ドルナーゼ、GLP-1プロステノールナトリウム(GLP-1 prostenol sodium)、フルニソリド、プロピオン酸フルチカゾン、モンテルカストナトリウム、ネドクロミルナトリウム、パリピズマブ、トリアムシノロンアセトニド、ザフィルルカスト、ジロートンから選択される最低1種であり得る(例えば、Nursing 2001 Drug Handbookのpp. 585~642を参照されたい。)

【0124】

最低1種の制酸剤、吸着剤若しくは抗鼓腸薬は、炭酸アルミニウム、水酸化アルミニウム、炭酸カルシウム、マガルドラート、水酸化マグネシウム、酸化マグネシウム、ジメチコンおよび炭水素酸ナトリウムから選択される最低1種であり得る。最低1種の消化酵素若しくは胆石溶解剤は、パンクレアチン、パンクレリパーゼおよびウルソジオールから選択される最低1種であり得る。最低1種の止瀉薬は、アタバルジャイト、次サリチル酸ピ

10

20

30

40

50

スマス、カルシウムポリカルボフィル、塩酸ジフェノキシレート若しくは硫酸アトロピン、ロペラミド、酢酸オクトレオチド、アヘンチンキ、アヘンチンキ（カンファー入り（camphorated））から選択される最低1種であり得る。最低1種の緩下剤は、ピサコジル、カルシウムポリカルボフィル、カスカラサグラダ、カスカラサグラダ芳香流エキス、カスカラサグラダ流エキス、ヒマシ油、ドキュセートカルシウム、ドキュセートナトリウム、グリセリン、ラクツロース、クエン酸マグネシウム、水酸化マグネシウム、硫酸マグネシウム、メチルセルロース、鉱物油、ポリエチレングリコール若しくは電解質溶液、オオバコ、センナ、リン酸ナトリウムから選択される最低1種であり得る。最低1種の制吐剤は、塩酸クロルプロマジン、ジメンヒドリナート、メシル酸ドラセトロン、ドロナビノール、塩酸グラニセトロン、塩酸メクリジン、塩酸メトクロプロアミド、塩酸オンダンセトロン、ペルフェナジン、プロクロルペラジン、エジシル酸プロクロルペラジン、マレイン酸プロクロルペラジン、塩酸プロメタジン、スコボラミン、マレイン酸チエチルペラジン、塩酸トリメトベンズアミドから選択される最低1種であり得る。最低1種の抗潰瘍薬は、シメチジン、塩酸シメチジン、ファモチジン、ランソプラゾール、ミソプロストール、ニザチジン、オメプラゾール、ラベプラゾールナトリウム、ランチジクエン酸ピスマス、塩酸ラニチジン、スクラルファートから選択される最低1種であり得る。（例えばNursing 2001 Drug Handbookのpp. 643~95を参照されたい。）最低1種のコルチコステロイドは、ベタメタゾン、酢酸ベタメタゾン若しくはリン酸ベタメタゾンナトリウム、リン酸ベタメタゾンナトリウム、酢酸コルチゾン、デキサメサゾン、酢酸デキサメサゾン、リン酸デキサメサゾンナトリウム、酢酸フルドコルチゾン、ヒドロコルチゾン、酢酸ヒドロコルチゾン、ヒドロコルチゾンシビオナート、リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム、コハク酸ヒドロコルチゾンナトリウム、メチルプレドニゾン、酢酸メチルプレドニゾン、コハク酸メチルプレドニゾンナトリウム、プレドニゾン、酢酸プレドニゾン、リン酸プレドニゾンナトリウム、テプト酸プレドニゾン、プレドニゾン、トリアムシノロン、トリアムシノロンアセトニド、酢酸トリアムシノロンから選択される最低1種であり得る。最低1種のアンドロゲン若しくは蛋白同化ステロイドは、ダナゾール、フルオキシメステロン、メチルテストステロン、デカン酸ナンドロロン、フェンプロピオン酸ナンドロロン、テストステロン、テストステロンシビオナート、エナント酸テストステロン、プロピオン酸テストステロン、テストステロン経皮系から選択される最低1種であり得る。最低1種のエストロゲン若しくはプロゲステロンは、エステル化エストロゲン、エストラジオール、エストラジオールシビオナート、エストラジオール/酢酸ノルエチンドロン経皮系、吉草酸エストラジオール、エストロゲン（抱合）、エストロピベート、エチニルエストラジオール、エチニルエストラジオールとデソゲストレル、エチニルエストラジオールと酢酸エチノジオール、エチニルエストラジオールとデソゲストレル、エチニルエストラジオールと酢酸エチノジオール、エチニルエストラジオールとレボノルゲストレル、エチニルエストラジオールとノルエチンドロン、エチニルエストラジオールと酢酸ノルエチンドロン、エチニルエストラジオールとノルゲステマト、エチニルエストラジオールとノルゲストレル、エチニルエストラジオールとノルエチンドロンならびに酢酸およびフマル酸鉄、レボノルゲストレル、酢酸メドロキシプロゲステロン、メストラノールとノルエチンドロン、ノルエチンドロン、酢酸ノルエチンドロン、ノルゲストレル、プロゲステロンから選択される最低1種であり得る。最低1種のゴナドロプトロピンは、酢酸ガニレリックス、酢酸ゴナドレリン、酢酸ヒストレリン、メノトロピンから選択される最低1種であり得る。最低1種の抗糖尿病薬若しくはグルカオンは、アカルボース、クロルプロパミド、グリメピリド、グリピジド、グルカゴン、グリブリド、インスリン、塩酸メトフォルミン、ミグリトール、塩酸ピオグリタゾン、レパグリニド、マレイン酸ロシグリタゾン、トログリタゾンから選択される最低1種であり得る。最低1種の甲状腺ホルモンは、レボチロキシンナトリウム、リオチロニンナトリウム、リオトリックス、甲状腺製剤から選択される最低1種であり得る。最低1種の甲状腺ホルモンアンタゴニストは、メチマゾール、ヨウ化カリウム、ヨウ化カリウム（飽和溶液）、プロピルチオウラシル、放射活性ヨウ素（ヨウ化ナトリウム¹³¹I）、濃ヨウ素溶

10

20

30

40

50

液 (strong iodine solution) から選択される最低1種であり得る。最低1種の下垂体ホルモンは、コルチコトロピン、コシントロピン、酢酸デスモフレシン、酢酸リュープロリド、rGLP-1シトリー (rGLP-1sitory) コルチコトロピン、ソマトレム、ソマトロピン、パソプレシンから選択される最低1種であり得る。最低1種の副甲状腺様薬物は、カルシフェジオール、カルシトニン (ヒト)、カルシトニン (サケ)、カルシトリオール、ジヒドロタキステロール、エチドロロン酸二ナトリウムから選択される最低1種であり得る (例えば、Nursing 2001 Drug Handbookのpp. 696~796を参照されたい。)。

【0125】

最低1種の利尿薬は、アセタゾラミド、アセタゾラミドナトリウム、塩酸アミロリド、ブメタニド、クロルチアリドン、エタクリン酸ナトリウム、エタクリン酸、フロセミド、ヒドロクロロチアジド、インダパミド、マンニトール、メトラゾン、スピロノラクトン、トルセミド、トリアムテレン、尿素から選択される最低1種であり得る。最低1種の電解質若しくは補給溶液は、酢酸カルシウム、炭酸カルシウム、塩化カルシウム、クエン酸カルシウム、グルビオナートカルシウム、グルセブタートカルシウム、グルコン酸カルシウム、乳酸カルシウム、リン酸カルシウム (第二)、リン酸カルシウム (第三)、デキストラン (高分子量)、デキストラン (低分子量)、ヘタスターチ、塩化マグネシウム、硫酸マグネシウム、酢酸カリウム、炭酸水素カリウム、塩化カリウム、グルコン酸カリウム、リンゲル液、リンゲル液 (乳酸加)、塩化ナトリウムから選択される最低1種であり得る。最低1種の酸性化剤若しくはアルカリ性化剤は、炭酸水素ナトリウム、乳酸ナトリウム、トロメタミンから選択される最低1種であり得る (例えば、Nursing 2001 Drug Handbookのpp. 797~833を参照されたい。)。

【0126】

最低1種の造血剤は、フマル酸鉄、グルコン酸鉄、硫酸鉄、硫酸鉄 (乾燥)、鉄デキストラン、鉄ソルビトール、多糖-鉄複合体、グルコン酸鉄ナトリウム錯体から選択される最低1種であり得る。最低1種の抗凝固薬は、アルデバリンナトリウム、ダルテバリンナトリウム、ダナパロイドナトリウム、エノキサパリンナトリウム、ヘパリンカルシウム、ヘパリンナトリウム、ワルファリンナトリウムから選択される最低1種であり得る。最低1種の血液製剤は、アルブミン5%、アルブミン25%、抗血友病因子、抗阻害剤抗凝固薬 (anti-inhibitor coagulant) 複合体、アンチトロンピンII (ヒト)、第IX因子 (ヒト)、第IX因子複合体、血漿タンパク質画分から選択される最低1種であり得る。最低1種の血栓溶解酵素は、アルテプラゼ、アニストレプラゼ、レテプラゼ (組換え)、ストレプトキナーゼ、ウロキナーゼから選択される最低1種であり得る (例えば、Nursing 2001 Drug Handbookのpp. 834~66を参照されたい。)。

【0127】

最低1種のアシル化剤は、ブスルファン、カルボプラチン、カルムスチン、クロラムブシル、シスプラチン、シクロホスファミド、イホスファミド、ロムスチン、塩酸メクロレタミン、メルファラン、塩酸メルファラン、ストレプトゾシン、テモゾロミド、チオテパから選択される最低1種であり得る。最低1種の代謝拮抗薬は、カペシタビン、クラドリピン、シタラビン、フロクスウリジン、リン酸フルダラビン、フルオロウラシル、ヒドロキシ尿素、メルカプトプリン、メトトレキサート、メトトレキサートナトリウム、チオグアニンから選択される最低1種であり得る。最低1種の抗生物質性抗腫瘍薬は、硫酸ブレオマイシン、ダクチノマイシン、クエン酸ダウノルピシンリボソーム製剤、塩酸ダウノルピシン、塩酸ドキソルピシン、塩酸ドキソルピシンリボソーム製剤、塩酸エビルピシン、塩酸イダルピシン、マイトマイシン、ペントスタチン、プリカマイシン、バルルピシンから選択される最低1種であり得る。ホルモンバランスを変える最低1種の抗腫瘍薬は、アナストロゾール、ピカルタミド、リン酸エストラムスチンナトリウム、エキセメスタン、フルタミド、酢酸ゴセレリン、レトロゾール、酢酸リュープロリド、酢酸メゲストロール、ニルタミド、クエン酸タモキシフェン、テストラクトン、クエン酸トレミフェンから

10

20

30

40

50

選択される最低1種であり得る。最低1種の雑多な抗腫瘍薬は、アスパラギナーゼ、カルメット-ゲラン桿菌(BCG)(生菌 膀胱内)、ダカルバジン、ドセタキセル、エトポシド、リン酸エトポシド、塩酸ゲムシタピン、塩酸イリノテカン、ミトタン、塩酸ミトキサントロン、パクリタキセル、ペグアスパルガーゼ、ポルフィマーナトリウム、塩酸プロカルバジン、リツキシマブ、テニポシド、塩酸トボテカン、トラスツズマブ、トレチノイン、硫酸ピンブラスチン、硫酸ピンクリスチン、酒石酸ピノレルピンから選択される最低1種であり得る(例えばNursing 2001 Drug Handbookのpp. 867~963を参照されたい。)

【0128】

最低1種の免疫抑制薬は、アザチオプリン、バシリキシマブ、シクロスポリン、ダクリズマブ、リンパ球免疫グロブリン、ムロモマブ-CD3、ミコフェノール酸モフェチル、塩酸ミコフェノール酸モフェチル、シロリムス、タクロリムスから選択される最低1種であり得る。最低1種のワクチン若しくは類毒素は、BCGワクチン、コレラワクチン、ジフテリアおよび破傷風類毒素(吸着)、ジフテリアおよび破傷風類毒素ならびに無細胞百日咳ワクチン吸着、ジフテリアおよび破傷風類毒素ならびに全細胞百日咳ワクチン、血友病b複合ワクチン、A型肝炎ワクチン(不活化)、B型肝炎ワクチン(組換え)、インフルエンザウイルスワクチン1999~2000年三価AおよびB型(精製表面抗原)、インフルエンザウイルスワクチン1999~2000年三価AおよびB型(サブピリオン若しくは精製サブピリオン)、インフルエンザウイルスワクチン1999~2000年三価AおよびB型(全ピリオン)、日本脳炎ウイルスワクチン(不活化)、ライム病ワクチン(組換えOsprey)、麻疹および流行性耳下腺炎および風疹ウイルスワクチン(生)、麻疹および流行性耳下腺炎および風疹ウイルスワクチン(生、弱毒化)、麻疹ウイルスワクチン(生、弱毒化)、髄膜炎菌多糖ワクチン、流行性耳下腺炎ウイルスワクチン(生)、ペストワクチン、肺炎球菌ワクチン(多価)、ポリオウイルスワクチン(不活化)、ポリオウイルスワクチン(生、経口、三価)、狂犬病ワクチン(吸着)、狂犬病ワクチン(ヒト二倍体細胞)、風疹および流行性耳下腺炎ウイルスワクチン(生)、風疹ウイルスワクチン(生、弱毒化)、破傷風類毒素(吸着)、破傷風類毒素(液体)、腸チフスワクチン(経口)、腸チフスワクチン(非経口)、腸チフスVi多糖ワクチン、水痘ウイルスワクチン、黄熱病ワクチンから選択される最低1種であり得る。最低1種の抗毒素若しくは抗蛇毒は、クロゴケグモ抗蛇毒、マムシ科(Crotalidae)抗蛇毒(多価)、ジフテリア抗毒素(ウマ)、アメリカサンゴヘビ(Micrurus fulvius)抗蛇毒から選択される最低1種であり得る。最低1種の免疫血清は、サイトメガロウイルス免疫グロブリン(静脈内)、B型肝炎免疫グロブリン(ヒト)、免疫グロブリン筋肉内、免疫グロブリン静脈内、狂犬病免疫グロブリン(ヒト)、RSウイルス免疫グロブリン静脈内(ヒト)、Rh₀(D)免疫グロブリン(ヒト)、Rh₀(D)免疫グロブリン静脈内(ヒト)、破傷風免疫グロブリン(ヒト)、水痘・帯状ヘルペス免疫グロブリンから選択される最低1種であり得る。最低1種の生物学的応答調節物質は、アルデスロイキン、GLP-1エチン(GLP-1etinalfa)、フィルグラスチム、注射用酢酸グラチラマー、インターフェロナルファコン-1、インターフェロン-2a(組換え)、インターフェロン-2b(組換え)、インターフェロン-1a、インターフェロン-1b(組換え)、インターフェロン-1b、塩酸レバミソール、オブレルベキン、サルグラモスチムから選択される最低1種であり得る(例えば、Nursing 2001 Drug Handbookのpp. 964~1040を参照されたい。)

【0129】

最低1種の眼の抗感染薬は、バシトラシン、クロラムフェニコール、塩酸シプロフロキサシン、エリスロマイシン、硫酸ゲンタマイシン、オフロキサシン0.3%、硫酸ポリミキシンB、スルファセタミドナトリウム10%、スルファセタミドナトリウム15%、スルファセタミドナトリウム30%、トブラマイシン、ピダラビンから選択され得る。最低1種の眼の抗炎症薬は、デキサメサゾン、リン酸デキサメサゾンナトリウム、ジクロフェナクナトリウム0.1%、フルオロメトロン、フルルビプロフェンナトリウム、ケトララ

10

20

30

40

50

クトロメタミン、酢酸プレドニゾロン（懸濁液）リン酸プレドニゾロンナトリウム（溶液）から選択される最低1種であり得る。最低1種の縮瞳薬は、塩化アセチルコリン、カルバコール（眼内）、カルバコール（局所）、ヨウ化エコチオファート、ピロカルピン、塩酸ピロカルピン、硝酸ピロカルピンから選択される最低1種であり得る。最低1種の散瞳薬は、硫酸アトロピン、塩酸シクロペントラート、塩酸エピネフリン、ホウ酸エピネフリル、臭化水素酸ホマトロピン、塩酸フェニレフリン、臭化水素酸スコポラミン、トロピカミドから選択される最低1種であり得る。最低1種の眼血管収縮薬は、塩酸ナファゾリン、塩酸オキシメタゾリン、塩酸テトラヒドロゾリンから選択される最低1種であり得る。最低1種の雑多な眼科用薬は、塩酸アプラクロニジン、塩酸ベタキソロール、酒石酸プリモニジン、塩酸カルテオロール、塩酸ジピペフリン、塩酸ドルゾラミド、フマル酸エメダスチン、フルオレセインナトリウム、フマル酸ケトチフェン、ラタノプロスト、塩酸レボブノロール、塩酸メチプラノロール、塩化ナトリウム（高張）、マレイン酸チモロールから選択される最低1種であり得る。最低1種の耳用薬は、ホウ酸、過酸化カルバミド、クロラムフェニコール、オレイン酸トリエタノールアミンポリペプチド縮合物（*triet hanolamine polypeptide oleate-condensate*）から選択される最低1種であり得る。最低1種の鼻用薬は、プロピオン酸ベクロメタゾン、ブデソニド、硫酸エフェドリン、塩酸エピネフリン、フルニソリド、プロピオン酸フルチカゾン、塩酸ナファゾリン、塩酸オキシメタゾリン、塩酸フェニレフリン、塩酸テトラヒドロゾリン、トリアムシノロンアセトニド、塩酸キシロメタゾリンから選択される最低1種であり得る（例えば、*Nursing 2001 Drug Handbook*のpp. 1041 - 97を参照されたい。）。

10

20

【0130】

最低1種の局所抗感染薬は、アシクロビル、アムホテリシンB、アゼライン酸クリーム、バシトラシン、硝酸ブトコナゾール、リン酸クリンダマイシン、クロトリマゾール、硝酸エコナゾール、エリスロマイシン、硫酸ゲンタマイシン、ケトコナゾール、酢酸マフェニド、メトロニダゾール（局所）、硝酸ミコナゾール、ムピロシン、塩酸ナフチフィン、硫酸ネオマイシン、ニトロフラゾン、ナイスタチン、スルファジアジン銀、塩酸テルピナフィン、テルコナゾール、塩酸テトラサイクリン、チオコナゾール、トルナフテートから選択される最低1種であり得る。最低1種の抗疥癬薬若しくは殺シラミ薬は、クロタミトン、リンダン、ペルメトリンおよびピレトリンから選択される最低1種であり得る。最低1種の局所コルチコステロイドは、ジプロピオン酸ベタメタゾン、吉草酸ベタメタゾン、プロピオン酸クロベタゾール、デソニド、デスオキシメタゾン、デキサメサゾン、リン酸デキサメサゾンナトリウム、酢酸ジフロラゾン、フルオシノロンアセトニド、フルオシノニド、フルランドレノリド、プロピオン酸フルチカゾン、ハルシオニド、ヒドロコルチゾン、酢酸ヒドロコルチゾン、酪酸ヒドロコルチゾン、吉草酸ヒドロコルチゾン、フロ酸モメタゾン、トリアムシノロンアセトニドから選択される最低1種であり得る（例えば、*Nursing 2001 Drug Handbook*のpp. 1098 ~ 1136を参照されたい。）。

30

【0131】

最低1種のビタミン若しくはミネラルは、ビタミンA、ビタミンB群、シアノコバラミン、葉酸、ヒドロキソコバラミン、ロイコボリンカルシウム、ナイアシン、ナイアシンアミド、塩酸ピリドキシン、リボフラビン、塩酸チアミン、ビタミンC、ビタミンD、コレカルシフェロール、エルゴカルシフェロール、ビタミンDアナログ、ドキセルカルシフェロール、パリカルシトール、ビタミンE、ビタミンKアナログ、フィトナジオン、フッ化ナトリウム、フッ化ナトリウム（局所）、微量元素、クロム、銅、ヨウ素、マンガン、セレン、亜鉛から選択される最低1種であり得る。最低1種の熱素は、アミノ酸輸液（結晶）、D-ブドウ糖中アミノ酸輸液、電解質を含むアミノ酸輸液、D-ブドウ糖中電解質を含むアミノ酸輸液、肝不全のためのアミノ酸輸液、高代謝性侵襲のためのアミノ酸輸液、腎不全のためのアミノ酸輸液、D-ブドウ糖、脂肪乳剤、中鎖トリグリセリドから選択される最低1種であり得る（例えば、*Nursing 2001 Drug Handbo*

40

50

o k の p p . 1 1 3 7 ~ 6 3 を 参 照 さ れ たい。) 。

【 0 1 3 2 】

本発明はまた、最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはリアントを含んでなる組成物若しくは製薬学的組成物のいずれかの適するかつ/若しくは有効な量の最低1種も提供し、場合によっては、最低1種のTNFアンタゴニスト(限定されるものでないがTNFの化学物質若しくはタンパク質アンタゴニスト、TNFのモノクローナル若しくはポリクローナル抗体またはフラグメント、可溶性TNF受容体(例えばp55、p70若しくはp85)またはフラグメント、それらの融合ポリペプチド、あるいは小分子TNFアンタゴニスト、例えばTNF結合タンパク質I若しくはII(TBP-1若しくはTBP-II)、ネレリモンマブ、インフリキシマブ、エンテラセプト、CDP-571、CDP-870、アフエリモマブ、レネルセプトなどを挙げることができる)、抗リウマチ薬(例えばメトトレキサート、オーラノフィン、金チオグルコース、アザチオプリン、エタネルセプト、金チオリンゴ酸ナトリウム、硫酸ヒドロキシクロロキン、レフルノミド、スルファサルジン)、筋弛緩薬、麻薬、非ステロイド性抗炎症薬(NSAID)、鎮痛薬、麻酔薬、鎮静薬、局所麻酔薬、神経筋遮断薬、抗菌薬(例えばアミノグリコシド、抗真菌薬、抗寄生虫薬、抗ウイルス薬、カルバペネム、セファロsporin、フルロキノロン、マクロライド、ペニシリン、スルホンアミド、テトラサイクリン、別の抗菌薬)、抗乾癬薬、コルチコステロイド、蛋白同化ステロイド、糖尿病関連薬、ミネラル、栄養薬、甲状腺薬、ビタミン、カルシウム関連ホルモン、止瀉薬、鎮咳薬、制吐剤、抗潰瘍薬、緩下剤、抗凝固薬、エリスロポエチン(例えばエポエチン)、フィルグラスチム(例えばG-CSF、Neupogen)、サルグラモスチム(GM-CSF、Leukine)、免疫化、免疫グロブリン、免疫抑制薬(例えばバシリキシマブ、シクロスポリン、ダクリズマブ)、成長ホルモン、ホルモン補充薬、エストロゲン受容体調節物質、散瞳薬、毛様筋調節薬、アルキル化剤、代謝拮抗薬、有糸分裂阻害剤、放射性医薬品、抗うつ薬、抗躁薬、抗精神病薬、抗不安薬、睡眠薬、交感神経興奮薬、興奮剤、ドネベジル、タクリン、喘息医薬品、アゴニスト、吸入ステロイド、ロイコトリエン阻害剤、メチルキサンチン、クロモリン、エピネフリン若しくはアナログ、ドルナーゼ(Pulmozyme)、サイトカインあるいはサイトカインアンタゴニストから選択される最低1種のさらなる化合物、タンパク質若しくは組成物の有効量をさらに含んでなる。こうしたサイトカインの制限しない例は、限定されるものでないがIL-1ないしIL-23のいずれかを挙げることができる。適する投薬量は当該技術分野で公知である。例えば、Wellsら編、Pharmacotherapy Handbook、第2版、Appleton and Lange、コネチカット州スタンフォード(2000); PDR Pharmacopoeia, Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2000、豪華版、Tarascon Publishing、カリフォルニア州ロマリダ(2000)(それらの参考文献のそれぞれは引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる)を参照されたい。

10

20

30

【 0 1 3 3 】

こうした組成物はまた、本発明の最低1種の抗体若しくはポリペプチドと会合、結合、共処方若しくは共投与される毒素分子も包含し得る。毒素は、場合によっては、病的な細胞若しくは組織を選択的に殺すように作用し得る。該病的な細胞は癌若しくは他の細胞であり得る。こうした毒素は、限定されるものでないが、例えばリシン、ジフテリア毒素、蛇毒若しくは細菌毒素の最低1種から選択される、精製された若しくは組換えの毒素、または毒素の最低1種の機能的細胞傷害性ドメインを含んでなる毒素フラグメントを挙げることができる。毒素という用語はまた、死をもたらし得る毒性ショックを包含するヒトおよび他の哺乳動物におけるいずれかの病理学的状態を引き起こしうるいずれかの天然に存在する、変異体若しくは組換えの細菌若しくはウイルスにより産生される内毒素および外毒素双方も包含する。こうした毒素は、限定されるものでないが、腸管毒素原性大腸菌(E. coli)の熱不安定性エンテロトキシン(LT)、熱安定性エンテロトキシン(ST)、シゲラ属(Shigella)細胞毒、アエロモナス属(Aeromonas)エ

40

50

ンテロトキシン、毒性ショック症候群トキシン - 1 (TSST - 1)、ブドウ球菌 (*Staphylococcal*) エンテロトキシン A (SEA)、B (SEB) 若しくは C (SEC)、連鎖球菌 (*Streptococcal*) エンテロトキシンなどを挙げることができる。こうした細菌は、限定されるものでないが、腸管毒素原性大腸菌 (*E. coli*) (ETEC)、腸出血性大腸菌 (*E. coli*) (例えば血清型 O157:H7 の株) のスピーシーズ、ブドウ球菌属 (*Staphylococcus*) スピーシーズ (例えば黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*))、スタフィロコッカス ポジェンス (*Staphylococcus pyogenes*)、シゲラ属 (*Shigella*) スピーシーズ (例えば志賀赤痢菌 (*Shigella dysenteriae*)、フレクスナー赤痢菌 (*Shigella flexneri*)、ボイド赤痢菌 (*Shigella boydii*) およびソネ赤痢菌 (*Shigella sonnei*))、サルモネラ属 (*Salmonella*) スピーシーズ (例えばチフス菌 (*Salmonella typhi*)、豚コレラ菌 (*Salmonella cholera-suis*)、腸炎菌 (*Salmonella enteritidis*))、クロストリジウム属 (*Clostridium*) スピーシーズ (例えばウェルシュ菌 (*Clostridium perfringens*)、クロストリジウム デイフィシレ (*Clostridium difficile*)、ボツリヌス菌 (*Clostridium botulinum*))、カンフロバクター属 (*Camphlobacter*) スピーシーズ (例えばカンフロバクター ジェジュニ (*Camphlobacter jejuni*)、カンフロバクター フェツス (*Camphlobacter fetus*))、ヘリコバクター属 (*Helicobacter*) スピーシーズ (例えばヘリコバクター ピロリ (*Helicobacter pylori*))、アエロモナス属 (*Aeromonas*) スピーシーズ (例えばアエロモナス ソブリア (*Aeromonas sobria*)、アエロモナス ヒドロフィラ (*Aeromonas hydrophila*)、アエロモナス カビエ (*Aeromonas caviae*))、プレイソモナス シゲロイデス (*Pleisomonas shigelloides*)、エルジニア エンテロコリチカ (*Yersinia enterocolitica*)、ビブリオ属 (*Vibriosis*) スピーシーズ (例えばコレラ菌 (*Vibriosis cholerae*)、ビブリオ パラヘモリティクス (*Vibriosis parahemolyticus*))、クレブシエラ属 (*Klebsiella*) スピーシーズ、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) および連鎖球菌 (*Streptococci*) の株を挙げることができる。例えば、Stein 編、INTERNAL MEDICINE、第 3 版、pp 1 - 13、Little, Brown and Co., Boston, (1990); Evans 編、Bacterial Infections of Humans: Epidemiology and Control、第 2 版、pp 239 - 254、Plenum Medical Book Co., ニューヨーク (1991); Mandell 編、Principles and Practice of Infectious Diseases、第 3 版、Churchill Livingstone, ニューヨーク (1990); Berkow 編、The Merck Manual、第 16 版、Merck and Co., ニュージャージー州ローウェー、1992; Wood 編、FEMS Microbiology Immunology、76: 121 - 134 (1991); Marrack 編、Science、248: 705 - 711 (1990) (それらの参考文献の内容は引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる) を参照されたい。

【0134】

本発明の GLP - 1 ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションの組成物は、限定されるものでないが希釈剤、結合剤、安定剤、緩衝剤、塩、親油性溶媒、保存剤、アジュバントなどを挙げることができるいずれかの適する補助物質の最低 1 種をさらに含み得る。製薬学的に許容できる補助物質が好ましい。こうした滅菌溶液の制限しない例および製造方法は、限定されるものでないが、Gennaro 編、Remington'

s Pharmaceutical Sciences、第18版、Mack Publishing Co. (ペンシルバニア州イーストン) 1990を挙げる事ができる当該技術分野で公知である。当該技術分野で公知若しくは本明細書に記述されるところのGLP-1ミメティポディ組成物の投与様式、溶解性および/若しくは安定性に適する製薬学的に許容できる担体は、慣例に選択し得る。

【0135】

本組成物で有用な製薬学的賦形剤および添加物は、限定されるものでないが、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、脂質ならびに炭水化物(例えば、単糖、二、三、四およびオリゴ糖を包含する糖;アルジトール、アルドン酸、エステル化糖などのような誘導体化された糖;ならびに多糖若しくは糖ポリマー)を挙げる事ができ、それらは単独で若しくは組合せで存在し得、単独若しくは組合せで1~99.99重量若しくは容量%を含んでなる。例示的タンパク質賦形剤は、ヒト血清アルブミン(HSA)のような血清アルブミン、組換えヒトアルブミン(rHA)、ゼラチン、カゼインなどを包含する。緩衝能力においてもまた機能し得る代表的なアミノ酸/GLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーション成分は、アラニン、グリシン、アルギニン、ペタイン、ヒスチジン、グルタミン酸、アスパラギン酸、システイン、リシン、ロイシン、イソロイシン、バリン、メチオニン、フェニルアラニン、アスパルテームなどを包含する。1種の好ましいアミノ酸はグリシンである。

10

【0136】

本発明での使用に適する炭水化物賦形剤は、例えば、果糖、麦芽糖、ガラクトース、ブドウ糖、D-マンノース、ソルボースなどのような単糖;乳糖、ショ糖、トレハロース、セロビオースなどのような二糖;ラフィノース、メレジトース、マルトデキストリン、デキストラン、デンプンなどのような多糖;およびマンニトール、キシリトール、マルチトール、ラクチトール、キシリトールソルビトール(グルチトール)、ミオイノシトールなどのようなアルジトールを包含する。本発明での使用に好ましい炭水化物賦形剤は、マンニトール、トレハロースおよびラフィノースである。

20

【0137】

GLP-1ミメティポディ組成物は緩衝剤すなわちpH調節剤もまた包含し得;典型的には、緩衝剤は有機酸若しくは塩基から調製される塩である。代表的な緩衝剤は、クエン酸、アスコルビン酸、グルコン酸、炭酸、酒石酸、コハク酸、酢酸若しくはフタル酸の塩のような有機酸の塩;トリス、塩酸トロメタミン若しくはリン酸緩衝液を包含する。本組成物での使用に好ましい緩衝剤はクエン酸塩のような有機酸塩である。

30

【0138】

加えて、本発明のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションの組成物は、ポリビニルピロリドン、フィコール(ポリマー糖)、デキストレート(dextrate)(例えば2-ヒドロキシプロピル-シクロデキストリンのようなシクロデキストリン)、ポリエチレングリコール、香味料、抗菌剤、甘味料、抗酸化剤、帯電防止剤、界面活性剤(例えば「TWEEN 20」および「TWEEN 80」のようなポリソルベート)、脂質(例えばリン脂質、脂肪酸)、ステロイド(例えばコレステロール)ならびにキレート剤(例えばEDTA)のようなポリマー性賦形剤/添加物を包含し得る。

40

【0139】

本発明のGLP-1ミメティポディ組成物での使用に適するこれらならびに付加的な既知の製薬学的賦形剤および/若しくは添加物は、例えば「Remington: The Science & Practice of Pharmacy」、第19版、Williams & Williams、(1995)および「Physician's Desk Reference」、第52版、Medical Economics、ニュージャージー州モントベール(1998)(それらの開示は引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる)に列挙されるとおり当該技術分野で既知である。好ましい担体若しくは賦形剤物質は、炭水化物(例えば単糖類およびアルジトール)ならびに

50

緩衝剤（例えばクエン酸塩）若しくはポリマー剤である。

【0140】

製剤。上に示されたとおり、本発明は、製薬学的に許容できる製剤中に最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションを含んでなる、製薬学的若しくは家畜の使用に適する生理的食塩水若しくは選ばれた塩を含む適する緩衝剤を好ましくは包含し得る安定な製剤、ならびに、保存剤を含有する任意の保存される溶液および製剤、ならびに多回使用の保存される製剤を提供する。保存される製剤は、水性希釈剤中に、最低1種の既知の、または最低1種のフェノール、m-クレゾール、p-クレゾール、o-クレゾール、クロロクレゾール、ベンジルアルコール、硝酸フェニル水銀、フェノキシエタノール、ホルムアルデヒド、クロロブタノール、塩化マグネシウム（例えば六水和物）、アルキルパラベン（メチル、エチル、プロピル、ブチルなど）、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、デヒドロ酢酸ナトリウムおよびチメロサルよりなる群から任意に選択される保存剤、若しくはそれらの混合物を含有する。限定されるものでないが0.001、0.003、0.005、0.009、0.01、0.02、0.03、0.05、0.09、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4.0、4.3、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9またはその中のいずれかの範囲若しくは値を挙げることができる0.001~5%またはその中のいずれかの範囲若しくは値のような当該技術分野で既知のところのいかなる適する濃度若しくは混合物も使用し得る。制限しない例は、保存剤なし、0.1~2% m-クレゾール（例えば0.2、0.3、0.4、0.5、0.9、1.0%）、0.1~3%ベンジルアルコール（例えば0.5、0.9、1.1、1.5、1.9、2.0、2.5%）、0.001~0.5%チメロサル（例えば0.005、0.01）、0.001~2.0%フェノール（例えば0.05、0.25、0.28、0.5、0.9、1.0%）、0.0005~1.0%アルキルパラベン（1種若しくは複数）（例えば0.00075、0.0009、0.001、0.002、0.005、0.0075、0.009、0.01、0.02、0.05、0.075、0.09、0.1、0.2、0.3、0.5、0.75、0.9、1.0%）などを包含する。

10

20

30

【0141】

上に示されたとおり、本発明は、包装資材、ならびに場合によっては水性希釈剤中の処方された緩衝剤および/若しくは保存剤とともに最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションの溶液を含んでなる最低1本のバイアルを含んでなる製品を提供し、前記包装資材は、こうした溶液を1、2、3、4、5、6、9、12、18、20、24、30、36、40、48、54、60、66、72時間若しくはそれ以上にわたり保持し得ることを示すラベルを含んでなる。本発明はさらに、包装資材、凍結乾燥した最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションを含んでなる第一のバイアル、および処方された緩衝剤若しくは保存剤の水性希釈剤を含んでなる第二のバイアルを含んでなる製品を含んでなり、前記包装資材は、該最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションを水性希釈剤中で再構成して24時間若しくはそれ以上にわたり保持し得る溶液を形成することを患者に指図するラベルを含んでなる。

40

【0142】

本発明で使用される最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションは、本明細書に記述されるか若しくは当該技術分野で既知であるとおりに、哺乳動物細胞若しくはトランスジェニックの調製物からを包含する組換え手段により製造し得るか、または他の生物学的供給源から精製し得る。

【0143】

本発明の生成物中の最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しく

50

はバリエーションの量の範囲は、再構成に際して生じる量、すなわち湿潤/乾燥系での場合は約 $1.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ から約 $1000 \text{mg}/\text{ml}$ までの濃度を包含するとは言え、より低いおよびより高い濃度が操作可能であり、そして意図される送達ベヒクルに依存し、例えば、溶液製剤は、経皮貼付剤、肺、経粘膜、または浸透圧若しくはマイクロポンプ法と異なることができる。

【0144】

好ましくは、水性希釈剤は、製薬学的に許容できる保存剤を場合によってはさらに含んでなる。好ましい保存剤は、フェノール、*m*-クレゾール、*p*-クレゾール、*o*-クレゾール、クロロクレゾール、ベンジルアルコール、アルキルパラベン（メチル、エチル、プロピル、ブチルなど）、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、デヒドロ酢酸ナトリウムおよびチメロサル、若しくはそれらの混合物よりなる群から選択されるものを包含する。製剤中で使用される保存剤の濃度は抗菌効果を生じるのに十分な濃度である。こうした濃度は選択した保存剤に依存し、そして当業者により容易に決定される。

10

【0145】

他の賦形剤、例えば等張剤、緩衝剤、抗酸化剤、保存増強剤を、場合によってはかつ好ましくは希釈剤に添加し得る。グリセリンのような等張剤は一般に既知濃度で使用する。生理学的に耐えられる緩衝剤を、好ましくは、改良されたpH制御を提供するために添加する。製剤は、約pH4から約pH10までのような広範囲のpH、および約pH5から約pH9までの好ましい範囲、および約6.0ないし約8.0の最も好ましい範囲を包括し得る。好ましくは、本発明の製剤は約6.8と約7.8の間のpHを有する。好ましい緩衝剤はリン酸緩衝液、最も好ましくはリン酸ナトリウム、とりわけリン酸緩衝生理的食塩水（PBS）を包含する。

20

【0146】

Tween 20（ポリオキシエチレン（20）ソルビタンモノラウレート）、Tween 40（ポリオキシエチレン（20）ソルビタンモノパルミテート）、Tween 80（ポリオキシエチレン（20）ソルビタンモノオレエート）、Pluronic F68（ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロックコポリマー）およびPEG（ポリエチレングリコール）のような製薬学的に許容できる可溶化剤、あるいはポリソルベート20若しくは80またはポロキサマー184若しくは188、Pluronic多価アルコール、他のブロックコポリマーのような非イオン性界面活性剤、ならびにEDTAおよびEGTAのようなキレート剤のような他の添加物を、凝集を低下させるために該製剤若しくは組成物に場合によっては添加し得る。これらの添加物は、ポンプ若しくはプラスチック容器を使用して製剤を投与する場合にとりわけ有用である。製薬学的に許容できる界面活性剤の存在は、タンパク質が凝集する傾向を緩和する。

30

【0147】

本発明の製剤は、最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーション、ならびにフェノール、*m*-クレゾール、*p*-クレゾール、*o*-クレゾール、クロロクレゾール、ベンジルアルコール、アルキルパラベン（メチル、エチル、プロピル、ブチルなど）、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、デヒドロ酢酸ナトリウムおよびチメロサルよりなる群から選択される保存剤、若しくはそれらの混合物を水性希釈剤中で混合することを含んでなる方法により製造し得る。最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションおよび保存剤を水性希釈剤中で混合することは、慣習的溶解および混合手順を使用して実施する。適する製剤を製造するため、例えば、緩衝溶液中の測定された量の最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションを、所望の濃度のタンパク質および保存剤を提供するのに十分な量で緩衝溶液中で所望の保存剤と組み合わせる。この方法の変形が当業者により認識されるであろう。例えば、成分を添加する順序、付加的な添加物を使用するかどうか、製剤を製造する温度およびpHは、全部、使用される濃度および投与手段について最適化する因子である。

40

【0148】

50

特許請求される製剤は、澄明な溶液として、あるいは、水性希釈剤中に水、保存剤ならびに/または賦形剤、好ましくはリン酸緩衝液および/若しくは生理的食塩水ならびに選ばれた塩を含有する第二のバイアルで再構成される、凍結乾燥した最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションのバイアルを含んでなる2本のバイアルとして、患者に提供し得る。単一の溶液バイアル若しくは再構成を必要とする2本のバイアルのいずれも複数回再使用し得、かつ、単一若しくは複数周期の患者処置に十分であり得、そして従って現在利用可能よりも便宜的な処置レジメンを提供し得る。

【0149】

本特許請求される製品は、即座ないし24時間若しくはそれ以上にわたる投与に有用である。従って、現在特許請求される製品は患者に大きな利点を提供する。本発明の製剤は、場合によっては約2から約40までの温度で安全に保存し得かつタンパク質の生物学的活性を長期間保持し得、従って、包装ラベルが6、12、18、24、36、48、72若しくは96時間またはそれ以上にわたり該溶液を保持かつ/若しくは使用し得ることを示すことを可能にする。保存される希釈剤を使用する場合、こうしたラベルは、1~12か月、半年、1年半および/若しくは2年の最低1種までの使用を包含し得る。

10

【0150】

本発明の最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションの溶液は、最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションを水性希釈剤中で混合することを含んでなる方法により製造し得る。混合することは、慣習的溶解および混合手順を使用して実施する。適する希釈剤を製造するため、例えば、水若しくは緩衝液中の測定された量の最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションを、所望の濃度のタンパク質および場合によっては保存剤若しくは希釈剤を提供するのに十分な量で組み合わせる。この方法の変形が当業者により認識されるであろう。例えば、成分を添加する順序、付加的な添加物を使用するかどうか、製剤を製造する温度およびpHは、全部、使用される濃度および投与手段について最適化する因子である。

20

【0151】

特許請求される製品は、澄明な溶液として、あるいは、水性希釈剤を含有する第二のバイアルで再構成される凍結乾燥した最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションのバイアルを含んでなる2本のバイアルとして、患者に提供し得る。単一の溶液バイアル若しくは再構成を必要とする2本のバイアルのいずれも複数回再使用し得、かつ、単一若しくは複数周期の患者処置に十分であり得、そして従って現在利用可能よりも便宜的な処置レジメンを提供する。

30

【0152】

特許請求される製品は、澄明な溶液、あるいは、水性希釈剤を含有する第二のバイアルで再構成される凍結乾燥した最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションのバイアルを含んでなる2本のバイアルを、薬局、診察室、若しくは他のこうした施設(institution)および施設(facility)に提供することにより、患者に間接的に提供し得る。この場合の澄明な溶液は、大きさが1リットルまで若しくはより大きくさえあり得、最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーション溶液のより小さい部分を、薬局若しくは診察室により、より小さいバイアルへの移動のため1回若しくは複数回取り出し得かつそれらの顧客および/若しくは患者に提供し得る、大型のリザーバを提供する。

40

【0153】

これらの単一バイアル系を含んでなる認識される装置は、Humaject^(R)、Novopen^(R)、B-D^(R)Pen、Autopen^(R)およびOptipen^(R)のような溶液の送達のためのペン注入器装置を包含する。2本のバイアル系を含んでなる認識される装置は、HumatroPen^(R)のような再構成した溶液の送達のためカートリッジ中で凍結乾燥した薬物を再構成するためのペン注入器装置を包含する。

【0154】

50

現在特許請求される製品は包装資材を包含する。包装資材は、規制当局により必要とされる情報に加え、該製品を使用し得る条件を提供する。本発明の包装資材は、2本のバイアルすなわち湿潤/乾燥製品について、最低1種のGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションを水性希釈剤中で再構成して溶液を形成しかつ該溶液を2~24時間若しくはそれ以上にわたり使用するための患者に対する説明書を提供する。単一バイアルの溶液製品については、ラベルは、こうした溶液を2~24時間若しくはそれ以上にわたり使用し得ることを示す。現在特許請求される製品はヒトの製薬学的製品の使用に有用である。

【0155】

本発明の製剤は、最低1種のGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションおよび選択された緩衝液、好ましくは生理的食塩水若しくは選ばれた塩を含有するリン酸緩衝液を混合することを含んでなる方法により製造し得る。最低1種のGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションおよび緩衝剤を水性希釈剤中で混合することは、慣習的な溶解および混合手順を使用して実施する。適する製剤を製造するため、例えば、水若しくは緩衝液中の測定された量の最低1種のGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションを、所望の濃度のタンパク質および緩衝剤を提供するのに十分な量で、水中の所望の緩衝剤と組み合わせる。この方法の変形が当業者により認識されるであろう。例えば、成分を添加する順序、付加的な添加物を使用するかどうか、製剤を製造する温度およびpHは、全部、使用される濃度および投与手段について最適化し得る因子である。

【0156】

特許請求される安定なすなわち保存される製剤は、澄明な溶液として、あるいは、水性希釈剤中に保存剤若しくは緩衝液および賦形剤を含有する第二のバイアルで再構成される凍結乾燥した最低1種のGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションのバイアルを含んでなる2本のバイアルとして、患者に提供し得る。単一の溶液バイアル若しくは再構成を必要とする2本のバイアルのいずれも複数回再使用し得、かつ、単一若しくは複数周期の患者処置に十分であり得、そして従って現在利用可能よりも便宜的な処置レジメンを提供する。

【0157】

本明細書に記述される安定なすなわち保存される製剤若しくは溶液のいずれか中の最低1種のGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションは、当該技術分野で公知のところの、SC若しくはIM注入；経皮、肺、経粘膜、植込物、浸透圧ポンプ、カートリッジ、マイクロポンプまたは当業者により認識される他の手段を包含する多様な送達方法を介して、本発明により患者に投与し得る。

【0158】

治療的応用。ミメティボディについての本発明はまた、細胞、組織、器官、動物若しくは患者における、限定されるものでないがインスリン抵抗性、高血糖、低血糖、膵炎、スリング(Sushing)症候群、黒色表皮症、脂肪萎縮性(lipoatrophy)糖尿病、網膜症、腎症、多発ニューロパシー、単神経障害、自律神経ニューロパシー、潰瘍、足潰瘍、関節の問題、感染症(例えば真菌若しくは細菌)などを挙げることができる関連する兆候および症状を包含する、糖尿病、すなわち成人発症若しくは若年発症型、インスリン依存型、インスリン非依存型などを包含するI型若しくはII型糖尿病の調節若しくは処置方法も提供する。

【0159】

本発明はまた、限定されるものでないが、限定されるものでないがインスリン抵抗性、高血糖、低血糖、膵炎、スリング症候群、黒色表皮症、脂肪萎縮性糖尿病、網膜症、腎症、多発ニューロパシー、単神経障害、自律神経ニューロパシー、潰瘍、足潰瘍、関節の問題、感染症(例えば真菌若しくは細菌)などを挙げることができる関連する兆候および症状を包含する、成人発症若しくは若年発症型、インスリン依存型、インスリン非依存型などを包含するI型若しくはII型糖尿病の最低1種を挙げることができる、細胞、組織、

器官、動物若しくは患者における最低1種の糖尿病関連の免疫関連疾患の調節若しくは処置方法も提供する。例えば、Merck Manual、第12～17版、Merck & Company、ニュージャージー州ローウェー(1972、1977、1982、1987、1992、1999)、Pharmacotherapy Handbook、Wellsら編、第2版、Appleton and Lange、コネチカット州スタンフォード(1998、2001)(それぞれ引用することによりそっくりそのまま組み込まれる)を参照されたい。

【0160】

こうした方法は、場合によっては、最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションを含んでなる最低1種の組成物若しくは製薬学的組成物の有効量を、こうした調節、処置若しくは治療に必要な細胞、組織、器官、動物若しくは患者に投与することを含み得る。

10

【0161】

本発明はまた、限定されるものでないが心失神(stun)症候群、心筋梗塞、うっ血性心不全、卒中、虚血性卒中、出血、動脈硬化症、アテローム硬化症、糖尿病性動脈硬化性疾患、高血圧症、動脈高血圧症、腎血管系性高血圧症、失神(syncope)、ショック、心血管系の梅毒、心不全、肺性心、原発性肺高血圧症、心不整脈、動脈の異所性収縮、心房粗動、心房細動(持続性若しくは発作性)、無秩序若しくは多病巣性心房性頻脈、規則的な幅の狭いQRS頻脈、特定の不整脈、心室細動、His束不整脈、房室ブロック、脚ブロック、心筋虚血性障害、冠動脈疾患、狭心症、心筋梗塞、心筋症、拡張型うっ血性心筋症、拘束型心筋症、弁膜心疾患、心内膜炎、心膜疾患、心腫瘍、大動脈および末梢動脈瘤、大動脈解離、大動脈の炎症、腹部大動脈およびその側枝の閉塞、末梢血管障害、閉塞性動脈障害、末梢アテローム硬化性(atherlosclerotic)疾患、閉塞性血栓性血管炎、機能的末梢動脈障害、レイノー現象およびレイノー病、肢端チアノーゼ、肢端紅痛症、静脈疾患、静脈血栓症、静脈瘤、動静脈瘻、リンパ水腫、脂肪性浮腫、不安定型狭心症、再灌流傷害、ポンプ後症候群、虚血-再灌流傷害などの最低1種を挙げることができる、細胞、組織、器官、動物若しくは患者における最低1種の心血管疾患の調節若しくは処置方法も提供する。こうした方法は、最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションを含んでなる組成物若しくは製薬学的組成物の有効量を、こうした調節、処置若しくは治療に必要な細胞、組織、器官、動物若しくは患者に投与することを含み得る。

20

30

【0162】

本発明のいずれの方法も、最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションを含んでなる組成物若しくは製薬学的組成物の有効量を、こうした調節、処置若しくは治療に必要な細胞、組織、器官、動物若しくは患者に投与することを含み得る。こうした方法は、場合によっては、前記最低1種のGLP-1ミメティポディ、その指定された部分若しくはバリエーションの投与が、最低1種のTNFアンタゴニスト(限定されるものでないがTNF抗体若しくはフラグメント、可溶性TNF受容体若しくはフラグメント、それらの融合タンパク質、または小分子TNFアンタゴニストを挙げることができる)、抗リウマチ薬、筋弛緩薬、麻薬、非ステロイド性抗炎症薬(NSAID)、鎮痛薬、麻酔薬、鎮静薬、局所麻酔薬、神経筋遮断薬、抗菌薬(例えばアミノグリコシド、抗真菌薬、抗寄生虫薬、抗ウイルス薬、カルバペネム、セファロsporin、フルオルキノロン、マクロライド、ペニシリン、スルホンアミド、テトラサイクリン、別の抗菌薬)、抗乾癬薬、コルチコステロイド、蛋白同化ステロイド、糖尿病関連薬、ミネラル、栄養薬、甲状腺薬、ビタミン、カルシウム関連ホルモン、止瀉薬、鎮咳薬、制吐剤、抗潰瘍薬、緩下剤、抗凝固薬、エリスロポエチン(例えばGLP-1エチン(GLP-1etin))、フィルグラスチム(例えばG-CSF、Neupogen)、サルグラモスチム(GM-CSF、Leukine)、免疫化、免疫グロブリン、免疫抑制薬(例えばバシリキシマブ、シクロスポリン、ダクリズマブ)、成長ホルモン、ホルモン補充薬、エストロゲン受容体調節物質、散瞳薬、毛様筋調節薬、アルキル化剤、代謝拮抗薬、有糸分裂阻

40

50

害剤、放射性医薬品、抗うつ薬、抗躁薬、抗精神病薬、抗不安薬、睡眠薬、交感神経興奮薬、興奮剤、ドネペジル、タクリン、喘息医薬品、アゴニスト、吸入ステロイド、ロイコトリエン阻害剤、メチルキサンチン、クロモリン、エピネフリン若しくはアナログ、ドルナーゼ (Pulmozyme)、サイトカインまたはサイトカインアンタゴニストから選択される最低1種の前同時および/若しくは後に投与することをさらに含んでなる、こうした免疫疾患を処置するための共投与若しくは併用療法をさらに含み得る。適する投薬量は当該技術分野で公知である。例えば、Wellsら編、Pharmacotherapy Handbook、第2版、Appleton and Lange、コネチカット州スタンフォード(2000); PDR Pharmacopoeia, Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2000、豪華版、Tarascon Publishing、カリフォルニア州ロマリダ(2000)(それらの参考文献のそれぞれは引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる)を参照されたい。

10

【0163】

ミメティポディは、自己骨髄培養物中のような *ex vivo* でもまた使用し得る。簡潔には、骨髄を化学療法前に患者から取り出し、そして、場合によってはミメティポディとともに、場合によっては1種若しくはそれ以上の付加的なサイトカインとともに、TPOおよび/若しくはGLP-1で処理する。処理した骨髄をその後、化学療法後に患者に戻して骨髄の回復を加速する。加えて、単独ならびにGLP-1ミメティポディおよび/若しくはGLP-1と組合せのTPOは、骨髄若しくは末梢血前駆体(PBPC)細胞の *ex vivo* 増殖にもまた使用し得る。化学療法処置の前に、骨髄を幹細胞因子(SCF)若しくはG-CSFで刺激して早期前駆体細胞を末梢循環中に放出させ得る。これらの前駆細胞を場合によっては末梢血から収集しかつ濃縮し、そしてその後、場合によっては、限定されるものでないがSCF、G-CSF、IL-3、GM-CSF、IL-6若しくはIL-11を挙げることができる1種若しくはそれ以上の他のサイトカインと組合せのTPOおよびミメティポディで培養物中で処理して、高密度巨核球培養物に分化かつ増殖させ、それを場合によってはその後、高用量化学療法後の患者に戻す。骨髄の *ex vivo* 処置のためのTPOの用量は、100pg/mlないし10ng/ml、好ましくは500pg/mlないし3ng/mlの範囲にあることができる。ミメティポディの用量はGLP-1に対する活性において同等であることができ、0.1単位/mlから20単位/mlまで、好ましくは0.5単位/mlから2単位/mlまで、またはその中のいずれかの範囲若しくは値で使用し得る。

20

30

【0164】

本発明の組成物、併用療法、共投与、装置および/若しくは方法に適するTNFアンタゴニスト(本発明の最低1種の抗体、その指定された部分およびバリエーションをさらに含んでなる)は、限定されるものでないが、抗TNF抗体、それらのリガンド結合フラグメント、およびTNFに特異的に結合する受容体分子; サリドマイド、テニダップ、ホスホジエステラーゼ阻害剤(例えばベントキシフィリンおよびロリプラム)、A2bアデノシン受容体アゴニストならびにA2bアデノシン受容体増強物質のような、TNF合成、TNFの放出若しくは標的細胞に対するその作用を予防かつ/若しくは阻害する化合物; マイトジェン活性化タンパク質(MAP)キナーゼ阻害剤のようなTNF受容体のシグナル伝達を予防かつ/若しくは阻害する化合物; メタロプロテイナーゼ阻害剤のような膜TNF切断を遮断かつ/若しくは阻害する化合物; アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害剤(例えばカプトプリル)のようなTNF活性を遮断かつ/若しくは阻害する化合物; ならびにMAPキナーゼ阻害剤のようなTNFの産生および/若しくは合成を遮断かつ/若しくは阻害する化合物を挙げることができる。

40

【0165】

本明細書で使用されるところの「腫瘍壊死因子抗体」、「TNF抗体」、「TNF抗体」若しくはフラグメントなどは、TNF活性を *in vitro*、*in situ* および/若しくは好ましくは *in vivo* で低下、遮断、阻害、廃止若しくは妨害する。

50

例えば、本発明の適するTNFヒト抗体はTNFを結合し得、そして、抗TNF抗体、それらの抗原結合フラグメント、およびTNFに特異的に結合するそれらの指定された変異体若しくはドメインを包含する。適するTNF抗体若しくはフラグメントは、TNFのRNA、DNA若しくはタンパク質の合成、TNF放出、TNF受容体のシグナル伝達、膜TNF切断、TNF活性、TNF産生および/若しくは合成もまた低下遮断、廃止、妨害、予防かつ/若しくは阻害し得る。

【0166】

キメラ抗体cA2は、A2と称される高親和性中和するマウス抗ヒトTNF IgG1抗体の抗原結合可変領域、およびヒトIgG1の定常領域免疫グロブリンよりなる。ヒトIgG1Fc領域は、同種抗体のエフェクター機能を向上させ、循環血清半減期を延長し、そして抗体の免疫原性を低下させる。キメラ抗体cA2の親和性およびエピソード特異性はマウス抗体A2の可変領域に由来する。特定の一態様において、マウス抗体A2の可変領域をコードする核酸の好ましい供給源はA2ハイブリドーマ細胞株である。

10

【0167】

キメラA2(cA2)は、天然および組換え双方のヒトTNFの細胞傷害効果を用量依存性の様式で中和する。キメラ抗体cA2および組換えヒトTNFの結合アッセイから、キメラ抗体cA2の親和性定数は $1.04 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ であると計算された。競合的阻害によるモノクローナル抗体の特異性および親和性の好ましい測定方法は、Harlowら、Antibodies: A Laboratory Manual、Cold Spring Harbor Laboratory Press、ニューヨーク州コールドスプリングハーバー、1988; Colliganら編、Current Protocols in Immunology、Greene Publishing Assoc. and Wiley Interscience、ニューヨーク、(1992-2003); Kozborら、Immunol. Today、4: 72-79 (1983); Ausubelら編 Current Protocols in Molecular Biology、Wiley Interscience、ニューヨーク(1987-2003); および Muller、Meth. Enzymol.、92: 589-601 (1983) (それらの参考文献は引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる)に見出し得る。

20

30

【0168】

本発明で使用し得るモノクローナル抗TNF抗体の付加的な例は当該技術分野で記述されている(例えば、米国特許第5,231,024号明細書; Moeller, A.ら、Cytokine 2(3): 162-169 (1990); 米国特許出願第07/943,852号明細書(1992年9月11日出願); Rathjenら、国際特許公開第WO 91/02078号明細書(1991年2月21日公開); Rubinら、GLP-1の特許公開第0218868号明細書(1987年4月22日公開); Yoneら、GLP-1の特許公開第0288088号明細書(1988年10月26日); Liangら、Biochem. Biophys. Res. Comm. 137: 847-854 (1986); Meagerら、Hybridoma 6: 305-311 (1987); Fendlyら、Hybridoma 6: 359-369 (1987); Bringmanら、Hybridoma 6: 489-507 (1987); および Hiraiら、J. Immunol. Meth. 96: 57-62 (1987) (それらの参考文献は引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる)を参照されたい)。

40

【0169】

TNF受容体分子。本発明で有用な好ましいTNF受容体分子は、高親和性でTNFを結合し(例えば、Feldmannら、国際特許公開第WO 92/07076号明細書(1992年4月30日公開); Schallら、Cell 61: 361-370 (1990); および Loetscherら、Cell 61: 351-359 (1990

50

)(それらの参考文献は引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる)を参照されたい)かつ場合によっては低免疫原性を有するものである。とりわけ、55 kDa (p55 TNF-R)および75 kDa (p75 TNF-R)のTNF細胞表面受容体が本発明で有用である。該受容体の細胞外ドメイン(ECD)若しくはそれらの機能的部分を含んでなるこれらの受容体の切断型(例えばCorcoranら、Eur. J. Biochem. 223:831-840(1994)を参照されたい)もまた本発明で有用である。ECDを含んでなる切断型のTNF受容体は、尿および血清中で30 kDaおよび40 kDaのTNF阻害性結合タンパク質として検出されている(Engelmann, H.ら、J. Biol. Chem. 265:1531-1536(1990))。TNF受容体の多量体分子およびTNF免疫受容体融合分子、ならびにそれらの誘導体およびフラグメント若しくは部分は、本発明の方法および組成物で有用であるTNF受容体分子の付加的な例である。本発明で使用し得るTNF受容体分子は、症状の良好ないし優れた軽減および低毒性を伴い長期間患者を処置するそれらの能力を特徴とする。低免疫原性および/若しくは高親和性、ならびに他の定義されていない特性が、達成される治療成績に寄与しうる。

【0170】

本発明で有用なTNF受容体の多量体分子は、1種若しくはそれ以上のポリペプチドリンカー若しくはポリエチレングリコール(PEG)のような他の非ペプチドリンカーを介して結合された2種若しくはそれ以上のTNF受容体のECDの全部若しくは機能的一部分を含んでなる。該多量体分子は、該多量体分子の発現を指図する分泌型タンパク質のシグナルペプチドをさらに含み得る。これらの多量体分子およびそれらの製造方法は、米国特許出願第08/437,533号明細書(1995年5月9日出願)(その内容は引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる)に記述されている。

【0171】

本発明の方法および組成物で有用なTNF免疫受容体融合分子は、1種若しくはそれ以上の免疫グロブリン分子の少なくとも一部分および1種若しくはそれ以上のTNF受容体の全部若しくは機能的一部分を含んでなる。これらの免疫受容体融合分子は、単量体、またはヘテロ若しくはホモ多量体として集成され得る。免疫受容体融合分子はまた一価若しくは多価でもあり得る。こうしたTNF免疫受容体融合分子の一例はTNF受容体/IgG融合タンパク質である。TNF免疫受容体融合分子およびそれらの製造方法は、当該技術分野(Lesslerら、Eur. J. Immunol. 21:2883-2886(1991); Ashkenaziら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:10535-10539(1991); Peppelら、J. Exp. Med. 174:1483-1489(1991); Kollsら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:215-219(1994); Butlerら、Cytokine 6(6):616-623(1994); Bakerら、Eur. J. Immunol. 24:2040-2048(1994); Beutlerら、米国特許第5,447,851号明細書;および米国特許出願第08/442,133号明細書(1995年5月16日出願)(それらの参考文献のそれぞれは引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる))で記述されている。免疫受容体融合分子の製造方法は、Caponら、米国特許第5,116,964号明細書;Caponら、米国特許第5,225,538号明細書;およびCaponら、Nature 337:525-531(1989)(それらの参考文献は引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる)にもまた見出し得る。

【0172】

TNF受容体分子の機能的同等物、誘導体、フラグメント若しくは領域は、本発明で使用し得るTNF受容体分子に機能上似ている(例えば、高親和性でTNFを結合しかつ低免疫原性を有する)のに十分な大きさおよび配列のものである、TNF受容体分子の部分若しくはTNF受容体分子をコードするTNF受容体分子配列の部分を目指す。TNF受容体分子の機能的同等物はまた、本発明で使用し得るTNF受容体分子に機能的に似てい

10

20

30

40

50

る（例えば、高親和性でTNFを結合しかつ低免疫原性を有する）改変されたTNF受容体分子も包含する。例えば、TNF受容体分子の機能的同等物は、「サイレント」コドン、または1個若しくはそれ以上のアミノ酸置換、欠失若しくは付加（例えば、1個の酸性アミノ酸の代わりに別のアミノ酸の使用；またはある疎水性アミノ酸をコードする1コドンの代わりに同一若しくは異なる疎水性アミノ酸をコードする別のコドンの使用）を含有し得る。Ausubelら、Current Protocols in Molecular Biology、Greene Publishing Assoc. and Wiley-Interscience、ニューヨーク（1987-2003）を参照されたい。

【0173】

サイトカインは、限定されるものでないが全部の既知のサイトカインを挙げることができる。例えばCopewithCytokines.comを参照されたい。サイトカインアンタゴニストは、限定されるものでないが、いかなる抗体、フラグメント若しくは模倣物、いかなる可溶性の受容体、フラグメント若しくは模倣物、いかなる小分子アンタゴニスト、またはそれらのいかなる組合せも挙げることができる。

【0174】

本発明のいずれの方法も、最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションを含んでなる組成物若しくは製薬学的組成物の有効量を、こうした調節、処置若しくは治療に必要な細胞、組織、器官、動物若しくは患者に投与することを含んでなる、タンパク質媒介性の障害の処置方法を含み得る。こうした方法は、前記最低1種のGLP-1ミメティポディ、その指定された部分若しくはバリエーションの投与が、IL-3、-6および-11；幹細胞因子；G-CSFおよびGM-CSFのような最低1種の他のサイトカインから選択される最低1種を前同時かつ/若しくは後に投与することをさらに含んでなる、こうした免疫疾患を処置するための共投与若しくは併用療法を場合によってはさらに含み得る。

【0175】

典型的には、病理学的状態の処置は、組成物に含有されるの比活性に依存して、合計で平均して用量あたりに患者1キログラムあたり最低約0.0001から500ミリグラムまでの最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーション、および好ましくは単回若しくは複数回投与あたりに患者1キログラムあたり最低約0.0001から100ミリグラムまでのGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションの範囲になる最低1種のGLP-1ミメティポディ組成物の有効量若しくは投薬量を投与することにより遂げられる。あるいは、有効血清濃度は、単回若しくは複数回投与あたり0.001~5000μg/mlの血清濃度を含み得る。適する投薬量は医学実務者に既知であり、そしてもちろん、特定の疾患状態、投与されている組成物の比活性、および処置を受ける特定の患者に依存することができる。いくつかの例において、所望の治療量を達成するために、反復投与、すなわち所望の毎日の用量若しくは効果が達成されるまで個々の投与を反復する特定のモニター若しくは計測された用量の反復個別投与を提供することが必要であり得る。

【0176】

好ましい用量は、場合によっては、投与あたり0.0001、0.0002、0.0003、0.0004、0.0005、0.0006、0.0007、0.0008、0.0009、0.001、0.002、0.003、0.004、0.005、0.006、0.007、0.008、0.009、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29および/若しくは30mg/kg、またはそのいずれかの範囲、値若しくは画分を、あるいは、単回若しくは複数回投与あたり0.0001、0.0002、0.0003、0.0004、0.0005、0.0006、0.000

10

20

30

40

50

7、0.0008、0.0009、0.001、0.002、0.003、0.004、0.005、0.006、0.007、0.008、0.009、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.15、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.1、1.2、1.5、1.9、2、2.5、2.9、3、3.5、3.9、4、4.5、4.9、5、5.5、5.9、6、6.5、6.9、7、7.5、7.9、8、8.5、8.9、9、9.5、9.9、10、10.5、10.9、11、11.5、11.9、12、12.5、12.9、13、13.5、13.9、14、14.5、15、15.5、15.9、16、16.5、16.9、17、17.5、17.9、18、18.5、18.9、19、19.5、19.9、20、20.5、20.9、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、96、100、200、300、400および/若しくは500 μg/mlの血清濃度、またはそのいずれかの範囲、値若しくは画分の血清濃度を達成するように包含し得る。

10

【0177】

あるいは、投与される投薬量は、特定の剤の薬動学的特徴、ならびにその投与様式および経路；受領者の年齢、健康状態および重量；症状の性質および程度、付随する処置の種類、処置の頻度、ならびに所望の効果のような既知の因子に依存して変動し得る。通常、有効成分の投薬量は、体重1キログラムあたり約0.0001ないし100ミリグラムであり得る。投与あたり若しくは除放性の形態で1キログラムあたり通常0.001ないし10、および好ましくは0.001ないし1ミリグラムが、所望の結果を得るのに有効である。

20

【0178】

制限しない一例として、ヒト若しくは動物の処置は、単一、注入、若しくは反復用量を使用して、第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39若しくは40日の最低1つ、または、あるいは、第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19若しくは20週の最低1つ、あるいはそれらのいずれかの組合せでの、本発明の最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションを1日あたり0.0002、0.0003、0.0004、0.0005、0.0006、0.0007、0.0008、0.0009、0.001、0.002、0.003、0.004、0.005、0.006、0.007、0.008、0.009、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.9、1.0、1.1、1.5、2、3、4、5、6、7、8、9若しくは10 mg/kgのような0.0001ないし100 mg/kgの一時若しくは定期的投薬量として提供し得る。

30

40

【0179】

内的投与に適する投薬形態物（組成物）は、一般に、単位若しくは容器あたり約0.0001ミリグラムから約500ミリグラムまでの有効成分を含有する。これらの製薬学的組成物中で、有効成分は通常、組成物の総重量に基づき約0.5～99.999重量%の量で存在することができる。

【0180】

非経口投与のためには、GLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションを、製薬学的に許容できる非経口ベヒクルとともに溶液、懸濁剤、乳剤若しくは凍結乾燥した粉末として処方し得るか、若しくは別個に提供し得る。こうしたベヒクルの例は、水、生理的食塩水、リンゲル液、D-ブドウ糖溶液および5%ヒト血清アルブミンで

50

ある。リポソーム、および不揮発性油のような非水性ベヒクルもまた使用しうる。ベヒクル若しくは凍結乾燥した粉末は、等張性（例えば塩化ナトリウム、マンニトール）ならびに化学的安定性（例えば緩衝剤および保存剤）を維持する添加物を含有しうる。該製剤は既知の若しくは適する技術により滅菌する。

【0181】

適する製薬学的担体は、この分野の標準的参照教科書、Remington's Pharmaceutical Sciences、A. Osolの最新版に記述されている。

【0182】

治療的投与。製薬学的に有効な量の本発明の最低1種のGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションを投与するのに、多くの既知のおよびの開発された様式を使用し得る。本発明のGLP-1ミメティボディは、吸入または本明細書に記述されるか若しくは当該技術分野で既知の他の様式による投与に適する多様な装置および方法のいずれかを使用して、担体中で溶液、乳剤、コロイド若しくは懸濁剤として、または粉末として送達し得る。

10

【0183】

非経口製剤および投与。非経口投与のための製剤は、共通の賦形剤として滅菌水若しくは生理的食塩水、ポリエチレングリコールのようなポリアルキレングリコール、植物起源の油、水素化ナフタレンなどを含有し得る。注入のための水性若しくは油性懸濁液は、既知の方法に従って適切な乳化剤若しくは湿潤剤および懸濁化剤を使用することにより製造し得る。注入のための剤は、水性溶液または溶媒中の無菌の注入可能な溶液若しくは懸濁液のような非毒性の経口で投与可能でない希釈剤であり得る。使用可能なベヒクル若しくは溶媒として、水、リンゲル液、等張生理的食塩水などが許容され；通常の溶媒若しくは懸濁化溶媒として無菌の不揮発性油を使用し得る。これらの目的上、天然のまたは合成若しくは半合成の脂肪油若しくは脂肪酸；天然のまたは合成若しくは半合成のモノ若しくはジ若しくはトリグリセリドを包含するいかなる種類の不揮発性油および脂肪酸も使用し得る。非経口投与は当該技術分野で既知であり、そして、限定されるものでないが、慣習的注入手段、米国特許第5,851,198号明細書に記述されるところのガス加圧式の無針注入装置、および米国特許第5,839,446号明細書（引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる）に記述されるところのレーザー穿孔器装置を挙げることができる。

20

30

【0184】

代替送達。本発明はさらに、最低1種のGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションの非経口、皮下、筋肉内、静脈内、ポーラス、腔、直腸、頬側、舌下、鼻内若しくは経皮手段による投与に関する。タンパク質すなわちGLP-1ミメティボディまたは指定された部分またはバリエーションの組成物は、非経口（皮下、筋肉内若しくは静脈内）投与のためにとりわけ液体の溶液若しくは懸濁液の形態で；腔若しくは直腸投与での使用のためにとりわけクリーム剤および坐剤のような半固形の形態で；頬側若しくは舌下投与のためにとりわけ錠剤若しくはカプセル剤の形態で；あるいはとりわけ粉末、点鼻薬若しくはエアゾルまたはある種の剤の形態で鼻内に；あるいは、皮膚構造を改変するか若しくは経皮貼付剤中の薬物濃度を増大させるかのいずれかのためのジメチルスルホキシドのような化学的増強剤を含む（“Drug Permeation Enhancement”；Hsieh, D. S. 編中Jungingerら、pp. 59-90 (Marcel Dekker, Inc. ニューヨーク 1994 (引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる))）、あるいは、タンパク質およびペプチドを含有する製剤の皮膚上への塗布（第WO 98/53847号明細書）または電気穿孔のような一過性の輸送経路を創製するか若しくはイオンフォレーシスのような皮膚を通る荷電した薬物の移動性を増大させるための電場の適用、あるいはソノフォレーシスのような超音波の適用（米国特許第4,309,989号および同第4,767,402号明細書）（上の刊行物および特許は引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれ

40

50

る)を可能にする酸化剤を含む、とりわけゲル剤、軟膏剤、ローション剤、懸濁剤若しくは貼付剤送達系の形態で経皮での使用のため製造し得る。

【0185】

肺/鼻投与。肺投与のため、好ましくは最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションの組成物は、肺の下部気道若しくは鼻腔(sinus)に達するために有効な粒子径で送達される。本発明により、最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションは、吸入による治療薬の投与のための当該技術分野で既知の多様な吸入若しくは鼻装置のいずれかにより送達し得る。患者の鼻腔洞若しくは肺胞中でのエアゾル化製剤のdGLP-1sittingが可能なこれらの装置は、計量式吸入器、ネブライザー、乾燥粉末発生装置、噴霧器などを包含する。GLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションの肺若しくは鼻投与を指図するのに適する他の装置もまた当該技術分野で既知である。全部のこうした装置は、エアゾル中のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションの分注のため投与に適する製剤の使用し得る。こうしたエアゾルは溶液(水性および非水性双方)若しくは固体粒子のいずれかから構成され得る。Ventolin^(R)計量式吸入器のような計量式吸入器は、典型的には噴射剤ガスを使用し、そして吸気間の起動を必要とする(例えば第WO 94/16970号、同第WO 98/35888号明細書を参照されたい)。Inhale Therapeuticsにより市販されている装置、TurbohalerTM(Astra)、Rotahaler^(R)(Glaxo)、Diskus^(R)(Glaxo)、SpirosTM吸入器(Dura)のような乾燥粉末吸入器、およびSpinhaler^(R)粉末吸入器(Fisons)は、混合粉末の呼吸起動を使用する(米国特許第US 4668218号 Astra、欧州特許第EP 237507号 Astra、第WO 97/25086号 Glaxo、第WO 94/08552号 Dura、米国特許第US 5458135号 Inhale、第WO 94/06498号 Fisons(引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる))。AERxTM Aradigm、Ultravent^(R)ネブライザー(Mallinckrodt)およびAcorn II^(R)ネブライザー(Marquest Medical Products)(米国特許第US 5404871号 Aradigm、第WO 97/22376号)(上の参考文献は引用することによりそっくりそのまま本明細書に組み込まれる)のようなネブライザーは溶液からエアゾルを生じさせる一方、計量式吸入器、乾燥粉末吸入器などは小粒子エアゾルを生成させる。商業的に入手可能な吸入装置のこれらの特定の例は、本発明の実務に適する特定の装置の代表例であることを意図しており、そして本発明の範囲を制限するとして意図していない。好ましくは、最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションを含んでなる組成物は、乾燥粉末吸入器若しくは噴霧器により送達される。本発明の最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションを投与するための吸入装置のいくつかの望ましい特徴が存在する。例えば、吸入装置による送達は有利に信頼でき、再現可能かつ正確である。吸入装置は、場合によっては、良好な呼吸可能性のため小さな乾燥粒子、例えば約10μm未満、好ましくは約1~5μmを送達し得る。

【0186】

GLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションの組成物のスプレー剤としての投与。GLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーション組成物タンパク質を包含するスプレー剤は、最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションの懸濁液若しくは溶液に加圧下にノズルを通させることにより生じさせ得る。ノズルの大きさおよび構成、適用される圧ならびに液体フィード速度は、所望の出力および粒子径を達成するように選ぶことができる。例えばキャピラリー若しくはノズルフィードとともにの電場により電気スプレーを生じさせ得る。有利には、噴霧器により送達される最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーション組成物タンパク質の粒子は、約10μm未満、好ましくは約1μmないし5μm、および最も好ましくは約2μmないし約3μmの範囲の粒子径を有する。

【0187】

噴霧器での使用に適する最低1種のGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーション組成物タンパク質の製剤は、典型的に、溶液1mlあたり約1mgないし約20mgの最低1種のGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーション組成物タンパク質の濃度で水性溶液中にGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーション組成物タンパク質を包含する。該製剤は、賦形剤、緩衝剤、等張剤、保存剤、界面活性剤および好ましくは亜鉛のような剤を包含し得る。該製剤はまた、緩衝剤、還元剤、バルクタンパク質若しくは炭水化物のような、GLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーション組成物タンパク質の安定化のための賦形剤若しくは剤も包含し得る。GLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーション組成物タンパク質の処方において有用なバルクタンパク質はアルブミン、プロタミンなどを包含する。GLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーション組成物タンパク質の処方において有用な典型的な炭水化物は、ショ糖、マンニトール、乳糖、トレハロース、ブドウ糖などを包含する。GLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーション組成物タンパク質製剤はまた、エアゾルの形成における溶液の霧化により引き起こされるGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーション組成物タンパク質の表面誘発性の凝集を低下若しくは予防し得る界面活性剤も包含し得る。ポリオキシエチレン脂肪酸エステルおよびアルコールならびにポリオキシエチレンソルビトール脂肪酸エステルのような、多様な慣習的界面活性剤を使用し得る。量は、一般に製剤の0.001と14重量%の間の範囲にわたることができる。本発明の目的上とりわけ好ましい界面活性剤は、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレート、ポリソルベート80、ポリソルベート20などである。ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーション組成物タンパク質の製剤について当該技術分野で既知の付加的な剤もまた、製剤中に包含し得る。

10

20

【0188】

ネブライザーによるGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーション組成物の投与。GLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーション組成物タンパク質は、ジェットネブライザー若しくは超音波ネブライザーのようなネブライザーにより投与し得る。典型的には、ジェットネブライザー中では、圧縮空気供給源を使用してオリフィスを通して高速の空気ジェットを創製する。ガスがノズルを超えて膨脹する際に低圧領域が創製され、それが液体リザーバに接続された毛細管を通してGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーション組成物タンパク質の溶液を引き出す。毛細管からの液体流は、それが管を出る際に不安定な糸状体および液滴に剪断されてエアゾルを創製する。ある範囲の構成、流速およびパッフル型を使用して、所定のジェットネブライザーから所望の性能の特徴を達成し得る。超音波ネブライザーにおいては、高周波電気エネルギーを使用して、典型的には圧電トランスを使用して、振動性の力学的エネルギーを創製する。このエネルギーが、直接若しくはカップリング液によるかのいずれかでGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーション組成物タンパク質の製剤に伝播されて、GLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーション組成物タンパク質を包含するエアゾルを創製する。有利には、ネブライザーにより送達されるGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーション組成物タンパク質の粒子は、約10 μ m未満、好ましくは約1 μ mないし5 μ m未満、および最も好ましくは約2 μ mないし約3 μ mの範囲の粒子径を有する。

30

40

【0189】

ジェット若しくは超音波いずれかのネブライザーでの使用に適する最低1種のGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーション組成物の製剤は、典型的には、溶液1mlあたり約1mgないし約20mgの最低1種のGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーション組成物タンパク質の濃度で水性溶液中にGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーション組成物タンパク質を包含する。該製剤は、賦形剤、緩衝剤、等張剤、保存剤、界面活性剤、および好ましくは亜鉛のような剤を包含

50

し得る。該製剤はまた、緩衝剤、還元剤、バルクタンパク質若しくは炭水化物のような、最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーション組成物タンパク質の安定化のための賦形剤若しくは剤も包含し得る。最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーション組成物タンパク質の処方において有用なバルクタンパク質はアルブミン、プロタミンなどを包含する。最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションの処方において有用な典型的な炭水化物は、ショ糖、マンニトール、乳糖、トレハロース、ブドウ糖などを包含する。最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーション製剤は、エアゾルの形成において溶液の霧化により引き起こされる最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションの表面誘発性凝集を低下若しくは予防し得る界面活性剤もまた包含し得る。ポリオキシエチレン脂肪酸エステルおよびアルコール、ならびにポリオキシエチレンソルビタール(sorbitol)脂肪酸エステルのような多様な慣習的界面活性剤を使用し得る。量は、一般に製剤の0.001と4重量%の間の範囲にわたることができる。本発明の目的上とりわけ好ましい界面活性剤は、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート、ポリソルベート80、ポリソルベート20などである。最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションタンパク質のようなタンパク質の製剤について当該技術分野で既知の付加的な剤もまた、製剤中に包含し得る。

10

【0190】

計量式吸入器によるGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションの組成物の投与。計量式吸入器(MDI)中では、噴射剤、最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーション、およびいずれかの賦形剤若しくは他の添加物が、液化圧縮ガスを包含する混合物としてキャニスター中に含有される。計量バルブの起動は、好ましくは約10 μ m未満、好ましくは約1 μ mないし約5 μ m、および最も好ましくは約2 μ mないし約3 μ mの大きさ範囲の粒子を含有するエアゾルとして該混合物を放出する。所望のエアゾル粒子径は、ジェットミル粉碎、噴霧乾燥、臨界点凝縮などを包含する当業者に既知の多様な方法により製造されるGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーション組成物タンパク質の製剤を使用することにより得ることができる。好ましい計量式吸入器は、3M若しくはGlaxoにより製造されかつハイドロフルオロカーボン噴射剤を使用するものを包含する。

20

30

【0191】

計量式吸入器装置での使用のための最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションの製剤は、一般に、最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションを例えば界面活性剤の助けを借りて噴射剤中に懸濁した非水性媒体中の懸濁液として含有する微粉を包含することができる。噴射剤は、トリクロロフルオロメタン、ジクロロジフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタノールおよび1,1,1,2-テトラフルオロエタン、HFA-134a(ヒドロフルオロアルカン-134a)、HFA-227(ヒドロフルオロアルカン-227)などを包含するクロロフルオロカーボン、ヒドロクロロフルオロカーボン、ヒドロフルオロカーボン若しくは炭化水素のような本目的上使用されるいずれの慣習的物質でもあり得る。好ましくは噴射剤はヒドロフルオロカーボンである。界面活性剤は、最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションを噴射剤中の懸濁液として安定化させる、有効成分を化学的分解に対して保護する、などのために選ぶことができる。適する界面活性剤はソルビタントリオレエート、ダイズレシチン、オレイン酸などを包含する。いくつかの場合には、エタノールのような溶媒を使用する溶液エアゾルが好ましい。タンパク質のようなタンパク質の製剤のための当該技術分野で既知の付加的な剤もまた該製剤に包含し得る。

40

【0192】

当業者は、本発明の方法を、本明細書に記述されない装置を介する最低1種のGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションの組成物の肺投与により達成

50

し得ることを認識するであろう。

【0193】

粘膜製剤および投与。粘膜表面を通る吸収のため、最低1種のGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはパリアントを投与する組成物および方法は、乳剤粒子の粘膜附着を達成することにより粘膜表面を通る吸収を促進する、複数のミクロン以下の(submicron)粒子、粘膜附着性巨大分子、生物活性ペプチドおよび水性連続層を含んでなる乳剤を包含する(米国特許第5,514,670号明細書)。本発明の乳剤の適用に適する粘膜表面は、角膜、結膜、頬側、舌下、鼻、膣、肺、健胃(stomachic)、腸および直腸の投与経路を包含し得る。膣若しくは直腸投与のための製剤、例えば坐剤は、賦形剤として例えばポリアルキレングリコール、ワセリン、カカオバターなどを含有し得る。鼻内投与のための製剤は固体であり得、そして賦形剤として例えば乳糖を含有し得るか、または点鼻薬の水性若しくは油性溶液であり得る。頬側投与のためには、賦形剤は、糖、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、湖化済デンプンなどを包含する(米国特許第5,849,695号明細書)。

10

【0194】

経口製剤および投与。経口のための製剤は、腸壁の浸透性を人工的に増大させるための補助物質(例えばレゾルシノール、ならびにポリオキシエチレンオレイルエーテルおよびn-ヘキサデシルポリエチレンエーテルのような非イオン性界面活性剤)の共投与、ならびに酵素的分解を阻害するための酵素阻害剤(例えば腓トリブシンインヒビター、ジイソプロピルフルオロリン酸(DFP)およびトラシロール)の共投与に頼る。経口投与のための固形型投薬形態物の有効成分を、ショ糖、乳糖、セルロース、マンニトール、トレハロース、ラフィノース、マルチトール、デキストラン、デンプン、寒天、アルギン酸塩、キチン、キトサン、ペクチン、トラガカントガム、アラビアゴム、ゼラチン、コラーゲン、カゼイン、アルブミン、合成若しくは半合成のポリマー、およびグリセリドを包含する最低1種の添加物と混合し得る。これらの投薬形態物は、他の型(1種若しくは複数)の添加物、例えば不活性希釈剤、ステアリン酸マグネシウムのような滑沢剤、パラベン、ソルビン酸、アスコルビン酸、トコフェロールのような保存剤、システインのような抗酸化剤、崩壊剤、結合剤、増粘剤、緩衝剤、甘味料、着色料、香料などもまた含有し得る。

20

【0195】

錠剤および丸剤は腸溶コーティング製剤にさらに加工し得る。経口投与のための液体製剤は、医学的使用に許容できる乳剤、シロップ剤、エリキシル剤、懸濁剤および溶液製剤を包含する。これらの製剤は、前記分野で通常使用される不活性希釈剤、例えば水を含有しうる。リポソームもまたインスリンおよびヘパリンの薬物送達系として記述されている(米国特許第4,239,754号明細書)。より最近、混合アミノ酸の人工的ポリマー(プロテノイド)のマイクロスフェアが医薬品を送達するために使用されている(米国特許第4,925,673号明細書)。さらに、米国特許第5,879,681号および同第5,5,871,753号明細書に記述される担体化合物が、生物学的有効成分を経口で送達するために使用されるが当該技術分野で既知である。

30

【0196】

経皮製剤および投与。経皮投与のためには、最低1種のGLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはパリアントを、リポソーム、またはポリマーナノ粒子、微小粒子、マイクロカプセル若しくはマイクロスフェア(別の方法で述べられない限り集合的に微小粒子と称される)のような送達装置中に被包化する。ポリ乳酸、ポリグリコール酸およびそれらのコポリマーのようなポリヒドロキシ酸、ポリオルトエステル、ポリ無水物ならびにポリホスファゼンのような合成ポリマー、ならびにコラーゲン、ポリアミノ酸、アルブミンおよび他のタンパク質、アルギン酸塩ならびに他の多糖のような天然のポリマー、ならびにそれらの組合せから作成される微小粒子を包含する多数の適する装置が既知である(米国特許第5,814,599号明細書)。

40

【0197】

50

長時間投与および製剤。本発明の化合物を、単一投与から長時間にわたり、例えば1週ないし1年間、被験体に送達することがときに望ましいことがあり得る。多様な持続放出のdGLP-1t若しくは植込投薬形態物を利用し得る。例えば、投薬形態物は、体液中で低い程度の溶解性を有する化合物の製薬学的に許容できる非毒性の塩、例えば(a)リン酸、硫酸、クエン酸、酒石酸、タンニン酸、パモ酸、アルギン酸、ポリグルタミン酸、ナフタレンモノ若しくはジスルホン酸、ポリガラクトロン酸などのような多塩基性酸との酸付加塩；(b)亜鉛、カルシウム、ビスマス、バリウム、マグネシウム、アルミニウム、銅、コバルト、ニッケル、カドミウムなどのような多価金属陽イオン、または例えばN,N'-ジベンジル-エチレンジアミン若しくはエチレンジアミンから形成される有機陽イオンとの塩；あるいは(a)および(b)の組合せ、例えば亜鉛タンニン酸塩を含有し得る。加えて、本発明の化合物、若しくは好ましくはたった今記述されたもののような比較的不溶性の塩を、注入に適する例えばゴマ油とともにゲル、例えばモノステアリン酸アルミニウムゲル中で処方し得る。とりわけ好ましい塩は、亜鉛塩、亜鉛タンニン酸塩、パモ酸塩などである。注入のための別の型の持続放出dGLP-1t製剤は、例えば米国特許第3,773,919号明細書に記述されるところのポリ乳酸/ポリグリコール酸ポリマーのようなゆっくりと分解する非毒性の非抗原性ポリマー中に被包化または分散された化合物若しくは塩を含有することができる。該化合物、若しくは好ましくは上述されたもののような比較的不溶性の塩は、とりわけ動物での使用のためコレステロールマトリックスのシラスティックペレット中でもまた処方し得る。付加的な持続放出dGLP-1t若しくは植込物製剤、例えば気体若しくは液体リポソームが文献で既知である(米国特許第5,770,222号明細書、および“Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems”, J. R. Robinson編、Marcel Dekker, Inc., ニューヨーク、1978)。

【0198】

本発明を全般的に記述したので、それは、具体的説明として提供されかつ制限するとして意図していない以下の実施例を参照して、より容易に理解されるであろう。

【実施例1】

【0199】

哺乳動物細胞中でのGLP-1ミメティボディのクローニングおよび発現

典型的な哺乳動物発現ベクターは、mRNAの転写の開始を媒介する最低1個のプロモーター要素、GLP-1ミメティボディまたは指定された部分若しくはバリエーションのコーディング配列、ならびに転写の終止および転写物のポリアダニル化に必要とされるシグナルを含有する。付加的な要素は、エンハンサー、コザック配列、ならびにRNAスプライシングのためのドナーおよびアクセプター部位により隣接される介在配列を包含する。高度に効率的な転写は、SV40からの初期および後期プロモーター、レトロウイルス、例えばRSV、HTLV I、HIV Iからの末端反復配列(LTRS)、ならびにサイトメガロウイルス(CMV)の初期プロモーターで達成し得る。しかしながら細胞要素もまた使用し得る(例えばヒトアクチンプロモーター)。本発明の実施における使用に適する発現ベクターは、例えば、pIRES1neo、pRetro-Off、pRetro-On、PLXSN若しくはpLNCX(Clonetech Labs、カリフォルニア州パロアルト)、pcDNA3.1(+/-)、pcDNA/Zeo(+/-)若しくはpcDNA3.1/Hygro(+/-)(Invitrogen)、PSVLおよびPM5G(Pharmacia、スウェーデン・ウプサラ)、pRSVcat(ATCC 37152)、pSV2dhfr(ATCC 37146)ならびにpBC12MI(ATCC 67109)のようなベクターを包含する。使用し得る哺乳動物宿主細胞は、ヒトHeLa 293、H9およびJurkat細胞、マウスNIH3T3およびC127細胞、Cos 1、Cos 7およびCV 1、ウズラQC1-3細胞、マウスL細胞ならびにチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞を包含する。

【0200】

あるいは、遺伝子は、染色体中に組込まれた遺伝子を含有する安定細胞株中で発現させ

10

20

30

40

50

得る。d h f r、g p t、ネオマイシン若しくはハイグロマイシンのような選択可能なマーカーとのコトランスフェクションは、トランスフェクトされた細胞の同定および単離を可能にする。

【0201】

トランスフェクトされた遺伝子は、大量のコードされるGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションを発現させるためにまた増幅もし得る。DHFR（ジヒドロ葉酸還元酵素）マーカーは、数百若しくは数千コピーさへの目的の遺伝子を保有する細胞株を開発するのに有用である。別の有用な選択マーカーは、酵素グルタミン合成酵素（GS）（Murphyら、Biochem. J. 227: 277-279 (1991); Bebbingtonら、Bio/Technology 10: 169-175 (1992)）である。これらのマーカーを使用して、哺乳動物細胞を選択培地中で増殖させ、そして最高の耐性を伴う細胞を選択する。これらの細胞株は、染色体中に組み込まれた増幅された遺伝子（1種若しくは複数）を含有する。チャイニーズハムスター卵巣（CHO）およびNSO細胞は、GLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションの製造にしばしば使用される。

10

【0202】

発現ベクターpC1およびpC4は、ラウス肉腫ウイルスの強力なプロモーター（LTR）（Cullenら、Molec. Cell. Biol. 5: 438-447 (1985)）およびCMV-エンハンサーの1フラグメント（Boshartら、Cell 41: 521-530 (1985)）を含有する。例えば制限酵素切断部位BamHI、XbaIおよびAsp718を含むマルチクローニング部位が目的の遺伝子のクローニングを容易にする。ベクターは、3'イントロンに加え、ラットプレプロインスリン遺伝子のポリアデニル化および終止シグナルを含有する。

20

【0203】

CHO細胞中でのクローニングおよび発現。ベクターpC4をGLP-1ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションの発現に使用する。プラスミドpC4はプラスミドpSV2-dhfrの誘導体（ATCC受託番号37146）である。該プラスミドは、SV40初期プロモーターの制御下にマウスDHFR遺伝子を含有する。これらのプラスミドとともにトランスフェクトされる、ジヒドロ葉酸活性を欠くチャイニーズハムスター卵巣若しくは他の細胞は、化学療法剤メトトレキサートを補充した選択培地（例えばMEM、Life Technologies、メリーランド州ゲイターズパーク）中で細胞を増殖させることにより選択し得る。メトトレキサート（MTX）に耐性の細胞中でのDHFR遺伝子の増幅は十分に報告されている（例えば、F.W. Altら、J. Biol. Chem. 253: 1357-1370 (1978); J.L. HamlinとC. Ma、Biochem. et Biophys. Acta 1097: 107-143 (1990); およびM.J. PageとM.A. Sydenham、Biotechnology 9: 64-68 (1991)を参照されたい）。増大する濃度のMTX中で増殖させた細胞は、DHFR遺伝子の増幅の結果として標的酵素DHFRを過剰産生することにより該薬物に対する耐性を発現する。第二の遺伝子がDHFR遺伝子に連結される場合、それは通常共増幅かつ過剰発現される。1,000コピー以上の増幅された遺伝子（1種若しくは複数）を保有する細胞株を開発するのにこのアプローチを使用し得ることが当該技術分野で既知である。その後、メトトレキサートを取り去る場合に、宿主細胞の1個若しくはそれ以上の染色体に組み込まれた増幅された遺伝子を含有する細胞株が得られる。

30

40

【0204】

プラスミドpC4は、目的の遺伝子を発現させるため、ラウス肉腫ウイルスの末端反復配列（LTR）の強力なプロモーター（Cullenら、Molec. Cell. Biol. 5: 438-447 (1985)）およびヒトサイトメガロウイルス（CMV）の前初期遺伝子のエンハンサーから単離された1フラグメント（Boshartら、Cell 41: 521-530 (1985)）を含有する。プロモーターの下流に、遺伝子の組

50

込みを可能にする BamHI、XbaI および Asp718 制限酵素切断部位がある。これらのクローニング部位の後ろに、該プラスミドは 3'イントロンおよびラットプレプロインスリン遺伝子のポリアデニル化部位を含有する。他の高効率プロモーター、例えばヒト b-アクチンプロモーター、SV40 初期若しくは後期プロモーター、または他のレトロウイルス例えば HIV および HTLV I からの末端反復配列もまた発現に使用し得る。Clontech の Tet-Off および Tet-On 遺伝子発現系ならびに類似の系を、GLP-1 を哺乳動物細胞中で調節された方法で発現させるのに使用し得る (M. Gossen と H. Bujard、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 5547-5551 (1992))。mRNA のポリアデニル化のため、例えばヒト成長ホルモン若しくはグロビン遺伝子からの他のシグナルを同様に使用し得る。染色体中に組込まれた目的の遺伝子を保有する安定細胞株は、gpt、G418 若しくはハイグロマイシンのような選択可能なマーカーとのコトランスフェクションに際してもまた選択し得る。初めに 1 種以上の選択可能なマーカー、例えば G418 およびメトトレキサートを使用することが有利である。

10

【0205】

プラスミド pC4 を制限酵素で消化し、そしてその後、当該技術分野で既知の手順により仔ウシ腸ホスファターゼを使用して脱リン酸化する。ベクターをその後 1% アガロースゲルから単離する。

【0206】

本発明の GLP-1 ミメティポディの HC および LC 可変領域に対応する、完全な GLP-1 ミメティポディまたは指定された部分若しくはバリエーションをコードする DNA 配列を、既知の方法の段階に従って使用する。適するヒト定常領域 (すなわち HC および LC 領域) をコードする単離された核酸もまた本構築物中で使用する。

20

【0207】

単離された可変および定常領域をコードする DNA ならびに脱リン酸化したベクターを、その後、T4 DNA リガーゼを用いて連結する。大腸菌 (E. coli) HB101 若しくは XL-1 Blue 細胞をその後形質転換し、そして、例えば制限酵素分析を使用して、プラスミド pC4 に挿入されたフラグメントを含有する細菌を同定する。

【0208】

活性の DHFR 遺伝子を欠くチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞をトランスフェクションに使用する。5 μ g の発現プラスミド pC4 を、リポフェクションを使用して 0.5 μ g のプラスミド pSV2-neo とコトランスフェクションする。プラスミド pSV2-neo は、支配的選択可能マーカー、すなわち G418 を包含する抗生物質の一群に対する耐性を賦与する酵素をコードする Tn5 からの neo 遺伝子を含有する。細胞を、1 μ g/ml の G418 を補充した MEM に播種する。2 日後に細胞をトリプシン処理し、そして 10、25 若しくは 50 ng/ml のメトトレキサートおよび 1 μ g/ml の G418 を補充した MEM 中でハイブリドマクローニングプレート (Greiner、ドイツ) に播種する。約 10 ~ 14 日後に単クローンをトリプシン処理し、そしてその後、多様な濃度のメトトレキサート (50 nM、100 nM、200 nM、400 nM、800 nM) を使用して 6 ウェルペトリ皿若しくは 10 ml フラスコに播種する。最高濃度のメトトレキサートで増殖するクローンをその後、なおより高濃度のメトトレキサート (1 mM、2 mM、5 mM、10 mM、20 mM) を含有する新たな 6 ウェルプレートに移す。100 ~ 200 mM の濃度で増殖するクローンが得られるまで同一の手順を反復する。所望の遺伝子産物の発現を、例えば SDS-PAGE およびウエスタンブロット若しくは逆相 HPLC 分析により分析する。

30

40

【実施例 2】

【0209】

本発明の GLP-1 ミメティポディの制限しない例

GLP-1 は経口グルコース投与後に腸の L 細胞から分泌される 37 アミノ酸のペプチドである。生物学的に活性の GLP-1 (7-37) ペプチド、バリエーション若しくは誘導

50

体を組込むミメティボディ構築物は、該ペプチドの *in vivo* 寿命を延長しかつ 2 型糖尿病患者において血糖を低下させるための新規療法を提供すると期待される。天然の GLP-1 (7-37) ペプチド若しくは DPP-IV 抵抗性アナログをコードするペプチドをミメティボディの足場構造中に組み込み得る。これらの分子のいくつかを作成し、そして、生じるミメティボディは機能的な *in vitro* の細胞に基づくアッセイで活性を示した。多様な *in vitro* アッセイおよび *in vivo* モデルをこれらの研究で使用し得、そして効力は相互に若しくは本明細書に提示される結果と比較可能でないかもしれないことに注意すべきである。

【0210】

GLP-1 ミメティボディのバリエーションを生成させるため、ミメティボディ中の GLP-1 ペプチド、リンカー、ヒンジ若しくは CH2 および CH3 配列を、発現、効力、安定性若しくはエフェクター機能を向上させるために欠失、付加、置換、突然変異若しくは修飾し得る。

10

【0211】

野性型 GLP-1 配列ならびに GLP-1 (A2S) 若しくは GLP-1 (A2G) のような DPP-IV 抵抗性 GLP-1 バリエーションを、ミメティボディの足場構造中に組み込み得る。GLP-1 ミメティボディの特性を改良するために該ペプチドの突然変異を行い得る。例えば、アミノ末端残基中の突然変異はシグナル伝達を改良しうる一方、らせん状ドメイン中の突然変異はヘリックスを安定化しかつそれによりミメティボディの受容体への結合および/若しくは安定性を向上させうる。

20

【0212】

リンカーの長さおよび組成を、GLP-1 ペプチドと Fc 領域の間の結合の柔軟性若しくは安定性を変動させるために突然変異させ得る。多様なアイソタイプを該分子のヒンジ領域に組み込み得る。加えて、該分子を安定化するために、ミメティボディのヒンジ領域内で突然変異を行い得る。例えば、ヒト IgG4 ヒンジを、ミメティボディ中の鎖間ジスルフィド結合を安定化させるために Ser²²⁸ -> Pro バリエーションを作成するように突然変異させ得る。ミメティボディの Fc 部分内の変動を、該分子の安定性を向上させかつ FcR 結合のようなエフェクター機能を変えるために行い得る。例えば、Ala/Ala 突然変異を伴う IgG4 のようなヒト若しくはマウスアイソタイプ (またはこれらの分子の変形物) を使用し得る。

30

【0213】

本発明の GLP-1 ミメティボディ。本発明の特定の制限しない一例は、式 (I) :
 ((P (n) - L (o) - V (p) - H (q) - CH2 (r) - CH3 (s)) (t) 、
 [式中、P は 1 コピーの生物活性 GLP-1 ペプチド (7-36) であり、L は Gly - Ser 若しくは Gly - Gly - Gly - Ser いずれかのフレキシブルリンカーのタンデム反復であり、V は V_H 配列の C 末端すなわち天然に存在する IgG の J 領域であり、H は完全な IgG1 ヒンジ領域であり、そして CH2 および CH3 は IgG1 アイソタイプサブクラスのものである]

の GLP-1 ミメティボディ構築物 (配列番号 2) である。この構築物の半減期は、GLP-1 ペプチド単独またはそのバリエーション若しくは誘導体のものの多数倍でありかつ IgG のものに類似であろうことが期待される。

40

【0214】

上述された基本構造に加え、潜在的に好都合な生物学的特徴をもつバリエーションを記述する。これらは、自己会合する低下された傾向、低下された免疫エフェクター機能若しくは低下された免疫原性を有しうる構築物を包含する。生物学的に活性のペプチドの改良されたコンホメーションおよび血液脳関門を横断する移動のような所望の特徴を賦与する他の改変が予見される。提案されるバリエーションおよび改変は、所望の活性をもつ構築物を生じるように、いずれの様式でも組合せうる。

【0215】

組換え DNA 法を使用して、GLP-1 ペプチドを、中間体ベクターに免疫グロブリン

50

シグナルペプチドとヒト J 配列の間で挿入した。これは、該ベクター中に存在する制限部位と適合性の端をもつ相補的合成オリゴヌクレオチドを使用して行った。これらのオリゴヌクレオチドは、GLP-1 ペプチドのコーディング配列および 2 個の G G S 反復配列から構成されるフレキシブルリンカーを含んだ。前述の機能的要素を含有する制限フラグメントをその後、発現ベクター中に移した。このベクターは、抗 CD 4 免疫グロブリンのプロモーターおよびエンハンサー、ならびにヒト Ig G 1 ヒンジ配列、HC 定常領域 2 (CH 2) および定常領域 3 (CH 3) のコーディング配列、ならびに細菌中でのプラスミドの複製および選択ならびに哺乳動物細胞中での安定な発現体の選択に必要な要素を含有した。

【0216】

このプラスミドを HEK 293E 細胞に導入し、そして、wt GLP-1 MMB の発現が、一過性にトランスフェクトした細胞中で達成された。GLP-1 MMB の精製は、標準的プロテイン A および Superose 12 アフィニティークロマトグラフィーにより達成し、トランスフェクトした細胞 1 L あたりおよそ 1.5 mg を生じた。このタンパク質が下述される実験の出発原料であった。

【0217】

GLP-1 ミメティボディのアミノ酸配列を図 1 に示す。機能的ドメインをペプチドコーディング配列の上に注記する。J 配列は、GLP-1 二量体に適正なコンホメーションをとらせ、また、該二量体を免疫グロブリンの球状構造から突出させかつ 2 個の GLP-1 受容体間の割れ目に浸透させるためのなおより大きな柔軟性を提供するのであろうと考えられる。Ig G 1 ヒンジ領域中に 3 個のシステインが存在する。第一のものは通常、免疫グロブリン L 鎖 (LC) と対をなし、そして他の 2 個は 2 個の HC 間の鎖間結合に参画するとみられる。CH 2 および CH 3 領域がタンパク質の嵩を構成する。免疫グロブリンが長い血清半減期を有すると考えられる理由の 1 つは、飲作用された免疫グロブリンを細胞外空間に戻すことにより血清半減期を延長する、FcRn を結合するそれらの能力である。FcRn の結合部位は CH 2 および CH 3 領域の接合部と重なる (Sheilds ら、2001、J. Biol. Chem.、vol. 276 (9)、6591-6604)。

【0218】

2 本の Ig G H 鎖は、ヒンジ領域中に位置するシステイン間のジスルフィド結合を介して細胞のプロセッシングの間に集成されてホモ二量体を形成することが公知である。改変されたペプチド間でもまたこれが生じて集成された GLP-1 ミメティボディ構築物を形成するのであろうことが期待される。加えて、GLP-1 ペプチド中の 2 個のシステイン間の鎖内ジスルフィド結合もまた生じるのであろうことが期待される。GLP-1 ミメティボディの期待される構造は 2 個の GLP-1 ペプチドを含有する。結合する配列の柔軟性と一緒の N 末端のペプチドの空間的配置が、該ペプチドが生物活性二量体を形成することを可能にするはずである。

【実施例 3】

【0219】

FACS 結合アッセイ

GLP-1 ミメティボディの活性を *in vitro* FACS 結合アッセイで試験した。GLP-1 MMB が GLP-1 R を結合するかどうかを決定するため、GLP-1 R を過剰発現する HEK 293 細胞 (1×10^6 細胞) を GLP-1 MMB (20 nM) と 4 で 2 時間インキュベートした。細胞を洗浄し、そして蛍光標識した二次検出抗体 ($1 \mu\text{g}/\text{mL}$ ヤギ抗ヒト Ig G、Fc 特異的) を 4 で 30 分間添加した。フローサイトメトリーを介して細胞の蛍光強度をモニターした。図 2 A は、GLP-1 MMB が GLP-1 R を過剰発現する HEK 293 細胞に結合することを示す (灰色、GLP-1 MMB しかし二次なし; 黒色、二次のみ; 赤色、陰性対照 MMB および二次; 青色、GLP-1 MMB および二次)。図 2 B は、GLP-1 MMB が対照 HEK 293 細胞に結合しないことを示す (灰色、GLP-1 MMB しかし二次なし; 黒色、二次のみ; 青色、GLP-1 MMB および二次)。図 2 C は、GLP-1 ペプチドアナログ (A

10

20

30

40

50

2 S) が GLP-1R を過剰発現する HEK293 細胞への結合について GLP-1 MMB と競合することが可能であることを示す (灰色、GLP-1 MMB しかし二次なし; 黒色、GLP-1 MMB および二次; 橙色、GLP-1 MMB、0.2 nM 競合体、二次; 青色、GLP-1 MMB、20 nM 競合体、二次; 赤色、GLP-1 MMB、100 nM 競合体、二次)。

【実施例 4】

【0220】

cAMP アッセイ

GLP-1 は、その受容体、Gタンパク質共役型受容体に結合してシグナル伝達分子 3', 5'-環状AMP (cAMP) の用量依存性の増加をもたらす。cAMP は GLP-1R を発現する細胞中での *in vitro* アッセイ (Applied Biosystems) で測定し得る。簡潔には、Rinm 細胞 (100,000 細胞) を、増大する濃度の GLP-1 ペプチド (0~30 nM) 若しくは GLP-1 MMB (0~100 nM) とともにインキュベートした。細胞を溶解し、そして、アルカリホスファターゼ標識 cAMP 複合物および化学発光基質 (Tropix^(R) CDPD^(R)) を使用する競合アッセイを使用して、cAMP の量を測定した。wt GLP-1 MMB の濃度依存性の cAMP 活性 (図 3A) は GLP-1 ペプチド (図 3B) に匹敵する (それぞれ、EC₅₀ = 11 nM 対 0.4 nM)。類似の実験において、Igg4 の足場構造中の GLP-1 (A2G) MMB (図 3C) および Igg4 の足場構造中の GLP-1 (A2S) MMB (図 3D) は、双方とも、Rinm 細胞中の cAMP レベルを Igg4 の足場構造中の wt GLP-1 MMB よりも有意により高レベルまで増大させた。

10

20

【実施例 5】

【0221】

DPP-IV 切断アッセイ

GLP-1 は DPP-IV により急速に不活性化されるため、無傷の (すなわち切断されない) GLP-1 MMB を定量するための *in vitro* アッセイを確立した。簡潔には、GLP-1 MMB 若しくはペプチド (1.2 nM) を DPP-IV (1 µg/mL, R&D Systems) と室温でインキュベートした。多様な時間 (0、5、10、15、20、30、40 分) 後に、DPP-IV 阻害剤 (100 µM, Lincoc) を添加して反応をクエンチした。無傷の GLP-1 MMB 若しくはペプチドの量を、GLP-1 Active ELISA (Lincoc)、およびそれぞれの標準曲線についての GLP-1 MMB 若しくはペプチドを使用して測定した。図 4 は、GLP-1 MMB が GLP-1 ペプチドに関して DPP-IV による切断に対し有意により抵抗性であったことを示す。

30

40

【実施例 6】

【0222】

ヒト血清安定性アッセイ

他の血清プロテアーゼが GLP-1 MMB を切断かつ不活性化することが可能でなかったことを確認するために、血清中での GLP-1 MMB の安定性もまた測定した。簡潔には、GLP-1 ペプチド若しくは GLP-1 MMB (30 nM) をヒト血清中 37 でインキュベートした。多様な時間後に、反応を DPP-IV 阻害剤 (100 µM, Lincoc) でクエンチし、そして Lincoc からの GLP-1 Active ELISA を使用してサンプルを分析した。図 5 は、GLP-1 MMB がヒト血清中で 24 時間安定である一方、ペプチドは迅速に崩壊されることを示す。

【実施例 7】

【0223】

GLP-1 MMB は Rinm 細胞中でインスリン分泌を引き起こす

インスリン分泌における GLP-1 MMB の効果を試験するため、Rinm 細胞を、増大する濃度の GLP-1 (7-36) ペプチド (0~5 nM)、エキセンジン-4 ペプチド (0~5 nM)、または多様な GLP-1 ミメティボディ (5 若しくは 50 nM) で

50

処理し、そして分泌されるインスリンの量をELISAを介して測定した。試験した全部のGLP-1 MMBは、RINm細胞中のインスリン分泌の刺激において活性を有した(図6)。50nMで、MMBは野性型GLP-1(7-36)ペプチドのものに匹敵する活性を有した。

【実施例8】

【0224】

GLP-1 MMBはdb/dbマウスにおいてグルコースレベルを低下させる

6週齢のdb/dbマウスを2時間絶食させ、そしてその後、ベヒクル、GLP-1ペプチド若しくはGLP-1(A2S)MMBを静脈内投与した。血糖を投与後0.5、1、2、3および4時間にモニターした。GLP-1ペプチドは30分で血糖を低下させたが、しかし、60分までに、ありそうにはGLP-1ペプチドの短い半減期により血糖が再度増大し始めた。相対的に、GLP-1ペプチドの用量より100倍より低い用量のGLP-1(A2S)MMBは、4時間全体を通じて血糖の低下を誘発した(図7A)。加えて、血糖の低下は用量依存的であった(図7B)。

10

【実施例9】

【0225】

マウスおよびカニクイザルにおけるGLP-1 MMBの薬物動態

4種のGLP-1ミメティポディ(A2G、A2S、エキセジン(exedin)-capおよびwt)の薬物動態を測定するため、C57/Bl6マウスに1mg/kgのMMBを静脈内投与した。多様な時点でマウスを殺した後に心穿刺を介して血漿を得た。多様なELISAを使用して、Fc、全MMB、活性MMB、およびそれらが動物中で代謝されたところの活性ペプチドを測定した。活性のMMBは、ミメティポディのFc領域になお結合されている該ペプチドの無傷のN末端を反映する。該ペプチド中の第二のアミノ酸(アラニン)のセリン若しくはグリシンいずれかでの置換は、循環中の活性のMMBの寿命を延長した。

20

【0226】

カニクイザルに、1.0mg/kgの4種の異なるGLP-1 MMB構築物を静脈内注入し、そして投与後10分から5日までの多様な時点で血清サンプルを採取した。血清サンプルをELISAにより評価して無傷のMMBを定量した。図8に具体的に説明されるとおり、全4種のMMBは、急速な分布期、次いでよりゆっくりとした消失期を表す。薬物動態定数を構築物のそれぞれについて計算し、T=0からT=120時間までのAUCにより決定される類似の曝露を伴い、およそ3日の $T_{1/2}$ を示した。

30

【実施例10】

【0227】

糖尿病マウスにおける経口耐糖能試験の間のGLP-1 MMBの効果

8週齢の糖尿病db/dbマウスを、GLP-1 MMB(0.02ないし2mg/kg)の皮下注入前に6時間絶食させた。投与後にマウスを追加の6時間絶食させ、そして基礎の空腹時血糖を測定した。t=0に、マウスに1.0mg/gグルコースの経口胃管栄養を与え、そして多様な時点で血糖を測定した。図9に示される結果は、GLP-1 MMBが試験した全用量で経口耐糖能試験の間にグルコース逸脱の低下において有効であったことを示す。

40

【実施例11】

【0228】

糖尿病マウスへの慢性投与の間の空腹時血糖に対するGLP-1 MMBの効果

10週齢の糖尿病db/dbマウスに、ベヒクル若しくはGLP-1 MMB(1mg/kg)を連日6週間皮下投与した。試験の経過の間に空腹時血糖を週2回測定した。空腹時血糖は、試験を通じて、処置した動物で対照に関して低下し(図10)、そして、6週までに、該差違は200mg/dL(466対221mg/dL、それぞれ対照および処置動物)以上となった。

【実施例12】

50

【0229】

糖尿病マウスへの慢性投与後の経口耐糖能試験に対するGLP-1 MMBの効果

実施例11でのとおり、10週齢の糖尿病db/dbマウスにベヒクル若しくはGLP-1 MMB(1mg/kg)を連日6週間投与した。投与40日後に、マウスに経口耐糖能試験を行った。簡潔には、t=0に、マウスに1.0mg/gグルコースの経口胃管栄養を与え、そして多様な時点で血糖を測定した。図11に示される結果は、GLP-1 MMBが経口耐糖能試験の間のグルコース逸脱の低下において有効であったことを示し、GLP-1 MMBで慢性に処置したマウスが対照動物に関してより効率的にグルコース負荷を消失させることが可能であることを示唆する。

【実施例13】

【0230】

糖尿病マウスへの慢性投与後のHbA1cの低下に対するGLP-1 MMBの効果

実施例11および12でのとおり、10週齢の糖尿病db/dbマウスにベヒクル若しくはGLP-1 MMB(1mg/kg)を連日6週間投与した。6週の投与の前および後に全血サンプルを採取し、そしてHbA1cパーセントについて分析した。図12に示されるとおり、GLP-1処置動物のHbA1cは6週間に109パーセント増大した一方、対照処置動物は142パーセント増大した。このデータは、処置動物が、慢性期にわたりそれらの血糖を調節することが対照に関してより良好に可能であることを示唆する。

【実施例14】

【0231】

正常カニクイザルにおける経口耐糖能試験に対するGLP-1 MMBの効果

経口耐糖能試験(OGTT)を、GLP-1 MMB(1mg/kg)の単回用量前および6日後に正常カニクイザルで行った。簡潔には、t=0に、サルに2.0mg/gグルコースの経口胃管栄養を与え、そして多様な時点で血糖を測定した。血糖値は投与6日後に行ったOGTTで有意に低下され(図13A)、また、インスリンレベルは有意に増大された(図13B)。これは、GLP-1 MMBが、上昇されたグルコース濃度で膵からのインスリン分泌を引き起こしていることを示唆する。

【実施例15】

【0232】

単回用量後の糖尿病マウス(db/db)の膵島中のインスリン染色に対するGLP-1 MMBの効果

12週齢の糖尿病マウス(db/db)をGLP-1 MMB(1.5mg/kg)の単回皮下用量で処置し、そして膵を4週後に収集した。膵を切断し、そしてインスリンの存在について染色した。図14に示されるとおり、処置動物で対照動物に関して有意により多いインスリン染色が存在した。

【実施例16】

【0233】

GLP-1 MMBは正常イヌで胃排出を遅延させる

胃カニューレを全身麻酔下に雌性ビーグル犬(10~15kg)に外科的に移植し、そして最低2週間回復させた。イヌを24時間絶食させ、その後水は自由に入手可能であった。胃カニューレを開放し、そして胃液および食物の残りを40~50mlの微温湯で除去した。6匹のイヌの群に、食餌の60分前に2アゴニスト、リダミジン(0.63mg/kg)を皮下投与した(胃排出の遅延の陽性対照)。ベヒクル対照若しくはGLP-1 MMB(0.1mg/kg)を投与したイヌに、食餌の15分前に橈側皮静脈に静脈内投与した。食餌の5分前に胃カニューレを開放して、基礎値の胃中に存在する液体の量を測定し、そして液体を迅速に再導入した。その後、250mlのグルコース溶液(5g/l)よりなる試験食を、カニューレを介して投与し、そして胃中に30分間留まらせた。30分後に胃内容物を胃から排出させて総容量を測定した。1mlの胃内容物を分析のため保持し、そして残りの容量はカニューレを介して胃に再導入した。胃内容物の容量の評価およびサンプルの回収を、60、90および120分に反復した。収集したサンプル

10

20

30

40

50

についてグルコース濃度を評価し、そして各時点で胃中に残存するグルコースの絶対量を決定するのに使用した。胃中に保持されるグルコースのパーセンテージを出発値および各時点のグルコースの濃度から決定し、そして時間の関数としてプロットした。胃内容物の50%が保持された時間を、単指数関数への曲線の当てはめにより決定した。図15に示されるとおり、胃内容物の50%は、ベヒクルを投与したイヌで12.35 ± 3.69分後に排出された一方、リダミジン陽性対照およびGLP-1 MMBを投与したイヌは胃排出の有意の遅延(それぞれ30.60 ± 6.47および59.23 ± 14.46)を示した。

【実施例17】

【0234】

GLP-1 MMBは食餌誘発性肥満マウスで経口耐糖能試験(OGTT)後の血糖を低下させる

食餌誘発性肥満のマウスモデルを開発するため、マウスを高脂肪食で最低27週間維持した。マウスは肥満となり、そして空腹時血糖値が120mg/dlを超えた場合に糖尿病であると決定した。食後血糖値に対するGLP-1 MMB療法の効果を評価するため、食餌誘発性肥満マウスを一夜絶食させ、そして0.02、0.2若しくは2mg/kgのGLP-1 MMBまたはベヒクル対照を皮下投与した。投与6時間後に、マウスに1.5mg/gのグルコースの胃管栄養を与えた。血糖値を、MMB投与の前、t=0、15、30、60、90、120、150および180分に尾静脈血を使用して測定した。図16に示されるとおり、空腹時血糖値のGLP-1 MMB用量依存性の低下がt=0および全部のその後の時点で観察された。曲線下面積をt=0とt=180の間で計算し、全用量でグルコース配置(glucose disposal)の有意の低下を示した。

【実施例18】

【0235】

GLP-1 MMBはdb/dbマウスにおいて腹腔内耐糖能試験(IPGTT)で血糖を低下させる

およそ13~15週齢の雄性db/dbマウスを、空腹時血糖値に基づき6匹のマウスの処置群に無作為化した。マウスに、0.02mg/kg若しくは0.1mg/kgのGLP-1 MMB、または0.1mg/kgの陰性対照MMBのいずれかを、耐糖能試験の6時間前に投与した。耐糖能試験の5分前に、グルコース測定値を尾静脈血から携帯式血糖計で測定した。マウスにその後、1mg/gのD-グルコースを腹腔内投与し、そして、血糖値を10分、20分、30分、60分、90分、120分、150分および180分にモニターした。図17Aに具体的に説明されるとおり、血糖値は、GLP-1 MMBで処置した双方の群で、時間経過全体にわたり有意により低かった。同一の様式で処置した付加的な動物群を、インスリンレベルの測定のためt=10分に殺した。GLP-1 MMB投与10分後に放出されるインスリンの量の用量依存性の増大が存在する。

【実施例19】

【0236】

GLP-1 MMBはサイトカイン誘発性のアポトーシスを用量依存的に阻害する

RIN-m細胞を96ウェルプレートに50,000細胞/ウェルで播種し、そして37°Cで一晩インキュベートした。翌日、細胞を、サイトカインTNF(10ng/mL)若しくはIL-1(4ng/mL)の添加前に、ある用量範囲のGLP-1 MMB(100nMから連続希釈した)で30分間処理した。プレートを37°Cで16時間インキュベートした。アポトーシスをアッセイするため、Cell Death ELISA-Plusアッセイキット(Roche Applied Science、カタログ番号11920685001)を使用した。培地をウェルから吸引し、200μLの溶解緩衝液を各ウェルに添加し、そしてプレートを室温で30分間インキュベートした。インキュベーション後に、20μLのライセートを、ストレプトアビジン被覆した96ウェルマイクロタイタープレートに移した。80μLの免疫試薬(提供されるインキュベーション

10

20

30

40

50

緩衝液での抗ヒストン - ビオチンおよび抗DNA - ペルオキシダーゼの20倍希釈)もまた各ウェルに添加した。100 μ Lの懸濁液をその後、穏やかに振とうしながら室温で2時間インキュベートした。2時間後にプレートをインキュベーション緩衝液で3回洗浄し、そして発色溶液をプレートに添加した。およそ5分後に吸光度を405 nmで読み取った。データは、GLP-1 MMBがTNF- α 若しくはIL-1により誘発されるアポトーシスからRIN-m細胞を保護することを示す(図18)。

【0237】

1型糖尿病(T1D)においては、インスリンを分泌する膵細胞の特異的破壊が存在する。細胞破壊の根底にある正確な分子機序は既知でないとは言え、T1D患者からの血清はアポトーシスを促進することが示されており、アポトーシスが糖尿病の発症である役割を演じていることを示唆する。最近の発症を伴う患者、寛開期の者、およびなお糖尿病になる傾向のある患者をGLP-1 MMBで処置することにより、アポトーシスを阻害し得かつ細胞量を保存し得る。

10

【0238】

T1Dにおいて、細胞アポトーシスは、該疾患の2種の別個の期での糖尿病発症においてある役割を演じているとみられる。第一に、膵島アポトーシスの発生の波は、自己免疫性糖尿病の発症に究極的に影響するT細胞の生物学に影響を及ぼしうる。第二に、膵島アポトーシスは、最終的に細胞の大規模破壊をもたらす細胞死の様式でもまたある。細胞アポトーシスを阻害するためのGLP-1 MMBの使用は、従って、細胞量を保存することにより、糖尿病の自己免疫性発症若しくは明白な糖尿病への進行の予防において有用であり得る。

20

【0239】

T1Dは、インスリンを分泌する細胞の不可逆的喪失からの結果である。しかしながら、長年のT1Dを伴う若干の人々でインスリン分泌は検出可能であり、生存する細胞の小集団若しくは細胞の継続的再生のいずれかが進行中の自己免疫性破壊を支配することを示す。T1Dは複製後に継続的にアポトーシスを受ける細胞を有することが示されている。細胞アポトーシスは、T1Dにおいて対照被験体の2倍くらい頻繁である。長年のT1Dを伴う大部分の人々は、破壊され続ける細胞を有する。増大された細胞死の根底にある機構には、進行中の自己免疫およびグルコース毒性の双方が関わりとみられる。進行中のアポトーシスにもかかわらずの細胞の存在は、定義により、付随する新たな細胞形成が、長年のT1D後でさえ起こりつつあるはずであることを意味する。われわれは、細胞破壊の標的を定められたGLP-1 MMB阻害によりT1Dを予防若しくは無効にしうると結論づける。

30

【0240】

多臓器ドナーにおいて、膵の島は、臓器提供前の彼らの臨床経過の間継続する、死後臓器ドナーの脳死に至る事象の間、アポトーシスおよび壊死にさらされる。加えて、膵島は、インスリン産生細胞の移植のための準備における膵島単離過程の間、アポトーシスにさらされる。さらに、膵島を糖尿病レシピエントの肝に移植する場合、サイトカイン活性化のカスケード(とりわけTNF- α 、IL1BおよびINF- γ)が存在する。単離過程の間、ならびに移植の間および後のドナーの膵島移植でのGLP-1 MMBの使用は、アポトーシスを減少させかつ膵島の機能を改善する。それはまた、临床上の利益に必要とされる膵島の数も低下させ、かつ、膵島移植での生存ドナーの使用の機会も提供する。

40

【実施例20】

【0241】

GLP-1 MMBはINS-1E細胞におけるグルコース依存性のインスリン分泌を増大させる

INS-1E細胞を、RPMI 1640 + 10% FBS + 1% L-グルタミン + 1% ピルビン酸ナトリウム + 1% 非必須アミノ酸 + 50 μ M β -メルカプトエタノール培地中、200,000細胞/ウェルの細胞密度で24ウェルプレートにプレーティングした。細胞を37°Cおよび5% CO₂で7日間増殖させ、そして第3若しくは4日に供給した

50

(fed)。細胞を0.4 mlのKRBH緩衝液/3 mMグルコースで2回洗浄し、そしてこの緩衝液中で30~60分間インキュベートさせた。培地を細胞から除去し、そして、適切な量のグルコースを含むKRBH中の被験物質0.4 mlをウェルあたりに添加した。20マイクロリットルの上清を、T=0時点、および37、5%CO₂で60分間インキュベーション後に、インスリン測定のためウェルから取り出した。インスリン濃度は、超高感度ラットインスリンELISAキット(Ultra Sensitive Rat Insulin ELISA kit)(Crystal Chem)を用いたラット標準曲線(12.8~0.1 ng/ml)を使用して測定した。時間点上清の50倍希釈5マイクロリットルを、標準曲線上にあった値を得るためにアッセイで使用した。ELISAプレートは、Milecular Devices SpectraMax 340 PCプレートリーダーにて、OD₆₃₀を差し引き、OD₄₅₀で読み取った。図19に示されるとおり、GLP-1 MMBは、用量依存性の様式で、しかし上昇されたグルコースの存在下でのみ、インスリン分泌を増大させた。

【実施例21】

【0242】

GLP-1 MMBはラットおよびヒト膵島でのグルコース依存性のインスリン分泌を増大させる

ラット膵島は、コラゲナーゼ消化、次いでFicoll勾配精製により得た。ヒト膵島は、Ricordiら、Diabetes(1998)37;4,413-420に詳述される酵素消化および密度勾配精製を使用して単離した。膵島を、CMRL-1066(Gibco)、ペニシリン/ストレプトマイシン(5,000単位/5,000 μg)、10%FBS、1%L-グルタミン 25 mM HEPES、pH7.2~7.4の培地中で20x100 mmペトリ皿に一夜プレティングし、そして5%CO₂中37で18ないし24時間培養した。翌日、膵島を皿の中心にかき混ぜ、そして50 mL円錐管に収集した。膵島を、およそ10~15分間、重力により管の底に沈殿させた。上清を除去し、機能性/生存率培地(Media Tech、カタログ番号99-786-CV)を添加し、そして膵島を重力により管の底に沈殿させた。膵島を合計3回洗浄した。上清を除去し、そして、膵島を、1%BSA、1%L-グルタミン、1%ペニシリン/ストレプトマイシンおよび0.5 mMグルコース溶液を含有する機能性/生存率培地に、1 mLあたり20膵島の密度で再懸濁した。1 mLの細胞懸濁液(約20膵島)を24ウェルプレートの各ウェルに添加し、そして5%CO₂中37で2時間インキュベートした。2時間後に、1%BSA、1%L-グルタミン、1%ペニシリン/ストレプトマイシン、GLP-1 MMB(50 nM最終濃度;100 nM初期濃度)、および3.5 mM(n=12)若しくは15 mM(n=12)の最終濃度のグルコースを含有する1 mLの機能性/生存率培地を添加した。25 μLの上清を、時間0(インスリンの基礎)および処置の添加4時間後として収集した。上清はインスリンELISAを実施するまで-20で保存した。ラットインスリンは、Crystal Chem(イリノイ州ダウナーズグループ)の超高感度ELISAアッセイキット(カタログ番号90060)を使用して定量した。ヒトインスリンは、Linco ResearchからのヒトインスリンELISAキット(ミシガン州セントチャールズ、カタログ番号EZH1-14K)を使用して定量した。図20は、GLP-1 MMBが、ラット(図20A)およびヒト膵島(図20B)からのインスリン分泌を有意に増大させることを示す。

【0243】

1型および2型双方の糖尿病は、究極的には、個体の細胞により分泌されているインスリンの不十分な量による。糖尿病を伴う個体をGLP-1 MMBで処置することにより彼らのインスリン分泌を高める能力は、彼らの糖尿病状態を改善若しくは排除するとみられる。重要なことに、インスリン分泌の増大はグルコース依存性であり、上昇されたグルコースレベルの存在下でのみ増大させる。従って、危険な低血糖エピソードを経験する患者の危険性は、GLP-1 MMBの使用で最小限にされる。

【0244】

10

20

30

40

50

同様に、インスリン分泌の増大は膵島移植処置にもまた利益を与えるとみられる。移植された膵島のインスリン分泌能力を増大させることにより、臨床上の利益を提供するのに必要とされる膵島の数を効果的に減少させ得る。膵島移植を支援するために入手可能な、制限された量の死後膵とともに、GLP-1 MMBの使用は、膵島移植処置から利益を得ることができる患者の数を有意に増大させるとみられる。さらに、インスリン分泌を増大させる能力は、GLP-1 MMBでの介入なしでは不十分なインスリン分泌能力によりドナーでの糖尿病の発症につながりうる、彼らから彼らのインスリン分泌能力を枯渇させる危険性なしに、ドナー集団を生存ドナーに拡大し得る。

【実施例 2 2】

【0 2 4 5】

正常マウスの血糖に対するGLP-1 MMBの影響

正常C57BLK/6マウスを2群に無作為化し、各群は13動物を有した。群1はPBSベヒクル若しくはGLP-1 MMB(0.5mg/kg)の連日腹腔内(IP)投与を受領した。両群を10日間処置した。マウスを体重について連日モニターし、また、血糖を32日間(この時点で試験を終了した)モニターした(LifeScan、カリフォルニア州)。

【0 2 4 6】

GLP-1 MMB処置を受領するマウスは、PBS処置マウスに比較して、10日の処置の経過の間、より低い血糖を示した(図21)。血糖は、処置を一旦終了すればPBS群のレベルに復帰した。双方の群は、試験の経過を通じて同一の体重増加を示した(データは示されない)。

【0 2 4 7】

高血糖は、1型および2型双方の糖尿病を伴う双方で存在しかつ該疾患の破壊的な二次的合併症の進行の原因である。受領者の全体的健康に悪影響を及ぼすことなく血糖を低下させるGLP-1 MMBの能力(上の非処置対照に同一の進行性の体重増加により具体的に示されるところの)は、1型および2型双方の患者に有益であるとみられる。

【実施例 2 3】

【0 2 4 8】

GLP-1 MMBは糖尿病マウスの細胞の減少を保護する

マウス(12週齢db/db)を一夜絶食させた。試験の第1日に、マウス(4群;n=5/群)にGLP-1 MMB(1.5mg/kg)若しくは陰性対照ミメティポディをs.c.投与した。試験の第4日に、空腹時血糖を測定しかつOGTT(経口耐糖能試験)を実施した。血糖値は、尾静脈血を使用して15、30、60、90、120、150および180分に測定した。マウスを安楽死させ、そして膵を取り出しかつ10%中性緩衝ホルマリン中の浸漬により固定した。各マウスからの膵をパラフィンに包埋し、そしてヘマトキシリン・エオシンによる染色および免疫組織化学のため薄片にした。インスリン染色の形態計測学的分析は、対照に対するGLP-1 MMB処置マウスでのインスリン染色の有意により高い強度を示した。実験を、GLP-1 MMBの単回投与の寿命を評価するため、投与14日後に殺したマウスで反復した。再度、インスリン染色の形態計測学的分析は、単回投与2週後のGLP-1 MMB処置マウスでインスリン染色のより高い強度を示した。インスリン染色の強度は、膵島内の貯蔵されたインスリンの量に直接関係し、GLP-1 MMB処置がこの糖尿病動物モデルの膵島でのインスリン分泌および貯蔵を増大させることを示唆する。

【0 2 4 9】

2型糖尿病において、不十分なインスリン合成および貯蔵は、該疾患の二次的合併症の発症および進行の原因である高血糖につながる。インスリン合成および貯蔵を増大させるGLP-1 MMBの能力は、2型患者で高血糖を低下させてそれにより二次的合併症の発症および進行を制限するとみられる。

【実施例 2 4】

【0 2 5 0】

10

20

30

40

50

糖尿病の免疫無防備状態のマウスへのヒト膵島の最低量の移植の効果に対するGLP-1 MMBの影響

無胸腺nu/nu(ヌード)マウスをHarlan Laboratoriesから購入した。動物を、無ウイルス抗体室中、無菌食および水への自由な到達を伴う微小隔離ケージに収容した。全部の実験は、実験動物の管理と使用に関する指針(Guide for the Care and Use of Laboratory Animals)に示される基準に従って実施した。

【0251】

クエン酸緩衝液に新たに溶解したストレプトゾトシン(200mg/kg)の静脈内投与により糖尿病を誘発した。誘発後の非空腹時血糖値をモニターすることにより糖尿病の誘発を確認し、そして350mg/dL超の値を伴う動物のみをレシピエントとして使用した。レシピエントを直ちに正常血糖にするのに十分でない量を意味する最低限膵島量(約50IEQ/g体重)の移植後、移植後第1週は連日、およびその後週3回まで非空腹時血糖値を測定することにより、移植片機能について動物をモニターした。膵島の生着、生存率および機能を改善する介入は、最低限膵島量を移植した動物で正常血糖を達成するための時間を短縮することができる。2群の最低限ヒト膵島のレシピエントを包含し; 1群はGLP-1 MMB(0.5mg/kg)のIP注入を連日受領し、また、対照群はベヒクルのIP注入を受領した。

10

【0252】

動物は、非空腹時血糖値が最低2回の連続測定値で200mg/dL超であった場合に正常血糖とみなした。加えて、グルコース投与後のグルコース消失を研究するために、移植後30日超に、一夜絶食後に処置および対照動物で実施した耐糖能試験(1.5g/kg)によって移植片機能を評価した。正常血糖を達成した動物は、天然の膵島の残余の機能を排除するため、移植片除去を受けた。

20

【0253】

図22に示されるとおり、GLP-1 MMB処置マウスは、最低量の膵島の移植後に、対照マウスに関してより迅速に正常血糖を達成した。加えて、GLP-1 MMB処置マウスはグルコース投与のより効率的な消失を示した。これらのデータは、GLP-1 MMB処置が、移植されたヒト膵島の生着、生存可能性および機能を改善し、そして膵島移植処置を受けるドナー(生存および脳死を包含する)ならびにレシピエント双方でのGLP-1 MMBの使用を裏付けることを強く示唆する。これらの結果は、糖尿病レシピエントに移植されたヒト膵島に対しGLP-1 MMBが有する有益な効果を示す。さらに、該データは、GLP-1 MMBでの処置が膵島の生着、生存および機能を改善し、かつ、膵島移植の状況で価値のある付随療法となるとみられることを示唆する。

30

【実施例25】

【0254】

ヒト以外の霊長類の膵島でのグルコースに応答してのインスリン分泌に対するGLP-1 MMBの効果

ヒト以外の霊長類の膵島を、酵素消化および密度勾配精製を使用して単離し、そして2群に分割し、そして、組織培養処理していない175cm²フラスコ(Corning、マサチューセッツ州)中、約20,000IEの密度で、加湿混合95%空気/5%CO₂中37で培養した。一群の膵島は単独で培養し、そして他群は50nM GLP-1 MMBを補充したMM1中で培養した。

40

【0255】

2日の培養後に膵島を収集し、そして膵島のサンプル(対照群から2個およびGLP-1 MMB群から1個)を、膵島のインスリン分泌に対するグルコース濃度の影響を評価するために動的刺激アッセイにかけた。膵島を、125mM NaCl、5.9mM KCl、1.28mM CaCl₂、1.2mM MgCl₂、25mM HEPES、0.1%ウシ血清アルブミンおよび3mMグルコースを含有する緩衝液で、クロマトグラフィーカラム(Bio-gel Fine 45~90nm; Bio-Rad)中37で

50

20分間前灌流した (perifused)。膵島を同一緩衝液中で10分間還流し、そしてその後11mMおよび3mMグルコースに順次曝露した。灌流液の画分は、3mMグルコースで灌流の間2分ごと、および刺激の間毎分収集した。各画分中のインスリンの濃度をELISAによりアッセイした。

【0256】

GLP-1 MMBの存在下でインキュベートした膵島は、未処理の対照と対照的に、グルコースで刺激されるインスリン分泌の有意の増大を示した (図23)。このデータは、インスリン合成および分泌に対しGLP-1 MMBが*in vitro*で有する正の影響を強く裏付け、また、膵島移植前のその使用をさらに裏付ける。移植前に膵島の効力をGLP-1 MMBで増大させることは、膵島移植処置を受けている1型糖尿病を伴う個体で同一の治療効果を達成するのに必要とされる低下された膵島の数をもたらすはずである。さらに、GLP-1 MMBでの個体の処置が*in vivo*で膵島の効力を増大させることができることを、これらの結果から予測し得る。これは、ドナー (生存および死後を包含する) の最低限量の膵島からの機能を増大させるための膵島移植のドナーおよびレシピエント双方の処置をさらに裏付ける。

10

【実施例26】

【0257】

カニクイザルの最低限量モデルでの同種間膵島生着および長期生存に対するGLP-1 MMBの影響

ヒト以外の霊長類の最低限量モデルの使用は、低下された数の膵島での糖尿病の反転を見込む可能性を有する移植アプローチを研究することを可能にする。最低限量モデルでは、およそ5,000IEQ/kg、すなわち正常血糖を達成するのに必要とされる数の半分 (通常10,000IEQ/kg) を移植する。同一の同種ドナーから得た膵島を利用することにより、ドナーおよび単離の変数を排除する。類似の移植前インスリン要求を有するサルを対を移植することにより、膵島機能を高めるよう設計された剤を受領しないサルと比較して、該剤で処置したサルでの高められた膵島の生着を観察しかつ早期の膵島喪失を制限することが可能である。

20

【0258】

レシピエントはモーリシャス起源の2~3歳のカニクイザルであり；同系統のドナーは4歳超であった。1250mg/m²のストレプトゾトシンで糖尿病を誘発した。糖尿病動物は、血糖値を150~300mg/dlの間に維持しようとして、朝食前にNPHインスリンおよび昼食前にNPH/Lantusで処置した。糖尿病誘発4週後に、サルは、刺激されたc-ペプチドが産生されないことを確認するためグルカゴン投与を受けた。

30

【0259】

ドナー臓器を収集し、そして、実施例Aおよび実施例Bで引用された半自動化方法を介して膵島を単離し、次いで2期の一夜培養した (最初37、およびその後22で)。対照サルの膵島は標準MM1培地中で培養し、また、実験サルの膵島は50nM GLP-1 MMBを補充したMM1中で培養した。サルは小開腹 (mini-laparotomy) を受け、そして門脈を介し肝中に膵島移植を実施した。一対のサルが同一ドナーから約5,000IEQ/kg (上述されたとおり培養した) を受領し；一方のサルはGLP-1 MMB (0.2mg/kg) を週あたり2回皮下で受領し、かつ、対照サルはしなかった。対照およびGLP-1 MMB処置マウス双方について、臨床で使用されているところのステロイドを用いない免疫抑制 (SFISとして略記され、低用量FK506、高用量ラパマイシン、抗IL2R導入療法よりなる) で拒絶を予防した。動物を1日2回監視して空腹時および食後血糖値を測定し (ヒールスティック (heel stick)、血糖測定器)、そして、移植後は、100~200mg/dl範囲に血糖を維持するのに必要とされるとおりインスリンで処置した。空腹時c-ペプチドを1週おきに測定し、また、静脈耐糖能試験 (IVGTT) を8週ごとに行って移植片機能を評価した。

40

【0260】

GLP-1 MMB処置動物は、外因性インスリン要求の有意の低下を伴い、優れたグ

50

ルコース調節を有した(図24A)。改善されたグルコース調節は、未処置対照と比較してのGLP-1 MMB処置動物でのHgbA1cの迅速な減少によりさらに具体的に説明された(図24B)。この研究は、膵島移植処置を受ける1型糖尿病患者におけるGLP-1 MMBの利用をさらに裏付ける。

【0261】

利点：2型糖尿病を処置するための治療薬としての本新規分子の使用は、他のGLP-1アナログを上回るいくつかの利点を提供する。例えば、それはGLP-1ペプチドの半減期を延長することがありそうである。また、ミメティボディの足場構造中の野性型GLP-1ペプチドは、プロテアーゼ分解、とりわけDPP-IVに対し抵抗性である。これは、変異体ペプチドよりむしろ野性型GLP-1ペプチドでの処置を見込みうる。GLP-1は天然のペプチドであるため、突然変異GLP-1アナログで処置される患者でよりも、GLP-1ミメティボディで処置される患者でより少ない免疫応答が存在しうる。加えて、GLP-1 MMBの大きな大きさは、それが血液脳関門を横断することから排除しうる。吐き気および不安は脳中のGLP-1Rを結合するGLP-1に関連づけられているため、これは一利点を提供するとみられる。さらに、該ミメティボディの基盤は各ミメティボディ分子上での2ペプチドの発現をもたらす。これは、GLP-1ペプチドが相互と相互作用することを可能にするとみられ、細胞表面のGLP-1受容体に対する親和性を増大させ得る二量体リガンドを形成する。

10

【0262】

本発明は前述の記述および実施例にとりわけ記述されたところ以外の別の方法で実施し得ることが明らかであろう。

20

【0263】

本発明の多数の改変および変形物は上の教示に照らして可能であり、そして従って本発明の範囲内にある。

【0264】

【表 1】

表 1

配列番号			全アミノ酸数	領域	
				FR1	FR4
47	H鎖可変領域	Vh1	125	1-31	81-125
48		Vh2	97	1-30	80-97
49		Vh3a	102	1-30	80-102
50		Vh3b	102	1-30	80-102
51		Vh3c	94	1-30	80-94
52		Vh4	106	1-30	80-106
53		Vh5	97	1-30	80-97
54		Vh6	91	1-30	80-91
55		Vh7	91	1-30	80-91

10

配列番号			アミノ酸数	領域							
				ヒンジ 1	ヒンジ 2	ヒンジ 3	ヒンジ 4	CH2	CH3	CH4	
56	H鎖定常領域	IgA1	354	103-122					123-222	223-354	
57		IgA2	340	103-108					109-209	210-340	
58		IgD	384	102-135	319-497				160-267	268-384	
59		IgE	497						104-210	211-318	319-497
60		IgG1	339	99-121					122-223	224-339	
61		IgG2	326	99-117					118-219	220-326	
62		IgG3	377	99-115		131-145	146-168		169-270	271-377	
63		IgG4	327	99-110	324-476				111-220	221-327	
64		IgM	476						105-217	218-323	324-476

20

【図面の簡単な説明】

【0265】

【図 1】重要な機能的ドメインを示す IgG1 の足場構造中の GLP-1 MMB のヌクレオチドおよびペプチド配列を具体的に説明する。

30

【図 2A - 2C】GLP-1 MMB の FACS 結合アッセイを具体的に説明する。図 2A は、GLP-1 MMB が GLP-1 R を過剰発現する HEK293 細胞に結合することを示す。灰色の領域：GLP-1 MMB しかし二次なし；灰色の線：二次のみ；点線、陰性対照 MMB および二次；黒色の線：GLP-1 MMB および二次。図 2B は、GLP-1 MMB が対照 HEK293E 細胞に結合しないことを示す。灰色の領域：GLP-1 MMB しかし二次なし；黒色の線：二次のみ；灰色の線：GLP-1 MMB および二次。図 2C は、GLP-1 ペプチドアナログ (A2S) が GLP-1 R を過剰発現する HEK293E 細胞への結合について GLP-1 MMB と競合することが可能であることを示す。灰色の領域：GLP-1 MMB しかし二次なし；黒色の線：GLP-1 MMB および二次；破線：GLP-1 MMB、0.2 nM 競合体、二次；点線：GLP-1 MMB、20 nM 競合体、二次；灰色の線：GLP-1 MMB、100 nM 競合体、二次。

40

【図 3A - 3E】GLP-1 MMB の cAMP アッセイを具体的に説明する。図 3A：IgG1 の足場構造中の wt GLP-1 MMB；図 3B：GLP-1 ペプチド；図 3C：IgG4 (Ala/Ala, Ser->Pro) 足場構造中の GLP-1 (A2G) MMB；図 3D：IgG4 (Ala/Ala, Ser->Pro) 足場構造中の GLP-1 (A2S) MMB；図 3E：IgG4 (Ala/Ala, Ser->Pro) 足場構造中の wt GLP-1 MMB。

【図 4】DPP-IV 切断に対する GLP-1 MMB の抵抗性を具体的に説明する。

50

【図5】血清中でのGLP-1 MMBの安定性を示す。

【図6】GLP-1 MMBがRINm細胞中でインスリン分泌を引き起こすことを示す。図6Aは、GLP-1(7-36)ペプチドおよびエキセンジン-4ペプチドがRINm細胞中でのインスリン放出を刺激することを示す。図6Bは、IgG1若しくはIgG4(Ala/Ala, Ser->Pro)いずれかの足場構造中のGLP-1(A2S) MMBまたはIgG4(Ala/Ala, Ser->Pro)足場構造中のGLP-1(A2G) MMBが、RINm細胞中でのインスリン分泌の刺激において活性であることを示す。

【図7】GLP-1 MMBがグルコースを(図7A)用量依存性の様式で(図7B)低下させることを示す。

【図8】カニクイザルにおける4種のGLP-1 MMB(A2G、A2S、Ex-capおよび野性型)の薬物動態プロファイルを示す。

【図9】糖尿病マウスにおける経口耐糖能試験の間のGLP-1 MMBの効果を示す。

【図10】糖尿病マウスへの慢性投与の間の空腹時血糖に対するGLP-1 MMBの効果を示す。

【図11】糖尿病マウスへの慢性投与後の経口耐糖能試験に対するGLP-1 MMBの効果を示す。

【図12】糖尿病マウスへの慢性投与後のHbA1cの低下に対するGLP-1 MMBの効果を示す。

【図13】正常カニクイザルにおける経口耐糖能試験での血糖(図13A)およびインスリン(図13B)レベルに対するGLP-1 MMBの効果を示す。

【図14】単回投与後の糖尿病マウスの膵島のインスリン染色に対するGLP-1 MMBの効果を示す。

【図15】GLP-1 MMBが正常イヌで胃排出を遅延させることを示す。

【図16】GLP-1 MMBが、食餌誘発性肥満マウスで経口耐糖能試験後の血糖を低下させることを示す。

【図17】GLP-1 MMBが、糖尿病マウスでの腹腔内耐糖能試験で血糖を低下させ(図17A)かつインスリンレベルを低下させる(図17B)ことを示す。

【図18】GLP-1ミメティポディが、サイトカイン誘発性のアポトーシスを用量依存性の様式で阻害することを示す。未処理の対照に関するアポトーシスのパーセントを、GLP-1 MMBの濃度に対しプロットする。

【図19】GLP-1ミメティポディが、INS-1E細胞中でのグルコース依存性のインスリン分泌を増大させることを示す。A. 該棒グラフは、5.5mMグルコースの存在下での各濃度のGLP-1 MMBで分泌されるインスリンの量を示す。加えて、3および7.5mMグルコースのみで分泌されるインスリンをプロットする。B. 分泌されるインスリンの量をGLP-1 MMBの濃度に対しプロットする。該データをHill等式に当てはめ、0.07nMのEC₅₀を提供した。

【図20】GLP-1ミメティポディが、ラット(図20A)およびヒト膵島(図20B)中のグルコース依存性のインスリン分泌を増大させることを示す。

【図21】正常C57/BLK6マウスの血糖値に対するGLP-1 MMB処置の効果を示す。

【図22】最低限量のヒト膵島を移植したSTZ処置糖尿病ヌードマウスでの血糖値(図22A)および耐糖能(図22B)に対するGLP-1 MMB処置の効果を示す。図22Aで、連日IP注入を受領するPBSで処置した対照マウス(x)およびGLP-1 MMB処置マウス()について、血糖を時間(日数)に対しプロットした。最低限量のヒト膵島(50IEQ/g)を第0日に移植し、そして該動物の血糖をその後モニターした。矢印は、糖尿病状態への迅速な復帰をもたらした、移植した膵島を除去した時点を示す。図22Bでは、PBS(x)およびGLP-1 MMB(0.5mg/kg)()で処置した対照マウスについて、血糖を時間(分)に対しプロットした。マウスが連日IP注入を30日間超受領した後にIVGTTを行った。動物を一夜絶食させ、次いでグル

10

20

30

40

50

コースをIV注入した(1.5g/kg)。マウスの血糖をモニターし、そして注入後時間に対しプロットした。挿入図は、対照およびGLP-1MMB処置した動物の曲線下面積を表す。

【図23】ヒト以外の霊長類(NHP)の膵島中のグルコース誘発性のインスリン分泌に対するGLP-1MMBの効果を示す。

【図24】最低限量を移植したSTZ糖尿病NHPの外因性インスリン要求(図24A)およびヘモグロビンA1c(Hg b A1c)(図24B)に対するGLP-1MMBの効果を示す。

【図1A】

FIG. 1A

```

シグナル配列.....
Met Ala Trp Val Trp Thr Leu Leu Phe Leu Met Ala Ala Ala Gln
ATG GCT TGG GTG TGG ACC TTG CTA TTC CTG ATG GCG GCC GCC CAA

..... GLP-1.....
Ser Ile Gln Ala His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser
AGT ATA CAG GCC CAT GCT GAA GGG ACC TTT ACT AGT GAT GTA AGT

Ser Tyr Leu Glu Gly Gln Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu
TCT TAT TTG GAA GGC CAA GCT GCC AAG GAA TTC ATT GCT TGG CTG

..... リンカー..... VH.....
Val Lys Gly Arg Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Leu
GTG AAA GGC CGA GGA GGT GGA TCC GGT GGA GGC TCC GGT ACC TTA

..... ヒンジ.....
Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
GTC ACC GTC TCC TCA GAG CCC AAA TCT TGT GAC AAA ACT CAC ACG

..... CH2.....
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
TGC CCA CCG TGC CCA GCA CCT GAA CTC CTG GGG GGA CCG TCA GTC

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
TTC CTC TTC CCC CCA AAA CCC AAG GAC ACC CTC ATG ATC TCC CGG

.....
Thr Pro glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
ACC CCT GAG GTC ACA TGC GTG GTG GTG GAC GTG AGC CAC GAA GAC

.....
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
CCT GAG GTC AAG TTC AAC TGG TAC GTG GAC GGC GTG GAG GTG CAT

.....
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr tyr
AAT GCC AAG ACA AAG CCG CGG GAG GAG CAG TAC AAC AGC ACG TAC

.....
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
CGG GTG GTC AGC GTC CTC ACC GTC CTG CAC CAG GAC TGG CTG AAT

```

【図1B】

FIG. 1B

```

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
GGC AAG GAG TAC AAG TGC AAG GTC TCC AAC AAA GCC CTC CCA GCC

..... CH3.....
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
CCC ATC GAG AAA ACC ATC TCC AAA GCC AAA GGG CAG CCC CGA GAA

.....
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
CCA CAG GTG TAC ACC CTG CCC CCA TCC CGG GAT GAG CTG ACC AAG

.....
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
AAC CAG GTC AGC CTG ACC TGC CTG GTC AAA GGC TTC TAT CCC AGC

.....
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
GAC ATC GCC GTG GAG TGG GAG AGC AAT GGG CAG CCG GAG AAC AAC

.....
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
TAC AAG ACC ACG CCT CCC GTG CTG GAC TCC GAC GGC TCC TTC TTC

.....
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
CTC TAC AGC AAG CTC ACC GTG GAC AAG AGC AGG TGG CAG CAG GGG

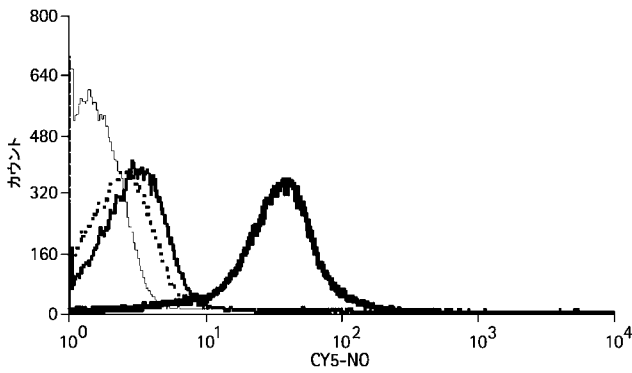
.....
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
AAC GTC TTC TCA TGC TCC GTG ATG CAT GAG GGT CTG CAC AAC CAC

..... 終止
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
TAC ACG CAG AAG AGC CTC ICC CTG TCT CCG GGT AAA TGA

```

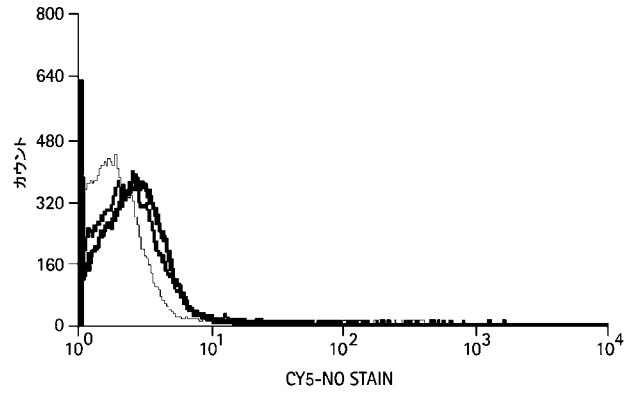
【 図 2 A 】

FIG. 2A



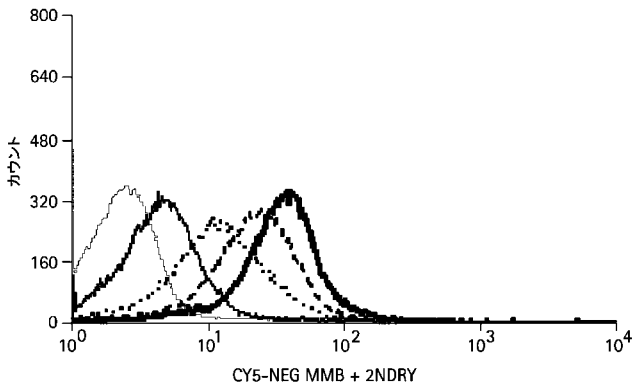
【 図 2 B 】

FIG. 2B



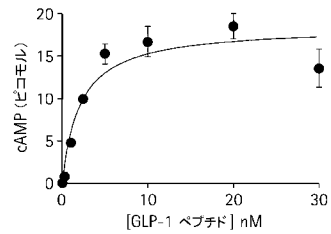
【 図 2 C 】

FIG. 2C



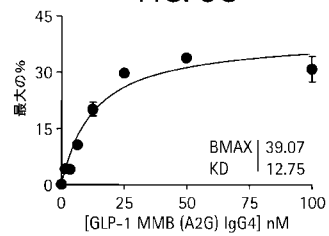
【 図 3 B 】

FIG. 3B



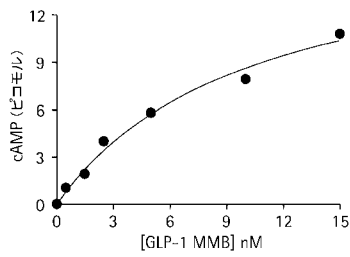
【 図 3 C 】

FIG. 3C



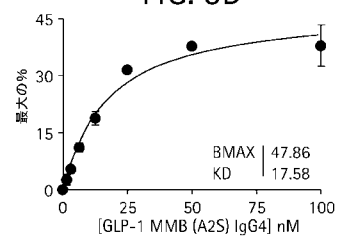
【 図 3 A 】

FIG. 3A

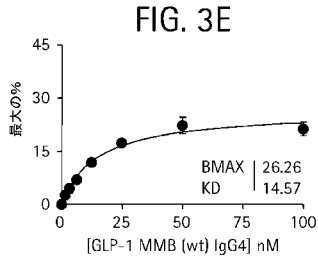


【 図 3 D 】

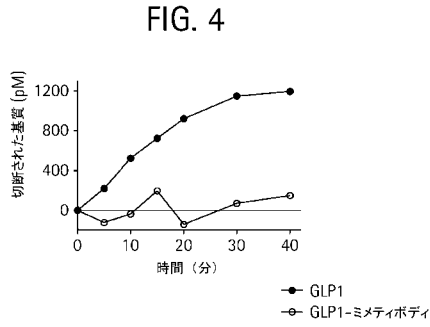
FIG. 3D



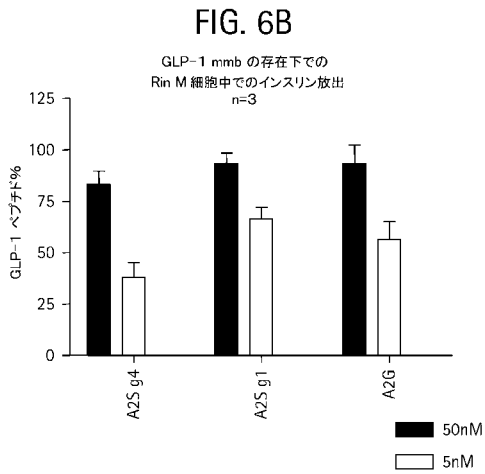
【 図 3 E 】



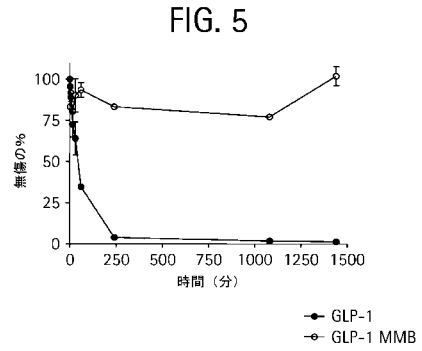
【 図 4 】



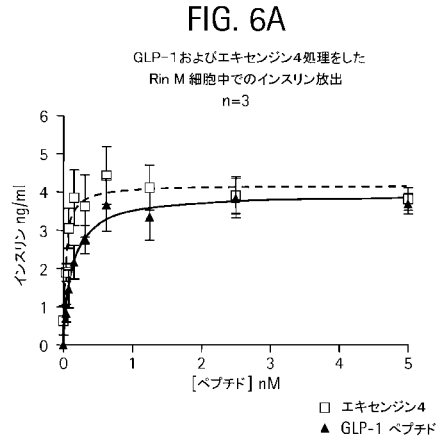
【 図 6 B 】



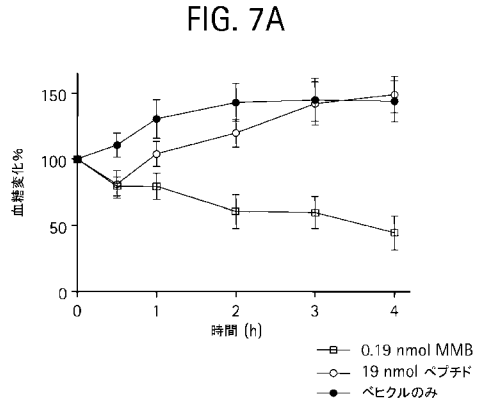
【 図 5 】



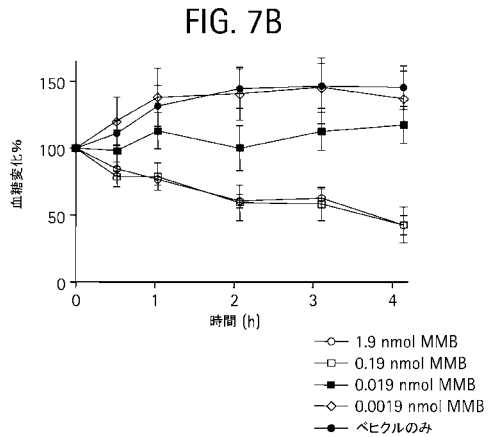
【 図 6 A 】



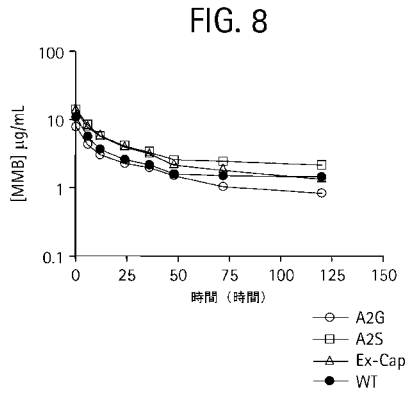
【 図 7 A 】



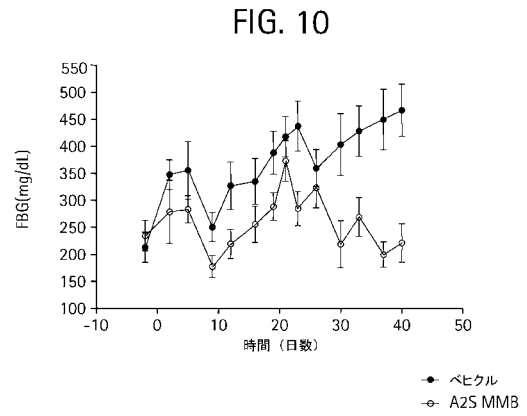
【 図 7 B 】



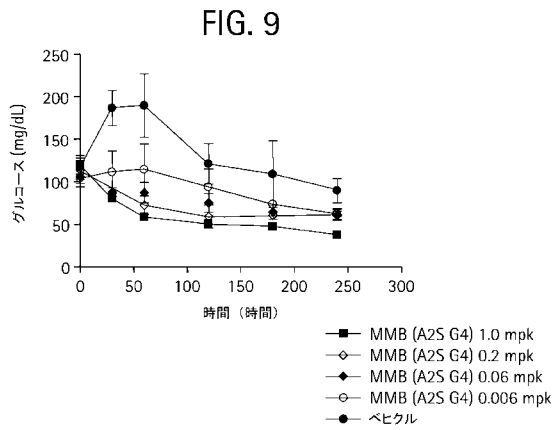
【 図 8 】



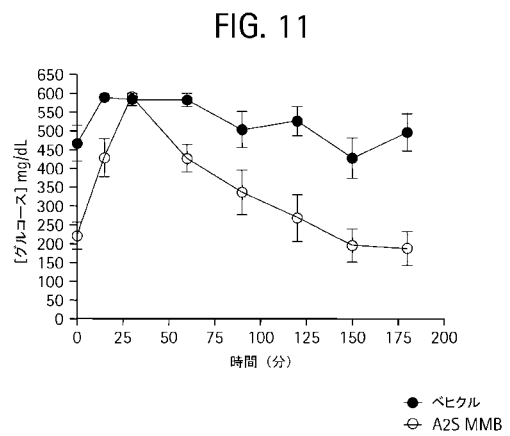
【 図 10 】



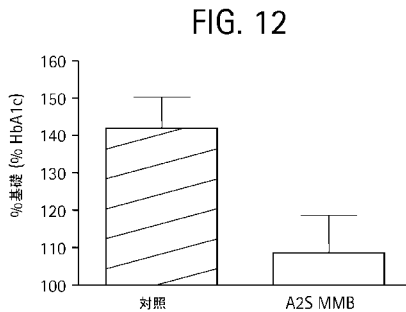
【 図 9 】



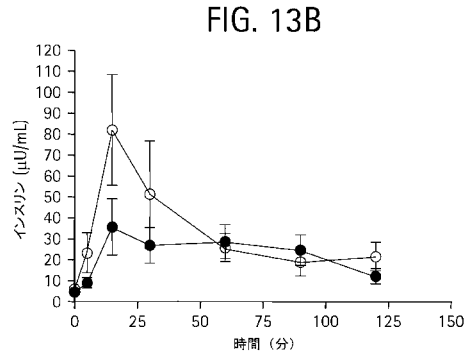
【 図 11 】



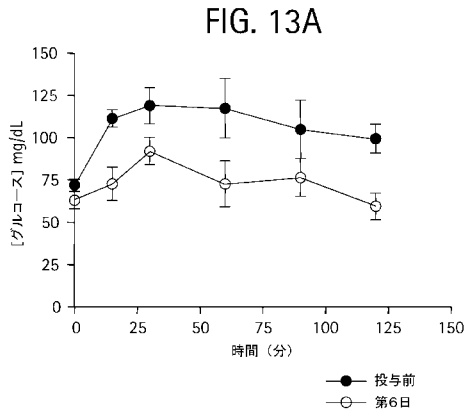
【 図 12 】



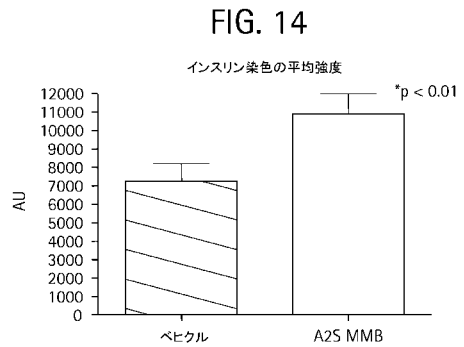
【 図 13 B 】



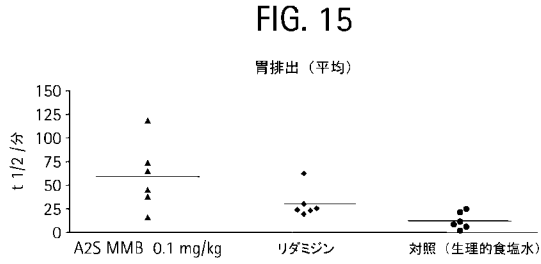
【 図 13 A 】



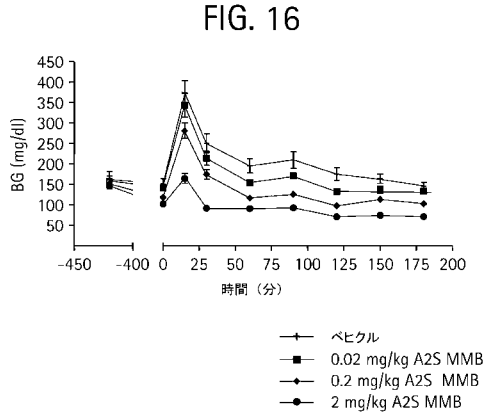
【 図 14 】



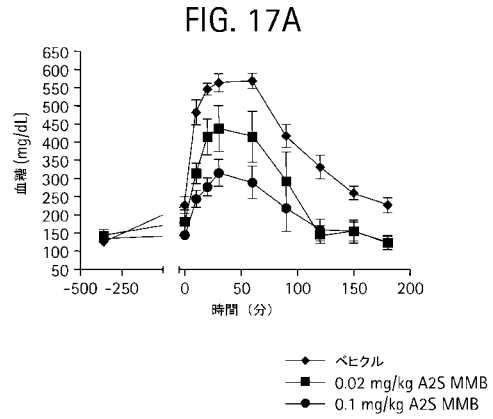
【 図 1 5 】



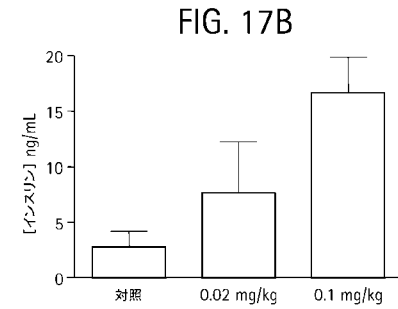
【 図 1 6 】



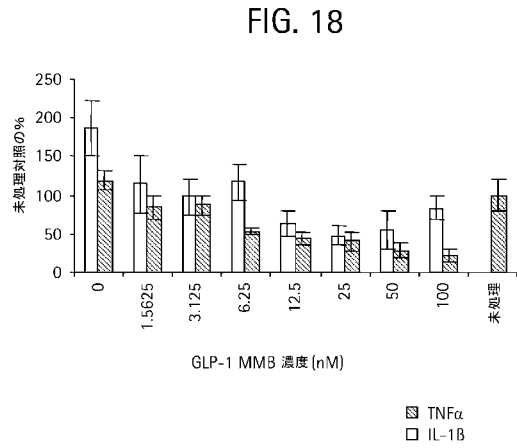
【 図 1 7 A 】



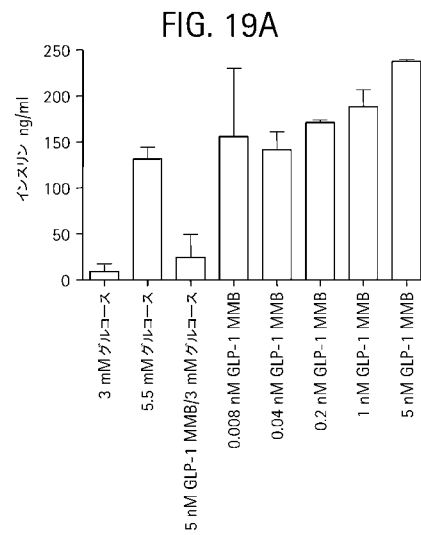
【 図 1 7 B 】



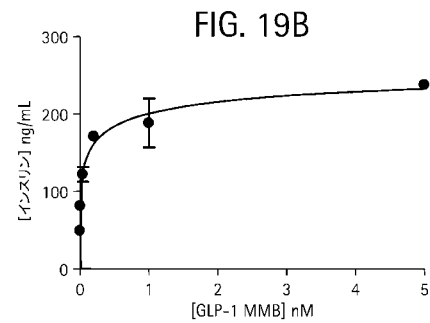
【 図 1 8 】



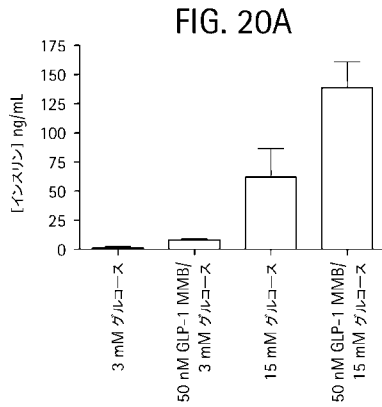
【 図 1 9 A 】



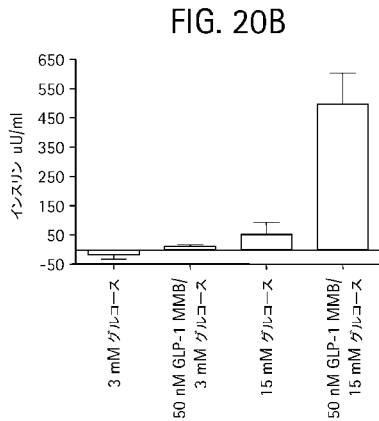
【 図 1 9 B 】



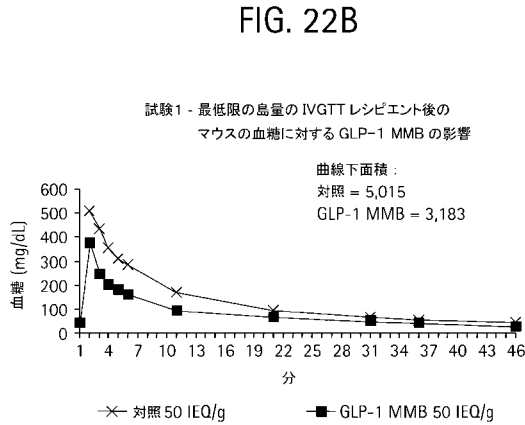
【 図 2 0 A 】



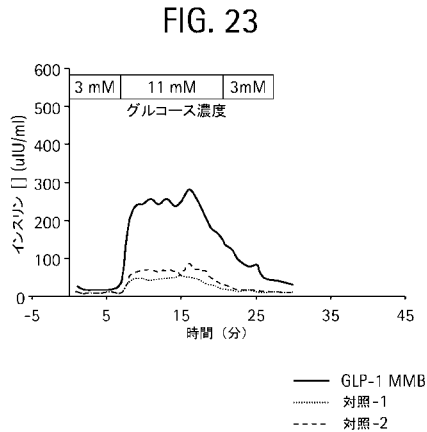
【 図 2 0 B 】



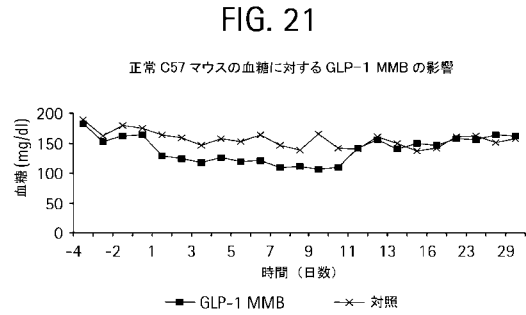
【 図 2 2 B 】



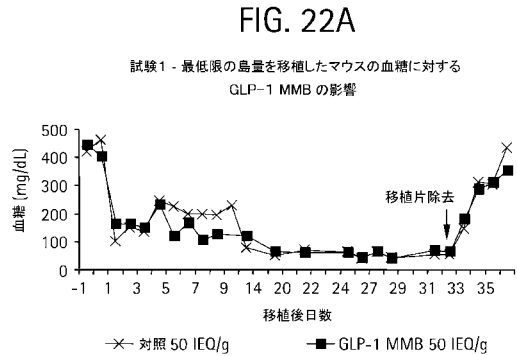
【 図 2 3 】



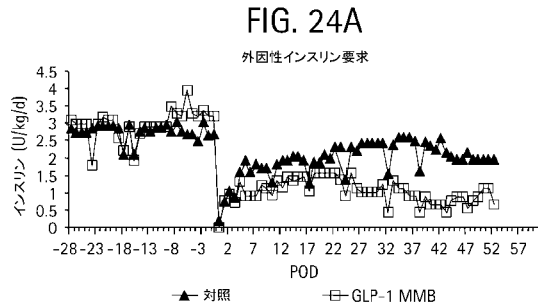
【 図 2 1 】



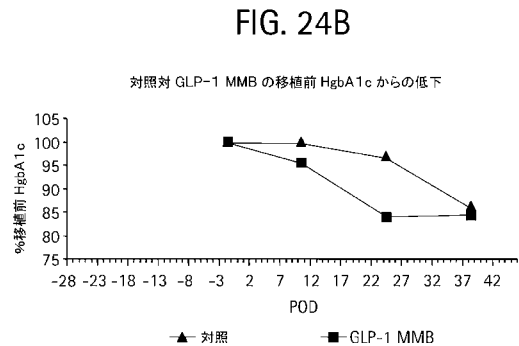
【 図 2 2 A 】



【 図 2 4 A 】



【 図 2 4 B 】



【配列表】

2008546373000001.app

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 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 5
A 6 1 P 9/04 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	4 H 0 4 5
A 6 1 P 5/50 (2006.01)	A 6 1 P 9/04	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 5/50	
C 0 7 K 16/26 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 0 5	
C 0 7 K 16/42 (2006.01)	C 0 7 K 16/26	
C 0 7 K 19/00 (2006.01)	C 0 7 K 16/42	
C 0 7 K 14/72 (2006.01)	C 0 7 K 19/00	
C 1 2 P 19/34 (2006.01)	C 0 7 K 14/72	
C 1 2 P 21/02 (2006.01)	C 1 2 P 19/34 A	
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	C 1 2 P 21/02 C	
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 A	
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 5/00 A	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	G 0 1 N 33/53 B	
	C 1 2 P 21/08	

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

Fターム(参考) 4B024 AA01 AA11 AA20 BA01 BA61 BA80 CA02 CA09 CA20 DA02
 DA03 EA04 FA02 GA18 GA25 HA01 HA03 HA11 HA20
 4B063 QA01 QQ02 QQ08 QQ53 QQ79 QQ91 QQ94 QR08 QR32 QR35
 QR40 QR42 QR48 QR55 QR56 QR62 QS16 QS25 QS33 QS34
 QS36 QX01 QX02
 4B064 AG01 AG15 AG26 AG27 CA01 CA10 CA19 CC01 CC24 DA01
 DA13
 4B065 AA01X AA58X AA72X AA87X AA90X AA93X AA93Y AB01 AC14 BA02
 BA16 CA24 CA43 CA44
 4C084 AA02 AA03 AA06 AA07 AA13 AA19 BA02 BA22 DB35 ZA022
 ZA202 ZA332 ZA342 ZA361 ZA362 ZA592 ZA662 ZB072 ZB221 ZB222
 ZB262 ZB322 ZC031 ZC032 ZC212 ZC351 ZC352
 4C085 AA13 AA14
 4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA30 DA75 DA76 EA20
 EA50 FA71 FA72 FA74

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2008546373A5	公开(公告)日	2009-03-05
申请号	JP2008504018	申请日	2005-12-22
[标]申请(专利权)人(译)	森托科尔公司		
申请(专利权)人(译)	Centocor公司, 股份有限公司的Rete每次		
[标]发明人	オニールカリンテイ ピチャクリステン		
发明人	オニール,カリン・テイ ピチャ,クリステン		
IPC分类号	C12N15/09 A61K48/00 A61K38/26 A61K39/395 A61K45/00 A61P3/10 A61P9/04 A61P5/50 A61P43/00 C07K16/26 C07K16/42 C07K19/00 C07K14/72 C12P19/34 C12P21/02 C12Q1/02 C12Q1/68 C12N1/21 C12N1/19 C12N5/10 C12N1/15 G01N33/53 C12P21/08		
CPC分类号	C07K16/00 A61K2039/505 C07K14/605 C07K2318/10		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A61K48/00 A61K37/28 A61K39/395.D A61K39/395.N A61K45/00 A61P3/10 A61P9 /04 A61P5/50 A61P43/00.105 C07K16/26 C07K16/42 C07K19/00 C07K14/72 C12P19/34.A C12P21/02. C C12Q1/02 C12Q1/68.A C12N1/21 C12N1/19 C12N5/00.A C12N1/15 G01N33/53.B C12P21/08		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/AA20 4B024/BA01 4B024/BA61 4B024/BA80 4B024/CA02 4B024 /CA09 4B024/CA20 4B024/DA02 4B024/DA03 4B024/EA04 4B024/FA02 4B024/GA18 4B024/GA25 4B024/HA01 4B024/HA03 4B024/HA11 4B024/HA20 4B063/QA01 4B063/QQ02 4B063/QQ08 4B063 /QQ53 4B063/QQ79 4B063/QQ91 4B063/QQ94 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR40 4B063/QR42 4B063/QR48 4B063/QR55 4B063/QR56 4B063/QR62 4B063/QS16 4B063/QS25 4B063 /QS33 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QX01 4B063/QX02 4B064/AG01 4B064/AG15 4B064/AG26 4B064/AG27 4B064/CA01 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC01 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064 /DA13 4B065/AA01X 4B065/AA58X 4B065/AA72X 4B065/AA87X 4B065/AA90X 4B065/AA93X 4B065 /AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/BA16 4B065/CA24 4B065/CA43 4B065/CA44 4C084/AA02 4C084/AA03 4C084/AA06 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/AA19 4C084/BA02 4C084 /BA22 4C084/DB35 4C084/ZA022 4C084/ZA202 4C084/ZA332 4C084/ZA342 4C084/ZA361 4C084 /ZA362 4C084/ZA592 4C084/ZA662 4C084/ZB072 4C084/ZB221 4C084/ZB222 4C084/ZB262 4C084 /ZB322 4C084/ZC031 4C084/ZC032 4C084/ZC212 4C084/ZC351 4C084/ZC352 4C085/AA13 4C085 /AA14 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA30 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA71 4H045/FA72 4H045/FA74		
优先权	PCT/US2005/097175 2005-03-28 WO		
其他公开文献	JP2008546373A		

摘要(译)

本发明提供了编码至少一种GLP-1模拟体或指定部分或变体, GLP-1模拟体或特定部分或变体, 载体, 宿主细胞, 转基因动物或植物的分离的核酸。至少一种新的人GLP-1模拟体或其特定部分或变体, 以及制备和使用它们的方法, 包括治疗组合物, 方法和装置。

