

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7536030号
(P7536030)

(45)発行日 令和6年8月19日(2024.8.19)

(24)登録日 令和6年8月8日(2024.8.8)

(51)国際特許分類	F I			
A 6 1 K 38/19 (2006.01)	A 6 1 K	38/19		Z N A
A 6 1 P 3/04 (2006.01)	A 6 1 P	3/04		
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395		N

請求項の数 22 (全60頁)

(21)出願番号	特願2021-552609(P2021-552609)	(73)特許権者	500049716 アムジェン・インコーポレーテッド アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 1 3 2 0 , サウザンド オークス , ワン ア ムジェン センター ドライブ
(86)(22)出願日	令和2年3月6日(2020.3.6)	(74)代理人	110001173 弁理士法人川口国際特許事務所
(65)公表番号	特表2022-523972(P2022-523972 A)	(72)発明者	シオン , ユイメイ アメリカ合衆国、カリフォルニア・9 1 3 2 0 - 1 7 9 9、サウザンド・オーク ス、ワン・アムジェン・センター・ドラ イブ、メール/ストップ・2 8 - 5 - エ イ、ロー・デパートメント・パテント・ オペレーションズ、アムジェン・インコ ーポレーテッド気付
(43)公表日	令和4年4月27日(2022.4.27)		
(86)国際出願番号	PCT/US2020/021314		
(87)国際公開番号	WO2020/185533		
(87)国際公開日	令和2年9月17日(2020.9.17)		
審査請求日	令和5年2月2日(2023.2.2)		
(31)優先権主張番号	62/815,866		
(32)優先日	平成31年3月8日(2019.3.8)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 増殖分化因子 1 5 併用療法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

G D F 1 5 分子を含む、対象における肥満の治療に使用するための医薬組成物であって、前記使用は、抗 G I P R 抗体を含む G I P R アンタゴニスト及び前記 G D F 1 5 分子を対象に投与することを含み、前記使用は、前記 G D F 1 5 分子単独又は前記 G I P R アンタゴニスト単独の投与と比較して相乗効果を有する、医薬組成物。

【請求項 2】

抗 G I P R 抗体を含む G I P R アンタゴニストを含む、対象における肥満の治療に使用するための医薬組成物であって、前記使用は、G D F 1 5 分子及び前記 G I P R アンタゴニストを対象に投与することを含み、前記使用は、前記 G D F 1 5 分子単独又は前記 G I P R アンタゴニスト単独の投与と比較して相乗効果を有する、医薬組成物。

【請求項 3】

抗 G I P R 抗体を含む G I P R アンタゴニスト及び G D F 1 5 分子を含む、対象における肥満の治療に使用するための医薬組成物であって、前記医薬組成物の投与は、前記 G D F 1 5 分子単独又は前記 G I P R アンタゴニスト単独の投与と比較して相乗効果を有する、医薬組成物。

【請求項 4】

前記 G D F 1 5 分子及び前記 G I P R アンタゴニストは、同時に投与される、請求項 1 又は 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 5】

前記 G D F 1 5 分子及び前記 G I P R アンタゴニストは、連続的に投与される、請求項 1 又は 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

前記 G I P R アンタゴニストは、抗体である、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

前記抗 G I P R 抗体は、C D R L 1、C D R L 2、C D R L 3、C D R H 1、C D R H 2 及び C D R H 3 を含み、前記 C D R L 1、C D R L 2、C D R L 3、C D R H 1、C D R H 2 及び C D R H 3 は、それぞれ配列番号 6 5 ~ 6 7 及び 7 7 ~ 7 9、配列番号 6 8 ~ 7 0 及び 8 0 ~ 8 2、配列番号 7 1 ~ 7 3 及び 8 3 ~ 8 5、又は配列番号 7 4 ~ 7 6 及び 8 6 ~ 8 8 のアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

10

【請求項 8】

前記抗 G I P R 抗体は、それぞれ配列番号 8 9 及び 9 0、9 1 及び 9 2、9 3 及び 9 4、又は 9 5 及び 9 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域及び重鎖可変領域を含む、請求項 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

前記抗 G I P R 抗体は、それぞれ配列番号 9 7 及び 9 8、9 9 及び 1 0 0、1 0 1 及び 1 0 2、1 0 3 及び 1 0 4、又は 1 0 5 及び 1 0 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖及び重鎖を含む、請求項 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 0】

前記相乗効果は、体重を低減させることにある、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

20

【請求項 1 1】

前記 G D F 1 5 分子は、F c 領域に連結された G D F 1 5 領域を含む融合タンパク質である、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 1 2】

前記 G D F 1 5 領域は、リンカーを介して前記 F c 領域に連結している、請求項 1 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 3】

前記 G D F 1 5 領域は、配列番号 1 3 ~ 1 8 から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 1 に記載の医薬組成物。

30

【請求項 1 4】

前記 G D F 1 5 領域は、配列番号 1 6、配列番号 1 7 又は配列番号 1 8 のアミノ酸配列を含む、請求項 1 3 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 5】

前記 G D F 1 5 領域は、配列番号 1 4、配列番号 1 5 又は配列番号 1 8 のアミノ酸を含む、請求項 1 3 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 6】

前記 G D F 1 5 領域は、配列番号 1 6 又は配列番号 1 8 のアミノ酸配列を含む、請求項 1 3 に記載の医薬組成物。

40

【請求項 1 7】

前記リンカーは、(G 4 S) n リンカー又は (G 4 Q) n リンカーであり、式中、n は 0 より大きい、請求項 1 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 8】

n は、1 又は 2 である、請求項 1 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 9】

前記 F c 領域は、K 3 9 2 D、K 4 0 9 D、E 3 5 6 K 及び D 3 9 9 K から選択される電荷対の変異を含む、請求項 1 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 0】

前記 F c 領域は、短縮ヒンジ領域を含む、請求項 1 1 に記載の医薬組成物。

50

【請求項 2 1】

前記 F c 領域は、配列番号 2 6 ~ 3 7 から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 2】

前記 F c 領域は、配列番号 2 6 ~ 3 1 から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 1 に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

10

本願は、参照によりその全体が参照により本明細書に組み込まれる、2019年3月8日出願の米国仮特許出願第62/815,866号明細書の利益を主張する。

【0002】

配列表

本願は、電子フォーマットの配列表と共に出願されている。配列表は、2020年3月2日に作成された、サイズが166kbであるA-2298-WO-PCT_SeqList.txtという名称のファイルとして提供される。電子フォーマットの配列表における情報は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0003】

本開示は、GDF15融合タンパク質等のGDF15分子、その組成物、並びに併用療法におけるその使用等のそうしたタンパク質を作製及び使用するための方法に関する。

20

【背景技術】

【0004】

マクロファージ阻害性サイトカイン1(MIC1)とも称される増殖分化因子15(GDF15)(Bootcov MR, 1997, Proc Natl Acad Sci 94:11514-9)、胎盤骨形成因子(PLAB)(Hromas R 1997, Biochim Biophys Acta. 1354:40-4)、胎盤トランスフォーミング成長因子(PTGFB)(Lawton LN 1997, Gene. 203:17-26)、前立腺由来因子(PDF)(Paralkar VM 1998, J Biol Chem. 273:13760-7)及び非ステロイド性抗炎症薬活性化遺伝子(NAG-1)(Baek SJ 2001, J Biol Chem. 276:33384-92)は、約25kDaのホモ二量体として血漿中を循環する分泌タンパク質である。GDF15は、GDNFファミリー受容体様(GFRAL)に高親和性で結合する。GDF15誘導性細胞シグナル伝達は、GFRALと共受容体RETとの相互作用を必要とすると考えられている。

30

【0005】

GDF15は、複数の生物活性と関連している。GDF15の増加は、体重低減と相関関係にあることが示されており、GDF15の投与は、食物摂取量及び体重を低減させることが示されている。

【0006】

40

グルコース依存性インスリン分泌促進性ポリペプチド(GIP、以前は胃機能抑制性ポリペプチドと呼ばれた)及びグルカゴン様ポリペプチド1(GLP-1)は、公知のインスリン分泌促進因子(「インクレチン」)である。GIPは、一本鎖の42個のアミノ酸から成るペプチドであり、ヒトGIPは、153個のアミノ酸から成る前駆体であるproGIPのプロセッシングに由来する。GIP分泌は、食物摂取により誘導され、脂肪細胞における脂肪貯蔵の促進並びに膵島細胞の機能及びグルコース依存性のインスリン分泌の促進を含む、多数の生理学的作用を及ぼす。インタクトなGIPは、DPPIVによって不活性形態へ迅速に分解される。GIPに対する受容体であるGIP受容体(GIPR)は、Gタンパク質共役型受容体(GPCR)のセクレチン-グルカゴンファミリーのメンバーである。ヒトGIPRは、466個のアミノ酸を有する。

50

【0007】

グルカゴン様ペプチド1 (GLP-1) は、プログルカゴン遺伝子に由来する31個のアミノ酸から成るペプチドである。GLP-1は、小腸L細胞によって分泌され、食物摂取に反応して放出され、膵臓細胞からのインスリン分泌を誘導する。インクレチン作用に加えて、GLP-1は更に、グルカゴンの分泌を低減させ、胃内容排出を遅延させ、カロリー摂取量を低減させる。GLP-1は、クラスBのGタンパク質共役型受容体に属するGLP-1受容体 (GLP-1R) の活性化によってその作用を発揮する。GLP-1の機能は、DPP-IV酵素による迅速な分解によって制限される。エキセナチド、リラグルチド、デュラグルチド等の持続性のGLP-1Rアゴニストが開発されており、2型糖尿病を有する患者の血糖コントロールを改善するために、臨床的に使用されている。更に、GLP-1Rアゴニストは、患者における体重低減並びに血圧及び血漿コレステロール値の低減も促進することができる。

10

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0008】

【文献】Bootcov MR, 1997, Proc Natl Acad Sci 94: 11514-9

【文献】Hromas R 1997, Biochim Biophys Acta. 1354: 40-4

【文献】Lawton LN 1997, Gene. 203: 17-26

20

【文献】Paralkar VM 1998, J Biol Chem. 273: 13760-7

【文献】Baek SJ 2001, J Biol Chem. 276: 33384-92

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

従って、GDF15分子をGLP-1Rアゴニスト (例えば、GLP-1類似体) 及び/又はGI PRアンタゴニスト (例えば、GI PR抗体) 等の1種以上の他の治療薬と一緒に含む併用療法が必要とされている。本開示は、この必要を満たし、関連する利点を提供する。

30

【課題を解決するための手段】

【0010】

本明細書では、GDF15分子及び別の治療薬を投与することを含む状態を治療する方法を含む、GDF15分子を含む併用療法が提供される。一実施形態では、他の治療薬は、GI PR抗原結合タンパク質等のGI PRアンタゴニストである。一実施形態では、GI PR抗原結合タンパク質は、抗体である。別の実施形態では、他の治療薬は、デュラグルチド等のGLP-1Rアゴニストである。

【0011】

更に本明細書では、GDF15分子及びGI PRアンタゴニストを投与する工程を含む、対象における代謝状態を治療する方法であって、ここでGDF15分子及びGI PRアンタゴニストを投与する工程が、GDF15分子単独又はGI PRアンタゴニスト単独の投与と比較して相乗効果を有する方法が提供される。

40

【0012】

本開示は更に、GDF15分子及びデュラグルチドを投与する工程を含む、対象における代謝状態を治療する方法であって、ここでGDF15分子及びデュラグルチドを投与する工程が、GDF15分子単独又はデュラグルチド単独の投与と比較して相乗効果を有する方法を提供する。

【0013】

一実施形態では、併用療法は、GDF15分子を本明細書及び表6に記載の対応するFc分子と一緒に投与する工程を含む。

50

【 0 0 1 4 】

一実施形態では、G D F 1 5 分子及び他の治療薬は、同時に投与される。別の実施形態では、G D F 1 5 分子及び他の治療薬は、連続的に投与される。

【 0 0 1 5 】

更に本明細書では、G D F 1 5 分子及びG I P R アンタゴニストを含む医薬組成物等のG D F 1 5 分子及び他の治療薬を含む医薬組成物であって、ここでその組成物の投与が、G D F 1 5 分子単独又はG I P R アンタゴニスト単独の投与と比較して相乗効果を有する医薬組成物が提供される。幾つかの実施形態では、G I P R アンタゴニストは、抗体である。幾つかの実施形態では、相乗効果は、体重を低減させることにある。本組成物のG I P R アンタゴニストは、C D R L 1、C D R L 2、C D R L 3、C D R H 1、C D R H 2 及びC D R H 3 を含み得るが、ここでC D R L 1、C D R L 2、C D R L 3、C D R H 1、C D R H 2 及びC D R H 3 は、それぞれ配列番号65～67及び77～79；配列番号68～70及び80～82；配列番号71～73及び83～85；又は配列番号74～76及び86～88のアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態では、本組成物のG I P R アンタゴニストは、それぞれ配列番号89及び90；91及び92；93及び94；又は95及び96のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域及び重鎖可変領域を含む。幾つかの実施形態では、本組成物のG I P R アンタゴニストは、それぞれ配列番号97及び98；99及び100；101及び102；103及び104又は105及び106のアミノ酸配列を含む軽鎖及び重鎖を含む。幾つかの実施形態では、本組成物のG D F 1 5 分子は、F c 領域に連結されたG D F 1 5 領域を含む融合タンパク質である。幾つかの実施形態では、G D F 1 5 領域は、リンカーを介してF c 領域に連結されている。幾つかの実施形態では、G D F 1 5 領域は、配列番号6のアミノ酸配列及び少なくとも1つの変異を含む。幾つかの実施形態では、変異の少なくとも1つは、5位のアスパラギン酸塩の変異である。幾つかの実施形態では、5位のアスパラギン酸塩は、グルタミン酸塩に変異する。幾つかの実施形態では、G D F 1 5 領域は、3位のアスパラギンの変異を更に含む。幾つかの実施形態では、3位のアスパラギンは、グルタミンに変異する。幾つかの実施形態では、F c 領域に連結されたG D F 分子のリンカーは、(G 4 S) n 又は(G 4 Q) n リンカー（式中、n は、0 より大きい（例えば、n は 1 又は 2 である））である。F c 領域は、電荷対変異若しくは短縮ヒンジ領域、又はその両方を含み得る。幾つかの実施形態では、F c 領域は、表 3 から選択される。更に他の実施形態では、本組成物は、例えば、本明細書及び表 6 に記載したように、G D F 1 5 分子に対応する F c 分子を更に含む。

【 0 0 1 6 】

更に本明細書では、G D F 1 5 分子及びデュラグルチドを含む医薬組成物であって、ここでその組成物の投与が、G D F 1 5 分子単独又はデュラグルチド単独の投与と比較して相乗効果を有する医薬組成物が提供される。G D F 1 5 分子及びデュラグルチドを含む医薬組成物であって、ここで本組成物の投与が、G D F 1 5 分子単独又はデュラグルチド単独の投与と比較して相乗効果を有する医薬組成物。幾つかの実施形態では、相乗効果は、体重を低減させることにある。幾つかの実施形態では、本組成物のG D F 1 5 分子は、F c 領域に連結されたG D F 1 5 領域を含む融合タンパク質である。幾つかの実施形態では、G D F 1 5 領域は、リンカーを介してF c 領域に連結されている。幾つかの実施形態では、G D F 1 5 領域は、配列番号6のアミノ酸配列及び少なくとも1つの変異を含む。幾つかの実施形態では、変異の少なくとも1つは、5位のアスパラギン酸塩の変異である。幾つかの実施形態では、5位のアスパラギン酸塩は、グルタミン酸塩に変異する。幾つかの実施形態では、G D F 1 5 領域は、3位のアスパラギンの変異を更に含む。幾つかの実施形態では、3位のアスパラギンは、グルタミンに変異する。幾つかの実施形態では、F c 領域に連結されたG D F 分子のリンカーは、(G 4 S) n 又は(G 4 Q) n リンカー（式中、n は、0 より大きい（例えば、n は 1 又は 2 である））である。F c 領域は、電荷対変異若しくは短縮ヒンジ領域、又はその両方を含み得る。幾つかの実施形態では、F c 領域は、表 3 から選択される。更に他の実施形態では、本組成物は、例えば、本明細書及び表 6 に記載したように、G D F 1 5 分子に対応する F c 分子を更に含む。

10

20

30

40

50

【図面の簡単な説明】

【0017】

【図1A】ビヒクルが週1回（A群）；デュラグルチドが週2回（B群）；GIPR抗体2.63.1が週1回及びビヒクルが週1回であって、後者はデュラグルチドの投与日と交互に（C群）；Fc 10(-) - (G4S)4 - GDF15（配列番号39）（そのヘテロ二量体化パートナーであるFc 10(+, K）（配列番号32）と一緒に週1回）及び週1回ビヒクルであって、後者はデュラグルチドの投与日と交互に（D群）；Fc 10(-) - (G4S)4 - GDF15（ヘテロ二量体化パートナーであるFc 10(+, K））と一緒に週1回及びデュラグルチドが週2回（E群）；Fc 10(-) - (G4S)4 - GDF15（そのヘテロ二量体化パートナーであるFc 10(+, K）と一緒に）週1回及びGIPR抗体2.63.1が週1回（F群）投与されたマウスにおける体重（g）変化を示す図である。

10

【図1B】A～F群におけるマウスの体重変化率（%）を示す図である。

【図2A】治療開始2週間後のA～F群におけるマウスの体重変化率（%）を示す図である。

【図2B】治療開始5週間後のA～F群におけるマウスの体重変化率（%）を示す図である。

【図3A】治療の2週間後のA～F群におけるマウスの経口糖耐能試験（OGTT）からの血糖値を示す図である。

【図3B】治療2週間後のA～F群におけるマウスのOGTTからの糖耐能AUC試験結果を示す図である。

20

【図4A】治療5週間後のA～F群におけるマウスの腹腔内糖耐能試験（IPGTT）からの血糖値を示す図である。

【図4B】治療開始5週間後のA～F群におけるマウスのIPGTTからの糖耐能AUC試験結果を示す図である。

【図5A】A～F群におけるマウスの治療2週間後及び5週間後に測定した空腹時血糖値を示す図である。

【図5B】A～F群におけるマウスの治療2週間後及び5週間後に測定した血清インスリン値を示す図である。

【図5C】A～F群におけるマウスの治療2週間後及び5週間後に測定した血清トリグリセリド値を示す図である。

30

【図5D】A～F群におけるマウスの治療2週間後及び5週間後に測定した血清総コレステロール値を示す図である。

【図6】A～F群におけるマウスの治療1週間中の連続3日間に測定した1日食物摂取量を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0018】

本明細書では、GDF15分子及び別の治療薬若しくは分子を含む併用療法が提供される。一実施形態では、他の作用物質若しくは分子は、体重、食物摂取量を低減させる、及び/又は肥満症及び/又は関連状態を治療する分子である。更に本明細書において提供されるのは、分子を作製する方法及び分子を使用する方法である。

40

【0019】

幾つかの実施形態では、GDF15分子は、GDF15 - Fc融合タンパク質である。融合タンパク質は、Fc領域に連結されたGDF15領域を含み得る。幾つかの実施形態では、GDF15領域は、リンカーを介してFcに連結されている。幾つかの実施形態では、GDF15領域は、野生型GDF15を含む。ヒトGDF15及びマウスGDF15はどちらも、シグナルペプチド及びプロドメインを有する。全長ヒトGDF15のヌクレオチド配列は、下記である：

50

【化 1】

atgcccgggc aagaactcag gacgggtaat ggctctcaga tgctcctggt gttgctggg cctcctggtg tgccgcatgg
 gggcgccctg tctctggccg aggcgagccg cgcaagtctc ccgggaccct cagagttgca ctccgaagac tccagattcc
 gagagttgcg gaaacgctac gaggacctgc taaccaggct gcgggccaac cagagctggg aagattcgaa caccgacctc
 gtccggggcc ctgcagtccg gatactcagc ccagaagtgc ggctgggata cggcggccac ctgcacctgc gtatctctcg
 ggccgcctt cccgaggggc tccccgaggc ctccgcctt caccgggctc tgtccggct gtccccgacg gcgtcaaggt
 cgtgggacgt gacacgaccg ctgcggcgtc agctcagcct tgcaagacct caggcggccg cgtcgcacct gcgactgtcg
 ccgccgcctg cgcagtcgga ccaactgctg gcagaatctt cgtccgacg gccccagctg gaggttgact tgcggccgca
 agccgccagg gggcgccgca gaggcgtgc gcgcaacggg gacctgtc cgtcggggcc cgggctgtgc tccgctctgc
 acagggtccg cgcgtcgtg gaagacctgg gctggggcca ttgggtgctg tcgccacggg aggtgcaagt gaccatgtc
 atcggcgtg gcccagacca gttccgggcg gcaaacatgc acgcgagat caagacgagc ctgcaccgcc tgaagccccg
 cacggtgcca gcgcctgct gcgtgcccgc cagctacaat ccatggtgc tcattcaaaa gaccgacacc ggggtgctgc
 tccagaccta tgatgacttg ttagccaaag actgccactg catatga (配列番号1)

10

【0020】

全長ヒトGDF15(308個のアミノ酸)のアミノ酸配列は、下記である：

【化 2】

MPGQELRTVNGSQMLLVLLVLSWLPHGALSLAEASRASFPGPSELHSEDSRFRELR
 KRYEDLLTRLRANQSWEDSNTDLVPAPAVRILTPEVRLGSGGHLHLRISRAALPEGLP
 EASRLHRALFRLSPTASRSWDVTRPLRRQLSLARPQAPALHLRLSPPPSQSDQLLAESS
 SARPQLELHLRPQAARGRRRARARNGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWV
 LSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQ
 KTDTGVSLQTYDDLAKDCHCI (配列番号2)

20

【0021】

そのシグナル配列を含まないヒトGDF15のヌクレオチド配列は、下記である：

【化 3】

ctgtctctgg ccgaggcgag ccgcaagt tccccgggac cctcagagtt gcactccgaa gactccagat tccgagagtt
 gcgaaaacgc tacgaggacc tgtaaccag gctgcgggcc aaccagagct gggagattc gaacaccgac ctgctccgg
 cccctgcagt ccggatactc acgccagaag tgcggctggg atccggcggc cacctgcacc tgcgtatctc tggggccgcc
 ctccccgagg ggctccccga ggctccccgc ctccaccggg ctctgtccg gctgtccccg acggcgtaaa ggtcgtggga
 cgtgacacga ccgctcgggc gtcagctcag ccttgaaga cccagggcgc ccgctgca cctgcgactg
 tcggcgccgc cgtcgcagtc ggaccaactg ctggcagaat ctctgtccgc acggccccag ctggagttgc acttgcggcc
 gcaagccgcc agggggcgcc gcagagcgcg tgcgcgcaac ggggaccact gtccgctcgg gcccggcgct
 tctgcccgtc tgcacacggt ccgctcgtc ctggaagacc tgggctgggc cgattgggtg ctgtgccac gggaggtgca
 agtgacctg tgcctggcg cgtgccccg ccagttccgg gcggcaaca tgcacgcgca gatcaagacg agcctgcacc
 gcctgaagcc cgacacggtg ccagcgcct gctgctgcc cggcagctac aatccatgg tctcattca aaagaccgac
 accggggtgt cgtccagac ctatgatgac ttgttagcca aagactgcca ctgcatatga (配列番号3)

30

40

【0022】

その29アミノ酸シグナル配列(279個のアミノ酸)を含まないヒトGDF15のアミノ酸配列は、下記である：

50

【化4】

LSLAEASRASFPGPSELHSEDSRFRELRKRYEDLLTRLRANQSWEDSNTDLVPAPAVR
ILTPEVRLGSGGHLHLRISRALPEGLPEASRLHRALFRLSPTASRSWDVTRPLRRQLS
LARPQAPALHLRLSPPPSQSDQLLAESSARPQLELHLRPQAARGRRRARARNGDHCP
LGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTS
LHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVS LQTYDDLLAKDCHCI (配列番号4)

【0023】

そのシグナルペプチド若しくはプロドメインを含まないヒトGDF15のヌクレオチド配列は、下記である：

10

【化5】

gcgcgcaacggggaccactgtccgctcggggccgggcgttctgctgccgtctgcacacgggccgcgctcgtggaagacctgggct
ggggcgattgggtgctgtgccacgggaggtgcaagtaccatgtgcatcggcgcgtgcccagccagtccggcggcaaacatg
cacgcgcagatcaagacgagcctgcaccgcctgaagcccacacgggtccagcgcctgctgctgcccagctacaatcccat
ggtgctcattcaaaagaccgacaccgggggtgctgctccagacctatgatgactgttagccaaagactgccactgcatatga (配列
番号5)

【0024】

そのシグナルペプチド若しくはプロドメイン(112個のアミノ酸のGDF15の活性ドメイン)を含まないヒトGDF15のアミノ酸配列は、下記である：

20

【化6】

ARNGDHCPGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTCIGACPSQFRAAN
MHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVS LQTYDDLLAKDCHCI
(配列番号6)

【0025】

全長マウスGDF15のヌクレオチド配列は、下記である：

30

【化7】

atggccccgc ccgcgctcca ggcccagcct ccaggcggct ctcaactgag gttctgctg ttctgctgc tgtgctgct
gctgctgca tggccatcgc agggggacgc cctggcaatg cctgaacagc gacctccgg cctgagtc caactcaacg
ccgacgagct acggggctgc ttccaggacc tgctgagccg gctgcatgcc aaccagagcc gagaggactc
gaactcagaa ccaagtctg acccagctgt ccggatactc agtcagagg tgagattggg gtcccacggc cagctgctac
tccgctcaa ccgggcgctc ctgagtcagg gtctccccga agcctaccgc gtgcaccgag cgtgctcct gctgacgccg
acggcccccc cctgggacat caclaggccc ctgaagegtg cgtcagcct ccggggaccc cgtgctcccg cattacgct
gcgctgacg ccgcctccgg acctggctat gctgcctct ggcggcacgc agctggaact gcgcttacgg
gtagccgccc gcagggggcg ccgaagcgcg catgcgacc caagagactc gtcccactg ggtccggggc gctgctgca
cttgagact gtgcaggcaa ctctgaaga ctgggctgg agcgactggg tgctgtccc gcgccagctg cagctgagca
tgtcgtggg cgagtgtccc cacctglatc gctccgcgaa cacgcatgag cagatcaaag cacgcctgca tggcctgcag
cctgacaagg tgctgcccc gtgctgtgc cctccagct acaccccgt ggtcttatg cacaggacag acagtgggtg
gtcactgcag acctatgatg acctggtggc ccggggctgc cactgcgctt ga (配列番号7)

40

【0026】

全長マウスGDF15(303個のアミノ酸)のアミノ酸配列は、下記である：

50

【化 8】

MAPPALQAQPPGGSQLRFLFLLLLLLLLLSWPSQGDALAMPEQRPSGPESQLNADEL
RGRFQDLLSRLHANQSREDSNSESPDPDAVRILSPEVRLGSHGQLLLRVNRSLSQGL
PEAYRVHRALLLLTPTARPWDITRPLKRALSRLGPRAPALRLRLTPPPDLAMLPSGGT
QLELRLRVAAGRGRRSAHAHPRDSCPLGPGRCCHLETVQATLEDLGWSDWVLSRQ
LQLSMCVGECPHLYRSANTHAQIKARLHGLQPDKVPAPCCVPSSYTPVVMHRTDS
GVSLQTYDDLVARACHCA (配列番号8)

【0027】

そのシグナル配列を含まないマウス G D F 1 5 のヌクレオチド配列は、下記である：

【化 9】

tcgcaggggggacgccctggcaatgcctgaacagcgaccctccggccctgagtccaactcaacgccgacgagctacggggtcgtt
ccaggacctgctgagccggctgcatgccaaccagagccgagaggactcgaactcagaaccaagtctgaccagctgtccggatac
tcagtccagaggtgagattgggggtcccacggccagctgctactccgcgtcaaccgggcgtcgtgagtcaggggtctccccgaagcct
accgctgacccgagcgtgctctgctgacgccgacggcccggccctgggacatcactaggcccctgaagcgtgcgctcagcctc
cggggaccccgtgctcccgcattacgcctgcgcctgacggcgctccggacctggctatgctgccctctggcggcacgcagctgga
actgcgcttacgggtagccgccggcagggggcgccgaagcgcgcatgcgcacccaagagactcgtgccactgggtccggggcg
ctgctgctacttgagactgtgcaggcaactctgaagacttggctggagcgactgggtgctgctcccgcgccagctgcagctgagc
atgtgctggcggagtgctcccacctgtatcgtctccgcaacacgcatgcgagatcaaagcacgcctgcatggcctgcagcctgac
aaggtgctgcccgtgctgtgctcccctccagctacaccccgggtggtcttatgcacaggacagacagtggtgtgctactgcagacttat
gatgacctggtggcccggggctgccactgcgcttga (配列番号9)

【0028】

その32アミノ酸のシグナル配列(271個のアミノ酸)を含まないマウス G D F 1 5
のアミノ酸配列は、下記である：

【化 10】

SQGDALAMPEQRPSGPESQLNADEL RGRFQDLLSRLHANQSREDSNSESPDPDAVRIL
SPEVRLGSHGQLLLRVNRSLSQGLPEAYRVHRALLLLTPTARPWDITRPLKRALSRL
GPRAPALRLRLTPPPDLAMLPSGGTQLELRLRVAAGRGRRSAHAHPRDSCPLGPGRC
CHLETVQATLEDLGWSDWVLSRQLQLSMCVGECPHLYRSANTHAQIKARLHGLQP
DKVPAPCCVPSSYTPVVMHRTDSGVSLQTYDDLVARACHCA (配列番号10)

【0029】

そのシグナル配列若しくはプロドメインを含まないマウス G D F 1 5 のヌクレオチド配
列は、下記である：

【化 11】

agcgcgcatgcgcacccaagagactcgtgccactgggtccggggcgctgctgctacttgagactgtgcaggcaactctgaagac
tgggctggagcgactgggtgctgctcccgcgccagctgcagctgagcatgtcggtggcgagtgccccacctgtatcgtccgcg
aacacgcatgcgagatcaaagcacgcctgcatggcctgcagcctgacaaggtgctgcccgtgctgtgctcccctccagctacacc
ccggtggtcttatgcacaggacagacagtggtgtgctactgcagacttatgatgacctggtggcccggggctgccactgcgcttga
(配列番号11)

【0030】

そのシグナルペプチド若しくはプロドメイン(115個のアミノ酸の活性ドメイン)を
含まないマウス G D F 1 5 のアミノ酸配列は、下記である：

10

20

30

40

50

【化 1 2】

SAHAHPRDSCPLGPGRCCHLETVQATLEDLGWSDWVLSRQLQLSMCVGECPHLYR
 SANTHAQIKARLHGLQPKVPAPCCVPSSYTPVVLHMRRTDSGVSLQTYDDLVARGC
 HCA (配列番号12)

【0031】

幾つかの実施形態では、GDF15分子は、例えば、そのシグナルペプチド若しくはプロドメインを含まないGDF15であるGDF15の活性ドメインを含むGDF15領域を含む。幾つかの実施形態では、GDF15領域は、配列番号6又は12のアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態では、GDF15領域は、GDF15の活性ドメインにおける少なくとも1つの変異等の1つ以上の変異を有するGDF15配列を含む。特定の実施形態では、1つ又は複数の変異は、GDF15の活性を低減又は消失させない。幾つかの実施形態では、GDF15領域は、ヒトGDF15の活性ドメイン内に変異を含む。一実施形態では、変異は、最初の3個のアミノ酸が除去されているヒトGDF15の活性ドメインである「GDF15(3)」(即ち、配列番号13)等の活性ドメインの最初の3個のアミノ酸の欠失である。

10

【0032】

幾つかの実施形態では、GDF15領域は、ヒトGDF15の活性ドメイン(配列番号6)の3位のアスパラギン(N3)の変異を含む。N3変異は、配列番号6の3位のアスパラギン残基の変異、又はGDF15アミノ酸配列における配列番号6の3位のアスパラギンに相当するアスパラギン残基の変異を指すことができる。幾つかの実施形態では、3位のアスパラギンは、グルタミン(N3Q)又はアスパラギン酸塩(N3D)に変異する。従って、幾つかの実施形態では、GDF15分子は、配列番号14のアミノ酸配列を有するGDF15(N3Q)のGDF15領域を含む。他の実施形態では、GDF15分子は、配列番号15のアミノ酸配列を有するGDF15(N3D)のGDF15領域を含む。幾つかの実施形態では、GDF15領域は、ヒトGDF15の活性ドメイン(配列番号6)の5位のアスパラギン酸塩(D5)の変異を含む。D5変異は、配列番号6の5位のアスパラギン酸塩残基の変異、又はGDF15アミノ酸配列における配列番号6の5位のアスパラギン酸塩に相当するアスパラギン酸塩残基の変異を指すことができる。一実施形態では、5位のアスパラギン酸塩は、グルタミン酸塩(D5E)に変異する。従って、幾つかの実施形態では、GDF15分子は、配列番号16のアミノ酸配列を有するGDF15のGDF15領域(D5E)を含む。

20

30

【0033】

更に他の実施形態では、GDF15領域は、N3変異及びD5変異の組み合わせ、例えば、GDF15(N3/D5E)(配列番号17)又はN3変異及びD5変異の組み合わせ、例えば、GDF15(N3D/D5E)若しくはGDF15(N3Q/D5E)等の変異の組み合わせを含む。GDF15領域は、配列番号18のアミノ酸配列を含む。

【0034】

表1は、GDF15分子に使用できるGDF15領域の例を提供する。

40

【0035】

【表 1】

表 1 - GDF15 領域

配列番号	名称	配列
6	GDF15	ARNGDHCPLGPGRCCLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQ VTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPA SYNPMVLIQKTDGTGVSQTYYDLLAKDCHCI
13	GDF15(Δ 3)	GDHCPLGPGRCCLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTM CIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNP MVLIQKTDGTGVSQTYYDLLAKDCHCI
14	GDF15(N3Q)	ARQGDHCPLGPGRCCLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQ VTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPA SYNPMVLIQKTDGTGVSQTYYDLLAKDCHCI
15	GDF15(N3D)	ARDGDHCPLGPGRCCLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQ VTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPA SYNPMVLIQKTDGTGVSQTYYDLLAKDCHCI
16	GDF15(D5E)	ARNGEHCPLGPGRCCLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQ VTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPA SYNPMVLIQKTDGTGVSQTYYDLLAKDCHCI
17	GDF15(Δ 3/D5E)	GEHCPLGPGRCCLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTM CIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNP MVLIQKTDGTGVSQTYYDLLAKDCHCI
18	GDF15(N3Q/D5E)	ARQGEHCPLGPGRCCLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQ VTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPA SYNPMVLIQKTDGTGVSQTYYDLLAKDCHCI

【0036】

幾つかの実施形態では、GDF15分子は、Fcに直接融合している。他の実施形態では、Fcは、リンカーを介してGDF15分子に融合している。幾つかの実施形態では、リンカーは、G4S（配列番号19）リンカーである。他の実施形態では、リンカーは、G4Q（配列番号24）リンカーである。リンカーは、(G4S)_nリンカー又は(G4Q)_nリンカー（式中、nは、0より大きい）であり得る。幾つかの実施形態では、nは、1又は2である。幾つかの実施形態では、融合タンパク質は、G4A（配列番号107）リンカーであるリンカー、例えば(G4A)_nリンカー（式中、nは、0より大きい）を有する。幾つかの実施形態では、nは、1又は2である。幾つかの実施形態では、nは、2より大きく、3、4、5、6、7又は8等である。幾つかの実施形態では、リンカーは、表2に示すように、配列番号19、20、21、22、23、24、25又は107のアミノ酸配列を含む。

【0037】

10

20

30

40

50

【表 2】

表 2 - リンカー

配列番号	名称	配列
19	G4S	GGGGS
20	(G4S)2	GGGGS GGGGS
21	(G4S)4	GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS
22	(G4S)8	GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS
23	G4	GGGG
24	G4Q	GGGGQ
25	(G4Q)4	GGGGQ GGGGQ GGGGQ GGGGQ
107	G4A	GGGGA

10

20

【0038】

幾つかの実施形態では、GDF15分子は、Fc領域を含む。Fc領域は、抗体の重鎖のFcドメインを含み得る、又は抗体の重鎖のFcドメインに由来し得る。幾つかの実施形態では、Fc領域は、電荷対変異、グリコシル化部位における変異又は非天然型アミノ酸の包含等の変異を有するFcドメインを含み得る。Fc領域は、IgG1、IgG2、IgG3又はIgG4のヒトIgG定常ドメインに由来し得る。幾つかの実施形態では、Fc領域は、IgA重鎖、IgD重鎖、IgE重鎖及びIgM重鎖の定常ドメインを含む。

【0039】

幾つかの実施形態では、Fc領域は、電荷対の変異を有するFcドメインを含む。電荷を持つFc領域を生じさせる変異を導入することにより、GDF15分子は、反対電荷を有する対応するFc分子と二量体化することができる。例えば、アスパラギン酸塩からリジンへの変異（E356K、356は、EUNANバリングによる位置であり、表3～5に示した位置に相当する）及びグルタミン酸塩からリジンへの変異（D399K、399は、EUNANバリングによる位置であり、表3～5に示した位置に相当する）は、任意選択的にリンカーを介してGDF15領域に連結されたFc領域に導入することができ、GDF15分子に対する正電荷を持つFc領域を生じさせる。リジンからアスパラギン酸塩への変異（K392D、K409D；392及び409は、EUNANバリングによる位置であり、表3～5に示した位置に相当する）は、別の分子のFcドメインに導入することができ、負電荷を持つFc分子を生じさせる。負電荷を持つFc分子におけるアスパラギン酸塩残基は、静電気力によりGDF15分子の正電荷を持つFc領域のリジン残基と結合し、GDF15分子のFc領域とFc分子との間のFcヘテロ二量体の形成を促進する一方、GDF15分子のFc領域間又はFc分子間のFcホモ二量体の形成を低減又は防止することができる。

30

40

【0040】

幾つかの実施形態では、1つ又は複数のリジンからアスパラギン酸塩への変異（K392D、K409D）は、任意選択的にリンカーを介してGDF15領域に連結されたFc領域に導入され、アスパラギン酸塩からリジンへの変異（E356K）及びグルタミン酸塩からリジンへの変異（D399K）は別の分子のFcドメインに導入される。GDF1

50

5分子のFc領域内のアスパラギン酸塩残基は、静電気力によりFc分子のリジン残基と結合し、GDF15分子のFc領域とFc分子との間のFcヘテロ二量体の形成を促進し、GDF15分子のFc領域間又はFc分子間のFcホモ二量体の形成を低減又は防止することができる。

【0041】

幾つかの実施形態では、GDF15分子は、変異ヒンジ領域を有するFcドメインを含むFc領域を含む。幾つかの実施形態では、Fcドメインは、ヒンジ内に欠失を含む。幾つかの実施形態では、ヒンジから10個のアミノ酸が欠失している（例えば、Fc10）。他の実施形態では、ヒンジから16個のアミノ酸が欠失している（例えば、Fc16）。幾つかの実施形態では、Fcドメインは、Fcドメインが正電荷を持つ、又は負電荷を持つように、ヒンジ欠失（例えば、Fc10又はFc16）及び電荷対の変異を含む。例えば、Fcドメインは、Fc10(-)等のヒンジにおける10個のアミノ酸欠失並びにリジンからアスパラギン酸塩への変異（K392D、K409D）を含み得る。別の実施形態では、Fcドメインは、Fc10(+)等のヒンジにおける10個のアミノ酸欠失並びにアスパラギン酸塩からリジンへの変異（E356K）及びグルタミン酸塩からリジンへの変異（D399K）を含み得る。別の実施形態では、Fcドメインは、Fc16(-)等のヒンジにおける16個のアミノ酸欠失並びにリジンからアスパラギン酸塩への変異（K392D、K409D）を含み得る。別の実施形態では、Fcドメインは、Fc16(+)等のヒンジにおける16個のアミノ酸欠失並びにアスパラギン酸塩からリジンへの変異（E356K）及びグルタミン酸塩からリジンへの変異（D399K）を含み得る。

【0042】

幾つかの実施形態では、ヒンジ欠失及び電荷対の変異を含むFc分子は、そうしたGDF15分子とヘテロ二量体化する。例えば、Fc分子は、ヒンジ欠失並びにヒンジ欠失及びにGDF15分子のFc領域の電荷対の変異を相補する電荷対の変異を有し得る。例えば、Fc分子は、任意選択的にC末端リジン（例えば、Fc10(-、K)）を含み得る、Fc10(-)等のヒンジにおける10個のアミノ酸欠失並びにリジンからアスパラギン酸塩への変異（K392D、K409D）を有するFcドメインを含み得る。このFc分子は、Fc10(+)を含むGDF15分子とヘテロ二量体化することができる。別の実施形態では、Fc分子は、任意選択的にC末端リジン（例えば、Fc10(+、K)）を含み得る、Fc10(+)等のヒンジにおける10個のアミノ酸欠失並びにアスパラギン酸塩からリジンへの変異（E356K）及びグルタミン酸塩からリジンへの変異（D399K）を含み得る。このFc分子は、Fc10(-)を含むGDF15分子とヘテロ二量体化することができる。別の実施形態では、Fc分子は、任意選択的にC末端リジン（例えば、Fc16(-、K)）を含み得る、Fc16(-)等のヒンジにおける16個のアミノ酸欠失並びにリジンからアスパラギン酸塩への変異（K392D、K409D）を含み得る。Fc16(+)を含むGDF15分子とヘテロ二量体化できるFc分子。別の実施形態では、Fc分子は、任意選択的にC末端リジン（例えば、Fc16(-、K)）を含み得る、Fc16(+)等のヒンジにおける16個のアミノ酸欠失並びにアスパラギン酸塩からリジンへの変異（E356K）及びグルタミン酸塩からリジンへの変異（D399K）を含み得る。Fc分子は、Fc16(-)を含むGDF15分子とヘテロ二量体化することができる。

【0043】

幾つかの実施形態では、Fc領域又はFc分子は、L234A変異及び/又はL235A変異を有するFcドメインを含むが、ここで234及び235は、EUナンバリングを用いた位置であり、表3~5に示した位置に相当する。Fcドメインは、L234A変異、L235A変異、電荷対の変異、ヒンジ欠失又はこれらの任意の組み合わせを含み得る。幾つかの実施形態では、Fcドメインは、L234A変異及びL235A変異の両方を含む。幾つかの実施形態では、Fcドメインは、ヒンジ欠失、L234A変異、L235A変異及び電荷対の変異、例えばFc10(+、L234A/L235A)、Fc1

0 (-、L 2 3 4 A / L 2 3 5 A)、F c 1 6 (+、L 2 3 4 A / L 2 3 5 A) 又は F c 1 6 (-、L 2 3 4 A / L 2 3 5 A) を含む。幾つかの実施形態では、F c ドメインは、任意選択的な C 末端リジン、例えば、F c 1 0 (+、K、L 2 3 4 A / L 2 3 5 A)、F c 1 0 (-、K、L 2 3 4 A / L 2 3 5 A)、F c 1 6 (+、K、L 2 3 4 A / L 2 3 5 A) 又は F c 1 6 (-、K、L 2 3 4 A / L 2 3 5 A) を含む。

【 0 0 4 4 】

幾つかの実施形態では、F c 領域又は F c 分子は、「システインクランプ」を有する F c ドメインを含む。システインクランプ変異は、変異により特定の位置でシステインを F c ドメインに導入することを含むので、やはり変異により特定の位置で導入されたシステインを有する別の F c ドメインとインキュベートすると、2つの F c ドメイン間で（例えば、「システインクランプ」変異を有する F c 1 6 (+) ドメインと「システインクランプ」変異を有する F c 1 6 (-) ドメインとの間で）ジスルフィド結合（システインクランプ）が形成され得る。システインは、F c ドメインの C H 3 ドメインに導入することができる。幾つかの実施形態では、F c ドメインは、1つ以上のそうしたシステインクランプ変異を含み得る。一実施形態では、システインクランプは、セリンからシステインへの変異（S 3 5 4 C、ここで 3 5 4 は、E U ナンバリングによる位置であり、表 3 ~ 5 に示した位置に相当する）を第 1 の F c ドメインに、チロシンからシステインへの変異（Y 3 4 9 C、ここで 3 4 9 は、E U ナンバリングによる位置であり、表 3 ~ 5 に示した位置に相当する）を第 2 の F c ドメインに導入することにより生じる。一実施形態では、G D F 1 5 分子は、システインクランプ、負電荷対の変異及び 1 6 アミノ酸ヒンジ欠失を有する F c ドメイン（例えば、G D F 1 5 - F c 1 6 (-、C C)）を含む F c 領域並びにシステインクランプ、正電荷対の変異及び 1 6 個のアミノ酸ヒンジ欠失、更に任意選択の C 末端リジンを含む F c ドメイン（例えば、F c 1 6 (+、K、C C)）を含む F c 分子を含む。システインクランプは、G D F - F c 分子の F c 分子とのヘテロ二量体化を増強することができる。

【 0 0 4 5 】

G D F 1 5 分子に使用され得る F c 領域の例は、表 3 に示した。

【 0 0 4 6 】

10

20

30

40

50

【表 3】

表 3 - Fc 領域

配列番号	名称	配列	
26	FcΔ10(-)	<p>APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p> <p>下線を引いたボールド体の残基は、K392D 変異及びK409D 変異である。</p>	10
27	FcΔ10(+)	<p>APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p> <p>下線を引いたボールド体の残基は、E356K 変異及びD399K 変異である。</p>	20
28	FcΔ10(-,CC)	<p>APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p> <p>下線を引いたイタリック体の残基は、Y349C 変異であり; 下線を引いたボールド体の残基は、K392D 変異及びK409D 変異である。</p>	30

【 0 0 4 7 】

【表 4】

29	FcΔ16(-,CC)	<p>GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVC TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNY<u>D</u>TTTPVLDSGDGSFFLYS<u>DL</u>TVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p> <p>下線を引いたイタリック体の残基は、Y349C 変異であり; 下線を引いたボールド体の残基は、K392D 変異及びK409D 変異である。</p>	10
30	FcΔ16(-)	<p>GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNY<u>D</u>TTTPVLDSGDGSFFLYS<u>DL</u>TVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p> <p>下線を引いたボールド体の残基は、K392D 変異及びK409D 変異である。</p>	20
31	FcΔ10(-,L234A/L235A)	<p>APE<u>A</u>AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNY<u>D</u>TTTPVLDSGDGSFFLYS<u>DL</u>TVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p> <p>下線を引いたイタリック体の残基は、L234A 変異及びL235A 変異であり;下線を引いたボールド体の残基は、K392D 変異 及びK409D 変異である。</p>	20

【0048】

Fc 分子の例を表 4 に示したが、表中の C 末端リジンは任意選択である。

【0049】

30

40

50

【表 5】

表 4 - Fc 分子

配列番号	名称	配列
32	FcΔ10(+,K)	<p>APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK</p> <p>下線を引いたボールド体の残基は、E356K 変異及びD399K 変異である。</p>
33	FcΔ10(-,K)	<p>APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDT TPPVLDSGDSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK</p> <p>下線を引いたボールド体の残基は、K392D 変異及びK409D 変異である。</p>
34	FcΔ10(+,K,CC)	<p>APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PCRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK</p> <p>下線を引いたイタリック体の残基は、S354C 変異であり、 下線を引いたボールド体の残基は、E356K 変異及びD399K 変異である。</p>

10

20

30

【 0 0 5 0 】

40

50

【表 6】

35	FcΔ16(+,K,CC)	<p>GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLKS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHYTQKS LSLSPGK</p> <p>下線を引いたイタリック体の残基は、S354C 変異であり、下線を引いたボールド体の残基は、E356K 変異及びD399K 変異である。</p>	10
36	FcΔ16(+,K)	<p>GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLKS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHYTQKS LSLSPGK</p> <p>下線を引いたボールド体の残基は、E356K 変異及びD399K 変異である。</p>	20
37	FcΔ10(+,K,L234A/L235A)	<p>APEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLKS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHN HYTQKSLSLSPGK</p> <p>下線を引いたイタリック体の残基は、L234A 変異及びL235A 変異であり、下線を引いたボールド体の残基は、E356K 変異及びD399K 変異である。</p>	30

【0051】

Fc分子は、相補的Fcドメインを含む分子と二量体化するために使用することができる。例えば、Fc 10(+,K)のFc分子は、Fc 10(-)等の10個のアミノ酸ヒンジ欠失及び負電荷対の変異を含むFc領域を含む分子(例えば、Fc 10(-)のFc領域を含むGDF15分子)と二量体化することができる。Fc 10(-,K)のFc分子は、Fc 10(+)等の10個のアミノ酸ヒンジ欠失及び負電荷対の変異を含むFc領域を含む分子(例えば、Fc 10(+)のFc領域を含むGDF15分子)と二量体化することができる。

【0052】

Fc 10(+,K,CC)のFc分子は、Fc 10(-,CC)等の10個のアミノ酸ヒンジ欠失及び負電荷対の変異を含むFc領域を含む分子(例えば、Fc 10(-,CC)のFc領域を含むGDF15分子)と二量体化することができる。Fc 16(+,K,CC)のFc分子は、Fc 16(-,CC)等の10個のアミノ酸ヒンジ欠失及び負電荷対の変異を含むFc領域を含む分子(例えば、Fc 16(-,CC)のFc領域を含むGDF15分子)と二量体化することができる。Fc 16(+,K)のFc分子は、Fc 16(-)等の10個のアミノ酸ヒンジ欠失及び負電荷対の変異を含むFc領域を含む分子(例えば、Fc 16(+)のFc領域を含むGDF15分子)と二量体化することができる。Fc 10(+,K,L234A/L235A)のFc分子は、Fc 10(-,L234A/L235A)等の10個のアミノ酸ヒンジ欠失及び負電荷対の変異を含むFc領域を含む分子(例えば、Fc 10(-,L234A/L235A)のFc領域を含むGDF15分子)と二量体化することができる。

【 0 0 5 3 】

GDF15 - Fc 融合タンパク質である GDF15 分子の例は、表 5 に示した。

【 0 0 5 4 】

【表 7】

表 5 - GDF15 分子

GDF15-Fc 融合タンパク質			GDF15-Fc 融合タンパク質 成分 配列番号		
配列 番号	名称	配列	Fc 領域	リンカー	GDF15 領域
38	scFc-GDF15	GGGERKSSVECPCPAPPVA GPSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVT CVVVDVSHEDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTFRVVS VLT VVHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPAPI EKTISKTKGQPREPQVY TLP PSREEMTKNQVSLTCL VKG FYPSDIAVEWESNGQPENN YKTPPMLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGG GGGSGGGSGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGG GGSERKSSVECPCPAPPVA GPSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVT CVVVDVSHEDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTFRVVS VLT VVHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPAPI EKTISKTKGQPREPQVY TLP PSREEMTKNQVSLTCL VKG FYPSDIAVEWESNGQPENN YKTPPMLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGS GGGGSGGGSGGGSGGG GSARNGDHCPLGPRCCRL HTVRASLEDLGWADWVLS PREVQVTMCIGACPSQFRA ANMHAQIKTSLHRLKPDTV PAPCCVPASYNPMVLIQKT DTGVSLQTYDDLAKDCHC I	---	---	---

10

20

30

40

【 0 0 5 5 】

50

【表 8】

39	FcΔ10(-)- (G4S)4- GDF15	<p>APELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKV NKALPAIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNY<u>D</u>TPPVLDSDG SFFLYS<u>D</u>LTVDKSRWQQGN VFSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPGGGGGGGGGGGGGGG GSGGGGSARNGDHCPLGPG RCCRLHTVRASLEDLGWAD WVLSPREVQVTMCIGACPS QFRAANMHAQIKTSLHRLK PDTVPAPCCVPASYNPMVLI QKTDGTGVS LQTYDDLAKD CHCI</p> <p><i>下線を引いたボールド体の 残基は、K392D 変異及び K409D 変異である。</i></p>	26	21	6
40	FcΔ10(+)- (G4)-GDF15	<p>APELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKV NKALPAIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSR<u>K</u>EMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVL<u>K</u>SDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPGGGGGGARNGDHCPL GPGRCCRLHTVRASLEDLG WADWVLSPREVQVTMCIG ACPSQFRAANMHAQIKTSL HRLKPDTVPAPCCVPASYN PMVLIQKTDGTGVS LQTYDD LLAKDCHCI</p> <p><i>下線を引いたボールド体の 残基は、E356K 変異及び D399K 変異である。</i></p>	27	23	6

10

20

30

40

【 0 0 5 6 】

50

【表 9】

41	FcΔ10(-)- GDF15(Δ3)	<p>APELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKV NKALPAIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYDTPPVLDSDG SFFLYSDLTVDKSRWQQGN VFSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPGGDHCPLGPGRCCRL HTVRASLEDLGWADWVLS PREVQVTMCIGACPSQFRA ANMHAQIKTSLHRLKPDIV PAPCCVPASYNPMVLIQKT DTGVSLQTYDDLLAKDCHC I</p> <p><i>下線を引いたボールド体の 残基は、K392D 変異及び K409D 変異である。</i></p>	26	---	13
42	FcΔ10(-)- GDF15(N3D)	<p>APELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKV NKALPAIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYDTPPVLDSDG SFFLYSDLTVDKSRWQQGN VFSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPGARDGDHCPLGPGR CCRLHTVRASLEDLGWAD WVLSPREVQVTMCIGACPS QFRAANMHAQIKTSLHRLK PDTVPAPCCVPASYNPMVLI QKTDGTVSLQTYDDLLAKD CHCI</p> <p><i>下線を引いたボールド体の 残基は、K392D 変異及び K409D 変異である。</i></p>	26	---	15

10

20

30

40

【 0 0 5 7 】

50

【表 1 0】

43	FcΔ10(-,CC) -GDF15(Δ3)	<p>APELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPR EPQV<u>C</u>TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTTTPVLDSDGSFFLYS<u>DL</u>TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGDHCPLGPRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAAPCCVPASYNPMVLIQKTDTGVSQTYYDDLLAKDCHCI</p> <p><i>下線を引いたイタリック体の残基は、Y349C 変異であり; 下線を引いたボールド体の残基は、K392D 変異及びK409D 変異である。</i></p>	28	---	13
44	FcΔ10(-,CC) -GDF15(N3D)	<p>APELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPR EPQV<u>C</u>TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTTTPVLDSDGSFFLYS<u>DL</u>TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGARDGDHCPLGPRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTGVSQTYYDDLLAKDCHCI</p> <p><i>下線を引いたイタリック体の残基は、Y349C 変異であり; 下線を引いたボールド体の残基は、K392D 変異及びK409D 変異である。</i></p>	28	---	15

10

20

30

40

【 0 0 5 8】

【表 1 1】

45	FcΔ16(-,CC) - GDF15(Δ3/ D5E)	<p>GPSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVCT LPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYDTTPPVLDSDGSFFLYS DLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG GEHCPLGPGRCRLHTVRA SLEDLGWADWVLSPREVQ VTMCIGACPSQFRAANMHA QIKTSLHRLKPDTVPAPCCV PASYNPMVLIQKTDGTGVS L QTYDDLLAKDCHCI</p> <p><i>下線を引いたイタリック体の 残基は、Y349C 変異であり; 下線を引いたボールド体の 残基は、K392D 変異及び K409D 変異である。</i></p>	29	---	17
46	FcΔ16(-,CC) - GDF15(N3Q /D5E)	<p>GPSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVCT LPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYDTTPPVLDSDGSFFLYS DLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG ARQGEHCPLGPGRCRLHT VRASLEDLGWADWVLSPR EVQVTMCIGACPSQFRAAN MHAQIKTSLHRLKPDTVPA PCCVPASYNPMVLIQKTD T GVSLQTYDDLLAKDCHCI</p> <p><i>下線を引いたイタリック体の 残基は、Y349C 変異であり; 下線を引いたボールド体の 残基は、K392D 変異及び K409D 変異である。</i></p>	29	---	18

10

20

30

40

【 0 0 5 9 】

【表 1 2】

47	FcΔ16(-)- GDF15(N3Q /D5E)	<p>GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGARQGEHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPEVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPA PCCVPASYNPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI</p> <p><i>下線を引いたボールド体の残基は、K392D 変異及び K409D 変異である。</i></p>	30	---	18
48	FcΔ16(-)- (G4Q)4- GDF15	<p>GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGQGGGGQGGGGQGGGGQARNGDHCPLGPGRCRRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTGVSLQTYDDLLAKDCHCI</p> <p><i>下線を引いたボールド体の残基は、K392D 変異及び K409D 変異である。</i></p>	30	25	6

【 0 0 6 0 】

10

20

30

40

50

【表 1 3】

49	FcΔ16(-)- (G4Q)4- GDF15(N3Q)	<p>GPSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVT CVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYR VVS VLT VLVHQD WLNKKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYDTTTPPVLDSDGSFFLYS DLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG GGGGQGGGGQGGGGQGG GGQARQGDHCPLGPRCCR LHTVRASLEDLGWADWVL SPREVQVTMCIGACPSQFRA ANMHAQIKTSLHRLKPDTV PAPCCVPASYNPMVLIQKT DTGVSLQTYDDLAKDCHC I</p> <p><i>下線を引いたボールド体の残基は、K392D 変異及び K409D 変異である。</i></p>	30	25	14
50	FcΔ16(-)- (G4Q)4- GDF15(N3Q /D5E)	<p>GPSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVT CVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYR VVS VLT VLVHQD WLNKKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYDTTTPPVLDSDGSFFLYS DLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG GGGGQGGGGQGGGGQGG GGQARQGEHCPLGPRCCR LHTVRASLEDLGWADWVL SPREVQVTMCIGACPSQFRA ANMHAQIKTSLHRLKPDTV PAPCCVPASYNPMVLIQKT DTGVSLQTYDDLAKDCHC I</p> <p><i>下線を引いたボールド体の残基は、K392D 変異及び K409D 変異である。</i></p>	30	25	18

10

20

30

40

【 0 0 6 1】

【表 1 4】

51	FcΔ16(-)- (G4S)2- GDF15(N3Q)	GPSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVT CVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPE NNY D TTTPVLDSDGSFFLYS DL TVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG GGGSGGGGSARQGDHCP LGPRCCRLHTVRASLEDL GWADWVLSPREVQVTMCI GACPSQFRAANMHAQIKTS LHRLKPDTPAPCCVPASY NPMVLIQKTDGTG VSLQTYD LLAKDCHCI <i>下線を引いたボールド体の 残基は、K392D 変異及び K409D 変異である。</i>	30	20	14
52	FcΔ16(-)- (G4S)2- GDF15(N3Q /D5E)	GPSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVT CVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPE NNY D TTTPVLDSDGSFFLYS DL TVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG GGGSGGGGSARQGEHCPL GPRCCRLHTVRASLEDLG WADWVLSPREVQVTMCI ACPSQFRAANMHAQIKTSL HRLKPDTPAPCCVPASYN PMVLIQKTDGTG VSLQTYDD LLAKDCHCI <i>下線を引いたボールド体の 残基は、K392D 変異及び K409D 変異である。</i>	30	20	18

10

20

30

40

【 0 0 6 2】

50

【表 1 5】

53	FcΔ16(-)- G4S- GDF15(N3Q)	GPSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVTCCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPE NNY D TTTPVLDSDGSFFLYS DL TVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSPG GGGGSARQGDHCPLGPGRC CRLHTVRASLEDLGWADW VLSPREVQVTCIGACPSQF RAANMHAQIKTSLHRLKPD TVPAPCCVPASYNPMVLIQ KTDGTGVS LQTYDDLAKDC HCI <i>下線を引いたボールド体の 残基は、K392D 変異及び K409D 変異である。</i>	30	19	14
54	FcΔ16(-)- G4S- GDF15(N3Q /D5E)	GPSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVTCCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPE NNY D TTTPVLDSDGSFFLYS DL TVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSPG GGGGSARQGEHCPLGPGRC CRLHTVRASLEDLGWADW VLSPREVQVTCIGACPSQF RAANMHAQIKTSLHRLKPD TVPAPCCVPASYNPMVLIQ KTDGTGVS LQTYDDLAKDC HCI <i>下線を引いたボールド体の残 基は、K392D 変異及びK409D 変異である。</i>	30	19	18

10

20

30

40

【 0 0 6 3】

50

【表 1 6】

55	FcΔ16(-)-GDF15(N3Q)	<p>GPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPE NNY<u>D</u>TPPVLDSDGSFFLYS <u>DL</u>TVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG ARQGDHCPLGPRCCRLHT VRASLEDLGWADWVLSR EVQVTMCIGACPSQFRAAN MHAQIKTSLHRLKPDTVPA PCCVPASYNPMVLIQKTD GVSLQTYDDLLAKDCHCI</p> <p>下線を引いたボールド体の 残基は、K392D 変異及び K409D 変異である。</p>	30	---	14
56	FcΔ10(-,L234A/L235A)-(G4Q)4-GDF15(N3Q)	<p>APE<u>A</u>AGGSPVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNQKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNY<u>D</u>TPPVLDSDG SFFLYS<u>DL</u>TVDKSRWQQGN VFSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPGGGGGGGGGGGGGG GGQGGGGQARQGDHCPLG PRCCRLHTVRASLEDLGW ADWVLSPREVQVTMCIGAC PSQFRAANMHAQIKTSLHR LKPDTVPAPCCVPASYNPM VLIQKTDTGVSQTYDDLL AKDCHCI</p> <p>下線を引いたイタリック体の 残基は、L234A 変異及び L235A 変異であり、下線を 引いたボールド体の残基は、 K392D 変異及びK409D 変異である。</p>	31	25	14

10

20

30

40

【 0 0 6 4】

50

【表 17】

57	FcΔ10(-,L234A/L235A)-(G4Q)4-GDF15(N3Q/D5E)	<p>APEAAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVNS NKALPAPIEKTIKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYDTTPPVLDSDG SFFLYSDLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGGGGGGQGGGGGGG GGQGGGGQARQGEHCPLG PGRCCRLHTVRASLEDLGW ADWVLSPREVQVTMCIGAC PSQFRAANMHAQIKTSLHR LKPDTVPAPCCVPASYNPM VLIQKTDGTGVSLQTYDDL AKDCHCI</p> <p><i>下線を引いたイタリック体の残基は、L234A 変異及び L235A の変異であり、下線を引いたボールド体の残基は、K392D 変異及び K409D 変異である。</i></p>	31	25	18
----	--------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----	----	----

10

20

【0065】

幾つかの実施形態では、融合タンパク質は、GDF15領域が2つのFc領域に連結されているscFc-GDF15である。幾つかの実施形態では、融合タンパク質は、配列番号38と少なくとも85%、90%、95%又は99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態では、融合タンパク質は、配列番号38のアミノ酸配列を含む。パーセント配列同一性を計算する際は、配列間で最大のマッチを与える方法で比較されている配列が整列させられる。パーセント同一性を決定するのに使用できるコンピュータープログラムは、GAPを含むGCGプログラムパッケージである(Devereux et al., (1984), Nucl. Acid Res. 12:387; Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, Wis.)。パーセント配列同一性が決定されなければならない2つのポリペプチド又はポリヌクレオチドは、コンピューターアルゴリズムGAPを使用して整列させることができる。配列は、そのそれぞれのアミノ酸又はヌクレオチドの最適なマッチングが得られるように整列される(アルゴリズムにより決定される「マッチドスパン(matched span)」。アルゴリズムと共に、ギャップ開始ペナルティ(平均ダイアゴナル(diagonal)の3倍として計算され、「平均ダイアゴナル」は、使用している比較マトリックスのダイアゴナルの平均であり;「ダイアゴナル」は、特定の比較マトリックスによりそれぞれの完全なアミノ酸マッチに割り当てられたスコア又は数字である)及びギャップ伸長ペナルティ(通常、ギャップ開始ペナルティの1/10倍である)の他、PAM250又はBLOSUM62等の比較マトリックスが使用される。所定の実施形態では、標準比較マトリックス(PAM250比較マトリックスについては、Dayhoff et al., (1978), Atlas of Protein Sequence and Structure 5:345-352を参照されたい; BLOSUM62比較マトリックスについては、Henikoff et al., (1992), Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 9:10915-1

30

40

50

0919を参照されたい)もアルゴリズムによって使用される。GAPプログラムを用いたパーセント同一性の決定に使用できるパラメータは、以下である：

アルゴリズム：Needleman et al., 1970, J. Mol. Biol. 48: 443 - 453；

比較マトリックス：Henikoff et al., 1992、上記からのBLOSUM 62；

ギャップペナルティ：12（しかしエンドギャップについてはペナルティなし）

ギャップ長ペナルティ：4

類似性の閾値：0

2つのアミノ酸配列を整列させるための所定のアライメントスキームでは、2つの配列の短い領域のみのマッチングが生じることがあり、この整列された小さな領域は、2つの全長配列間で顕著な関係がない場合でも、非常に高い配列同一性を有することがある。従って、選択したアライメント法（例えば、GAPプログラム）は、望ましい場合、標的ポリペプチドの少なくとも連続する50アミノ酸にわたるアライメントが生じるように調整することができる。

【0066】

幾つかの実施形態では、GDF15分子は、Fc 10(-) - (G4S)4 - GDF15、Fc 10(+) - (G4) - GDF15、Fc 10(-) - GDF15(3)、Fc 10(-) - GDF15(N3D)、Fc 10(-, CC) - GDF15(3)、Fc 10(-, CC) - GDF15(N3D)、Fc 16(-, CC) - GDF15(3/D5E)、Fc 16(-, CC) - GDF15(N3Q/D5E)、Fc 16(-) - GDF15(N3Q/D5E)、Fc 16(-) - (G4Q)4 - GDF15、Fc 16(-) - (G4Q)4 - GDF15(N3Q)、Fc 16(-) - (G4Q)4 - GDF15(N3Q/D5E)、Fc 16(-) - (G4S)2 - GDF15(N3Q)、Fc 16(-) - (G4S)2 - GDF15(N3Q/D5E)、Fc 16(-) - G4S - GDF15(N3Q)、Fc 16(-) - G4S - GDF15(N3Q/D5E)、Fc 16(-) - GDF15(N3Q)、Fc 10(-, L234A/L235A) - (G4Q)4 - GDF15(N3Q)又はFc 10(-, L234A/L235A) - (G4Q)4 - GDF15(N3Q/D5E)である。

【0067】

幾つかの実施形態では、GDF15分子は、配列番号39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56又は57のアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態では、GDF15分子は、配列番号39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56又は57と少なくとも85%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態では、GDF15分子は、配列番号39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56又は57と少なくとも90%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態では、GDF15分子は、配列番号39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56又は57と少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態では、GDF15分子は、配列番号39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56又は57と少なくとも99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0068】

幾つかの実施形態では、GDF15分子は、そのFc領域及び/又はGDF15領域と少なくとも85%、90%、95%又は99%の配列同一性を有するFc 10(-) - (G4S)4 - GDF15、Fc 10(+) - (G4) - GDF15、Fc 10(-) - GDF15(3)、Fc 10(-) - GDF15(N3D)、Fc 10(-, CC) - GDF15(3)、Fc 10(-, CC) - GDF15(N3D)、Fc

10

20

30

40

50

16(-, CC) - GDF15(3/D5E)、Fc 16(-, CC) - GDF15(N3Q/D5E)、Fc 16(-) - GDF15(N3Q/D5E)、Fc 16(-) - (G4Q)4 - GDF15、Fc 16(-) - (G4Q)4 - GDF15(N3Q)、Fc 16(-) - (G4Q)4 - GDF15(N3Q/D5E)、Fc 16(-) - (G4S)2 - GDF15(N3Q)、Fc 16(-) - (G4S)2 - GDF15(N3Q/D5E)、Fc 16(-) - G4S - GDF15(N3Q)、Fc 16(-) - G4S - GDF15(N3Q/D5E)、Fc 16(-) - GDF15(N3Q)、Fc 10(-, L234A/L235A) - (G4Q)4 - GDF15(N3Q)又はFc 10(-, L234A/L235A) - (G4Q)4 - GDF15(N3Q/D5E)分子である。例えば、そのFc領域及び/又はGDF15領域と少なくとも85%、90%、95%又は99%の配列同一性を有するFc 10(-) - (G4S)4 - GDF15分子は、ヒンジ領域の10個のアミノ酸欠失及び負電荷対の変異を有し、且つ配列番号26と少なくとも85%、90%、95%又は99%の配列同一性を有するFc領域、及び/又は配列番号6と少なくとも85%、90%、95%又は99%の配列同一性を有するGDF15領域を有するGDF15分子を含む。別の例では、そのFc領域及び/又はGDF15領域と少なくとも85%、90%、95%又は99%の配列同一性を有するFc 16(-) - (G4Q)4 - GDF15(N3Q/D5E)分子は、ヒンジ領域の16個のアミノ酸欠失及び負電荷対の変異を有し、且つ配列番号30と少なくとも85%、90%、95%又は99%の配列同一性を有するFc領域、及び/又は配列番号18と少なくとも85%、90%、95%又は99%の配列同一性を有するGDF15領域を有するGDF15分子を含む。更に別の例では、そのFc領域及び/又はGDF15領域と少なくとも85%、90%、95%又は99%の配列同一性を有するFc 10(-, L234A/L235A) - (G4Q)4 - GDF15(N3Q/D5E)分子は、ヒンジ領域の10個のアミノ酸欠失、負電荷対の変異並びに234位及び235位のロイシンからアラニンへの変異を有し、且つ配列番号31と少なくとも85%、90%、95%又は99%の配列同一性を有するFc領域、及び/又は配列番号18と少なくとも85%、90%、95%又は99%の配列同一性を有するGDF15領域を有するGDF15分子を含む。

10

20

【0069】

更に本明細書において提供されるのは、本明細書で提供されるGDF15分子を含む二量体及び四量体である。一実施形態では、二量体は、配列番号39~57の何れか1つのアミノ酸配列を含むGDF15 - Fc融合体を含む。幾つかの実施形態では、配列番号39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56又は57のアミノ酸配列を含むGDF15 - Fc融合体は、例えば表6に示したように、配列番号32、33、34、35、36又は37(C末端リジンは任意選択である)のアミノ酸配列を含むFc分子と二量体化する。例えば、幾つかの実施形態では、二量体は、Fc 10(-) - (G4S)4 - GDF15 : Fc 10(+, K)である。別の実施形態では、二量体は、Fc 10(-, L234A/L235A) - (G4Q)4 - GDF15(N3Q) : Fc 10(+, K, L234A/L235A)である。尚別の実施形態では、二量体は、Fc 10(-, L234A/L235A) - (G4Q)4 - GDF15(N3Q) : Fc 10(+, K, L234A/L235A)である。

30

40

【0070】

50

【表 1 8】

表 6 - 二量体

GDF15-Fc 融合体の配列番号	GDF15-Fc 融合体の名称	Fc 分子の配列番号	対応する Fc 分子の名称
39	FcΔ10(-)-(G4S)4-GDF15	32	FcΔ10(+,K)
40	FcΔ10(+)-(G4)-GDF15	33	FcΔ10(-,K)
41	FcΔ10(-)-GDF15(Δ3)	32	FcΔ10(+,K)
42	FcΔ10(-)-GDF15(N3D)	32	FcΔ10(+,K)
43	FcΔ10(-,CC)-GDF15(Δ3)	34	FcΔ10(+,K,CC)
44	FcΔ10(-,CC)-GDF15(N3D)	34	FcΔ10(+,K,CC)
45	FcΔ16(-,CC)-GDF15(Δ3/D5E)	35	FcΔ16(+,K,CC)
46	FcΔ16(-,CC)-GDF15(N3Q/D5E)	35	FcΔ16(+,K,CC)
47	FcΔ16(-)-GDF15(N3Q/D5E)	36	FcΔ16(+,K)
48	FcΔ16(-)-(G4Q)4-GDF15	36	FcΔ16(+,K)
49	FcΔ16(-)-(G4Q)4-GDF15(N3Q)	36	FcΔ16(+,K)
50	FcΔ16(-)-(G4Q)4-GDF15(N3Q/D5E)	36	FcΔ16(+,K)
51	FcΔ16(-)-(G4S)2-GDF15(N3Q)	36	FcΔ16(+,K)
52	FcΔ16(-)-(G4S)2-GDF15(N3Q/D5E)	36	FcΔ16(+,K)
53	FcΔ16(-)-G4S-GDF15(N3Q)	36	FcΔ16(+,K)
54	FcΔ16(-)-G4S-GDF15(N3Q/D5E)	36	FcΔ16(+,K)
55	FcΔ16(-)-GDF15(N3Q)	36	FcΔ16(+,K)
56	FcΔ10(-,L234A/L235A)-(G4Q)4-GDF15(N3Q)	37	FcΔ10(+,K,L234A/L235A)
57	FcΔ10(-,L234A/L235A)-(G4Q)4-GDF15(N3Q/D5E)	37	FcΔ10(+,K,L234A/L235A)

【0071】

一実施形態では、配列番号39のアミノ酸配列を含むGDF15-Fc融合体は、配列番号32(C末端リジンは任意選択)を含むFc分子と二量体化する。別の実施形態では、配列番号40のアミノ酸配列を含むGDF15-Fc融合体は、配列番号33(C末端リジンは任意選択)を含むFc分子と二量体化する。別の実施形態では、配列番号41のアミノ酸配列を含むGDF15-Fc融合体は、配列番号32(C末端リジンは任意選択)を含むFc分子と二量体化する。別の実施形態では、配列番号42のアミノ酸配列を含むGDF15-Fc融合体は、配列番号32(C末端リジンは任意選択)を含むFc分子と二量体化する。別の実施形態では、配列番号43のアミノ酸配列を含むGDF15-Fc融合体は、配列番号34(C末端リジンは任意選択)を含むFc分子と二量体化する。別の実施形態では、配列番号44のアミノ酸配列を含むGDF15-Fc融合体は、配列

10

20

30

40

50

番号34(C末端リジンは任意選択)を含むFc分子と二量体化する。別の実施形態では、配列番号44のアミノ酸配列を含むGDF15-Fc融合体は、配列番号34(C末端リジンは任意選択)を含むFc分子と二量体化する。別の実施形態では、配列番号45のアミノ酸配列を含むGDF15-Fc融合体は、配列番号35(C末端リジンは任意選択)を含むFc分子と二量体化する。別の実施形態では、配列番号46のアミノ酸配列を含むGDF15-Fc融合体は、配列番号35(C末端リジンは任意選択)を含むFc分子と二量体化する。別の実施形態では、配列番号47のアミノ酸配列を含むGDF15-Fc融合体は、配列番号36(C末端リジンは任意選択)を含むFc分子と二量体化する。別の実施形態では、配列番号48のアミノ酸配列を含むGDF15-Fc融合体は、配列番号36(C末端リジンは任意選択)を含むFc分子と二量体化する。別の実施形態では、配列番号49のアミノ酸配列を含むGDF15-Fc融合体は、配列番号36(C末端リジンは任意選択)を含むFc分子と二量体化する。別の実施形態では、配列番号50のアミノ酸配列を含むGDF15-Fc融合体は、配列番号36(C末端リジンは任意選択)を含むFc分子と二量体化する。別の実施形態では、配列番号51のアミノ酸配列を含むGDF15-Fc融合体は、配列番号36(C末端リジンは任意選択)を含むFc分子と二量体化する。別の実施形態では、配列番号52のアミノ酸配列を含むGDF15-Fc融合体は、配列番号36(C末端リジンは任意選択)を含むFc分子と二量体化する。別の実施形態では、配列番号53のアミノ酸配列を含むGDF15-Fc融合体は、配列番号36(C末端リジンは任意選択)を含むFc分子と二量体化する。別の実施形態では、配列番号54のアミノ酸配列を含むGDF15-Fc融合体は、配列番号36(C末端リジンは任意選択)を含むFc分子と二量体化する。別の実施形態では、配列番号55のアミノ酸配列を含むGDF15-Fc融合体は、配列番号36(C末端リジンは任意選択)を含むFc分子と二量体化する。別の実施形態では、配列番号56のアミノ酸配列を含むGDF15-Fc融合体は、配列番号37(C末端リジンは任意選択)を含むFc分子と二量体化する。別の実施形態では、配列番号57のアミノ酸配列を含むGDF15-Fc融合体は、配列番号37(C末端リジンは任意選択)を含むFc分子と二量体化する。

10

20

【0072】

幾つかの実施形態では、二量体は、四量体を形成する。例えば、表6の二量体は、四量体を形成することができる。幾つかの実施形態では、四量体は、同じ二量体から形成される。幾つかの実施形態では、Fc 10(-)-(G4S)4-GDF15:Fc 10(+,K); Fc 10(+)-(G4)-GDF15:Fc 10(-,K); Fc 10(-)-GDF15(3):Fc 10(+,K); Fc 10(-)-GDF15(N3D)の二量体:Fc 10(+,K); Fc 10(-,CC)-GDF15(3):Fc 10(+,K,CC); Fc 10(-,CC)-GDF15(N3D):Fc 10(+,K,CC); Fc 16(-,CC)-GDF15(3/D5E):Fc 16(+,K,CC); Fc 16(-,CC)-GDF15(N3Q/D5E):Fc 16(+,K); Fc 16(-)-(G4Q)4-GDF15:Fc 16(+,K); Fc 16(-)-(G4Q)4-GDF15(N3Q):Fc 16(+,K); Fc 16(-)-(G4Q)4-GDF15(N3Q/D5E):Fc 16(+,K); Fc 16(-)-(G4S)2-GDF15(N3Q):Fc 16(+,K); Fc 16(-)-(G4S)2-GDF15(N3Q/D5E):Fc 16(+,K); Fc 16(-)-G4S-GDF15(N3Q):Fc 16(+,K); Fc 16(-)-GDF15(N3Q):Fc 16(+,K); Fc 10(-,L234A/L235A)-(G4Q)4-GDF15(N3Q):Fc 10(+,K,L234A/L235A);又はFc 10(-,L234A/L235A)-(G4Q)4-GDF15(N3Q/D5E):Fc 10(+,K,L234A/L235A)は、2つのGDF15領域の二量体化を通してのように、四量体を形成する。

30

40

【0073】

50

本明細書において更に提供されるのは、本明細書に開示された G D F 1 5 分子及び F c 分子を産生するための核酸及びベクターを含む宿主細胞である。種々の実施形態では、ベクター又は核酸は、宿主細胞ゲノムに組み込まれ、他の実施形態ではベクター又は核酸は、染色体外にある。

【 0 0 7 4 】

そのような核酸、ベクター又はそれらの何れか若しくは両方の組み合わせを含む酵母細胞、細菌細胞（例えば、E . コリ (E . c o l i) ）及び哺乳類細胞（例えば、不死化哺乳類細胞）等の組み換え細胞が提供される。種々の実施形態では、G D F 1 5 分子及び / 又は F c 分子の発現をコードする配列を含む、プラスミド、コスミド、ファージミド又は線形発現エレメント等の組み込まれていない核酸を含む細胞。幾つかの実施形態では、細胞は、G D F 1 5 分子を産生するための核酸を含み、別の細胞は、G D F 1 5 分子との二量体化のための F c 分子を産生するための核酸（例えば、第 1 の細胞内に G D F 1 5 分子をコードするためのベクター及び第 2 の細胞内に F c 分子をコードするための第 2 のベクター）を含む。他の実施形態では、宿主細胞は、G D F 1 5 分子及び F c 分子を産生するための核酸（例えば、両方の分子をコードするベクター）を含む。別の実施形態では、宿主細胞は、G D F 1 5 分子を産生するための核酸及び F c 分子を産生するための別の核酸（例えば、単一宿主細胞内に 2 つの別のベクター、G D F 1 5 分子をコードするベクター及び F c 分子をコードするベクター）を含む。

10

【 0 0 7 5 】

G D F 1 5 分子及び / 又は F c 分子をコードする核酸配列を含むベクターは、当該技術分野において公知の方法等によって、形質転換又はトランスフェクションにより宿主細胞に導入することができる。

20

【 0 0 7 6 】

G D F 1 5 分子をコードする核酸は、ウイルスベクターを介して宿主細胞又は宿主動物に配置及び / 又は送達することができる。ウイルスベクターは、任意の数のウイルスポリヌクレオチドを、単独で、或いは所望の宿主細胞における本発明の核酸の送達、複製及び / 又は発現を促進する 1 つ以上のウイルスタンパク質と組み合わせて含み得る。ウイルスベクターは、ウイルスゲノムの全部若しくは一部を含むポリヌクレオチド、ウイルスタンパク質 / 核酸コンジュゲート、ウイルス様粒子 (V L P) 、又はウイルス核酸と G D F 1 5 領域を含むポリペプチドをコードする核酸とを含むインタクトなウイルス粒子であり得る。ウイルス粒子のウイルスベクターは、野生型ウイルス粒子又は改変ウイルス粒子を含み得る。ウイルスベクターは、アデノウイルスベクターアンプリコン等、複製及び / 又は発現のための別のベクター又は野生型ウイルスが存在する必要があるベクターであり得る（例えば、ウイルスベクターは、ヘルパー依存性ウイルスであり得る）。この点において好適なウイルスベクター粒子としては、例えば、アデノウイルス (a d e n o v i r a l) ベクター粒子 (アデノウイルス科 (a d e n o v i r i d a e) 又はアデノウイルス科 (a d e n o v i r i d a e) のウイルスに由来する、任意のウイルスを含む) 、アデノ随伴ウイルス (a d e n o - a s s o c i a t e d v i r a l) ベクター粒子 (A A V ベクター粒子) 又は他のパルボウイルス (p a r v o v i r u s) 及びパルボウイルス (p a r v o v i r a l) ベクター粒子、パピローマウイルス (p a p i l l o m a v i r a l) ベクター粒子、フラビウイルス (f l a v i v i r a l) ベクター、アルファウイルス (a l p h a v i r a l) スベクター、ヘルペスウイルス (h e r p e s v i r a l) ベクター、ポックスウイルス (p o x v i r u s) ベクター、レンチウイルス (l e n t i v i r a l) ベクターを含むレトロウイルス (r e t r o v i r a l) ベクターが挙げられる。

30

40

【 0 0 7 7 】

G D F 1 5 分子は、標準的なタンパク質精製法を用いて単離することができる。G D F 1 5 領域を含むポリペプチドは、G D F 1 5 領域を含むポリペプチドを発現するように設計されている細胞、例えば負の G D F 1 5 を自然には発現しない細胞から単離することができる。当該技術分野において公知のタンパク質精製法を採用して、G D F 1 5 分子の他

50

、関連材料及び試薬を単離することができる。G D F 1 5 分子を精製する方法も又、本明細書の実施例において提供される。G D F 1 5 分子を単離するために有用であり得る追加の精製方法は、B o o t c o v M R , 1 9 9 7 , P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 9 4 : 1 1 5 1 4 - 9 , F a i r l i e W D , 2 0 0 0 , G e n e 2 5 4 : 6 7 - 7 6 等の参考文献において見出すことができる。

【 0 0 7 8 】

G D F 1 5 分子（及び任意選択的に、本明細書に開示された二量体又は四量体等の F c 分子）を含む医薬組成物も提供される。そうしたポリペプチド医薬組成物は、投与モードとの適合性で選択された薬学的又は生理学的に許容される製剤用作用物質又は担体と混合した治療有効量の G D F 1 5 分子を含み得る。薬学的又は生理学的に許容される製剤用作用物質は、ヒト又は非ヒト対象の体内への G D F 1 5 分子の送達を達成又は促進するのに好適な 1 種以上の製剤用作用物質であってもよい。G D F 1 5 分子の有効期間若しくは有効性を大きくする湿潤剤若しくは乳化剤、防腐剤又は緩衝液等の薬学的に許容される物質は更に、製剤担体として働いてもよく、或いは製剤担体の構成要素を形成し得る。許容可能な薬学的に許容される担体は、好ましくは使用される投与量及び濃度でレシピエントに無毒である。医薬組成物は、例えば、組成物の p H、モル浸透圧濃度、粘度、清澄度、色、等張性、匂い、無菌性、安定性、溶解若しくは放出速度、吸着又は浸透性を変更、維持又は保護するため製剤用作用物質を含むことができる。

10

【 0 0 7 9 】

治療的に使用しようとする G D F 1 5 分子を含む医薬組成物の有効量は、例えば、治療の状況及び目的によって異なる。従って、当業者は、治療に適切な投与量レベルが、送達される分子、G D F 1 5 分子が使用されている適応、投与経路並びに対象のサイズ（体重、体表面積又は臓器の大きさ）及び状態（年齢及び一般的な健康状態）によってある程度異なることを理解するであろう。投薬頻度は、使用される製剤における G D F 1 5 分子の薬物動態パラメーターによって異なる。

20

【 0 0 8 0 】

医薬組成物の投与経路は、経口であっても；静脈内経路、腹腔内経路、脳内（実質内）経路、脳室内経路、筋肉内経路、眼内経路、動脈内経路、門脈内経路又は病巣内経路による注射によっても；徐放系（同様に注射することができる）によっても；或いは埋め込み装置によってもよい。所望の場合、組成物は、ポーラス注射により投与することも、或いは注入若しくは埋め込み装置により連続的に投与することもできる。組成物は又、所望の分子が吸収又は封入された膜、スポンジ又は他の適切な材料の埋め込みにより局所投与することもできる。埋め込み装置を使用する場合、装置は、任意の好適な組織又は臓器に埋め込むことができ、所望の分子の送達は、拡散、徐放性ポーラス（t i m e d - r e l e a s e b o l u s）又は連続投与によるものであってもよい。

30

【 0 0 8 1 】

G D F 1 5 分子は、代謝状態又は障害を治療、診断又は軽減するのに使用することができる。一実施形態では、代謝障害は、糖尿病、例えば、2 型糖尿病である。別の実施形態では、代謝状態又は障害は、肥満である。他の実施形態では、代謝状態又は障害は、脂質代謝異常、高血糖値、高インスリン値又は糖尿病性ニューロパチーである。例えば、G D F 1 5 分子を用いて処置又は軽減できる代謝状態又は障害は、ヒト対象が、1 2 5 m g / d L 以上、例えば 1 3 0 m g / d L、1 3 5 m g / d L、1 4 0 m g / d L、1 4 5 m g / d L、1 5 0 m g / d L、1 5 5 m g / d L、1 6 0 m g / d L、1 6 5 m g / d L、1 7 0 m g / d L、1 7 5 m g / d L、1 8 0 m g / d L、1 8 5 m g / d L、1 9 0 m g / d L、1 9 5 m g / d L、2 0 0 m g / d L 又は 2 0 0 m g / d L 超の空腹時血糖値を有する状態を含む。血糖値は、摂食若しくは絶食状態で、又は無作為に測定することができる。代謝状態又は障害は、対象が代謝状態を発生するリスクが高い状態を更に含む得る。ヒト対象については、そうした状態は、1 0 0 m g / d L の空腹時血糖値を含む。G D F 1 5 分子を含む医薬組成物を用いて治療することができる状態は、A m e r i c a n D i a b e t e s A s s o c i a t i o n S t a n d a r d s o f M e d i c a l

40

50

Care in Diabetes Care - 2011, American Diabetes Association, Diabetes Care Vol. 34, No. Supplement 1, S11 - S61, 2010においても見出すことができる。

【0082】

投与は、例えば静脈内（IV）注射、腹腔内（IP）注射、皮下注射、筋肉内注射により行っても、或いは錠剤若しくは液状の形態で経口的に行うことができる。GDF15分子の治療有効量は、投与スケジュール、投与される作用物質の単位用量、GDF15分子が他の治療薬と組み合わせて投与されるかどうか、免疫状態及びレシピエントの健康状態によって異なる。治療有効量は、処置されている疾患又は障害の症状の緩和又は軽減を含む、研究者、医師又は他の臨床医が求めている、組織系、動物又はヒトにおける生物学的反応又は薬効反応を惹起するGDF15分子の量、即ち、観察可能な値の1つ又は複数の所望の生物学的反応又は、薬効反応、例えば、血糖値、インスリン値、トリグリセリド値又はコレステロール値の低下；体重の低減；耐糖能、エネルギー消費量又はインスリン感受性の改善；或いは食物摂取量の低減を助けるGDF15分子の量である。GDF15分子の治療有効量は更に、所望の成果によって異なってもよい。

10

【0083】

本明細書において更に提供されるのは、対象において血糖、インスリン、コレステロール、脂質等の1種以上の代謝関連化合物のベースライン値を測定する工程、GDF15分子を含む医薬組成物を対象に投与する工程、及び所望の期間後、対象において1種以上の代謝関連化合物（例えば、血糖、インスリン、コレステロール、脂質）の値を測定する工程を含む方法である。次いで2つの値を比較して、対象における代謝関連化合物の相対的变化を判定することができる。その比較の結果に応じて、別の用量の医薬組成物を投与して、1種以上の代謝関連化合物の所望の値を達成することができる。

20

【0084】

GDF15分子（及び任意選択的に、その対応するFc分子）は、血糖値、インスリン値、トリグリセリド値又はコレステロール値を低下させる作用物質；体重を低減させる作用物質；食物摂取量を低減させる作用物質；耐糖能、エネルギー消費量又はインスリン感受性を改善させる作用物質；或いはこれら（例えば、抗糖尿病薬、高脂血症薬、抗肥満薬、降圧薬又はペルオキシソーム増殖剤活性化受容体のアゴニスト）の任意の組み合わせ等の別の治療薬と組み合わせて投与することができる。例えば、作用物質は、インスリン、インスリン誘導体及び類似体；インスリン分泌促進剤、グリブライド、アマリル；インスリン分泌促進性スルホニルウレア受容体リガンド；チアゾリジンジオン、ピオグリタゾン、バラグリタゾン、ネトグリタゾン、トログリタゾン、エングリタゾン、シグリタゾン、アダグリタゾン、ダルグリタゾン、コレステリルエステルトランスファータンパク質（CEPTP）阻害剤、GSK3（グリコーゲンシンターゼキナーゼ3）阻害剤；RXRリガンド；ナトリウム依存性グルコース共輸送体阻害剤；グリコーゲンホスホリラーゼA阻害剤；ピグアニド； α -グルコシダーゼ阻害剤、GLP-1（グルカゴン様ペプチド1）、GLP-1類似体、GLP-1類似体；DPPIV（ジペプチジルペプチダーゼIV）阻害剤、3-ヒドロキシ-3-メチル-グルタリル補酵素A（HMG-CoA）レダクターゼ阻害剤；スクアレンシンターゼ阻害剤；FXR（ファルネソイドX受容体）、LXR（肝X受容体）リガンド；コレステラミン；フィブレート；ニコチン酸、アスピリン；オルリスタット若しくはリモナバン；ループ利尿薬、フロセミド、トルセミド；アンジオテンシン変換酵素（ACE）阻害剤；Na-K-ATPase膜ポンプ阻害剤；ニュートラルエンドペプチダーゼ（NEP）阻害剤；ACE/NEP阻害剤；アンジオテンシンIIアンタゴニスト；レニン阻害剤；アドレナリン受容体遮断薬；変力薬、ドブタミン、ミルリノン；カルシウムチャネル遮断薬；アルドステロン受容体アンタゴニスト；アルドステロンシンターゼ阻害剤；フェノフィブレート、ピオグリタゾン、ロシグリタゾン、テサグリタザール、BMS-298585及びL-796449から選択され得る。

30

40

【0085】

本明細書に開示したGDF15分子と一緒に投与される作用物質は、GLP-1Rアゴ

50

ニスト又はGLPアンタゴニストであってよい。GLP-1Rアゴニストは、GLP-1R活性を備える化合物であってよい。GLP-1Rアゴニストは、エキセンディン、エキセンディン類似体又はエキセンディンアゴニストであってよい。エキセンディンは、アメリカドクトカゲの唾液分泌物に見られる天然型（又は天然型の合成バージョン）エキセンディンペプチドを含む。エキセンディンは、エキセンディン-3：HSDGTF TSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNNGGPSSGAPPPS-NH₂（配列番号58）；又はエキセンディン-4：HGE GTF TSDLSKQMEEEAVRLFIEWLKNNGGPSSGAPPPS-NH₂（配列番号59）であり得る。本明細書に記載のエキセンディン、エキセンディン類似体及びエキセンディンアゴニストは、酸の形態、薬学的に許容される塩の形態又はその分子の任意の他の生理学的に活性な形態で、任意選択的にアミド化され得る。エキセナチドとしても公知である合成のエキセンディン-4は、B Y E T T A（登録商標）（Amylin Pharmaceuticals, Inc.及びEli Lilly and Company）として市販されている。本明細書に開示したGDF15分子と組み合わせて使用できるエキセンディン類似体及びエキセンディンアゴニストの他の例は、それらの開示全体が参照により組み込まれる国際公開第98/05351号パンフレット；同第99/07404号パンフレット；同第99/25727号パンフレット；同第99/25728号パンフレット；同第99/40788号パンフレット；同第00/41546号パンフレット；同第00/41548号パンフレット；同第00/73331号パンフレット；同第01/51078号パンフレット；同第03/099314号パンフレット；米国特許第6,956,026号明細書；同第6,506,724号明細書；同第6,703,359号明細書；同第6,858,576号明細書；同第6,872,700号明細書；同第6,902,744号明細書；同第7,157,555号明細書；同第7,223,725号明細書；同7,220,721号明細書；米国特許出願公開第2003/0036504号明細書並びに同第2006/0094652号明細書及び同第2018/0311372号明細書を参照されたい。

【0086】

一実施形態では、GLP-1Rアゴニストは、GLP-1又はその類似体、例えばGLP-1（7-37）：HAEGTF TSDVSSYLEGQA AKEFI AWLVKGRG（配列番号60）又はGLP-1（7-37）類似体である。GLP-1（7-37）類似体は、例えば、その開示が本明細書に参照により組み込まれるHargrove et al., Regulatory Peptides, 141:113-119（2007）によって記載された受容体結合アッセイ又はインビボの血糖値アッセイ等の当該技術分野において公知の手段によって評価した場合に、GLP-1（7-37）の生物学的活性と類似の生物学的活性を誘発するペプチドであり得る。一実施形態では、GLP-1（7-37）類似体は、GLP-1（7-37）のアミノ酸配列と比較すると、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ又は8つのアミノ酸の置換、挿入、欠失又はそれらの2つ以上の組み合わせを備えるアミノ酸配列を有するペプチドを指す。一実施形態では、GLP-1（7-37）類似体は、GLP-1（7-36）-NH₂である。GLP-1（7-37）類似体には、アミド化形態、酸の形態、薬学的に許容される塩の形態及びその分子の任意の他の生理学的活性な形態が含まれる。幾つかの実施形態では、GLP-1R受容体アゴニストを記載するために単純な命名法が使用されており、例えば、[Aib8]GLP-1（7-37）は、GLP-1（7-37）の類似体（式中、第8位にある天然型AlaはAibで置換されている）を指定する。本明細書に開示したGDF15分子と組み合わせて使用することができる他のGLP-1（7-37）又はGLP-1（7-37）類似体としては、リラグルチド（VICTOZA（登録商標）、Novo Nordisk）；アルビグルチド（SYNCRIA（登録商標）、GlaxoSmithKline）；タスポグルチド（Hoffman La-Roche）；デュラグルチド（LY2189265としても公知である；Eli Lilly and Company）；又はLY2428757（Eli Lilly and Company）が挙げられる。一実施形態では、GLP-1Rアゴニストは、デュラグルチドであり、任意選択的にそのC

10

20

30

40

50

末端でリジンを有するアミノ酸配列：

【化13】

HGEGTFTSDVSSYLEEQAAKEFIAWLVKGGGGGGGGSGGGGSGGGGSAESKYGPPCP
 PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEV
 HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG
 QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL
 DSDGSFFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSLG (配列番号61)

10

を含む。それらの内容が全体として参照により本明細書に組み込まれる米国特許第6,268,343号明細書；同第7,452,966号明細書；及び米国特許出願公開第2018/0311372明細書に記載されたGLP-1類似体の1つ以上は、更に本明細書に開示したGDF15分子と組み合わせて使用することもできる。

【0087】

一実施形態では、配列番号39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56又は57のアミノ酸配列を含むGDF15分子は、配列番号58、59、60のアミノ酸配列又はその中のアミド化類似体を含む分子と一緒に投与される。一実施形態では、配列番号39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56又は57のアミノ酸配列を含むGDF15分子は、デュラグルチド、例えば配列番号61のアミノ酸配列を含む分子と一緒に投与される。

20

【0088】

別の実施形態では、それぞれ配列番号39及び32（C末端リジンは任意選択）；配列番号40及び33（C末端リジンは任意選択）、それぞれ配列番号41及び32（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号42及び32（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号43及び34（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号44及び34（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号45及び35（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号46及び35（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号47及び36（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号48及び36（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号49及び36（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号50及び36（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号51及び36（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号52及び36（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号53及び36（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号54及び36（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号55及び36（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号56及び37（C末端リジンは任意選択）；又はそれぞれ配列番号57及び37（C末端リジンは任意選択）のアミノ酸配列を含むGDF15分子及び対応するFc分子は、配列番号58、59、60のアミノ酸配列又はそのアミド化類似体を含む分子と一緒に投与される。

30

【0089】

別の実施形態では、それぞれ配列番号39及び32（C末端リジンは任意選択）；配列番号40及び33（C末端リジンは任意選択）、それぞれ配列番号41及び32（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号42及び32（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号43及び34（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号44及び34（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号45及び35（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号46及び35（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号47及び36（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号48及び36（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号49及び36（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号50及び36（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号51及び36（C末端リジンは任意選択）；それぞれ配列番号52及び36（C末端リジンは任意選択）；それ

40

50

ぞれ配列番号 5 3 及び 3 6 (C 末端リジンは任意選択) ; それぞれ配列番号 5 4 及び 3 6 (C 末端リジンは任意選択) ; それぞれ配列番号 5 5 及び 3 6 (C 末端リジンは任意選択) ; それぞれ配列番号 5 6 及び 3 7 (C 末端リジンは任意選択) ; 又はそれぞれ配列番号 5 7 及び 3 7 (C 末端リジンは任意選択) のアミノ酸配列を含む G D F 1 5 分子及び対応する F c 分子は、デュラグルチド、例えば配列番号 6 1 のアミノ酸配列を含む分子と一緒に投与される。

【 0 0 9 0 】

別の実施形態では、それぞれ配列番号 5 0 及び 3 6 (C 末端リジンは任意選択) のアミノ酸配列を含む G D F 1 5 分子及び対応する F c 分子は、配列番号 5 8、5 9、6 0 のアミノ酸配列又はその中のアミド化類似体を含む分子と一緒に投与される。別の実施形態では、それぞれ配列番号 5 0 及び 3 6 (C 末端リジンは任意選択) のアミノ酸配列を含む G D F 1 5 分子及び対応する F c 分子は、デュラグルチド、例えば配列番号 6 1 のアミノ酸配列を含む分子と一緒に投与される。

10

【 0 0 9 1 】

別の実施形態では、それぞれ配列番号 5 7 及び 3 7 (C 末端リジンは任意選択) のアミノ酸配列を含む G D F 1 5 分子及び対応する F c 分子は、配列番号 5 8、5 9、6 0 のアミノ酸配列又はその中のアミド化類似体を含む分子と一緒に投与される。別の実施形態では、それぞれ配列番号 5 7 及び 3 7 (C 末端リジンは任意選択) のアミノ酸配列を含む G D F 1 5 分子及び対応する F c 分子は、デュラグルチド、例えば配列番号 6 1 のアミノ酸配列を含む分子と一緒に投与される。

20

【 0 0 9 2 】

幾つかの実施形態では、本明細書に開示した G D F 1 5 分子は、G I P R に対するアンタゴニスト、例えばヒト G I P R に特異的に結合する抗原結合タンパク質と一緒に投与される。一実施形態では、抗原結合タンパク質は：

30

40

50

【化 1 4】

MTTSPILQLLLRSLCGLLLQRAETGSKGQTAGELYQRWERYRRECQETLAAAEPPS
GLACNGSFDMYVCWDYAAPNATARASCPWYLPWHHHVAAGFVLRQCGSDGQWG
LWRDHTQCENPEKNEAFLDQRLILERLQVMYTVGYSLATLLLALLILSLFRRLHCT
RNYIHINLFTSFMLRAAAILSRDRLPRPGPYLGDQALALWNQALAACRTAQIVTQY
CVGANYSWLLVEGVYLHSLLVLVGGSEEGHFRYYLLLGGWAPALFVIPWVIVRYLY
ENTQCWERNEVKAIWWIIRTPILMTILINFLIFIRILGILLSKLRTRQMRCRDYRLRLAR
STLTLVPLLGVHEVVFAPVTEEQARGALRFAKLGFEIFLSSFQGFVSVLYCFINKEVQ
SEIRRGWHHCRLRRSLGEEQRQLPERAFRALPSGSGPGEVPTSRGLSSGTLPGPGNEA
SRELESYC (配列番号62);

10

MTTSPILQLLLRSLCGLLLQRAETGSKGQTAGELYQRWERYRRECQETLAAAEPPS
VAAGFVLRQCGSDGQWGLWRDHTQCENPEKNEAFLDQRLILERLQVMYTVGYSL
LATLLLALLILSLFRRLHCTRNYIHINLFTSFMLRAAAILSRDRLPRPGPYLGDQALA
LWNQALAACRTAQIVTQYCVGANYSWLLVEGVYLHSLLVLVGGSEEGHFRYYLLL
GGWAPALFVIPWVIVRYLYENTQCWERNEVKAIWWIIRTPILMTILINFLIFIRILGILLS
KLRTRQMRCRDYRLRLARSTLTLVPLLGVHEVVFAPVTEEQARGALRFAKLGFEIFL
SSFQGFVSVLYCFINKEVQSEIRRGWHHCRLRRSLGEEQRQLPERAFRALPSGSGP
EVPTSRGLSSGTLPGPGNEASRELESYC (配列番号63); 又は

MTTSPILQLLLRSLCGLLLQRAETGSKGQTAGELYQRWERYRRECQETLAAAEPPS
GLACNGSFDMYVCWDYAAPNATARASCPWYLPWHHHVAAGFVLRQCGSDGQWG
LWRDHTQCENPEKNEAFLDQRLILERLQVMYTVGYSLATLLLALLILSLFRRLHCT
RNYIHINLFTSFMLRAAAILSRDRLPRPGPYLGDQALALWNQALAACRTAQIVTQY
CVGANYSWLLVEGVYLHSLLVLVGGSEEGHFRYYLLLGGWAPALFVIPWVIVRYLY
ENTQCWERNEVKAIWWIIRTPILMTILINFLIFIRILGILLSKLRTRQMRCRDYRLRLAR
STLTLVPLLGVHEVVFAPVTEEQARGALRFAKLGFEIFLSSFQGFVSVLYCFINKEVG
RDPAAAPALWRRRGTAAPLSAIVSQVQSEIRRGWHHCRLRRSLGEEQRQLPERAFRA
LPSGSGPGEVPTSRGLSSGTLPGPGNEASRELESYC (配列番号64)

20

のアミノ酸配列を含むか、又はそれらから成るヒトG I P Rに特異的に結合する。

【0093】

ヒトG I P Rポリペプチドに特異的に結合する抗原結合タンパク質は、G I P Rリガンド
によるG I P Rの活性化を阻害することができる、及び/又はG I P RへのG I P Rリガ
ンド結合を阻害することができる。抗原結合タンパク質は、G I P RへのG I P Rの結合を阻
止又は低減する能力を有し得るが、そのレベルは、例えば、放射性標識若しくは蛍光標識
されたりガンドによる結合試験等の方法、又は本明細書に記載の方法（例えば、c A M P
アッセイ若しくは他の機能アッセイ）によって測定することができる。その低減は、比較
可能な条件下で配列番号62、63又は64の治療前レベルと比較して少なくとも10%
、25%、50%、100%以上となり得る。特定の実施形態では、抗原結合タンパク質
は、25 p M未満、50 p M未満、100 p M未満、500 p M未満、1 n M未満、5 n
M未満、10 n M未満、25 n M未満又は50 n M未満のK D（平衡結合親和性）を有す
る。

30

【0094】

抗原結合タンパク質は、ヒト抗原結合タンパク質、例えばヒト抗体であり得る。別の実
施形態では、抗原結合タンパク質は、抗体、例えばモノクローナル抗体である。幾つかの
実施形態では、抗原結合タンパク質は、それらのそれぞれが参照によりその全体が本明細
書に組み込まれる、米国特許出願公開第2017/0275370号明細書又は同第20
18/0311372号明細書に開示されているG I P R抗体である。

40

【0095】

一実施形態では、抗体等のG I P R抗原結合タンパク質は：それぞれR A S Q S V S S
N L A（配列番号65）、G A A T R A T（配列番号66）及びQ Q Y N N W P L T（配

50

列番号67) ; それぞれSGSSSNIGSQTVN (配列番号68) 、 TNNQRPS (配列番号69) 及びATFDESLSGPV (配列番号70) ; それぞれRASQDIRDYL G (配列番号71) 、 GASSLQS (配列番号72) 及びLQHNNYPFT (配列番号73) ; 又はそれぞれRASQGLIWL (配列番号74) 、 AASSLSQS (配列番号75) 及びQQTNSFPPT (配列番号76) のアミノ酸配列を含むCDRL1、CDRL2及びCDRL3を含む。一実施形態では、GI PR抗原結合タンパク質は : それぞれNYGMH (配列番号77) 、 AIWFDA SDKYYADAVKG (配列番号78) 及びDQAIFGVVPDY (配列番号79) ; それぞれGYMH (配列番号80) 、 WINPNSGGTNYAQKFGG (配列番号81) 及びGGDYVFGTYRPHYYYGMDV (配列番号82) ; それぞれYFGMH (配列番号83) 、 VIWYDASNKYYADAVKG (配列番号84) 及びDGTIFGVLLGDY (配列番号85) ; 又はそれぞれSYYS (配列番号86) 、 RIYTSGSTNYNPSLKS (配列番号87) 及びDVAVAGFDY (配列番号88) のアミノ酸配列を含むCDRH1、CDRH2及びCDRH3を含む。

10

【0096】

一実施形態では、抗体等のGI PR抗原結合タンパク質は : それぞれ配列番号65 ~ 67及び77 ~ 79 ; 配列番号68 ~ 70及び80 ~ 82 ; 配列番号71 ~ 73及び83 ~ 85 ; 又は配列番号74 ~ 76及び86 ~ 88のアミノ酸配列を含むCDRL1、CDRL2、CDRL3、CDRH1、CDRH2及びCDRH3を含む。

【0097】

一実施形態では、抗体等のGI PR抗原結合タンパク質は :

20

30

40

50

【化 1 5】

それぞれ

EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGAATRATGI
PARVSGSGSGTEFTLTISLQSEDAVYYCQQYNNWPLTFGGGTKVEIKR (配列番号89)
及び

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGEGLEWVAIWFDA
SDKYYADAVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQAIFGVVPDYW
GQGTLVTVSS (配列番号90);

10

それぞれ

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSQTVNHWYQHLPGTAPKLLIYTNNQRPSGV
PDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYFCATFDESLSGPVFGGGTKLTVLG (配列番号
91)及び

QMQVVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTGYMHWRQAPGQGLEWMGWINP
NSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGGDYVFGTYRP
HYYYGMDVWGQGTITVTVSS (配列番号92);

それぞれ

DIQMTQSPSSLSASIGDRVTITCRASQDIRDYLGWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGV
PSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQHNNYPFTFGQGTKVDIKR (配列番号93)
及び

20

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSYFGMHWRQAPGKGLEWVAVIWYDA
SNKYYADAVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGTIFGVLLGDYW
GQGTLVTVSS (配列番号94); 又は

それぞれ

DIQMTQSPSSVSAVSGDRVTITCRASQGLIHWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQTNSFPPTFGQGTKVEIKR (配列番号95)
及び

30

QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPAGKLEWIGRIYTSGSTN
YNPSLKSRTMSIDTSKNQFSLKLNSTAAADTAVYYCARDVAVAGFDYWGQGLVTV
VSS (配列番号96)

のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域及び重鎖可変領域を含む。

【 0 0 9 8】

一部の実施形態では、抗体等のG I P R抗原タンパク質は：

40

50

【化 1 6】

それぞれ

EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGAATRATGI
PARVSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYNNWPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY
LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号97)及び

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGEGLEWVAIIWFDA
SDKYYADAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQAIFGVVPDYW
GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKT
HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列
番号98);

10

それぞれ

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSQTVNWWYQHLPGTAPKLLIYTNNQRPSGV
PDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYFCATFDESLSGPVFGGGTKLTVLGQPKAAP
SVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNK
YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (配列番号99)及び

20

QMQVVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHWVRQAPGQGLEWMGWINP
NSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGGDYVFGTYRP
HYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD
K KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED
PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK
SLSLSPGK (配列番号100);

30

それぞれ

DIQMTQSPSSLSASIGDRVTITCRASQDIRDYLGWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGV
PSRFGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNNYPFTFGQGTKVDIKRTVAAPSVFIF
PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS
LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号101)及び

40

50

【化 1 7】

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSYFGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDYDA
 SNKYYADAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGTIFGVLLGDYW
 GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
 GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKT
 HTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
 VEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
 KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
 PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列
 番号102);

10

それぞれ

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGLIIWLAWYQQKPKGAPKLLIYAASSLQSGV
 PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQTNSFPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIF
 PPSDEQLKSGTASV VCLLN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS
 LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号103)及び

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPAGKGLEWIGRIYTSGSTN
 YNPSLKS RVTMSIDTSKNQFSLKLN SVTAADTAVYYCARDVAVAGFDYWGQGLVTV
 VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
 VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPCP
 APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR
 EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD
 GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号104);

20

又は

それぞれ

MKLPVRLLVLMFWIPASSSDVVM TQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGDTYLH
 WYLQKPGQSPKLLIYK VSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAADLGVYFCSQST
 HVPPFTFGGGTKLEIKRADAAPT VSI FPPSSEQLTSGGASVVCFLN FYPKDINVKWKI
 DGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVK
 SFNRNEC (配列番号105)及び

30

MGWSYIILFLVATATDVHSQVQLQQPGAELVKPGASVKLSCRASGYTFTSNWMHW
 VKQRPRQGLEWIGEINPSNGRSNYNEKFKTKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAV
 YYCARFYYGTSWFA YWGQGLVAVSAAKTTPPSVYPLAPGSA AQTNSMVTLGCLV
 KGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHP
 ASSTKVDK KIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVL TITLTPKVT CVVDISKDD
 PEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFASTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSA
 AFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTI PPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWN
 GQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKS
 LSHSPGK (配列番号106)

40

の アミノ酸配列を含む軽鎖及び重鎖を含む。

【 0 0 9 9 】

一実施形態では、配列番号 3 9、4 0、4 1、4 2、4 3、4 4、4 5、4 6、4 7、
 4 8、4 9、5 0、5 1、5 2、5 3、5 4、5 5、5 6 又は 5 7 のアミノ酸配列を含む
 G D F 1 5 分子はそれぞれ配列番号 6 5 ~ 6 7 及び 7 7 ~ 7 9 ; 配列番号 6 8 ~ 7 0 及び
 8 0 ~ 8 2 ; 配列番号 7 1 ~ 7 3 及び 8 3 ~ 8 5 ; 又は配列番号 7 4 ~ 7 6 及び 8 6 ~ 8
 8 のアミノ酸配列を含む C D R L 1、C D R L 2、C D R L 3、C D R H 1、C D R H 2
 及び C D R H 3 を含む、抗体等の G I P R 抗原結合タンパク質と一緒に投与される。

【 0 1 0 0 】

別の実施形態では、それぞれ配列番号 3 9 及び 3 2 (C 末端リジンは任意選択) ; 配列

50

番号 40 及び 33 (C 末端リジンは任意選択)、それぞれ配列番号 41 及び 32 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 42 及び 32 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 43 及び 34 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 44 及び 34 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 45 及び 35 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 46 及び 35 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 47 及び 36 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 48 及び 36 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 49 及び 36 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 50 及び 36 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 51 及び 36 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 52 及び 36 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 53 及び 36 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 54 及び 36 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 55 及び 36 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 56 及び 37 (C 末端リジンは任意選択); 又はそれぞれ配列番号 57 及び 37 (C 末端リジンは任意選択) のアミノ酸配列を含む GDF15 分子及び対応する Fc 分子はそれぞれ配列番号 65 ~ 67 及び 77 ~ 79; 配列番号 68 ~ 70 及び 80 ~ 82; 配列番号 71 ~ 73 及び 83 ~ 85; 又は配列番号 74 ~ 76 及び 86 ~ 88 のアミノ酸配列を含む CDR L1、CDR L2、CDR L3、CDR H1、CDR H2 及び CDR H3 を含む、抗体等の GIPR 抗原結合タンパク質と一緒に投与される。

10

【0101】

別の実施形態では、それぞれ配列番号 50 及び 36 (C 末端でリジンは任意選択) を含む GDF15 分子及び対応する Fc 分子は: それぞれ配列番号 65 ~ 67 及び 77 ~ 79; 配列番号 68 ~ 70 及び 80 ~ 82; 配列番号 71 ~ 73 及び 83 ~ 85; 又は配列番号 74 ~ 76 及び 86 ~ 88 のアミノ酸配列を含む CDR L1、CDR L2、CDR L3、CDR H1、CDR H2 及び CDR H3 を含む、抗体等の GIPR 抗原結合タンパク質と一緒に投与される。一実施形態では、それぞれ配列番号 50 及び 36 (C 末端でリジンは任意選択) を含む GDF15 分子及び対応する Fc 分子は配列番号 65 ~ 67 及び 77 ~ 79 のアミノ酸配列を含む CDR L1、CDR L2、CDR L3、CDR H1、CDR H2 及び CDR H3 を含む抗体と一緒に投与される。

20

【0102】

別の実施形態では、それぞれ配列番号 57 及び 37 (C 末端でリジンは任意選択) を含む GDF15 分子及び対応する Fc 分子は: それぞれ配列番号 65 ~ 67 及び 77 ~ 79; 配列番号 68 ~ 70 及び 80 ~ 82; 配列番号 71 ~ 73 及び 83 ~ 85; 又は配列番号 74 ~ 76 及び 86 ~ 88 のアミノ酸配列を含む CDR L1、CDR L2、CDR L3、CDR H1、CDR H2 及び CDR H3 を含む、抗体等の GIPR 抗原結合タンパク質と一緒に投与される。別の実施形態では、それぞれ配列番号 57 及び 37 (C 末端リジンは任意選択) のアミノ酸配列を含む GDF15 分子及び対応する Fc 分子は: 配列番号 65 ~ 67 及び 77 ~ 79 のアミノ酸配列を含む CDR L1、CDR L2、CDR L3、CDR H1、CDR H2 及び CDR H3 を含む、抗体等の GIPR 抗原結合タンパク質と一緒に投与される。

30

【0103】

一実施形態では、配列番号 39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56 又は 57 のアミノ酸配列を含む GDF15 分子は、それぞれ配列番号 89 及び 90、配列番号 91 及び 92、配列番号 93 及び 94 又は配列番号 95 及び 96 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域及び重鎖可変領域を含む抗体等の GIPR 抗原結合タンパク質と一緒に投与される。

40

【0104】

別の実施形態では、それぞれ配列番号 39 及び 32 (C 末端リジンは任意選択); 配列番号 40 及び 33 (C 末端リジンは任意選択)、それぞれ配列番号 41 及び 32 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 42 及び 32 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 43 及び 34 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 44 及び 34 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 45 及び 35 (C 末端リジンは任意選択)

50

); それぞれ配列番号 4 6 及び 3 5 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 4 7 及び 3 6 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 4 8 及び 3 6 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 4 9 及び 3 6 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 5 0 及び 3 6 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 5 1 及び 3 6 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 5 2 及び 3 6 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 5 3 及び 3 6 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 5 4 及び 3 6 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 5 5 及び 3 6 (C 末端リジンは任意選択); それぞれ配列番号 5 6 及び 3 7 (C 末端リジンは任意選択); 又はそれぞれ配列番号 5 7 及び 3 7 (C 末端リジンは任意選択) のアミノ酸配列を含む G D F 1 5 分子及び対応する F c 分子は、それぞれ配列番号 8 9 及び 9 0、配列番号 9 1 及び 9 2、配列番号 9 3 及び 9 4 又は配列番号 9 5 及び 9 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域及び重鎖可変領域を含む抗体等の G I P R 抗原結合タンパク質と一緒に投与される。

10

【 0 1 0 5 】

別の実施形態では、それぞれ配列番号 5 0 及び 3 6 (C 末端のリジンは任意選択) のアミノ酸配列を含む G D F 1 5 分子及び対応する F c 分子は、それぞれ配列番号 8 9 及び 9 0、配列番号 9 1 及び 9 2、配列番号 9 3 及び 9 4 又は配列番号 9 5 及び 9 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域及び重鎖可変領域を含む抗体等の G I P R 抗原結合タンパク質と一緒に投与される。一実施形態では、配列番号 5 0 及び 3 6 (C 末端のリジンは任意選択) のアミノ酸配列を含む G D F 1 5 分子及び対応する F c 分子は、配列番号 8 9 及び 9 0 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域及び重鎖可変領域を含む抗体と一緒に投与される。

20

【 0 1 0 6 】

別の実施形態では、それぞれ配列番号 5 7 及び 3 7 (C 末端のリジンは任意選択) のアミノ酸配列を含む G D F 1 5 分子及び対応する F c 分子は、それぞれ配列番号 8 9 及び 9 0、配列番号 9 1 及び 9 2、配列番号 9 3 及び 9 4 又は配列番号 9 5 及び 9 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域及び重鎖可変領域を含む抗体等の G I P R 抗原結合タンパク質と一緒に投与される。一実施形態では、配列番号 5 7 及び 3 7 (C 末端のリジンは任意選択) のアミノ酸配列を含む G D F 1 5 分子及び対応する F c 分子は、配列番号 8 9 及び 9 0 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域及び重鎖可変領域を含む抗体と一緒に投与される。

【 0 1 0 7 】

一実施形態では、配列番号 3 9、4 0、4 1、4 2、4 3、4 4、4 5、4 6、4 7、4 8、4 9、5 0、5 1、5 2、5 3、5 4、5 5、5 6 又は 5 7 のアミノ酸配列を含む G D F 1 5 分子は、それぞれ配列番号 9 7 及び 9 8、配列番号 9 9 及び 1 0 0、配列番号 1 0 1 及び 1 0 2、配列番号 1 0 3 及び 1 0 4 又は配列番号 1 0 5 及び 1 0 6 のアミノ酸配列を含む軽鎖及び重鎖を含む抗体等の G I P R 抗原結合タンパク質と一緒に投与される。

30

【 0 1 0 8 】

別の実施形態では、それぞれ配列番号 3 9 及び 3 2 (C 末端のリジンは任意選択); 配列番号 4 0 及び 3 3 (C 末端のリジンは任意選択)、配列番号 4 1 及び 3 2 (C 末端のリジンは任意選択)、それぞれ配列番号 4 2 及び 3 2 (C 末端のリジンは任意選択)、それぞれ配列番号 4 3 及び 3 4 (C 末端のリジンは任意選択)、それぞれ配列番号 4 4 及び 3 4 (C 末端のリジンは任意選択)、それぞれ配列番号 4 5 及び 3 5 (C 末端のリジンは任意選択)、それぞれ配列番号 4 6 及び 3 5 (C 末端のリジンは任意選択)、それぞれ配列番号 4 7 及び 3 6 (C 末端のリジンは任意選択)、それぞれ配列番号 4 8 及び 3 6 (C 末端のリジンは任意選択)、それぞれ配列番号 4 9 及び 3 6 (C 末端のリジンは任意選択)、それぞれ配列番号 5 0 及び 3 6 (C 末端のリジンは任意選択)、それぞれ配列番号 5 1 及び 3 6 (C 末端のリジンは任意選択)、それぞれ配列番号 5 2 及び 3 6 (C 末端のリジンは任意選択)、それぞれ配列番号 5 3 及び 3 6 (C 末端のリジンは任意選択)、それぞれ配列番号 5 4 及び 3 6 (C 末端のリジンは任意選択)、それぞれ配列番号 5 5 及び 3 6 (C 末端のリジンは任意選択)、それぞれ配列番号 5 6 及び 3 7 (C 末端のリジンは任意選択) 又はそれぞれ配列番号 5 7 及び 3 7 (C 末端のリジンは任意選択) のアミノ酸配列を含む G D F 1 5 分子及び対応する F c 分子は、それぞれ配列番号 9 7 及び 9 8、配列番

40

50

号 99 及び 100、配列番号 101 及び 102、配列番号 103 及び 104 又は配列番号 105 及び 106 のアミノ酸配列を含む軽鎖及び重鎖を含む抗体等の G I P R 抗原結合タンパク質と一緒に投与される。

【 0 1 0 9 】

別の実施形態では、それぞれ配列番号 50 及び 36 (C 末端のリジンは任意選択) を含む G D F 1 5 分子及び対応する F c 分子は、それぞれ配列番号 97 及び 98、配列番号 99 及び 100、配列番号 101 及び 102、配列番号 103 及び 104 又は配列番号 105 及び 106 のアミノ酸配列を含む軽鎖及び重鎖を含む抗体等の G I P R 抗原結合タンパク質と一緒に投与される。一実施形態では、それぞれ配列番号 50 及び 36 (C 末端のリジンは任意選択) のアミノ酸配列を含む G D F 1 5 分子及び対応する F c 分子は、配列番号 97 及び 98 のアミノ酸配列を含む軽鎖及び重鎖を含む抗体と一緒に投与される。

10

【 0 1 1 0 】

別の実施形態では、それぞれ配列番号 57 及び 37 (C 末端のリジンは任意選択) を含む G D F 1 5 分子及び対応する F c 分子は、それぞれ配列番号 97 及び 98、配列番号 99 及び 100、配列番号 101 及び 102、配列番号 103 及び 104 又は配列番号 105 及び 106 のアミノ酸配列を含む軽鎖及び重鎖を含む抗体等の G I P R 抗原結合タンパク質と一緒に投与される。一実施形態では、それぞれ配列番号 57 及び 37 (C 末端のリジンは任意選択) のアミノ酸配列を含む G D F 1 5 分子及び対応する F c 分子は、配列番号 97 及び 98 のアミノ酸配列を含む軽鎖及び重鎖を含む抗体と一緒に投与される。

20

【 0 1 1 1 】

幾つかの実施形態では、本明細書に開示した G D F 1 5 分子は、例えば本明細書にその全体として参照により組み込まれる米国特許出願公開第 2018/0311372 号明細書に開示された、G L P - 1 R アゴニストにコンジュゲート化された G I P R 抗体と一緒に投与される。

【 0 1 1 2 】

本明細書に開示した G D F 1 5 分子と組み合わせで使用できる作用物質の他の例としては、ロシグリチゾン、ピオグリチゾン、レパグリニド、ナテグリチニド、メトホルミン、エキセナチド、スチアグリプチン、プラムリンチド、グリピジド、グリメプリリデアカルボース、オーリスタット、ロルカセリン、フェンテルミネトピラメート、ナルトレクソンブプロピオン、セトメラノチド、セマグルチド、エフペグレンアチド (e f p e g l e n a t i d e)、リキシセナチド、カナグリフロジン、L I K - 0 6 6、S A R - 4 2 5 8 9、T t - 4 0 1、F G F R 4 R x、H D V - ビオチン及びミグリトールが挙げられる。

30

【 0 1 1 3 】

別の治療薬と一緒に投与される G D F 1 5 分子は、治療有効量の G D F 1 5 分子 (及び任意選択的に、その対応する F c 分子) と治療有効量の他の治療薬との同時投与を含むことができる。別の治療薬と一緒に投与される G D F 1 5 分子は、治療有効量の G D F 1 5 分子 (及び任意選択的に、その対応する F c 分子) 及び治療有効量の他の治療薬の連続投与、例えば、治療有効量の G D F 1 5 分子 (及び任意選択的に、その対応する F c 分子)、続いて治療有効量の他の治療薬の投与、又は治療有効量の他の治療薬の投与、続いて治療有効量の G D F 1 5 分子 (及び任意選択的に、その対応する F c 分子) の投与を含むことができる。治療有効量の G D F 1 5 分子 (及び任意選択的に、その対応する F c 分子) の投与は、治療有効量の他の治療薬の投与から少なくとも 1 日後、2 日後、3 日後、4 日後、5 日後、6 日後又は 7 日後であってよい。別の実施形態では、治療有効量の治療有効量の他の治療薬の投与は、治療有効量の G D F 1 5 分子 (及び任意選択的に、その対応する F c 分子) の投与から少なくとも 1 日後、2 日後、3 日後、4 日後、5 日後、6 日後又は 7 日後の少なくとも 1 日後、2 日後、3 日後、4 日後、5 日後、6 日後又は 7 日後であってもよい。

40

【 0 1 1 4 】

別の治療薬と同時に投与される G D F 1 5 分子は、G D F 1 5 分子 (及び任意選択的に、その対応する F c 分子) 及び他の治療薬の両方を含む組成物の投与を含んでもよく、例

50

えば、治療有効量のG D F 1 5分子（及び任意選択的に、その対応するF c分子）は、投与前に治療有効量の他の作用物質と一緒にされてよい。別の実施形態では、G D F 1 5分子（及び任意選択的に、その対応するF c分子）及び別の治療薬の同時投与は、G D F 1 5分子を含む第1の組成物及び他の治療薬を含む第2の組成物の同時投与を含むことができる。

【0115】

幾つかの実施形態では、G D F 1 5分子の別の治療薬との投与は、相乗効果を有する。一実施形態では、効果は、G D F 1 5分子（及び任意選択的に、その対応するF c分子）単独又は他の作用物質より大きい。別の実施形態では、効果は、両方の作用物質（G D F 1 5分子、及び任意選択的にその対応するF c分子+他の作用物質）の相加効果より大きい。一実施形態では、併用療法（即ち、任意選択的に、その対応するF c分子を含むG D F 1 5分子と別の治療薬との投与）は、G D F 1 5単剤療法（G D F 1 5分子及び任意選択的にその対応するF c分子）より1.1倍超、1.2倍超、1.3倍超、1.4倍超、1.5倍超、1.6倍超、1.7倍超、1.8倍超、1.9倍超、2.0倍超、2.5倍超、3.0倍超、3.5倍超、4.0倍超、4.5倍超、5.0倍超、5.5倍超、6.0倍超、6.5倍超、7.0倍超、7.5倍超、8.0倍超、8.5倍超、9.0倍超、9.5倍超、10倍超、11倍超、12倍超、13倍超、14倍超、15倍超、16倍超、17倍超、18倍超、19倍超、20倍超、21倍超、22倍超、23倍超、24倍超、25倍超、26倍超、27倍超、28倍超、29倍超又は30倍超の効果有する。別の実施形態では、併用療法（即ち、任意選択的に、その対応するF c分子を含むG D F 1 5分子と別の治療薬との投与）は、他の作用物質の単剤療法より1.1倍超、1.2倍超、1.3倍超、1.4倍超、1.5倍超、1.6倍超、1.7倍超、1.8倍超、1.9倍超、2.0倍超、2.5倍超、3.0倍超、3.5倍超、4.0倍超、4.5倍超、5.0倍超、5.5倍超、6.0倍超、6.5倍超、7.0倍超、7.5倍超、8.0倍超、8.5倍超、9.0倍超、9.5倍超、10倍超、11倍超、12倍超、13倍超、14倍超、15倍超、16倍超、17倍超、18倍超、19倍超、20倍超、21倍超、22倍超、23倍超、24倍超、25倍超、26倍超、27倍超、28倍超、29倍超又は30倍超の効果有する。効果は、体重の低減量（例えば、総重量又は重量変化率の低減）；血糖値、インスリン値、トリグリセリド値又はコレステロール値の低減；耐糖能、エネルギー消費量又はインスリン感受性の改善；或いは食物摂取量の低減であってよい。相乗効果は、投与から約1日後、約2日後、約3日後、約4日後、約5日後、約6日後、約7日後、約8日後、約9日後、約10日後、約11日後、約12日後、約13日後、約14日後、約21日後、約28日後、約35日後、約42日後、約49日後、約56日後、約63日後又は約70日後であってよい。

【0116】

一実施形態では、G L P - 1 R アゴニスト若しくはG I P R アンタゴニストと一緒に投与されるそれぞれ配列番号39及び32（C末端のリジンは任意選択）；それぞれ配列番号40及び33（C末端のリジンは任意選択），それぞれ配列番号41及び32（C末端のリジンは任意選択）；それぞれ配列番号42及び32（C末端のリジンは任意選択）；それぞれ配列番号43及び34（C末端のリジンは任意選択）；それぞれ配列番号44及び34（C末端のリジンは任意選択）；それぞれ配列番号45及び35（C末端のリジンは任意選択）；それぞれ配列番号46及び35（C末端のリジンは任意選択）；それぞれ配列番号47及び36（C末端のリジンは任意選択）；それぞれ配列番号48及び36（C末端のリジンは任意選択）；それぞれ配列番号49及び36（C末端のリジンは任意選択）；それぞれ配列番号50及び36（C末端のリジンは任意選択）；それぞれ配列番号51及び36（C末端のリジンは任意選択）；それぞれ配列番号52及び36（C末端のリジンは任意選択）；それぞれ配列番号53及び36（C末端のリジンは任意選択）；それぞれ配列番号54及び36（C末端のリジンは任意選択）；それぞれ配列番号55及び36（C末端のリジンは任意選択）；それぞれ配列番号56及び37（C末端のリジンは任意選択）；又はそれぞれ配列番号57及び37（C末端のリジンは任意選択）のアミノ

10

20

30

40

50

酸配列を含む G D F 1 5 分子及び対応する F c 分子は、作用物質の投与から約 1 日後、約 2 日後、約 3 日後、約 4 日後、約 5 日後、約 6 日後、約 7 日後、約 8 日後、約 9 日後、約 1 0 日後、約 1 1 日後、約 1 2 日後、約 1 3 日後、約 1 4 日後、約 2 1 日後、約 2 8 日後、約 3 5 日後、約 4 2 日後、約 4 9 日後、約 5 6 日後、約 6 3 日後若しくは約 7 0 日後に、G D F 1 5 単剤療法より 1 . 1 倍超、1 . 2 倍超、1 . 3 倍超、1 . 4 倍超、1 . 5 倍超、1 . 6 倍超、1 . 7 倍超、1 . 8 倍超、1 . 9 倍超、2 . 0 倍超、2 . 5 倍超、3 . 0 倍超、3 . 5 倍超、4 . 0 倍超、4 . 5 倍超、5 . 0 倍超、5 . 5 倍超、6 . 0 倍超、6 . 5 倍超、7 . 0 倍超、7 . 5 倍超、8 . 0 倍超、8 . 5 倍超、9 . 0 倍超、9 . 5 倍超、1 0 倍超、1 1 倍超、1 2 倍超、1 3 倍超、1 4 倍超、1 5 倍超、1 6 倍超、1 7 倍超、1 8 倍超、1 9 倍超、2 0 倍超、2 1 倍超、2 2 倍超、2 3 倍超、2 4 倍超、2 5 倍超、2 6 倍超、2 7 倍超、2 8 倍超、2 9 倍超若しくは 3 0 倍超の効果；G L P - 1 R アゴニスト若しくは G I P R アンタゴニスト単剤療法（即ち、G L P - 1 R アゴニスト単剤療法若しくは G I P R アンタゴニスト単剤療法）より 1 . 1 倍超、1 . 2 倍超、1 . 3 倍超、1 . 4 倍超、1 . 5 倍超、1 . 6 倍超、1 . 7 倍超、1 . 8 倍超、1 . 9 倍超、2 . 0 倍超、2 . 5 倍超、3 . 0 倍超、3 . 5 倍超、4 . 0 倍超、4 . 5 倍超、5 . 0 倍超、5 . 5 倍超、6 . 0 倍超、6 . 5 倍超、7 . 0 倍超、7 . 5 倍超、8 . 0 倍超、8 . 5 倍超、9 . 0 倍超、9 . 5 倍超、1 0 倍超、1 1 倍超、1 2 倍超、1 3 倍超、1 4 倍超、1 5 倍超、1 6 倍超、1 7 倍超、1 8 倍超、1 9 倍超、2 0 倍超、2 1 倍超、2 2 倍超、2 3 倍超、2 4 倍超、2 5 倍超、2 6 倍超、2 7 倍超、2 8 倍超、2 9 倍超若しくは 3 0 倍超の効果；又はその両方を有する。

10

20

【 0 1 1 7 】

別の実施形態では、G L P - 1 R アゴニスト（例えば、デュラグルチド）と一緒に投与される、それぞれ配列番号 5 0 及び 3 6（C 末端のリジンは任意選択）のアミノ酸配列を含む G D F 1 5 分子及び対応する F c 分子は、G D F 1 5 分子及び対応する F c 分子及び / 又はデュラグルチドの投与から約 1 日後、約 2 日後、約 3 日後、約 4 日後、約 5 日後、約 6 日後、約 7 日後、約 8 日後、約 9 日後、約 1 0 日後、約 1 1 日後、約 1 2 日後、約 1 3 日後、約 1 4 日後、約 2 1 日後、約 2 8 日後、約 3 5 日後、約 4 2 日後、約 4 9 日後、約 5 6 日後、約 6 3 若しくは約 7 0 日後に、G D F 1 5 単剤療法より 1 . 1 倍超、1 . 2 倍超、1 . 3 倍超、1 . 4 倍超、1 . 5 倍超、1 . 6 倍超、1 . 7 倍超、1 . 8 倍超、1 . 9 倍超、2 . 0 倍超、2 . 5 倍超、3 . 0 倍超、3 . 5 倍超、4 . 0 倍超、4 . 5 倍超、5 . 0 倍超、5 . 5 倍超、6 . 0 倍超、6 . 5 倍超、7 . 0 倍超、7 . 5 倍超、8 . 0 倍超、8 . 5 倍超、9 . 0 倍超、9 . 5 倍超、1 0 倍超、1 1 倍超、1 2 倍超、1 3 倍超、1 4 倍超、1 5 倍超、1 6 倍超、1 7 倍超、1 8 倍超、1 9 倍超、2 0 倍超、2 1 倍超、2 2 倍超、2 3 倍超、2 4 倍超、2 5 倍超、2 6 倍超、2 7 倍超、2 8 倍超、2 9 倍超若しくは 3 0 倍超の効果；G L P - 1 R アゴニスト（例えば、デュラグルチド）単剤療法より 1 . 1 倍超、1 . 2 倍超、1 . 3 倍超、1 . 4 倍超、1 . 5 倍超、1 . 6 倍超、1 . 7 倍超、1 . 8 倍超、1 . 9 倍超、2 . 0 倍超、2 . 5 倍超、3 . 0 倍超、3 . 5 倍超、4 . 0 倍超、4 . 5 倍超、5 . 0 倍超、5 . 5 倍超、6 . 0 倍超、6 . 5 倍超、7 . 0 倍超、7 . 5 倍超、8 . 0 倍超、8 . 5 倍超、9 . 0 倍超、9 . 5 倍超、1 0 倍超、1 1 倍超、1 2 倍超、1 3 倍超、1 4 倍超、1 5 倍超、1 6 倍超、1 7 倍超、1 8 倍超、1 9 倍超、2 0 倍超、2 1 倍超、2 2 倍超、2 3 倍超、2 4 倍超、2 5 倍超、2 6 倍超、2 7 倍超、2 8 倍超、2 9 倍超若しくは 3 0 倍超の効果；又はその両方を有する。

30

40

【 0 1 1 8 】

別の実施形態では、G L P - 1 R アゴニスト（例えば、デュラグルチド）と一緒に投与される、それぞれ配列番号 5 7 及び 3 7（C 末端のリジンは任意選択）のアミノ酸配列を含む G D F 1 5 分子及び対応する F c 分子は、G D F 1 5 分子及び対応する F c 分子及び / 又はデュラグルチドの投与から約 1 日後、約 2 日後、約 3 日後、約 4 日後、約 5 日後、約 6 日後、約 7 日後、約 8 日後、約 9 日後、約 1 0 日後、約 1 1 日後、約 1 2 日後、約 1 3 日後、約 1 4 日後、約 2 1 日後、約 2 8 日後、約 3 5 日後、約 4 2 日後、約 4 9 日後、約 5 6 日後、約 6 3 若しくは約 7 0 日後に、G D F 1 5 単剤療法より 1 . 1 倍超、1 . 2

50

倍超、1.3倍超、1.4倍超、1.5倍超、1.6倍超、1.7倍超、1.8倍超、1.9倍超、2.0倍超、2.5倍超、3.0倍超、3.5倍超、4.0倍超、4.5倍超、5.0倍超、5.5倍超、6.0倍超、6.5倍超、7.0倍超、7.5倍超、8.0倍超、8.5倍超、9.0倍超、9.5倍超、10倍超、11倍超、12倍超、13倍超、14倍超、15倍超、16倍超、17倍超、18倍超、19倍超、20倍超、21倍超、22倍超、23倍超、24倍超、25倍超、26倍超、27倍超、28倍超、29若しくは30倍超の効果；G L P - 1 R アゴニスト（例えば、デュラグルチド）単剤療法より1.1倍超、1.2倍超、1.3倍超、1.4倍超、1.5倍超、1.6倍超、1.7倍超、1.8倍超、1.9倍超、2.0倍超、2.5倍超、3.0倍超、3.5倍超、4.0倍超、4.5倍超、5.0倍超、5.5倍超、6.0倍超、6.5倍超、7.0倍超、7.5倍超、8.0倍超、8.5倍超、9.0倍超、9.5倍超、10倍超、11倍超、12倍超、13倍超、14倍超、15倍超、16倍超、17倍超、18倍超、19倍超、20倍超、21倍超、22倍超、23倍超、24倍超、25倍超、26倍超、27倍超、28倍超、29倍超若しくは30倍超の効果；又はその両方を有する。

10

【0119】

別の実施形態では、G I P R 抗原結合タンパク質（例えば、それぞれ配列番号65～67及び77～79；配列番号68～70及び80～82；配列番号71～73及び83～85；若しくは配列番号74～76及び86～88のアミノ酸配列を含む；又はそれぞれ配列番号89及び90、配列番号91及び92、配列番号93及び94若しくは配列番号95及び96のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域及び重鎖可変領域を含む抗体；又はそれぞれ配列番号97及び98、配列番号99及び100、配列番号101及び102、配列番号103及び104若しくは配列番号105及び106を含むアミノ酸配列を含む軽鎖及び重鎖を含むC D R L 1、C D R L 2、C D R L 3、C D R H 1、C D R H 2及びC D R H 3のアミノ酸配列を含む抗体）と一緒に投与される、それぞれ配列番号50及び36（C末端のリジンは任意選択）のアミノ酸配列を含むG D F 1 5分子及び対応するF c分子は、G D F 1 5分子及び対応するF c分子及び/又はG I P R 抗原結合タンパク質の投与から約1日後、約2日後、約3日後、約4日後、約5日後、約6日後、約7日後、約8日後、約9日後、約10日後、約11日後、約12日後、約13日後、約14日後、約21日後、約28日後、約35日後、約42日後、約49日後、約56日後、約63若しくは約70日後に、G D F 1 5単剤療法より1.1倍超、1.2倍超、1.3倍超、1.4倍超、1.5倍超、1.6倍超、1.7倍超、1.8倍超、1.9倍超、2.0倍超、2.5倍超、3.0倍超、3.5倍超、4.0倍超、4.5倍超、5.0倍超、5.5倍超、6.0倍超、6.5倍超、7.0倍超、7.5倍超、8.0倍超、8.5倍超、9.0倍超、9.5倍超、10倍超、11倍超、12倍超、13倍超、14倍超、15倍超、16倍超、17倍超、18倍超、19倍超、20倍超、21倍超、22倍超、23倍超、24倍超、25倍超、26倍超、27倍超、28倍超、29倍超若しくは30倍超の効果；G I P R 抗原結合タンパク質単剤療法より1.1倍超、1.2倍超、1.3倍超、1.4倍超、1.5倍超、1.6倍超、1.7倍超、1.8倍超、1.9倍超、2.0倍超、2.5倍超、3.0倍超、3.5倍超、4.0倍超、4.5倍超、5.0倍超、5.5倍超、6.0倍超、6.5倍超、7.0倍超、7.5倍超、8.0倍超、8.5倍超、9.0倍超、9.5倍超、10倍超、11倍超、12倍超、13倍超、14倍超、15倍超、16倍超、17倍超、18倍超、19倍超、20倍超、21倍超、22倍超、23倍超、24倍超、25倍超、26倍超、27倍超、28倍超、29倍超若しくは30倍超の効果；又はその両方を有する。

20

30

40

【0120】

別の実施形態では、G I P R 抗原結合タンパク質（例えば、それぞれ配列番号65～67及び77～79；配列番号68～70及び80～82；配列番号71～73及び83～85；若しくは配列番号74～76及び86～88のアミノ酸配列を含む；又はそれぞれ配列番号89及び90、配列番号91及び92、配列番号93及び94若しくは配列番号95及び96のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域及び重鎖可変領域を含む抗体；又はそれ

50

ぞれ配列番号 97 及び 98、配列番号 99 及び 100、配列番号 101 及び 102、配列番号 103 及び 104 若しくは配列番号 105 及び 106 のアミノ酸配列を含む軽鎖及び重鎖を含む CDR L 1、CDR L 2、CDR L 3、CDR H 1、CDR H 2 及び CDR H 3 のアミノ酸配列を含む抗体)と一緒に投与される、それぞれ配列番号 57 及び 37 (C 末端のリシンは任意選択)のアミノ酸配列を含む GDF 15 分子及び対応する Fc 分子は、GDF 15 分子及び対応する Fc 分子及び/又は GIPR 抗原結合タンパク質の投与から約 1 日後、約 2 日後、約 3 日後、約 4 日後、約 5 日後、約 6 日後、約 7 日後、約 8 日後、約 9 日後、約 10 日後、約 11 日後、約 12 日後、約 13 日後、約 14 日後、約 21 日後、約 28 日後、約 35 日後、約 42 日後、約 49 日後、約 56 日後、約 63 若しくは約 70 日後に、GDF 15 単剤療法より 1.1 倍超、1.2 倍超、1.3 倍超、1.4 倍超、1.5 倍超、1.6 倍超、1.7 倍超、1.8 倍超、1.9 倍超、2.0 倍超、2.5 倍超、3.0 倍超、3.5 倍超、4.0 倍超、4.5 倍超、5.0 倍超、5.5 倍超、6.0 倍超、6.5 倍超、7.0 倍超、7.5 倍超、8.0 倍超、8.5 倍超、9.0 倍超、9.5 倍超、10 倍超、11 倍超、12 倍超、13 倍超、14 倍超、15 倍超、16 倍超、17 倍超、18 倍超、19 倍超、20 倍超、21 倍超、22 倍超、23 倍超、24 倍超、25 倍超、26 倍超、27 倍超、28 倍超、29 倍超若しくは 30 倍超の効果；GIPR 抗原結合タンパク質単剤療法より 1.1 倍超、1.2 倍超、1.3 倍超、1.4 倍超、1.5 倍超、1.6 倍超、1.7 倍超、1.8 倍超、1.9 倍超、2.0 倍超、2.5 倍超、3.0 倍超、3.5 倍超、4.0 倍超、4.5 倍超、5.0 倍超、5.5 倍超、6.0 倍超、6.5 倍超、7.0 倍超、7.5 倍超、8.0 倍超、8.5 倍超、9.0 倍超、9.5 倍超、10 倍超、11 倍超、12 倍超、13 倍超、14 倍超、15 倍超、16 倍超、17 倍超、18 倍超、19 倍超、20 倍超、21 倍超、22 倍超、23 倍超、24 倍超、25 倍超、26 倍超、27 倍超、28 倍超、29 倍超若しくは 30 倍超の効果；又はその両方を有する。

10

20

【0121】

一実施形態では、GDF 15 分子対 GLP - 1 R アゴニスト若しくは GIPR アンタゴニストのモル比は、約 1 : 1 ~ 1 : 100、約 1 : 1 ~ 1 : 75、約 1 : 1 ~ 1 : 50、約 1 : 1 ~ 1 : 25、約 1 : 1 ~ 1 : 10 又は約 1 : 1 ~ 1 : 5 である。一実施形態では、GDF 15 分子対 GLP - 1 R アゴニスト若しくは GIPR アンタゴニストのモル比は、約 1 : 1、約 1 : 2、約 1 : 3、約 1 : 4、約 1 : 5、約 1 : 10、約 1 : 20、約 1 : 30、約 1 : 40 又は約 1 : 50 である。一実施形態では、GDF 15 分子対 GLP - 1 R アゴニスト (例えば、デュラグルチド) のモル比は、約 1 : 1 ~ 1 : 100、1 : 1 ~ 1 : 75、1 : 1 ~ 1 : 50、1 : 1 ~ 1 : 25、1 : 1 ~ 1 : 10 若しくは 1 : 1 ~ 1 : 5 ; 又は約 1 : 1、約 1 : 2、約 1 : 3、約 1 : 4、約 1 : 5、約 1 : 10、約 1 : 20、約 1 : 30、約 1 : 40 若しくは約 1 : 50 である。別の実施形態では、GDF 15 分子対 GIPR アンタゴニスト (例えば、GIPR 抗体) のモル比は、約 1 : 1 ~ 1 : 100、1 : 1 ~ 1 : 75、1 : 1 ~ 1 : 50、1 : 1 ~ 1 : 25、1 : 1 ~ 1 : 10 若しくは 1 : 1 ~ 1 : 5 ; 又は約 1 : 1 ~ 1 : 110、1 : 1 ~ 1 : 100、1 : 1 ~ 1 : 75、1 : 1 ~ 1 : 50、1 : 1 ~ 1 : 25、1 : 1 ~ 1 : 10 若しくは 1 : 1 ~ 1 : 5 ; 又は約 1 : 1、約 1 : 2、約 1 : 3、約 1 : 4、約 1 : 5、約 1 : 10、約 1 : 20、約 1 : 30、約 1 : 33、約 1 : 40 若しくは約 1 : 50 である。

30

40

【0122】

一実施形態では、GDF 15 分子及び GLP - 1 R アゴニスト若しくは GIPR アンタゴニストは、治療効果を有する (例えば、状態及び/又は疾患を治療する ; 体重減少を低減させる ; 血糖値、血中インスリン値、血中トリグリセリド値若しくは血中コレステロール値を低減させる ; 糖耐能、エネルギー消費量若しくはインスリン感受性を改善する ; 又は食物摂取量を低減させる) ために必要とされる各化合物単独の用量の少なくとも約 1.1 ~ 1.4、1.5、2、3、4、5、6、7、8、9 又は 10 分の 1 の用量で存在する。

【0123】

詳細な説明及び以下の実施例は、本発明を例示するものであり、本発明は、それに限定

50

するものとして解釈されるべきではない。本発明の説明に基づき、当業者によって様々な変更形態及び修正形態がなされ得、そうした変更形態及び修正形態も本発明に含まれる。

【実施例】

【0124】

実施した実験及び得られた結果を含む以下の例は、説明のみを目的として提供するものであり、本発明を限定するものと解釈されるべきではない。

【0125】

実施例1：GDF15分子の生成

Fc 10(-)-(G4S)4-GDF15(配列番号39)を無血清の浮遊培養に
適応させたCHO-K1細胞株内で安定発現させた。それをピューロマイシン耐性を含有
する安定性発現ベクターにクローニングする一方、Fc 10(-)-(G4S)4-G
D F 1 5 とヘテロ二量体を形成するためのFc鎖Fc 10(+、K)(配列番号32)
は、ハイグロマイシンを含む発現ベクター(Selexis, Inc.)にクローニング
した。これらのプラスミドは、リポフェクタミンLTXを用いて1:1の割合でトランス
フェクトし、トランスフェクションの2日後に10µg/mLのピューロマイシン及び6
0 0 µ g / m L のハイグロマイシンを含む独自の増殖培地で細胞を選択した。選択中に培
地を週2回交換した。細胞の生存率が約90%に達したとき、それらをバッチ培養生産工
程用にスケールアップした。細胞は、生産培地に2×10⁶/mLで播種した。細胞によ
り生成された馴化培地(CM)を7日目に回収し、清澄化した。エンドポイントの生存率
は、典型的には90%超であった。

【0126】

Fc 10(-)-(G4S)4-GDF15(配列番号39)(及び対をなした任意
のFc)を清澄化した。馴化培地は、2段階クロマトグラフィー手順を用いて精製した。
約5LのCMは、ダルベッコのリン酸塩緩衝生理食塩水(PBS)で事前に平衡化されて
いたGE Mab Select Sureカラムへ直接的に適用した。結合したタンパク質
に以下の3つの洗浄工程を実施した：最初に、3カラム体積(CV)のPBS；次に、1
CVの20mMのトリス、pH7.4の100mMの塩化ナトリウム；最後に、3CVの
500mMのL-アルギニン、pH7.5。これらの洗浄工程により、非結合又は軽く結
合した培地成分及び宿主細胞の不純物が除去される。次いでカラムを、5CVの20mM
のトリス、pH7.4の100mMの塩化ナトリウムで再平衡化し、UV吸光度をベース
ラインに戻した。所望のタンパク質は、pH3.6の100mMの酢酸により溶出し、大
量に収集した。タンパク質プールを1Mのトリス-HCl、pH9.2で5.0~5.5
のpH範囲に直ちに滴定した。次にpH調整したタンパク質プールは、pH6.0の20
mMの2-エタンスルホン酸(MES)で事前に平衡化してあったGE SP セファロー
スHPカラムに充填した。次いで結合したタンパク質を5CVの平衡化緩衝液で洗浄し、
最後にpH6.0の20mMのMES中、0~400mMの塩化ナトリウムの20CV、
0~50%のリニアグラジエントで溶出した。溶出中に画分を収集し、分析用サイズ排除
クロマトグラフィー(Superdex 200)により解析して均一な産物のためプール
するのに適切な画分を決定した。SP HPクロマトグラフィーによって、遊離Fc、切
除された種及びFc-GDF15多量体等の産物関連不純物が除去される。次いで透析に
よりSP HPプールの緩衝液を10mMの酢酸ナトリウム、5%プロリン、pH5.2
にした。それを、Sartorius Vivaspin(登録商標)2010キログルトン
分子量カットオフ遠心装置を用いておおよそ15mg/mLに濃縮した。最後に、最終
ロットを濾過滅菌し、精製Fc-GDF15分子を含む得られた溶液を5で保存した。
最終産物について、質量スペクトル解析、硫酸ドデシルナトリウムポリアクリルアミド電
気泳動法及びサイズ排除高速液体クロマトグラフィーを用いて同一性及び純度を評価した。

【0127】

実施例2：GDF15、デュラグルチド及び/又はGI PR抗体の投与

投与の開始時に19~20週齢(13~14週間に渡り高脂肪食を摂取した)雄性C5
7B1/6DIOマウスを次の治療群に配置した：A群-動物に週1回ビヒクルが投与さ

れたビヒクル群；B群 - 動物に週2回0.1mg/kg (2nmol/kg)のデュラグルチドが投与されたデュラグルチド群；C群 - 動物に週1回5mg/kg (33nmol/kg)の抗体2.63.1 (それぞれ配列番号105及び106の軽鎖及び重鎖配列を有する)及び週1回ビヒクル (後者はデュラグルチドの投与日と交互に)が投与されたGI PR抗体群；D群 - 動物に (そのヘテロ二量体化パートナーであるFc 10 (+, K) (配列番号32)と一緒に)週1回0.125mg/kg (1nmol/kg)のFc 10 (-) - (G4S)4 - GDF15 (配列番号39)及び週1回ビヒクル (後者はデュラグルチドの投与日と交互に)が投与されたGDF15群；E群 - 動物に (そのヘテロ二量体化パートナーであるFc 10 (+, K)と一緒に)週1回0.125mg/kg (1nmol/kg)のFc 10 (-) - (G4S)4 - GDF15)及び週2回0.1mg/kg (2nmol/kg)のデュラグルチドが投与されたGDF15 + デュラグルチド群；F群 - 動物に (そのヘテロ二量体化パートナーであるFc 10 (+, K)と一緒に)週1回0.125mg/kg (1nmol/kg)のFc 10 (-) - (G4S)4 - GDF15及び週1回5mg/kg (33nmol/kg)の抗体2.63.1が投与されたGDF15 + GI PR抗体群。動物には、皮下注射を通して5週間にわたって投与した。

10

【0128】

体重は、週2回測定した。図1は、体重の変化を示している (図1Aはグラム単位、図1Bは、体重の変化率)。体重変化の有意性は、表7に示した。

【0129】

20

【表19】

表7 - 体重変化の有意性

群	D-4	D0	D3	D7	D10	D14	D17	D21	D31	D35
A	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B	ns	ns	ns	ns	**	**	****	***	***	***
C	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
D	ns	ns	ns	**	****	****	****	****	***	***
E	ns	ns	**	****	****	****	****	****	****	****
F	ns	ns	ns	****	****	****	****	****	****	****

30

ns: 有意ではない; Graphpad prism におけるダネットの分析を用いる二元配置 ANOVA によって、*p<0.05、**p<0.005、***p<0.001、****p<0.0001。

【0130】

図2は、治療開始2週間後 (図2A) 及び5週間後 (図2B) の体重変化率 (%) を示している。このデータは、GDF15とデュラグルチド又はGI PR抗体何れかとの併用療法が相乗作用的であることを示している。治療の2週間後、D群 (GDF15) のマウスは体重の - 9.33% の変化を有したが、B群 (デュラグルチド) 若しくはC群 (GI PR抗体) のマウスは、体重におけるそれぞれ - 4.40% 及び - 0.91% の変化を有した。しかしながら、E群 (GDF15 + デュラグルチド) のマウスは、 - 13.73% の相加効果より大きい、体重における - 18.28% の変化を有した。この減少は、デュラグルチド治療単独と比較して3倍超であり、GDF15治療単独に見られるほぼ2倍の減少であった。F群 (GDF15 + GI PR抗体) のマウスは、 - 14.56% の相加効果より大きい、体重における - 13.65% の変化を有した。この減少は、GI PR抗体治療単独と比較して1.3倍超であり、GDF15治療単独に見られるほぼ1.5倍の減少であった。

40

【0131】

治療の5週間後、D群 (GDF15) のマウスは体重の - 14.62% の変化を有した

50

が、B群（デュラグルチド）若しくはC群（G I P R抗体）のマウスは、体重におけるそれぞれ - 1 . 9 6 % 及び 2 . 2 4 % の変化を有した。しかしながら、E群（G D F 1 5 + デュラグルチド）のマウスは、- 1 5 . 5 8 % の相加効果より大きい、体重における - 3 3 . 5 6 % の変化を有した。この減少は、デュラグルチド治療単独と比較して1.5倍超であり、G D F 1 5 治療単独に見られる2倍超の減少であった。F群（G D F 1 5 + G I P R抗体）のマウスは、- 1 2 . 3 8 % の相加効果より大きい、体重における - 2 2 . 6 2 % の変化を有した。この減少は、G I P R抗体治療単独と比較して2.0倍超であり、G D F 1 5 治療単独に見られる1.5倍超の減少であった。

【0132】

経口糖耐能試験（O G T T）を初回治療の2週間後に実施し、図3は、経口糖耐能試験中の治療開始2週間後の血糖値（図3A）及び血糖AUC（図3B）を示しており、治療群とビヒクル群肝のAUCの差は、図3Bにおける各バーの上部に表示した。併用療法は、G D F 1 5 単剤療法よりも大きな効果を有していなかった（- 3 9 . 0 % のAUCを有するD群と比較して、E群及びF群は、それぞれ - 4 0 . 0 % のAUC及び - 3 3 . 1 % のAUCを有していた）。

10

【0133】

同様に、併用療法は、腹腔内糖耐能試験（I P G T T）においてG D F 1 5 単剤療法より大きな効果を有していなかった。I P G T Tは、初回治療の5週間後に実施し、図4は、経口糖耐能試験中の治療開始5週間後の血糖値（図4A）及び血糖AUC（図4B）を示しており、治療群とビヒクル群間のAUCの差は、図4Bにおける各バーの上部に表示した。併用療法群であるE群及びF群は、- 3 8 . 0 % のAUCを有するG D F 1 5 単剤療法群であるD群と比較して、それぞれ - 4 2 . 4 % のAUC及び - 4 0 . 4 % のAUCを有していた。

20

【0134】

空腹時血糖値、血中インスリン値、血中トリグリセリド値及び血清総コレステロール値は、初回治療の2週間後及び5週間後に測定した（それぞれ、図5A～5D）。併用療法（E群及びF群）は、空腹時血糖値若しくは血中トリグリセリド値を低減させることについてG D F 1 5 単剤療法（D群）に比較して大きな効果を有していなかったが（それぞれ図5A及び5C）、2週間後、併用療法は、血清インスリン値を低減させることにより大きな効果を有し、5週間後に、G D F 1 5 + デュラグルチドの併用は血清インスリン値を低減させることにG D F 1 5 単剤療法に比較して大きな効果を有していた（図5B）。G D F 1 5 + デュラグルチドの併用も又、総コレステロール値を低減させることにG D F 1 5 単剤療法よりも大きな効果を有していた（図5D）。

30

【0135】

食物摂取量は、週1回連続する3日間に測定し、結果は図6に示した。データの有意性は、表8に示した。

【0136】

40

50

【表 2 0】

表 8 - 食物摂取量アッセイの有意性

群	D2	D8	D9	D10	D15	D16	D17	D22	D23	D24	D29	D30	D31
A	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
B	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	****	ns	ns	ns	ns	ns
C	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns
D	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	****	**	ns	*	ns	ns
E	*	*	*	ns	**	**	ns	****	**	ns	***	ns	ns
F	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	****	***	ns	**	ns	ns

ns:有意ではない; Graphpad prism におけるダネットの分析を用いる二元配置 ANOVA によって、* $p<0.05$ 、** $p<0.005$ 、*** $p<0.001$ 、**** $p<0.0001$ 。

【 0 1 3 7】

本発明を様々な実施形態の観点から記載してきたが、当業者であれば変形及び修正を想到するであろうことは理解されよう。従って、添付の特許請求の範囲は、特許請求される本発明の範囲内にあるそのような均等な変形の全てを包含することが意図されている。更に、本明細書で使用した項目の見出しは、構成を目的としているに過ぎず、記載される主題を限定するものと解釈すべきではない。

【 0 1 3 8】

本出願に引用した全ての参考文献は、あらゆる目的のために参照により明示的に本明細書に組み込まれる。

10

20

30

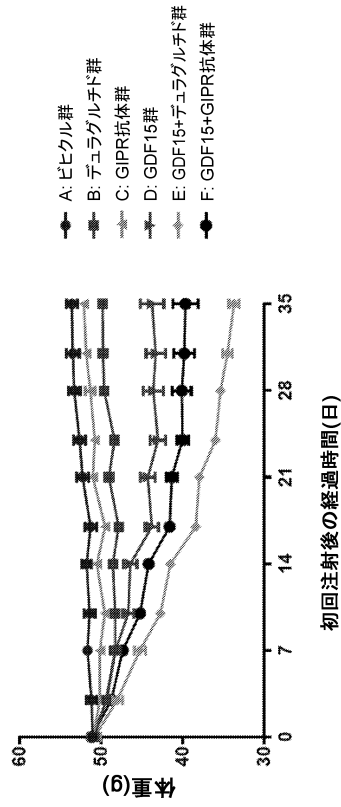
40

50

【 図 面 】

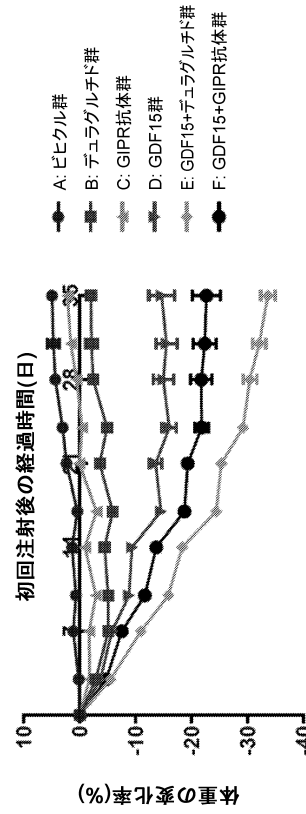
【 図 1 A 】

図 1A



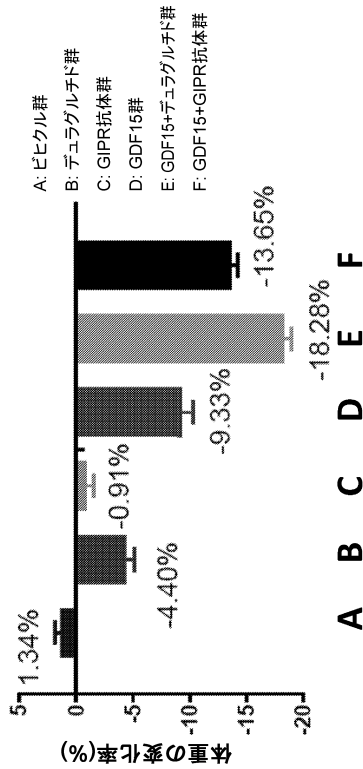
【 図 1 B 】

図 1B



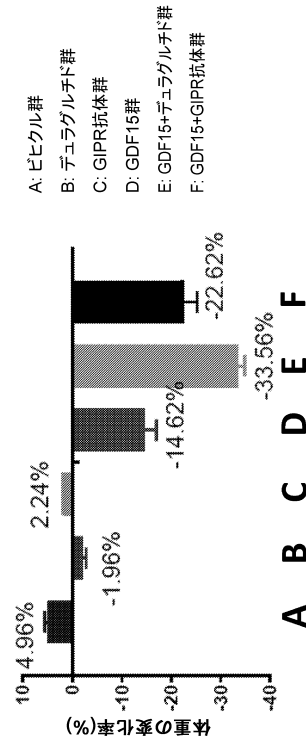
【 図 2 A 】

図 2A



【 図 2 B 】

図 2B



10

20

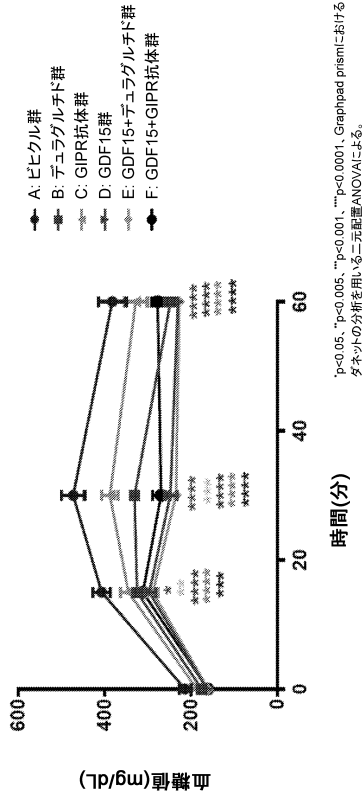
30

40

50

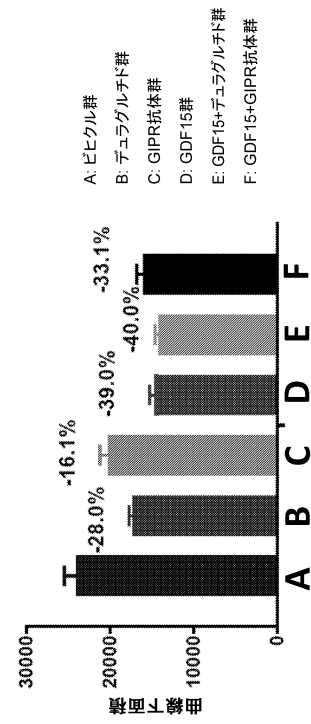
【 図 3 A 】

図 3A



【 図 3 B 】

図 3B

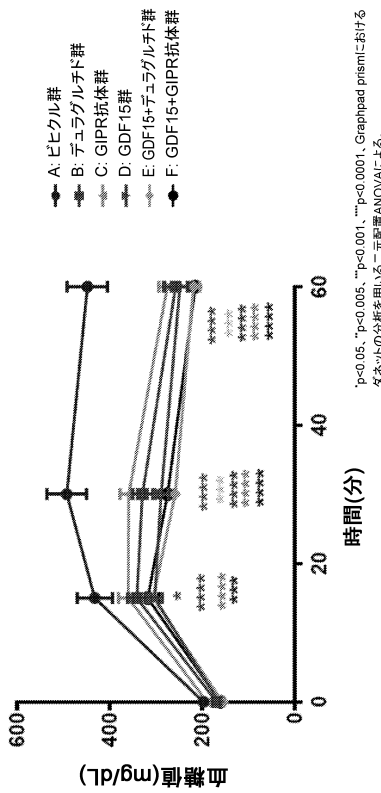


10

20

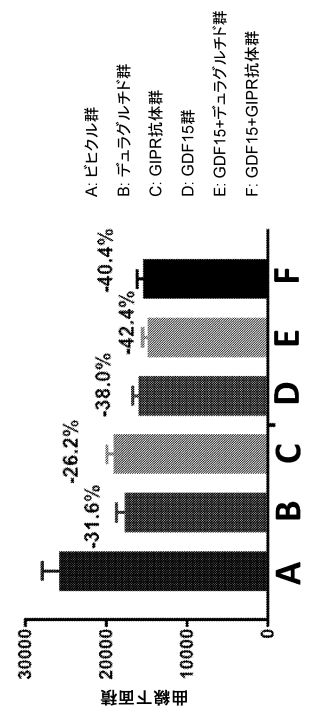
【 図 4 A 】

図 4A



【 図 4 B 】

図 4B

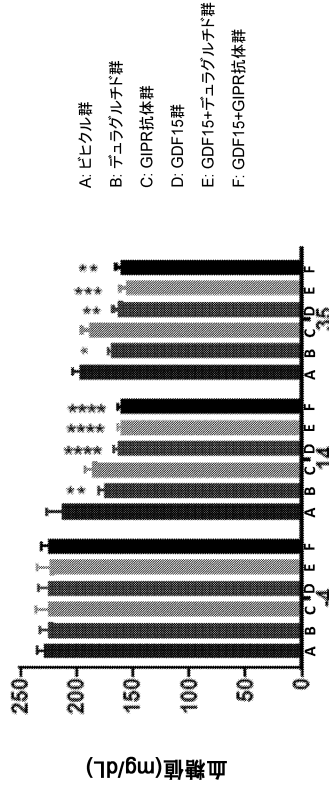


30

40

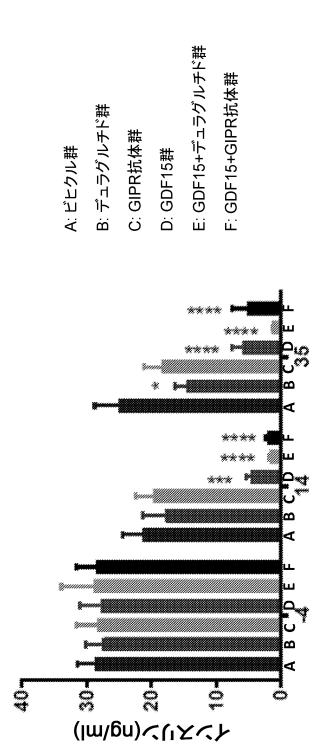
50

【 図 5 A 】



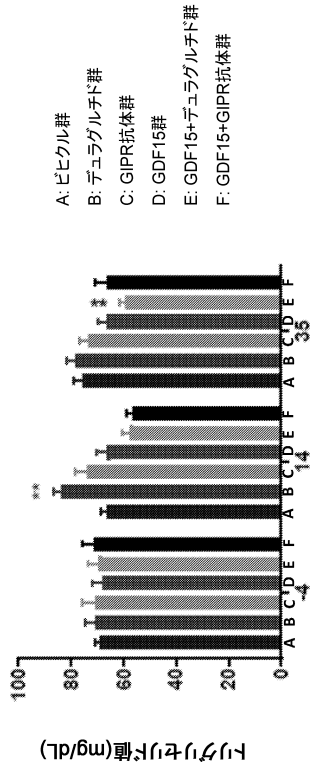
*p<0.05, **p<0.005, ***p<0.001, ****p<0.0001, Graphpad prismにおける
タネットの分析を用いる二元配置ANOVAによる。

【 図 5 B 】



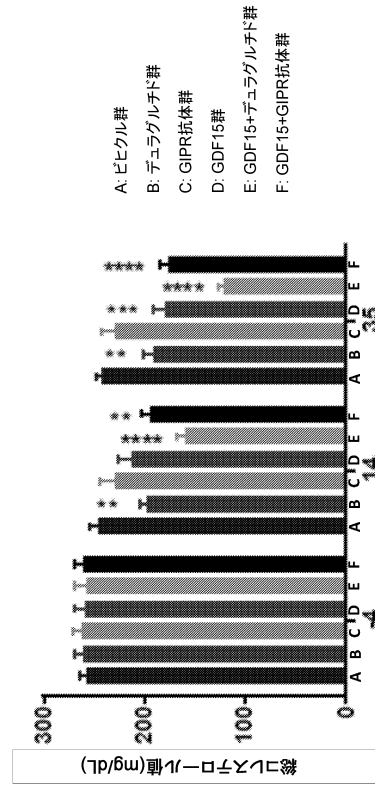
*p<0.05, **p<0.005, ***p<0.001, ****p<0.0001, Graphpad prismにおける
タネットの分析を用いる二元配置ANOVAによる。

【 図 5 C 】



*p<0.05, **p<0.005, ***p<0.001, ****p<0.0001, Graphpad prismにおける
タネットの分析を用いる二元配置ANOVAによる。

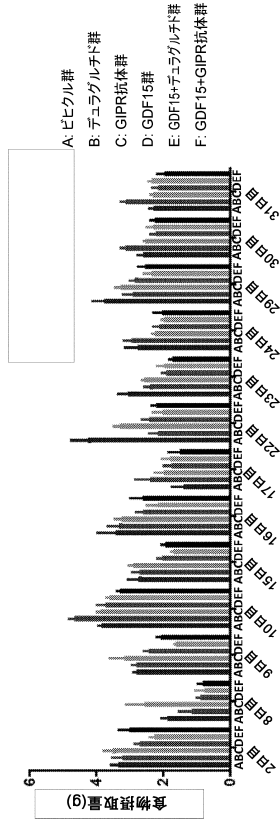
【 図 5 D 】



*p<0.05, **p<0.005, ***p<0.001, ****p<0.0001, Graphpad prismにおける
タネットの分析を用いる二元配置ANOVAによる。

【 図 6 】

図 6



10

20

【 配列表 】

[0007536030000001.app](#)

30

40

50

フロントページの続き

(72)発明者 ベニアント・エリソン, ミュリエル・マリー
アメリカ合衆国、カリフォルニア・91320-1799、サウザンド・オークス、ワン・アマジ
ェン・センター・ドライブ、メール/ストップ・28-5-EI、ロー・デパートメント - パテン
ト・オペレーションズ、アマジエン・インコーポレーテッド気付

審査官 川合 理恵

(56)参考文献 Sci. Transl. Med. , 2018年, Vol. 10, eaat3392
Cell Metabolism , 2019年, Vol. 29, No. 3 , pp. 707-718

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

A 6 1 K

A 6 1 P

C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)