

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】平成31年3月14日(2019.3.14)

【公表番号】特表2018-507854(P2018-507854A)

【公表日】平成30年3月22日(2018.3.22)

【年通号数】公開・登録公報2018-011

【出願番号】特願2017-542389(P2017-542389)

【国際特許分類】

C 0 7 K	14/435	(2006.01)
C 1 2 N	9/16	(2006.01)
A 6 1 K	38/46	(2006.01)
A 6 1 K	47/60	(2017.01)
A 6 1 P	3/06	(2006.01)
A 6 1 P	3/04	(2006.01)
A 6 1 P	3/10	(2006.01)
A 6 1 P	1/16	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 N	15/00	(2006.01)

【F I】

C 0 7 K	14/435	
C 1 2 N	9/16	B
A 6 1 K	38/46	
A 6 1 K	47/60	
A 6 1 P	3/06	
A 6 1 P	3/04	
A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	1/16	
A 6 1 P	35/00	
C 1 2 N	15/00	A
C 1 2 N	15/00	Z N A

【手続補正書】

【提出日】平成31年2月4日(2019.2.4)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0057

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0057】

本発明はまた、患者に有効量の、上記のような本発明のエンドスタチン突然変異体または上記のような本発明の医薬組成物を投与することを含んでなる、腫瘍を治療する方法も提供する。血管新生関連疾患には、腫瘍、肥満、脂肪肝およびインスリン抵抗性が含まれる。好ましくは、血管新生関連疾患は腫瘍である。

本発明は以下の通りである。

[1] エンドスタチンまたはその変異体のATPアーゼ活性を増加させることを含む、エンドスタチンまたはその変異体の抗血管新生活性を増加させる方法。

[2] ATPアーゼ活性を増加させたエンドスタチン突然変異体を得るためのエンドスタチンまたはその変異体のAモチーフおよび/またはBモチーフおよび/またはCモチーフ

に対する遺伝子工学を含む、上記〔1〕に記載の方法。

〔3〕前記遺伝子工学が以下のアプローチ：（1）配列番号1のAモチーフGXXGXKにおいて保存されているアミノ酸残基G89、G92、およびK95に対応するアミノ酸残基を変更せずに維持すること；（2）AモチーフGXXGXK内の可変残基Xを調整することによりAモチーフに対応するペプチドの空間的立体配座の柔軟性を高めること；（3）AモチーフGXXGXKの古典的配列の残基K95の後にSerまたはThrを付加すること；（4）Aモチーフの変化に応じてBモチーフを調整すること；（5）Cモチーフのアミノ酸残基を部分的にまたは完全に変異させること；（6）Bモチーフの変化に応じてCモチーフを調整すること；（7）Aモチーフの変化に応じてCモチーフを調整すること；（8）A、B、およびCモチーフを同時に変化させること、のうちの1以上を含む、上記〔2〕に記載の方法。

〔4〕Bモチーフを変更せずに維持する、上記〔2〕または〔3〕に記載の方法。

〔5〕前記エンドスタチン突然変異体がヒトエンドスタチン突然変異体である、上記〔1〕～〔4〕のいずれかに記載の方法。

〔6〕前記エンドスタチン突然変異体が配列番号3～34および配列番号37～39からなる群から選択される配列を有する、上記〔1〕～〔3〕のいずれかに記載の方法。

〔7〕前記エンドスタチン突然変異体が以下の群：配列番号3、配列番号20、配列番号21および配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号28、配列番号29および配列番号30から選択される配列を有する、上記〔1〕～〔3〕のいずれかに記載の方法。

〔8〕抗血管新生活性を増加させた、エンドスタチンまたはその変異体の突然変異体であって、前記突然変異体は、そのATP結合モチーフ内に突然変異を含んでなり、かつ、対応する野生型エンドスタチンまたはその変異体に比べて増加したATPアーゼ活性を有する、前記突然変異体。

〔9〕前記突然変異体のATPアーゼ活性を、対応する野生型エンドスタチンまたはその変異体に比べて少なくとも約100%増加させた、上記〔8〕に記載の突然変異体。

〔10〕前記突然変異体のATPアーゼ活性を、対応する野生型エンドスタチンまたはその変異体に比べて少なくとも約200%増加させた、上記〔8〕に記載の突然変異体。

〔11〕前記突然変異体のATPアーゼ活性を、対応する野生型エンドスタチンまたはその変異体に比べて少なくとも約300%増加させた、上記〔8〕に記載の突然変異体。

〔12〕前記突然変異体が、配列番号1の89～95番のアミノ酸残基からなるGly-Ser-Glu-Gly-Pro-Leu-Lysモチーフに相当する配列に突然変異を含み、かつ、前記突然変異が1または数個のアミノ酸残基の置換、欠失、および／もしくは付加、またはそれらの組合せから選択され、かつ、前記突然変異が前記突然変異体のATPアーゼ活性を増加させる、上記〔8〕に記載の突然変異体。

〔13〕配列番号1の89～95番のアミノ酸残基からなるGly-Ser-Glu-Gly-Pro-Leu-Lysモチーフに相当する前記突然変異体の配列が部分的にまたは完全に欠失している、上記〔12〕に記載の突然変異体。

〔14〕配列番号1の89、92および95番のアミノ酸残基に相当する前記突然変異体の1以上のアミノ酸残基が部分的にまたは完全に置換されているか、または欠失している、上記〔12〕に記載の突然変異体。

〔15〕（a）配列番号1の89番のGlyに相当するアミノ酸残基が欠失している、または非電荷もしくは芳香族アミノ酸で置換されている；あるいは

（b）配列番号1の92番のGlyに相当するアミノ酸残基が欠失している、または非電荷アミノ酸で置換されている；あるいは

（c）配列番号1の95番のLysに相当するアミノ酸残基が欠失している、または正電荷もしくは非電荷アミノ酸で置換されている；あるいは

（a）～（c）の任意の組合せである、

上記〔12〕に記載の突然変異体。

〔16〕（a）配列番号1の89のGlyに相当するアミノ酸残基が欠失している、また

は A 1 a もしくは P r o で置換されている；あるいは

(b) 配列番号 1 の 9 2 番の G l y に相当するアミノ酸残基が欠失している、または A 1 a で置換されている；あるいは

(c) 配列番号 1 の 9 5 番の L y s に相当するアミノ酸残基が欠失している、または A r g もしくは G l n で置換されている；あるいは

(a) ~ (c) の任意の組合せである、

上記 [1 5] に記載の突然変異体。

[1 7] 前記突然変異体が配列番号 3 ~ 3 4 および配列番号 3 7 ~ 3 9 からなる群から選択される配列を有する、上記 [8] に記載の突然変異体。

[1 8] 前記突然変異体が、以下の群：配列番号 3 、配列番号 2 0 、配列番号 2 1 、配列番号 2 4 、配列番号 2 5 、配列番号 2 6 、配列番号 2 8 、配列番号 2 9 および配列番号 3 0 から選択される配列を有する、上記 [8] に記載の突然変異体。

[1 9] ヒトエンドスタチンまたはその変異体の突然変異体である、上記 [8] ~ [1 8] のいずれかに記載の突然変異体。

[2 0] 上記 [8] ~ [1 8] のいずれかに記載の突然変異体と薬学上許容可能な担体とを含んでなる、医薬組成物。

[2 1] 前記突然変異体が P E G 分子と共有結合している、上記 [2 0] に記載の医薬組成物。

[2 2] 前記 P E G 分子が 5 ~ 4 0 k D の分子量である、上記 [2 1] に記載の医薬組成物。

[2 3] 前記 P E G 分子が前記突然変異体の N 末端において アミノ基と共有結合している、上記 [2 1] に記載の医薬組成物。

[2 4] 前記 P E G 分子がモノメトキシポリエチレングリコールである、上記 [2 1] に記載の医薬組成物。

[2 5] 前記モノメトキシポリエチレングリコールがモノメトキシポリエチレングリコールプロピオナルデヒド (m P E G - A L D) である、上記 [2 1] に記載の医薬組成物。

[2 6] 患者に有効量の上記 [8] ~ [1 8] のいずれかに記載の突然変異体または上記 [2 0] ~ [2 5] のいずれかに記載の医薬組成物を投与することを含む、血管新生関連疾患を治療する方法。

[2 7] 前記血管新生関連疾患が腫瘍、肥満、脂肪肝、またはインスリン抵抗性である、上記 [2 7] に記載の方法。

[2 8] 血管新生関連疾患を治療するための医薬の製造における、上記 [8] ~ [1 8] のいずれかに記載の突然変異体の使用。

[2 9] 前記血管新生関連疾患が腫瘍、肥満、脂肪肝、またはインスリン抵抗性である、上記 [2 8] に記載の使用。

【手続補正 2 】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1 】

エンドスタチンまたはその変異体の A T P アーゼ活性を増加させることを含む、エンドスタチンまたはその変異体の抗血管新生活性を増加させる方法。

【請求項 2 】

A T P アーゼ活性を増加させたエンドスタチン突然変異体を得るためのエンドスタチンまたはその変異体の A モチーフおよび / または B モチーフおよび / または C モチーフに対する遺伝子工学を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3 】

前記遺伝子工学が以下のアプローチ：(1)配列番号1のAモチーフG X X G X X Kにおいて保存されているアミノ酸残基G 8 9、G 9 2、およびK 9 5に対応するアミノ酸残基を変更せずに維持すること；(2)AモチーフG X X G X X K内の可変残基Xを調整することによりAモチーフに対応するペプチドの空間的立体配座の柔軟性を高めること；(3)AモチーフG X X G X X Kの古典的配列の残基K 9 5の後にS e rまたはT h rを付加すること；(4)Aモチーフの変化に応じてBモチーフを調整すること；(5)Cモチーフのアミノ酸残基を部分的にまたは完全に変異させること；(6)Bモチーフの変化に応じてCモチーフを調整すること；(7)Aモチーフの変化に応じてCモチーフを調整すること；(8)A、B、およびCモチーフを同時に変化させること、のうちの1以上を含む、請求項2に記載の方法。

【請求項4】

Bモチーフを変更せずに維持する、請求項2または3に記載の方法。

【請求項5】

前記エンドスタチン突然変異体が配列番号3～34および配列番号37～39からなる群から選択される配列を有する、請求項1～4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項6】

抗血管新生活性を増加させた、エンドスタチンまたはその変異体の突然変異体であって、前記突然変異体は、そのATP結合モチーフ内に突然変異を含んでなり、かつ、対応する野生型エンドスタチンまたはその変異体に比べて増加したATPアーゼ活性を有する、前記突然変異体。

【請求項7】

前記突然変異体が、配列番号1の89～95番のアミノ酸残基からなるG 1 y - S e r - G 1 u - G 1 y - P r o - L e u - L y s モチーフに相当する配列に突然変異を含み、かつ、前記突然変異が1または数個のアミノ酸残基の置換、欠失、および／もしくは付加、またはそれらの組合せから選択され、かつ、前記突然変異が前記突然変異体のATPアーゼ活性を増加させる、請求項6に記載の突然変異体。

【請求項8】

配列番号1の89～95番のアミノ酸残基からなるG 1 y - S e r - G 1 u - G 1 y - P r o - L e u - L y s モチーフに相当する前記突然変異体の配列が部分的にまたは完全に欠失している、請求項7に記載の突然変異体。

【請求項9】

配列番号1の89、92および95番のアミノ酸残基に相当する前記突然変異体の1以上のアミノ酸残基が部分的にまたは完全に置換されているか、または欠失している、請求項7に記載の突然変異体。

【請求項10】

(a)配列番号1の89番のG 1 y に相当するアミノ酸残基が欠失している、または非電荷もしくは芳香族アミノ酸で置換されている；あるいは

(b)配列番号1の92番のG 1 y に相当するアミノ酸残基が欠失している、または非電荷アミノ酸で置換されている；あるいは

(c)配列番号1の95番のL y s に相当するアミノ酸残基が欠失している、または正電荷もしくは非電荷アミノ酸で置換されている；あるいは

(a)～(c)の任意の組合せである、

請求項7に記載の突然変異体。

【請求項11】

前記突然変異体が、以下の群：配列番号3、配列番号20、配列番号21、配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号28、配列番号29および配列番号30から選択される配列を有する、請求項6に記載の突然変異体。

【請求項12】

請求項6～11のいずれか一項に記載の突然変異体と薬学上許容可能な担体とを含んでなる、医薬組成物。

【請求項 1 3】

前記突然変異体が P E G 分子と共有結合している、請求項 1 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 4】

血管新生関連疾患の治療に用いるための、請求項 1 2 または 1 3 の医薬組成物。

【請求項 1 5】

前記血管新生関連疾患が腫瘍、肥満、脂肪肝、またはインスリン抵抗性である、請求項 1 4 に記載の医薬組成物。