

【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】0 0 5 7

【補正方法】変更

【補正の内容】

【 0 0 5 7 】

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 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。

[ 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、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 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、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 ~ 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 [ 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 2 0、配列番号 2 1 および配列番号 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 [ 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 A T P 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 A T P 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 A T P 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 1 0 0 % 増加させた、上記 [ 8 ] に記載の突然変異体。

[ 1 0 ] 前記突然変異体の A T P 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 2 0 0 % 増加させた、上記 [ 8 ] に記載の突然変異体。

[ 1 1 ] 前記突然変異体の A T P 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 3 0 0 % 増加させた、上記 [ 8 ] に記載の突然変異体。

[ 1 2 ] 前記突然変異体が、配列番号 1 の 8 9 ~ 9 5 番のアミノ酸残基からなる G l y - S e r - G l u - G l 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 A T P アーゼ活性を増加させる、上記 [ 8 ] に記載の突然変異体。

[ 1 3 ] 配列番号 1 の 8 9 ~ 9 5 番のアミノ酸残基からなる G l y - S e r - G l u - G l 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、上記 [ 1 2 ] に記載の突然変異体。

[ 1 4 ] 配列番号 1 の 8 9、9 2 および 9 5 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 [ 1 2 ] に記載の突然変異体。

[ 1 5 ] ( a ) 配列番号 1 の 8 9 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 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 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 [ 1 2 ] に記載の突然変異体。

[ 1 6 ] ( a ) 配列番号 1 の 8 9 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 l 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 l 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ンアルデヒド ( 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ＧＸＸＧＸＸＫ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ＧＸＸＧＸＸＫ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ＧＸＸＧＸＸＫ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、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、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、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、

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。