

【公報種別】特許公報の訂正

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】令和5年3月28日(2023.3.28)

【特許番号】特許第7237590号(P7237590)

【登録日】令和5年3月3日(2023.3.3)

【特許公報発行日】令和5年3月13日(2023.3.13)

【年通号数】登録公報(特許)2023-047

【出願番号】特願2018-546872(P2018-546872)

【訂正要旨】特許権者の住所の誤載により、下記のとおり全文を訂正する。

10

【国際特許分類】

A 6 1 K 38/26(2006.01)

A 6 1 P 1/16(2006.01)

A 6 1 P 3/04(2006.01)

A 6 1 P 29/00(2006.01)

A 6 1 P 43/00(2006.01)

C 0 7 K 14/605(2006.01)

【F I】

A 6 1 K 38/26

A 6 1 P 1/16

A 6 1 P 3/04

A 6 1 P 29/00

A 6 1 P 43/00 1 1 1

C 0 7 K 14/605 Z N A

20

【記】別紙のとおり

30

40

50

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7237590号

(P7237590)

(45)発行日 令和5年3月13日(2023.3.13)

(24)登録日 令和5年3月3日(2023.3.3)

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K 38/26 (2006.01)

A 6 1 K 38/26

A 6 1 P 1/16 (2006.01)

A 6 1 P 1/16

A 6 1 P 3/04 (2006.01)

A 6 1 P 3/04

A 6 1 P 29/00 (2006.01)

A 6 1 P 29/00

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 1 1 1

請求項の数 8 (全85頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2018-546872(P2018-546872)

(86)(22)出願日 平成29年3月10日(2017.3.10)

(65)公表番号 特表2019-510014(P2019-510014
A)

(43)公表日 平成31年4月11日(2019.4.11)

(86)国際出願番号 PCT/EP2017/055679

(87)国際公開番号 WO2017/153575

(87)国際公開日 平成29年9月14日(2017.9.14)

審査請求日 令和2年3月5日(2020.3.5)

(31)優先権主張番号 62/306,121

(32)優先日 平成28年3月10日(2016.3.10)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

前置審査

(73)特許権者 508098350

メドイミュン・リミテッド

MedImmune Limited

英国シービー２・０エイエイ、ケンブリ

ッジ、フランス・クリック・アベニュー

ー１、ケンブリッジ・バイオメディカル
・キャンパス

1 Francis Crick Ave

nue, Cambridge Biom

edical Campus, Camb

ridge CB2 0AA, UNIT

ED KINGDOM

(74)代理人 100106518

弁理士 松谷 道子

(74)代理人 100138911

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 肥満の治療のためのグルカゴン及びG L P－１コアゴニスト

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

配列番号 19 のアミノ酸配列を含むペプチドを含む、肝臓脂肪を少なくとも 20 % 減らすことにより非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) を治療するための医薬組成物であって、治療を必要とするヒト対象に、投与 1 回当たり前記ペプチド 100 ~ 600 μ g の用量で投与される、医薬組成物。

【請求項 2】

毎日投与される、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 3】

1 日 1 回投与される、請求項 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 4】

少なくとも 1 週間、少なくとも 2 週間、少なくとも 3 週間、又は少なくとも 4 週間投与される、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 5】

注射により投与される、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

前記投与が皮下である、請求項 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

前記疾患の進行を停止するための、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

前記疾患の進行を逆転するための、請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項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

本出願は、2016年3月10日に提出された米国仮特許出願第62／306,121号明細書の利益を主張するものである。尚、この文献の内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

電子データにて提出した配列表の参照

本出願と一緒に提出したASCIIテキストファイル（名称：Sequence list ting_ST25.txt；サイズ：14,333バイト；及び作成日：2017年3月6日）で電子データにて提出したリストの内容は、その全体を参照により本明細書に組み込むものとする。

【背景技術】

【0003】

肥満は、世界規模で主要な、増大しつづける健康問題である。それは、心血管疾患、腎臓病、高血圧、発作、不妊、呼吸不全、及び2型糖尿病などの生命を脅かす多くの疾患に関連している。

【0004】

グルコン及びグルカゴン様ペプチド-1（GLP-1）は、158アミノ酸前駆体ポリペプチドであるプレプログルカゴンに由来し、これは、様々な組織でプロセシングされて、グルカゴン、グルカゴン様ペプチド-1（GLP-1）、グルカゴン様ペプチド-2（GLP-2）及びオキシントモジュリン（OXM）など、いくつかの異なるプログルカゴン由来のペプチドを形成するが、これらは、グルコースホメオスタシス、インスリン分泌、胃内容排出、及び腸成長、並びに食物摂取などの多様な生理学的機能に関与する。グルカゴンは、プログルカゴンのアミノ酸33～61（プレプログルカゴンの53～81）に対応する29アミノ酸ペプチドであるのに対し、GLP-1は、プログルカゴンのアミノ酸72～108（プレプログルカゴンの92～128）に対応する37アミノ酸ペプチドとして生成される。GLP-1（7～36）アミド又はGLP-1（7～37）酸は、GLP-1の生物学的に活性の形態であり、GLP-1受容体で実質的に同等の活性を示す。

【0005】

膵臓によりグルカゴンが生成され、グルカゴン受容体（「glucR」）と相互作用する。グルカゴンは、肝臓内で作用して、糖新生とグリコーゲン分解によって血糖を高める。血糖が下がり始めると、グルカゴンは、グリコーゲンを分解し、グルコースを放出するように肝臓にシグナルを送り、血糖値を通常のレベルへと上昇させる。

【0006】

GLP-1は、グルカゴンと比較して異なる生物学的活性を有する。これは、消化管内L細胞（gut L cells）から分泌されて、GLP-1受容体に結合する。その活性には、インスリン合成及び分泌の刺激、グルカゴン分泌の阻害、及び食物摂取の阻害が含まれる。

【0007】

グルカゴン及びGLP-1のいずれも、それぞれの受容体でアゴニストとして作用し、減量に有効であることがわかっている。特定のGLP-1類似体は、販売されているか、又は肥満の治療のために開発中であり、例えば、Liraglutide（Novo NordiskからのVICTOZA（登録商標）及びExenatide（Eli Lilly／AmylinからのByetta（登録商標））などがある。グルカゴン／GLP-1アゴニストペプチドは、（特許文献1）にも開示されている。

【先行技術文献】

【特許文献】

10

20

30

40

50

【0008】

【文献】国際公開第2014/091316号パンフレット

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

一部の療法は、血糖のコントロールのために利用可能であるが、これまでのところ実質的な減量を達成するものは皆無であり、これは、患者にとって大きなアンメットニーズのままである。50%の患者が、血糖コントロールのための経口単剤療法（通常、メトホルミンを用いる）から、10年以内にインスリン療法の開始へと進行し、多くの場合、インスリン療法を開始する前に複数の経口併用療法を採用する。インスリンの使用は、体重増加を悪化させ、インスリンの開始から1年目で6kgもの増加となり得る。この体重増加は、インスリン抵抗性の増大を招く恐れがあり、これは、高血圧、脂質異常症、及び主要有害心血管事象のリスク増大に関連する。インスリン抵抗性の低減に関して、有意な減量（>5%）が、インスリン抵抗性を低減するための最適な介入であるが、これは、現時点で、集中的な食餌及びライフスタイル介入並びに／又は肥満手術によってしか確実に達成することができない。糖尿病及び肥満症を治療する上で治療有効的であるが、有害な作用は回避する投薬計画を用いて、GLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドをヒトに投与する方法が依然として求められている。

10

【課題を解決するための手段】

【0010】

GLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドを投与するステップを含む、患者の肥満及び糖尿病並びに関連する病状を予防及び治療する方法が本明細書に記載される。

20

【0011】

一例では、体重を減らす方法は、 $HX_2QGTFTSDX_{10}SX_{12}X_{13}LX_{15}X_{16}X_{17}X_{18}AX_{20}X_{21}FX_{23}X_{24}WLX_{27}X_{28}GX_{30}$

（ここで、 X_2 は、G又はSであり、 X_{10} は、Y又はKであり、 X_{12} は、K、E、R、又はSであり、 X_{13} は、K又はYであり、 X_{15} は、D又はEであり、 X_{16} は、S又はGであり、 X_{17} は、E、R、Q、又はKであり、 X_{18} は、R、S、又はAであり、 X_{20} は、R、K、又はQであり、 X_{21} は、D又はEであり、 X_{23} は、V又はIであり、 X_{24} は、A又はQであり、 X_{27} は、E又はVであり、 X_{28} は、A又はKであり、 X_{30} は、G又はRである）（配列番号4）のアミノ酸配列を含むペプチド50～600 μ g又は100～600 μ gを、治療を必要とするヒト対象に投与するステップを含む。

30

【0012】

一例では、体脂肪を減らす方法は、配列番号4のアミノ酸配列を含むペプチド50～600 μ g又は100～600 μ gを、治療を必要とするヒト対象に投与するステップを含む。

【0013】

一例では、肥満を治療する方法は、配列番号4のアミノ酸配列を含むペプチド50～600 μ g又は100～600 μ gを、治療を必要とするヒト対象に投与するステップを含む。

40

【0014】

一例では、過剰体重に起因する、又は過剰体重を特徴とする疾患若しくは病状を治療又は予防する方法は、配列番号4のアミノ酸配列を含むペプチド50～600 μ g又は100～600 μ gを、治療を必要とするヒト対象に投与するステップを含む。

【0015】

一例では、体重を管理する方法は、配列番号4のアミノ酸配列を含むペプチド50～600 μ g又は100～600 μ gを、治療を必要とするヒト対象に投与するステップを含む。

【0016】

一例では、非アルコール性脂肪性肝炎（NAFH）を治療する方法は、配列番号4のア

50

ミノ酸配列を含むペプチド 50～600 μ g 又は 100～600 μ g を、治療を必要とするヒト対象に投与するステップを含む。

【0017】

一例では、脂質酸化を増大する方法は、配列番号4のアミノ酸配列を含むペプチド 50～600 μ g 又は 100～600 μ g を、治療を必要とするヒト対象に投与するステップを含む。

【0018】

一例では、食物摂取を抑制する方法は、配列番号4のアミノ酸配列を含むペプチド 50～600 μ g 又は 100～600 μ g を、治療を必要とするヒト対象に投与するステップを含む。

【0019】

一例では、血漿グルコースを低下させる方法は、配列番号4のアミノ酸配列を含むペプチド 50～600 μ g 又は 100～600 μ g を、治療を必要とするヒト対象に投与するステップを含む。

【0020】

一例では、血糖コントロールを改善する方法は、配列番号4のアミノ酸配列を含むペプチド 50～600 μ g 又は 100～600 μ g を、治療を必要とするヒト対象に投与するステップを含む。

【0021】

一例では、血糖コントロールを達成する方法は、配列番号4のアミノ酸配列を含むペプチドを 50～600 μ g 又は 100～600 μ g を、治療を必要とするヒト対象に投与するステップを含む。

【0022】

一例では、体重を減らし、且つ血糖をコントロールする方法は、配列番号4のアミノ酸配列を含むペプチド 50～600 μ g 又は 100～600 μ g を、治療を必要とするヒト対象に投与するステップを含む。

【0023】

一例では、対象は、糖尿病を有する。一例では、糖尿病は、2型糖尿病である。

【0024】

一例では、2型糖尿病を治療する方法は、配列番号4のアミノ酸配列を含むペプチドをヒトに投与するステップを含む。

【0025】

一例では、2型糖尿病を有するヒト対象の血糖コントロールを改善する方法は、配列番号4のアミノ酸配列を含むペプチド 50～600 μ g 又は 100～600 μ g を、対象に投与するステップを含む。

【0026】

一例では、投与によって体重が減少する。一例では、投与によって肥満が治療される。一例では、投与によって体脂肪が減少する。

【0027】

一例では、 X_2 は、Gであり、 X_{10} は、Kであり、 X_{12} は、E、R、又はSであり、 X_{13} は、Kであり、 X_{17} は、E又はKであり、 X_{18} は、Sであり、 X_{20} は、Rであり、 X_{27} は、Eであり、あるいは X_{28} は、Aである。

【0028】

一例では、 X_2 は、Gであり、 X_{10} は、Kであり、 X_{12} は、E、R、又はSであり、 X_{13} は、Kであり、 X_{17} は、E又はKであり、 X_{18} は、Sであり、 X_{20} は、Rであり、 X_{27} は、Eであり、且つ X_{28} は、Aである。

【0029】

一例では、ペプチドは、配列番号19のアミノ酸配列を含むか、それから本質的に構成されるか、又はそれから構成される。

【0030】

10

20

30

40

50

一例では、投与は、3～10日間にわたり初期用量を、その後、より高い第2用量を投与するステップを含む。

【0031】

一例では、初期用量は、3～7日間投与する。一例では、初期用量は、100 µg のペプチドである。一例では、第2用量を少なくとも4日間投与する。一例では、初期用量を連続4日間投与し、第2用量を少なくとも連続4日間投与する。一例では、第2用量は、150～200 µg のペプチドである。一例では、第2用量は、150 µg のペプチド又は200 µg のペプチドである。

【0032】

一例では、投与は、さらに、第2用量の後に第3用量を投与するステップを含み、第3用量は、第2用量よりも高い。一例では、初期用量を3～10日間投与し、第2用量を3～10日間投与する。一例では、初期用量を3～7日間投与し、第2用量を3～7日間投与する。一例では、初期用量を連続4日間投与し、第2用量を少なくとも連続4日間投与し、第3用量を少なくとも連続4日間投与する。一例では、初期用量を連続4日間投与し、第2用量を連続7日間投与し、第3用量を少なくとも連続4日間投与する。一例では、第3用量は、200～400 µg のペプチドである。一例では、第3用量は、200 µg のペプチド、300 µg のペプチド、又は400 µg のペプチドである。

【0033】

一例では、100 µg の初期用量を4日間投与し、150 µg の第2用量を4日間投与し、200 µg の第3用量を毎日投与する。一例では、100 µg の初期用量を5日間投与し、150 µg の第2用量を5日間投与し、200 µg の第3用量を5日間投与し、300 µg の第4用量を毎日投与する。一例では、100 µg の初期用量を5日間投与し、200 µg の第2用量を5日間投与し、300 µg の第3用量を毎日投与する。

【0034】

一例では、50 µg のペプチドを投与する。一例では、100 µg のペプチドを投与する。一例では、150 µg のペプチドを投与する。一例では、200 µg のペプチドを投与する。一例では、250 µg のペプチドを投与する。一例では、300 µg のペプチドを投与する。一例では、400 µg のペプチドを投与する。

【0035】

一例では、ペプチドは、毎日投与する。一例では、ペプチドは、1日1回投与する。

【0036】

一例では、ペプチドは、少なくとも1週間、少なくとも2週間、少なくとも3週間、又は少なくとも4週間投与する。

【0037】

一例では、ペプチドは、注射により投与する。一例では、投与は皮下である。

【0038】

一例では、投与によって、混合食試験後に濃度－時間曲線下のグルコース面積の少なくとも20%減少がもたらされる。

【0039】

一例では、グルコースが減少する。一例では、グルコースは、空腹時血漿グルコースである。一例では、グルコースは、混合食試験からの食後血糖である。

【0040】

一例では、投与によって、少なくとも1.0 kg、少なくとも1.3 kg、又は約1.3～約2.0 kg の減量がもたらされる。一例では、対象の体重は、少なくとも3.5 kg 又は少なくとも5 kg 減少する。一例では、対象の体重は、少なくとも2%、少なくとも4%、少なくとも5%、又は少なくとも10%減少する。一例では、対象の体重は、約2%～約20%、約2%～約25%、又は約2%～約30%減少する。

【0041】

一例では、脂肪は、肝臓脂肪である。一例では、対象の肝臓脂肪は、少なくとも20%減少する。一例では、対象の肝臓脂肪は、約20%～約40%減少する。一例では、投与

10

20

30

40

50

によって、肝臓脂肪の約三分の一の減少がもたらされる。一例では、対象の肝体積が減少する。

【0042】

一例では、投与によって、ヘモグロビンA1c（HbA1c）レベルが低下する。一例では、対象のHbA1cレベルは、少なくとも0.6%低下する。一例では、対象のHbA1cレベルは、少なくとも0.9%低下する。一例では、対象のHbA1cレベルは、約0.5%～約1.5%、約0.5%～約2%、又は約0.5%～約3%低下する。一例では、対象のHbA1cレベルは、6.3%以下まで低下する。

【0043】

一例では、投与によって、フルクトサミンレベルが減少する。

10

【0044】

一例では、対象の食欲が抑制される。

【0045】

一例では、対象のエネルギー消費が増加する。

【0046】

一例では、疾患の進行が停止する。一例では、疾患の進行が逆転する。

【0047】

一例では、ペプチドは、固相合成法による合成によって製造される。一例では、固相合成法は、フルオレニルメチルオキシカルボニルクロリド化学を使用する。

【0048】

一例では、ペプチドのX₃₀のカルボキシル基は、非修飾G又はRである。一例では、ペプチドのX₃₀のカルボニル基は、アミド化される。

20

【0049】

一例では、ペプチドは、リシン残基のN（ε）基上にパルミトイル部分を含む。一例では、パルミトイル基は、リンカーを介してリシンに連結される。一例では、リンカーは、γグルタミン酸塩である。一例では、ペプチドは、リシン残基のN（ε）基上にステアロイル又はステアリン酸塩部分を含む。一例では、リシン残基は、X₁₀である。

【0050】

一例では、ペプチドは、cAMPアッセイ1におけるEC₅₀が、10,000pM未満、5000pM未満、2500pM未満、1000pM未満、900pM未満、800pM未満、700pM未満、600pM未満、500pM未満、400pM未満、300pM未満、200pM未満、100pM未満、50pM未満、25pM未満、20pM未満、15pM未満、10pM未満、5pM未満、4pM未満、3pM未満、又は2pM未満のヒトグルカゴン受容体に結合する。

30

【0051】

一例では、ペプチドは、cAMPアッセイ1におけるEC₅₀が、10,000pM未満、5000pM未満、2500pM未満、1000pM未満、900pM未満、800pM未満、700pM未満、600pM未満、500pM未満、400pM未満、300pM未満、200pM未満、100pM未満、50pM未満、25pM未満、20pM未満、15pM未満、10pM未満、5pM未満、4pM未満、3pM未満、又は2pM未満のヒトGLP-1受容体に結合する。

40

【0052】

一例では、ペプチドは、GLP-1活性のアゴニスト、グルカゴン活性のアゴニスト、又はGLP-1とグルカゴン活性の両方のアゴニストである。

【0053】

一例では、ペプチドは、グルカゴン受容体とGLP-1受容体の両方に結合し、ペプチドは、グルカゴン受容体より、GLP-1受容体で、天然リガンドと比較して少なくとも約2倍、5倍、又は10倍大きい活性を呈示する。

【0054】

一例では、ペプチドは、異種部分をさらに含む。一例では、この異種部分は、タンパク

50

質、ペプチド、タンパク質ドメイン、リンカー、有機ポリマー、無機ポリマー、ポリエチレングリコール（PEG）、ビオチン、アルブミン、ヒト血清アルブミン（HSA）、HSA Fc Rn 結合部分、抗体、抗体のドメイン、抗体断片、単鎖抗体、ドメイン抗体、アルブミン結合ドメイン、酵素、リガンド、受容体、結合ペプチド、非 F n I I I スカフォールド、エピトープタグ、組換えポリペプチドポリマー、サイトカイン、脂質、又は列挙した部分の2つ以上の組み合わせである。

【0055】

一例では、対象は、 $27 \sim 40 \text{ kg/m}^2$ のボディマスインデックス（BMI）を有する。一例では、対象は、 $30 \sim 39.9 \text{ kg/m}^2$ の BMI を有する。一例では、対象は、少なくとも 40 kg/m^2 の BMI を有する。

10

【0056】

一例では、対象は、過剰体重である。一例では、対象は、肥満である。一例では、対象は、（i）過剰体重であり、且つ（ii）高血圧、2型糖尿病、脂質異常症、心血管疾患の病歴又はこれらの組み合わせを有する。一例では、対象は、（i）過剰体重であり、且つ（ii）高血糖、高血圧、脂質異常症、閉塞性睡眠時無呼吸、又はこれらの組み合わせを有する。

【0057】

一例では、対象は、インスリン療法を受けている。一例では、投与されるインスリンの量が低減される。一例では、インスリン療法が停止される。

【0058】

20

一例では、対象は、インスリン、メトホルミン、スルホニル尿素、ナトリウム-グルコース共輸送体-2（SGLT-2）阻害剤、ジペプチジルペプチダーゼ-4（DPP-IV）阻害剤、グルタゾン、 α グルコシダーゼ阻害剤、又はこれらの組み合わせを受けている。

【0059】

一例では、ペプチドの半減期は、約10～約12時間である。

【0060】

一例では、投与は、食餌及び運動を補助するものである。

【0061】

一例では、ペプチドは配列番号19を含み、ペプチドは、 $100 \mu\text{g}$ の初期用量で4日間投与され、 $150 \mu\text{g}$ の第2用量で4日間投与された後、 $200 \mu\text{g}$ の用量で毎日投与される。

30

【0062】

一例では、ペプチドは配列番号19を含み、ペプチドは、 $100 \mu\text{g}$ の初期用量で5日間投与され、 $200 \mu\text{g}$ の第2用量で5日間投与された後、 $300 \mu\text{g}$ の用量で毎日投与される。

【0063】

一例では、ペプチドは配列番号19を含み、ペプチドは、 $100 \mu\text{g}$ の初期用量で5日間投与され、 $150 \mu\text{g}$ の第2用量で5日間投与され、 $200 \mu\text{g}$ の第2用量で5日間投与された後、 $300 \mu\text{g}$ の用量で毎日投与される。

40

【0064】

一例では、対象は、2型糖尿病を有する。一例では、対象は、肥満である。一例では、対象は、（i）過剰体重であり、且つ（ii）高血圧、2型糖尿病、脂質異常症、心血管疾患の病歴又はこれらの組み合わせを有する。一例では、対象は、（i）過剰体重であり、且つ（ii）高血糖、高血圧、脂質異常症、閉塞性睡眠時無呼吸、又はこれらの組み合わせを有する。

本発明の実施形態をさらに記載する：

[項1]

体重を減らす方法であって、

H X₂ Q G T F T S D X₁₀ S X₁₂ X₁₃ L X₁₅ X₁₆ X₁₇ X₁₈ A X₂₀ X₂₁ F X₂

50

${}_3X_{24}WLX_{27}X_{28}GX_{30}$

(ここで、 X_2 は、G又はSであり、 X_{10} は、Y又はKであり、 X_{12} は、K、E、R、又はSであり、 X_{13} は、K又はYであり、 X_{15} は、D又はEであり、 X_{16} は、S又はGであり、 X_{17} は、E、R、Q、又はKであり、 X_{18} は、R、S、又はAであり、 X_{20} は、R、K、又はQであり、 X_{21} は、D又はEであり、 X_{23} は、V又はIであり、 X_{24} は、A又はQであり、 X_{27} は、E又はVであり、 X_{28} は、A又はKであり、 X_{30} は、G又はRである)(配列番号4)

の**アミノ酸配列**を含むペプチド100～600 μ gを、治療を必要とする**ヒト対象**に投与するステップを含む方法。

[項2]

体脂肪を減らす方法であって、配列番号4の前記**アミノ酸配列**を含むペプチド100～600 μ gを、治療を必要とする**ヒト対象**に投与するステップを含む方法。

[項3]

肥満を治療する方法であって、配列番号4の前記**アミノ酸配列**を含むペプチド100～600 μ gを、治療を必要とする**ヒト対象**に投与するステップを含む方法。

[項4]

過剰体重に起因する、若しくは過剰体重を特徴とする疾患若しくは病状を治療又は予防する方法であって、配列番号4の前記**アミノ酸配列**を含むペプチド100～600 μ gを、治療を必要とする**ヒト対象**に投与するステップを含む方法。

[項5]

非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)を治療する方法であって、配列番号4の前記**アミノ酸配列**を含むペプチド100～600 μ gを、治療を必要とする**ヒト対象**に投与するステップを含む方法。

[項6]

脂質酸化を増大する方法であって、配列番号4の前記**アミノ酸配列**を含むペプチド100～600 μ gを、治療を必要とする**ヒト対象**に投与するステップを含む方法。

[項7]

食物摂取を抑制する方法であって、配列番号4の前記**アミノ酸配列**を含むペプチド100～600 μ gを、治療を必要とする**ヒト対象**に投与するステップを含む方法。

[項8]

血漿グルコースを低下させる方法であって、配列番号4の前記**アミノ酸配列**を含むペプチド100～600 μ gを、治療を必要とする**ヒト対象**に投与するステップを含む方法。

[項9]

前記**対象**が、糖尿病を有する、上記項1～8のいずれか1項に記載の方法。

[項10]

前記糖尿病が、2型糖尿病である、上記項9に記載の方法。

[項11]

2型糖尿病を治療する方法であって、配列番号4の前記**アミノ酸配列**を含むペプチドをヒトに投与するステップを含む方法。

[項12]

2型糖尿病を有する**ヒト対象**の血糖コントロールを改善する方法であって、配列番号4の前記**アミノ酸配列**を含むペプチド100～600 μ gを、前記**対象**に投与するステップを含む方法。

[項13]

前記投与によって体重が減少する、上記項11又は12に記載の方法。

[項14]

前記投与によって肥満が治療される、上記項11～13のいずれか1項に記載の方法。

[項15]

前記投与によって体脂肪が減少する、上記項9～12のいずれか1項に記載の方法。

[項16]

10

20

30

40

50

X₂は、Gであり、X₁₀は、Kであり、X₁₂は、E、R、又はSであり、X₁₃は、Kであり、X₁₇は、E又はKであり、X₁₈は、Sであり、X₂₀は、Rであり、X₂₇は、Eであり、あるいはX₂₈は、Aである、上記項1～15のいずれか1項に記載の方法。

[項17]

前記ペプチドが、配列番号19を含むか、それから本質的に構成されるか、又はそれから構成される、上記項1～16のいずれか1項に記載の方法。

[項18]

前記投与が、3～10日間にわたり初期用量を、その後、より高い第2用量を投与するステップを含む、上記項1～17のいずれか1項に記載の方法。

10

[項19]

前記投与が、3～7日間にわたり初期用量を投与するステップを含む、上記項18に記載の方法。

[項20]

前記初期用量が、100 µgのペプチドである、上記項18又は19に記載の方法。

[項21]

前記第2用量を少なくとも4日間投与する、上記項18～20のいずれか1項に記載の方法。

[項22]

前記初期用量を連続4日間投与し、前記第2用量を少なくとも連続4日間投与する、上記項18～21のいずれか1項に記載の方法。

20

[項23]

前記第2用量が、150～200 µgの前記ペプチドである、上記項18～22のいずれか1項に記載の方法。

[項24]

前記第2用量が、150 µgの前記ペプチド又は200 µgの前記ペプチドである、上記項23に記載の方法。

[項25]

前記投与が、さらに、第2用量の後に第3用量を投与するステップを含み、前記第3用量は、前記第2用量よりも高い、上記項18～24のいずれか1項に記載の方法。

30

[項26]

前記初期用量を3～10日間投与し、前記第2用量を3～10日間投与する、上記項25に記載の方法。

[項27]

前記初期用量を3～7日間投与し、前記第2用量を3～7日間投与する、上記項25に記載の方法。

[項28]

前記初期用量を連続4日間投与し、前記第2用量を少なくとも連続4日間投与し、前記第3用量を少なくとも連続4日間投与する、上記項25に記載の方法。

[項29]

前記初期用量を連続4日間投与し、前記第2用量を少なくとも連続7日間投与し、前記第3用量を少なくとも連続4日間投与する、上記項25に記載の方法。

40

[項30]

前記第3用量が、200～400 µgの前記ペプチドである、上記項25～29のいずれか1項に記載の方法。

[項31]

前記第3用量が、200 µgの前記ペプチド、300 µgの前記ペプチド、又は400 µgの前記ペプチドである、上記項30に記載の方法。

[項32]

100 µgの前記ペプチドを投与する、上記項1～17のいずれか1項に記載の方法。

50

[項 3 3]

150 μ g の前記ペプチドを投与する、上記項 1 ～ 17 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 3 4]

200 μ g の前記ペプチドを投与する、上記項 1 ～ 17 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 3 5]

250 μ g の前記ペプチドを投与する、上記項 1 ～ 17 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 3 6]

前記ペプチドを毎日投与する、上記項 1 ～ 35 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 3 7]

前記ペプチドを 1 日 1 回投与する、上記項 1 ～ 36 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

[項 3 8]

前記ペプチドを、少なくとも 1 週間、少なくとも 2 週間、少なくとも 3 週間、又は少なくとも 4 週間投与する上記項 1 ～ 37 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 3 9]

前記ペプチドを注射により投与する、上記項 1 ～ 38 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 4 0]

前記投与が皮下である、上記項 39 に記載の方法。

[項 4 1]

前記投与によって、混合食試験後に濃度－時間曲線下のグルコース面積の少なくとも 20 % 減少がもたらされる、上記項 1 ～ 40 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

[項 4 2]

前記投与によって、少なくとも 1.0 kg、少なくとも 1.3 kg、又は約 1.3 ～ 約 2.0 kg の減量もたらされる、上記項 1 ～ 41 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 4 3]

前記脂肪が、肝臓脂肪である、上記項 2、9、10、及び 15 ～ 42 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 4 4]

前記投与によって、肝臓脂肪の約三分の一の減少がもたらされる、上記項 1 ～ 43 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 4 5]

前記投与によって、ヘモグロビン A1c (HbA1c) レベルが低下する、上記項 1 ～ 44 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

[項 4 6]

前記投与によって、フルクトサミンレベルが低下する、上記項 1 ～ 45 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 4 7]

前記ペプチドが、固相合成法による合成によって製造される、上記項 1 ～ 46 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 4 8]

前記固相合成法が、フルオレニルメチルオキシカルボニルクロリド化学を使用する、上記項 47 に記載の方法。

40

[項 4 9]

X₃₀ の前記カルボキシル基が、非修飾 G 又は R である、上記項 1 ～ 48 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 5 0]

X₃₀ の前記カルボキシル基が、アミド化される、上記項 1 ～ 48 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 5 1]

前記ペプチドが、リシン残基の N (ε) 基上にパルミトイル部分を含む、上記項 1 ～ 50 のいずれか 1 項に記載の方法。

50

[項 5 2]

前記パルミトイル基が、リンカーを介して前記リシンに連結される、上記項 5 1 に記載の方法。

[項 5 3]

前記リンカーが、 γ グルタミン酸塩である、上記項 5 2 に記載の方法。

[項 5 4]

前記ペプチドが、リシン残基の N (ϵ) 基上にステアロイル又はステアリン酸塩部分を含む、上記項 1 ～ 5 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 5 5]

前記リシン残基が、X₁₀である、上記項 5 1 ～ 5 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

[項 5 6]

前記ペプチドが、cAMP アッセイ 1 による 10,000 pM 未満、5000 pM 未満、2500 pM 未満、1000 pM 未満、900 pM 未満、800 pM 未満、700 pM 未満、600 pM 未満、500 pM 未満、400 pM 未満、300 pM 未満、200 pM 未満、100 pM 未満、50 pM 未満、25 pM 未満、20 pM 未満、15 pM 未満、10 pM 未満、5 pM 未満、4 pM 未満、3 pM 未満、又は 2 pM 未満の EC₅₀ で、ヒトグルカゴン受容体に結合する、上記項 1 ～ 5 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 5 7]

前記ペプチドが、cAMP アッセイ 1 による 10,000 pM 未満、5000 pM 未満、2500 pM 未満、1000 pM 未満、900 pM 未満、800 pM 未満、700 pM 未満、600 pM 未満、500 pM 未満、400 pM 未満、300 pM 未満、200 pM 未満、100 pM 未満、50 pM 未満、25 pM 未満、20 pM 未満、15 pM 未満、10 pM 未満、5 pM 未満、4 pM 未満、3 pM 未満、又は 2 pM 未満の EC₅₀ で、ヒト GLP-1 受容体に結合する、上記項 1 ～ 5 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

[項 5 8]

前記ペプチドが、GLP-1 活性のアゴニスト、グルカゴン活性のアゴニスト、又は GLP-1 とグルカゴン活性の両方のアゴニストである、上記項 1 ～ 5 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 5 9]

前記ペプチドが、グルカゴン受容体と GLP-1 受容体の両方に結合し、前記グルカゴン受容体よりも、前記 GLP-1 受容体で、天然リガンドと比較して少なくとも約 2 倍、5 倍、又は 10 倍大きい活性を呈示する、上記項 1 ～ 5 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

[項 6 0]

前記ペプチドが、異種部分をさらに含む、上記項 1 ～ 5 9 のいずれか一項に記載の方法。

[項 6 1]

前記異種部分が、タンパク質、ペプチド、タンパク質ドメイン、リンカー、有機ポリマー、無機ポリマー、ポリエチレングリコール (PEG)、ビオチン、アルブミン、ヒト血清アルブミン (HSA)、HSA FcRn 結合部分、抗体、抗体のドメイン、抗体断片、単鎖抗体、ドメイン抗体、アルブミン結合ドメイン、酵素、リガンド、受容体、結合ペプチド、非 F_nI₁I₂ スカフォールド、エピトープタグ、組換えポリペプチドポリマー、サイトカイン、脂質、又は列挙した部分の 2 つ以上の組み合わせである、上記項 6 0 に記載の方法。

40

[項 6 2]

前記対象が、27 ～ 40 kg/m² のボディマスインデックス (BMI) を有する、上記項 1 ～ 6 1 のいずれか一項に記載の方法。

[項 6 3]

前記対象が、30 ～ 39.9 kg/m² の BMI を有する、上記項 1 ～ 6 1 のいずれか一項に記載の方法。

[項 6 4]

前記対象が、少なくとも 40 kg/m² の BMI を有する、上記項 1 ～ 6 1 のいずれか

50

一項に記載の方法。

[項 6 5]

前記対象が、過剰体重である、上記項 5 ～ 1 2 及び 1 6 ～ 6 4 のいずれか一項に記載の方法。

[項 6 6]

前記対象が、肥満である、上記項 5 ～ 1 2 及び 1 6 ～ 6 4 のいずれか一項に記載の方法。

[項 6 7]

前記ペプチドの半減期が、約 1 0 ～ 約 1 2 時間である、上記項 1 ～ 6 6 のいずれか一項に記載の方法。

[項 6 8]

前記投与が、食餌及び運動を補助するものである、上記項 1 ～ 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

[項 6 9]

体重を減らす方法であって、

H X₂ Q G T F T S D X₁₀ S X₁₂ X₁₃ L X₁₅ X₁₆ X₁₇ X₁₈ A X₂₀ X₂₁ F X₂₃ X₂₄ W L X₂₇ X₂₈ G X₃₀

(ここで、X₂は、G又はSであり、X₁₀は、Y又はKであり、X₁₂は、K、E、R、又はSであり、X₁₃は、K又はYであり、X₁₅は、D又はEであり、X₁₆は、S又はGであり、X₁₇は、E、R、Q、又はKであり、X₁₈は、R、S、又はAであり、X₂₀は、R、K、又はQであり、X₂₁は、D又はEであり、X₂₃は、V又はIであり、X₂₄は、A又はQであり、X₂₇は、E又はVであり、X₂₈は、A又はKであり、X₃₀は、G又はRである) (配列番号 4)

の amino 酸配列を含むペプチド 5 0 ～ 6 0 0 μ g を、治療を必要とするヒト対象に投与するステップを含む方法。

[項 7 0]

体脂肪を減らす方法であって、配列番号 4 の前記 amino 酸配列を含むペプチド 5 0 ～ 6 0 0 μ g を、治療を必要とするヒト対象に投与するステップを含む方法。

[項 7 1]

肥満を治療する方法であって、配列番号 4 の前記 amino 酸配列を含むペプチド 5 0 ～ 6 0 0 μ g を、治療を必要とするヒト対象に投与するステップを含む方法。

[項 7 2]

過剰体重に起因する、又は過剰体重を特徴とする疾患若しくは病状を治療又は予防する方法であって、配列番号 4 の前記 amino 酸配列を含むペプチド 5 0 ～ 6 0 0 μ g を、治療を必要とするヒト対象に投与するステップを含む方法。

[項 7 3]

体重を管理する方法であって、配列番号 4 の前記 amino 酸配列を含むペプチド 5 0 ～ 6 0 0 μ g を、治療を必要とするヒト対象に投与するステップを含む方法。

[項 7 4]

非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) を治療する方法であって、配列番号 4 の前記 amino 酸配列を含むペプチド 5 0 ～ 6 0 0 μ g を、治療を必要とするヒト対象に投与するステップを含む方法。

[項 7 5]

脂質酸化を増大する方法であって、配列番号 4 の前記 amino 酸配列を含むペプチド 5 0 ～ 6 0 0 μ g を、治療を必要とするヒト対象に投与するステップを含む方法。

[項 7 6]

食物摂取を抑制する方法であって、配列番号 4 の前記 amino 酸配列を含むペプチド 5 0 ～ 6 0 0 μ g を、治療を必要とするヒト対象に投与するステップを含む方法。

[項 7 7]

血漿グルコースを低下させる方法であって、配列番号 4 の前記 amino 酸配列を含むペプチド 5 0 ～ 6 0 0 μ g を、治療を必要とするヒト対象に投与するステップを含む方法。

10

20

30

40

50

[項 7 8]

血糖コントロールを改善する方法であって、配列番号 4 の前記アミノ酸配列を含むペプチド 5 0 ~ 6 0 0 μ g を、治療を必要とするヒト対象に投与するステップを含む方法。

[項 7 9]

血糖コントロールを達成する方法であって、配列番号 4 の前記アミノ酸配列を含むペプチド 5 0 ~ 6 0 0 μ g を、治療を必要とするヒト対象に投与するステップを含む方法。

[項 8 0]

体重を減らし、且つ血糖をコントロールする方法であって、配列番号 4 の前記アミノ酸配列を含むペプチド 5 0 ~ 6 0 0 μ g を、治療を必要とするヒト対象に投与するステップを含む方法。

10

[項 8 1]

前記対象が、糖尿病を有する、上記項 6 9 ~ 8 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 8 2]

前記糖尿病が、2 型糖尿病である、上記項 8 1 に記載の方法。

[項 8 3]

2 型糖尿病を治療する方法であって、配列番号 4 の前記アミノ酸配列を含むペプチドをヒトに投与するステップを含む方法。

[項 8 4]

2 型糖尿病を有するヒト対象の血糖コントロールを改善する方法であって、配列番号 4 の前記アミノ酸配列を含むペプチド 5 0 ~ 6 0 0 μ g を、前記対象に投与するステップを含む方法。

20

[項 8 5]

前記投与によって体重が減少する、上記項 8 3 又は 8 4 に記載の方法。

[項 8 6]

前記投与によって肥満が治療される、上記項 8 3 ~ 8 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 8 7]

前記投与によって体脂肪が減少する、上記項 7 7 ~ 8 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 8 8]

X_2 は、G であり、 X_{10} は、K であり、 X_{12} は、E、R、又は S であり、 X_{13} は、K であり、 X_{17} は、E 又は K であり、 X_{18} は、S であり、 X_{20} は、R であり、 X_{27} は、E であり、あるいは X_{28} は、A である、上記項 6 9 ~ 8 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

[項 8 9]

前記ペプチドが、配列番号 1 9 を含むか、それから本質的に構成されるか、又はそれから構成される、上記項 6 9 ~ 8 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 9 0]

前記投与が、3 ~ 1 0 日間にわたり初期用量を、その後、より高い第 2 用量を投与するステップを含む、上記項 6 9 ~ 8 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 9 1]

前記初期用量を 3 ~ 7 日間にわたり投与する、上記項 9 0 に記載の方法。

40

[項 9 2]

前記初期用量が、1 0 0 μ g のペプチドである、上記項 9 0 又は 9 1 に記載の方法。

[項 9 3]

前記第 2 用量を少なくとも 4 日間投与する、上記項 9 0 ~ 9 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 9 4]

前記初期用量を連続 4 日間投与し、前記第 2 用量を少なくとも連続 4 日間投与する、上記項 9 0 ~ 9 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 9 5]

前記第 2 用量が、1 5 0 ~ 2 0 0 μ g の前記ペプチドである、上記項 9 0 ~ 9 4 のいづ

50

れか 1 項に記載の方法。

[項 9 6]

前記第 2 用量が、 $150\text{ }\mu\text{g}$ の前記ペプチド又は $200\text{ }\mu\text{g}$ の前記ペプチドである、上記項 9 5 に記載の方法。

[項 9 7]

前記投与が、さらに、前記第 2 用量の後に第 3 用量を投与するステップを含み、前記第 3 用量が、前記第 2 用量よりも高い、上記項 9 0 ～ 9 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 9 8]

前記初期用量を 3 ～ 10 日間投与し、前記第 2 用量を 3 ～ 10 日間投与する、上記項 9 7 に記載の方法。

[項 9 9]

前記初期用量を 3 ～ 7 日間投与し、前記第 2 用量を 3 ～ 7 日間投与する、上記項 9 7 に記載の方法。

[項 1 0 0]

前記初期用量を連続 4 日間投与し、前記第 2 用量を少なくとも連続 4 日間投与し、前記第 3 用量を少なくとも連続 4 日間投与する、上記項 9 7 に記載の方法。

[項 1 0 1]

前記初期用量を連続 4 日間投与し、前記第 2 用量を少なくとも連続 7 日間投与し、前記第 3 用量を少なくとも連続 4 日間投与する、上記項 9 7 に記載の方法。

[項 1 0 2]

前記第 3 用量が、 $200\text{ }\mu\text{g}$ ～ $400\text{ }\mu\text{g}$ の前記ペプチドである、上記項 9 7 ～ 1 0 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 0 3]

前記第 3 用量が、 $200\text{ }\mu\text{g}$ の前記ペプチド、 $300\text{ }\mu\text{g}$ の前記ペプチド、又は $400\text{ }\mu\text{g}$ の前記ペプチドである、上記項 1 0 2 に記載の方法。

[項 1 0 4]

$100\text{ }\mu\text{g}$ の初期用量を 4 日間投与し、 $150\text{ }\mu\text{g}$ の第 2 用量を 4 日間投与し、 $200\text{ }\mu\text{g}$ の第 3 用量を毎日投与する、上記項 6 9 ～ 8 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 0 5]

$100\text{ }\mu\text{g}$ の初期用量を 5 日間投与し、 $150\text{ }\mu\text{g}$ の第 2 用量を 5 日間投与し、 $200\text{ }\mu\text{g}$ の第 3 用量を 5 日間投与し、 $300\text{ }\mu\text{g}$ の第 4 用量を毎日投与する、上記項 6 9 ～ 8 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 0 6]

$100\text{ }\mu\text{g}$ の初期用量を 5 日間投与し、 $200\text{ }\mu\text{g}$ の第 2 用量を 5 日間投与し、 $300\text{ }\mu\text{g}$ の第 3 用量を毎日投与する、上記項 6 9 ～ 8 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 0 7]

$50\text{ }\mu\text{g}$ の前記ペプチドを投与する、上記項 6 9 ～ 8 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 0 8]

$100\text{ }\mu\text{g}$ の前記ペプチドを投与する、上記項 6 9 ～ 8 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 0 9]

$150\text{ }\mu\text{g}$ の前記ペプチドを投与する、上記項 6 9 ～ 8 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 1 0]

$200\text{ }\mu\text{g}$ の前記ペプチドを投与する、上記項 6 9 ～ 8 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 1 1]

$250\text{ }\mu\text{g}$ の前記ペプチドを投与する、上記項 6 9 ～ 8 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 1 2]

$300\text{ }\mu\text{g}$ の前記ペプチドを投与する、上記項 6 9 ～ 8 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 1 3]

前記ペプチドを毎日投与する、上記項 6 9 ～ 1 1 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 1 4]

前記ペプチドを1日1回投与する、上記項69～113のいずれか1項に記載の方法。

[項115]

前記ペプチドを、少なくとも1週間、少なくとも2週間、少なくとも3週間、又は少なくとも4週間投与する上記項69～114のいずれか1項に記載の方法。

[項116]

前記ペプチドを注射により投与する、上記項69～115のいずれか1項に記載の方法。

[項117]

前記投与が皮下である、上記項116に記載の方法。

[項118]

前記投与によって、混合食試験後に濃度－時間曲線下のグルコース面積の少なくとも20%減少がもたらされる、上記項69～117のいずれか1項に記載の方法。

10

[項119]

グルコースが減少する、上記項69～76、81～83、及び85～117のいずれか1項に記載の方法。

[項120]

前記グルコースが、空腹時血糖である、上記項119に記載の方法。

[項121]

前記グルコースが、混合食試験からの食後血糖である、上記項119に記載の方法。

[項122]

前記投与によって、少なくとも1.0kg、少なくとも1.3kg、又は約1.3～約2.0kgの減量がもたらされる、上記項69～121のいずれか1項に記載の方法。

20

[項123]

前記対象の体重が、少なくとも3.5kg又は少なくとも5kg減少する、上記項69～121のいずれか1項に記載の方法。

[項124]

前記対象の体重が、約2～約30kg減少する、上記項69～121のいずれか1項に記載の方法。

[項125]

前記対象の体重が、少なくとも2%、少なくとも4%、少なくとも5%、又は少なくとも10%減少する、上記項69～124のいずれか1項に記載の方法。

30

[項126]

前記対象の体重が、約2%～約20%、約2%～約25%、又は約2%～約30%減少する、上記項69～125のいずれか1項に記載の方法。

[項127]

前記脂肪が、肝臓脂肪である、上記項70、81、82、及び85～126のいずれか1項に記載の方法。

[項128]

前記対象の肝臓脂肪が、少なくとも20%減少する、上記項69～126のいずれか1項に記載の方法。

[項129]

前記対象の肝臓脂肪が、約20%～約40%減少する、上記項69～126のいずれか1項に記載の方法。

40

[項130]

前記投与によって、肝臓脂肪の約三分の一の減少がもたらされる、上記項69～126のいずれか1項に記載の方法。

[項131]

前記対象の肝体積が減少する、上記項69～130のいずれか1項に記載の方法。

[項132]

前記対象のHbA1cレベルが低下する、上記項69～131のいずれか1項に記載の方法。

50

[項 1 3 3]

前記対象の H b A 1 c レベルが、少なくとも 0.6% 低下する、上記項 1 3 2 に記載の方法。

[項 1 3 4]

前記対象の H b A 1 c レベルが、少なくとも 0.9% 低下する、上記項 1 3 2 に記載の方法。

[項 1 3 5]

前記対象の H b A 1 c レベルが、約 0.5%～約 1.5%、約 0.5%～約 2%、又は約 0.5%～約 3% 低下する、上記項 1 3 2 に記載の方法。

[項 1 3 6]

前記対象の H b A 1 c レベルが、6.3% 以下まで低下する、上記項 1 3 2 に記載の方法。

[項 1 3 7]

前記投与によって、フルクトサミンレベルが低下する、上記項 6 9～1 3 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 3 9]

前記対象の食欲が抑制される、上記項 6 9～1 3 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 4 0]

前記対象のエネルギー消費が増加する、上記項 6 9～1 3 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 4 1]

前記疾患の進行が停止する、上記項 6 9～1 4 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 4 2]

前記疾患の進行が逆転する、上記項 6 9～1 4 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 4 3]

前記ペプチドが、固相合成法による合成によって製造される、上記項 6 9～1 4 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 4 4]

前記固相合成法が、フルオレニルメチルオキシカルボニルクロリド化学を使用する、上記項 1 4 3 に記載の方法。

[項 1 4 5]

X₃₀ の前記カルボキシル基が、非修飾 G 又は R である、上記項 6 9～1 4 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 4 6]

X₃₀ の前記カルボキシル基が、アミド化される、上記項 6 9～1 4 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 4 7]

前記ペプチドが、リシン残基の N (ε) 基上にパルミトイル部分を含む、上記項 6 9～1 4 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 4 8]

前記パルミトイル基が、リンカーを介して前記リシンに連結される、上記項 1 4 7 に記載の方法。

[項 1 4 9]

前記リンカーが、γ グルタミン酸塩である、上記項 1 4 8 に記載の方法。

[項 1 5 0]

前記ペプチドが、リシン残基の N (ε) 基上にステアロイル又はステアリン酸塩部分を含む、上記項 6 9～8 8 又は 9 0～1 4 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 5 1]

前記リシン残基が、X₁₀ である、上記項 1 4 7～1 5 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 1 5 2]

10

20

30

40

50

前記ペプチドが、cAMPアッセイ1による10,000pM未満、5000pM未満、2500pM未満、1000pM未満、900pM未満、800pM未満、700pM未満、600pM未満、500pM未満、400pM未満、300pM未満、200pM未満、100pM未満、50pM未満、25pM未満、20pM未満、15pM未満、10pM未満、5pM未満、4pM未満、3pM未満、又は2pM未満のEC50で、ヒトグルカゴン受容体に結合する、上記項69～151のいずれか1項に記載の方法。

[項153]

前記ペプチドが、cAMPアッセイ1による10,000pM未満、5000pM未満、2500pM未満、1000pM未満、900pM未満、800pM未満、700pM未満、600pM未満、500pM未満、400pM未満、300pM未満、200pM未満、100pM未満、50pM未満、25pM未満、20pM未満、15pM未満、10pM未満、5pM未満、4pM未満、3pM未満、又は2pM未満のEC50で、ヒトGLP-1受容体に結合する、上記項69～152のいずれか1項に記載の方法。

10

[項154]

前記ペプチドが、GLP-1活性のアゴニスト、グルカゴン活性のアゴニスト、又はGLP-1とグルカゴン活性の両方のアゴニストである、上記項69～153のいずれか1項に記載の方法。

[項155]

前記ペプチドが、グルカゴン受容体とGLP-1受容体の両方に結合し、前記グルカゴン受容体よりも、前記GLP-1受容体で、天然リガンドと比較して少なくとも約2倍、5倍、又は10倍大きい活性を呈示する、上記項69～154のいずれか1項に記載の方法。

20

[項156]

前記ペプチドが、異種部分をさらに含む、上記項69～155のいずれか一項に記載の方法。

[項157]

前記異種部分が、タンパク質、ペプチド、タンパク質ドメイン、リンカー、有機ポリマー、無機ポリマー、ポリエチレングリコール(PEG)、ビオチン、アルブミン、ヒト血清アルブミン(HSA)、HSAFcRn結合部分、抗体、抗体のドメイン、抗体断片、単鎖抗体、ドメイン抗体、アルブミン結合ドメイン、酵素、リガンド、受容体、結合ペプチド、非FnIIIスcaffolds、エピトープタグ、組換えポリペプチドポリマー、サイトカイン、脂質、又は列挙した部分の2つ以上の組み合わせである、上記項156に記載の方法。

30

[項158]

前記対象が、 $27 \sim 40 \text{ kg/m}^2$ のボディマスインデックス(BMI)を有する、上記項69～157のいずれか一項に記載の方法。

[項159]

前記対象が、 $30 \sim 39.9 \text{ kg/m}^2$ のBMIを有する、上記項69～157のいずれか一項に記載の方法。

[項160]

前記対象が、少なくとも 40 kg/m^2 のBMIを有する、上記項69～157のいずれか一項に記載の方法。

40

[項161]

前記対象が、過剰体重である、上記項74～79、81～84、及び88～160のいずれか一項に記載の方法。

[項162]

前記対象が、肥満である、上記項74～79、81～84、及び88～160のいずれか一項に記載の方法。

[項163]

前記対象が、(i)過剰体重であり、且つ(ii)高血圧、2型糖尿病、脂質異常症、

50

心血管疾患の病歴又はこれらの組み合わせを有する、上記項 69、70、72～85、及び 87～161 のいずれか一項に記載の方法。

[項 164]

前記対象が、(i) 過剰体重であり、且つ (ii) 高血糖、高血圧、脂質異常症、閉塞性睡眠時無呼吸、又はこれらの組み合わせを有する、上記項 69、70、72～85、及び 87～161 のいずれか一項に記載の方法。

[項 165]

前記対象が、インスリン療法を受けている、上記項 1～164 に記載の方法。

[項 166]

投与される前記インスリンの量が低減される、上記項 165 に記載の方法。

[項 167]

インスリン療法が停止される、上記項 165 に記載の方法。

[項 168]

前記対象が、インスリン、メトホルミン、スルホニル尿素、ナトリウム-グルコース共輸送体-2 (sglt-2) 阻害剤、ジペプチジルペプチダーゼ-4 (DPP-IV) 阻害剤、グルタゾン、αグルコシダーゼ阻害剤、又はこれらの組み合わせを受けている、上記項 69～167 のいずれか一項に記載の方法。

[項 169]

前記ペプチドの半減期が、約 10～約 12 時間である、上記項 69～168 のいずれか一項に記載の方法。

[項 170]

前記投与が、食餌及び運動を補助するものである、上記項 69～169 のいずれか一項に記載の方法。

[項 171]

前記ペプチドが、配列番号 19 を含み、且つ

前記ペプチドが、100 μg の初期用量で 4 日間投与され、150 μg の第 2 用量で 4 日間投与された後、200 μg の用量で毎日投与される、上記項 1～170 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 172]

前記ペプチドが、配列番号 19 を含み、且つ

前記ペプチドが、100 μg の初期用量で 5 日間投与され、200 μg の第 2 用量で 5 日間投与された後、300 μg の用量で毎日投与される、上記項 1～170 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 173]

前記ペプチドが、配列番号 19 を含み、且つ

前記ペプチドが、100 μg の初期用量で 5 日間投与され、150 μg の第 2 用量で 5 日間投与され、200 μg の第 2 用量で 5 日間投与された後、300 μg の用量で毎日投与される、上記項 1～170 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 174]

前記対象が、2 型糖尿病を有する、上記項 171～173 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 175]

前記対象が、肥満である、上記項 171～173 のいずれか 1 項に記載の方法。

[項 176]

前記対象が、(i) 過剰体重であり、且つ (ii) 高血圧、2 型糖尿病、脂質異常症、心血管疾患の病歴又はこれらの組み合わせを有する、上記項 171～173 のいずれか一項に記載の方法。

[項 177]

前記対象が、(i) 過剰体重であり、且つ (ii) 高血糖、高血圧、脂質異常症、閉塞性睡眠時無呼吸、又はこれらの組み合わせを有する、上記項 171～173 のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50

【図面の簡単な説明】

【0065】

【図1】ビヒクル処置、及びリラグルチドによる処置と比較して、3つの異なる用量のグルカゴン／GLP-1コアゴニストペプチドG730の投与後のDIOマウスの0日目からの体重の平均変化率(%)を示す。各群での出発体重は、それぞれ、ビヒクル：47.4±3.7g、G730 10nmol/kg：44.5±2.2g、G730 20nmol/kg：45.9±3.6g、及びG730 50nmol/kg：46.1±2.4gであった。

【図2】ビヒクル処置、及びリラグルチドによる処置と比較して、3つの異なる用量のグルカゴン／GLP-1コアゴニストペプチドG797の投与後のDIOマウスの0日目からの体重の平均変化率(%)を示す。各群での出発体重は、それぞれ、ビヒクル：47.4±3.7g、G797 5nmol/kg：47.5±1.2g、G797 20nmol/kg：47.4±2.2g、及びG797 50nmol/kg：47.2±1.8gであった。

10

【図3】ビヒクル処置、及びリラグルチドによる処置と比較して、20nmol/kgの用量のグルカゴン／GLP-1コアゴニストペプチドG812の投与後のDIOマウスの0日目からの体重の平均変化率(%)を示す。各群での出発体重は、それぞれ、ビヒクル：47.4±3.7g、及びG812 20nmol/kg：49.2±3.4gであった。

【図4】図1、2、及び3に示す3種のグルカゴン／GLP-1コアゴニストペプチドについて体重変化の結果を比較するグラフである。

20

【図5】ビヒクル処置、及びリラグルチドによる処置と比較して、2つの異なる用量のグルカゴン／GLP-1コアゴニストペプチドG796の投与後のDIOマウスの0日目からの体重の平均変化率(%)を示す。

【図6】ビヒクル処置、及びリラグルチドによる処置と比較して、2つの異なる用量のグルカゴン／GLP-1コアゴニストペプチドG865の投与後のDIOマウスの0日目からの体重の平均変化率(%)を示す。

【図7】ビヒクル処置、及びリラグルチドによる処置と比較して、2つの異なる用量のグルカゴン／GLP-1コアゴニストペプチドG933の投与後のDIOマウスの0日目からの体重の平均変化率(%)を示す。

30

【図8】図5、6、及び7に示す3種のグルカゴン／GLP-1コアゴニストペプチドについて体重変化の結果を比較するグラフである。

【図9】計画された、及び実際のG933単一用量漸増試験のフローチャートを表示する。

【図10】G933単一用量漸増試験の対象素因を表示する。

【図11】G933単一用量漸増試験における対象の中央血糖値を示す。

【図12】G933単一用量漸増試験における対象の中央インスリン値を示す。

【図13】G933単一用量漸増試験におけるコホート1～4のフローチャートを表示する。MED10382は、配列番号19の配列を有する30アミノ酸直鎖ペプチドを指す。

【図14】7日目にプラセボ又は100μgのG933で処置した対象(コホート1)、11日目にプラセボ又は150μgのG933で処置した対象(コホート2)、及び15日目にプラセボ又は200μgのG933で処置した対象(コホート3)における平均混合食試験血糖値を示す。

40

【図15】7日目にプラセボ又はG933で処置した対象(コホート1)、9日目にプラセボ又はG933で処置した対象(コホート3)、及び15日目にプラセボ又はG933で処置した対象(コホート3)におけるベースライン空腹時血糖値の変化を示す。

【図16】コホート1及び3の両方で試験期間にわたるベースライン体重からの体重変化、並びにコホート1及び3における7日目及び15日目の体重変化をそれぞれ示す。

【図17】反復投与後のMED10382の血漿中濃度を示す。

【図18】G933で処置した患者の血糖値によって測定される血糖コントロールの改善を示す。点線は、ベースライン(1日目)で観察された血糖値を表し、実線は、41日目

50

で観察された血糖値を表す。

【図 19】 G 9 3 3 で処置した患者の H b A 1 c によって測定される血糖コントロールの改善を示す。

【図 20】 G 9 3 3 で処置した患者の絶対重量の減少を示す。（この図では、G 9 3 3 は、「M E D I」又は「0 3 8 2」と称され；「P l a c」は、プラセボを指す。）

【図 21】 G 9 3 3 で処置した患者の減量率（%）を示す。（この図では、「M E D I」は、「M E D I 0 3 8 2」を指す。）

【図 22】 G 9 3 3 で処置した患者の肝臓脂肪減少の評価を示す。個々の対象からの代表的な画像が提供される。

【図 23】 G 9 3 3 で処置した患者に起こった吐気及び嘔吐を示す。

【図 24】 G 9 3 3 複数用量漸増試験におけるコホート 5 及び 6 のフローチャートを表示する。

【図 25】 プラセボと比較して、G 9 3 3 で処置したコホート 5 患者の血糖値により測定される血糖コントロールの改善を示す。点線は、ベースライン（1 日目）で観察された血糖値を表し、実線は、1 7 日目で観察された血糖値を表す。（この図では、G 9 3 3 は、「M E D I」と称される。）

【図 26】 プラセボと比較して、G 9 3 3 で処置したコホート 6 患者の血糖値により測定される血糖コントロールの改善を示す。点線は、ベースライン（1 日目）で観察された血糖値を表し、実線は、1 7 日目で観察された血糖値を表す。（この図では、G 9 3 3 は、「M E D I」と称される。）

【図 27】 全コホートにおけるベースラインから A U C からの変化率（%）を示す。

【図 28】 コホート 5 及び 6 における空腹時血糖値の改善を示す。（この図では、G 9 3 3 は、「M E D I」と称される。）

【図 29】 コホート 5 及び 6 におけるベースラインからの体重変化を示す。（この図では、G 9 3 3 は、「M E D I」と称される。）

【図 30】 全コホートにおける減量及び血糖の変化を示す。

【図 31】 1 6 日目及び 2 2 日目のコホート 5 並びに 1 1 日目及び 1 7 日目のコホート 6 における G 9 3 3 の血漿中濃度を示す。

【発明を実施するための形態】

【0 0 6 6】

定義

本開示全体を通して、用語「1つの（a）」又は「1つの（a n）」実体は、1つ又は複数の該実体を指し；例えば、「1つのポリヌクレオチド」は、1つ又は複数のポリヌクレオチドを示すと理解される。従って、用語「1つの（a）」（又は「1つの（a n）」）及び「少なくとも1つの」は、本明細書において置換え可能に用いることができる。

【0 0 6 7】

さらに、本明細書で用いる「及び／又は」は、2つの明示された特徴又は構成要素の各々を他のものと一緒に又はなしで、具体的に開示するものとして理解すべきである。従って、本明細書において、「A 及び／又は B」のようなフレーズに用いられる用語「及び／又は」は、「A 及び B」、「A 又は B」、「A」（単独）、並びに「B」（単独）を包含することが意図される。同様に、「A、B、及び／又は C」のようなフレーズに用いられる用語「及び／又は」は、以下の側面：A、B 及び C；A、B、又は C；A 又は C；A 又は B；B 又は C；A 及び C；A 及び B；B 及び C；A（単独）；B（単独）；並びに C（単独）を包含することが意図される。

【0 0 6 8】

本明細書において、態様が、「含む」という表現と共に記載されている場合はいずれも、「から構成される」及び／又は「から本質的に構成される」の用語で記載される別の類似の態様も提供されることは理解されたい。特定のアミノ酸配列を「含む」ペプチドは、当該アミノ酸配列を含むペプチドを指し、ここで、ペプチドは、別のアミノ酸又は当該アミノ酸配列に対する他の修飾を含んでもよいし、含まなくてもよい。特定のアミノ酸配列

10

20

30

40

50

から「構成される」ペプチドは、当該アミノ酸配列のみを含み、別のアミノ酸又は当該アミノ酸配列に対する他の修飾を含まないペプチドを指す。特定のアミノ酸配列から「構成される」アミノ酸配列を「含む」ペプチドは、当該アミノ酸配列を含み、別のアミノ酸を含まないが；ペプチドは、アミノ酸配列（例えば、アシル部分又はパルミトイル部分）に対する他の修飾を含み得る。

【0069】

別に定義されない限り、本明細書で用いる技術及び科学用語は全て、本開示が関連する分野の当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有する。例えば、Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 第2版, 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 第3版, 1999, Academic Press; 及びOxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, 改訂版, 2000, Oxford University Pressは、本開示に用いられる用語の多くの一般的辞書を当業者に提供する。

【0070】

単位、接頭語、及び記号は、それぞれが国際単位系（SI）により容認される形態で表示する。数値の範囲は、範囲を定める数値を含む。別に指示のない限り、アミノ酸配列は、アミノからカルボキシの方向で、左から右に記載する。本明細書に記載する見出しは、開示の様々な態様の限定ではなく、これらは、参照により全体を本明細書に組み込むことができる。従って、すぐ下に定義する用語は、本明細書の全体を参照することにより、より十全に定義される。

【0071】

本明細書で用いる場合、用語「ポリペプチド」は、単数の「ポリペプチド」、さらには複数の「ポリペプチド」を包含することが意図され、2つ以上のアミノ酸の任意の1つ又は複数の鎖を含む。従って、本明細書で用いる場合、1つの「ペプチド」、1つの「ペプチドサブユニット」、1つの「タンパク質」、「アミノ酸鎖」、「アミノ酸配列」、又は2つ以上のアミノ酸の任意の1つ又は複数の鎖を指すのに用いられるいずれか他の用語は、たとえこれら用語の各々が、より特有の意味を有し得るとしても、「ポリペプチド」の定義に含まれる。用語「ポリペプチド」は、これらの用語のいずれかに代わり、またはそのいずれかと置換え可能に用いることができる。この用語はさらに、翻訳後又は合成後修飾、例えば、グリコシル化、アセチル化、リン酸化、アミド化、公知の保護／遮断基による誘導体化、タンパク質切断、又は非天然アミノ酸による修飾を受けたポリペプチドも含む。

【0072】

さらに具体的には、本明細書で用いる場合、用語「ペプチド」は、完全長ペプチド及び断片、その変異体若しくは誘導体、例えば、GLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、長さ29、30、若しくは31アミノ酸）を包含する。本明細書に開示する「ペプチド」例えば、GLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドは、例えば、半減期を延長するために、Fcドメイン又はアルブミンドメインなどの別の成分を含む融合ポリペプチドの一部であってよい。本明細書に記載するペプチドは、いくつかの異なる方法で誘導体化することもできる。

【0073】

用語「単離された」は、ペプチド又は核酸が、一般に、本開示に従ってなるであろう状態を指す。単離されたペプチド及び単離された核酸は、それらが天然で結合されている物質、例えば、それらの自然環境、又は調製がin vitro若しくはin vivoで実施される組換えDNA技術によるものである場合には、それらが調製される環境（例えば、細胞培養物）においてそれらと一緒に見いだされる他のペプチド若しくは核酸を含まないか、又は実質的に含まないであろう。ペプチド及び核酸は、希釈剤又は補助剤と一緒に製剤化することができ、さらに、実用的な目的のために単離することもでき、例えば、ペ

プチドは、免疫アッセイに使用するためのマイクロタイタープレートに塗布するために使用される場合、通常、ゼラチン若しくは他の担体と混合され、あるいは、診断又は治療法に使用される場合、薬学的に許容される担体若しくは希釈剤と一緒に混合され得る。

【0074】

「組換え」ペプチドは、組換えDNA技術によって生成されるペプチドを指す。宿主細胞に発現される、組換えにより生成されたペプチドは、任意の好適な技術により分離、分割、又は部分的若しくは実質的に精製されたネイティブ又は組換えポリペプチドであることから、本開示の目的のために単離されたとみなされる。

【0075】

用語「断片」、「類似体」、「誘導体」、又は「変異体」は、GLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドを指す場合、少なくとも一部の要望される活性、例えば、グルカゴン及び／又はGLP-1受容体への結合を保持する任意のペプチドを含む。本明細書に記載するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドの断片は、発現、精製、及び又は対象への投与の際に、望ましい特性を呈示するタンパク質分解断片、欠失断片を含む。

【0076】

本明細書で用いる場合、用語「変異体」は、アミノ酸置換、欠失、挿入、及び／又は修飾によって、記載したペプチドとは異なるペプチドを指す。当分野では公知の突然変異誘導技術を用いて、変異体を作製することができる。変異体はさらに、あるいは、これに代わり、他の修飾を含むことができ、例えば、半減期、可溶性、若しくは安定性を増大するために、ペプチドを異種アミノ酸配列若しくは他の部分に結合又はカップリング、例えば、融合させることができる。本明細書に記載のペプチドに結合又はカップリングさせる部分の例として、限定するものではないが、アルブミン、免疫グロブリンFc領域、ポリエチレングリコール(PEG)などが挙げられる。ペプチドはまた、ペプチド(例：6-His)の合成、精製若しくは同定を容易にするために、又は固体支持体とのポリペプチドの結合を増強するために、リンカー又は他の配列に結合させるか、又はカップリングして作製することもできる。

【0077】

本明細書で用いる場合、用語「配列同一性」は、2つ以上のポリヌクレオチド配列同士、又は2つ以上のポリペプチド配列同士の関係を指す。1つの配列のある位置が、比較配列の対応位置と同じ核酸塩基又はアミノ酸によって占められているとき、配列は、その位置で「同一」であると言う。「配列同一性」の割合(%)は、両配列において同一の核酸塩基又はアミノ酸が存在する位置の数を決定して、「同一」位置の数を得ることにより計算する。次に、「同一」位置の数を比較ウィンドウ内の位置の総数で割ってから、100を掛けることにより、「配列同一性」の割合(%)を取得する。「配列同一性」の割合(%)は、2つの最適にアラインメントした配列を、比較ウィンドウにわたって比較することにより決定する。比較のために配列を最適にアラインメントする目的で、比較ウィンドウ内のポリヌクレオチド又はポリペプチド配列の部分は、ギャップと呼ばれる付加又は欠失を含んでもよいが、参照配列は、不変のまま維持する。最適なアラインメントは、ギャップがあっても、参照及び比較配列間で、考えられる最大の「同一」位置を生み出すアラインメントである。2つの配列同士の「配列同一性」の割合(%)は、国立バイオテクノロジー情報センター(National Center for Biotechnology Information)(2004年9月1日現在)から入手可能なプログラム「BLAST 2 Sequences」のバージョンを用いて決定することができ、このプログラムは、プログラムBLASTN(ヌクレオチド配列の比較用)とBLASTP(ポリペプチド配列の比較用)を含み、これらのプログラムは、Karlin及びAltschul(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90(12):5873-5877, 1993)のアルゴリズムに基づく。「BLAST 2 Sequences」を使用する場合、2004年9月1日現在デフォルトパラメータであるパラメータを語長(3)、オープンギャップペナルティ(11)、伸長ギャップペナルティ(1)、ギャップドロップオフ(50)、期待値(10)について用いることができ、また、限定はしな

10

20

30

40

50

いが、マトリクスオプシオンなどの任意の他の必要なパラメータを用いてもよい。

【0078】

用語「組成物」又は「医薬組成物」は、治療を必要とする対象、例えば、肥満を治療中のヒト対象への投与のための、例えば、薬学的に許容される担体、賦形剤、又は希釈剤と一緒に、本明細書に記載のGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドを含有する組成物を指す。

【0079】

用語「薬学的に許容される」は、正しい医学的判断の範囲内で、過剰な毒性又は他の合併症なしに、妥当な利益／リスク比で、ヒト及び動物の組織との接触に好適な組成物を指す。

【0080】

「有効な量」は、単一用量又はシリーズの一部としてのいずれかで、対象に投与した場合、治療、例えば、肥満の治療に有効な、本明細書に記載するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドの量である。ある量は、例えば、その投与により、減量又は体重維持（例えば、増量の予防）、体脂肪の減少、低血糖の予防若しくは調節、高血糖の予防若しくは調節、インスリン合成の促進、又は食物摂取の抑制のうち1つ又は複数が達成されるとき、有効である。この量は、治療を受ける全ての対象について一定量であってもよいし、又は治療しようとする対象の体重、健康状態、及び体調、要望される減量又は体重維持の程度、ペプチドの製剤化、医学的状況、並びに他の関連因子に応じて変動し得る。

【0081】

用語「対象」は、本明細書に記載するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドを用いた治療を必要とする任意の対象、特に哺乳動物の対象を意味する。哺乳動物の対象として、限定はしないが、ヒト、イヌ、ネコ、モルモット、ウサギ、ラット、マウス、ウマ、畜牛、クマ、乳牛、類人猿、サル、オランウータン、及びチンパンジーなどが挙げられる。一実施形態では、対象は、ヒト対象である。

【0082】

本明細書で用いる場合、「それを必要とする対象」は、治療することが望ましい個体、例えば、体重若しくは体脂肪減少、体重若しくは体脂肪維持を促進すること又は、指定された期間にわたって増量を予防若しくは最小限にすることが望ましい肥満の対象又は肥満になりやすい対象を指す。

【0083】

用語「治療する（こと）」又は「治療」又は「治療すること」は、診断された病状又は障害を治療する、及び／又は進行を停止させる治療処置を指す。「予防する（こと）」などの用語は、標的とする病状又は障害を予防する、及び／又はその発生を緩和する予防又は防止処置を指す。従って、治療を必要とする者は、疾患又は病状をすでに有する者を含む。予防を必要とする者は、疾患又は病状に罹患しやすい者並びに疾患又は病状を予防しようとする者を含む。例えば、過剰体重に起因する、若しくは過剰体重を特徴とする疾患又は病状を有する「患者を治療する（こと）」というフレーズは、対象が、それによる不快さ及び／又は機能の変化を被ることがなくなる程度まで疾患又は病状の重症度を低減することを指す。過剰体重に起因する、若しくは過剰体重を特徴とする疾患又は病状を「予防する（こと）」というフレーズは、疾患若しくは病状の可能性を低減する、及び／又は疾患若しくは病状の発生を低減すること（例えば、非治療患者と比較して発生の相対的減少）を指す。

【0084】

「重症度を低減する（こと）」のような用語は、診断された病状又は障害の症状を緩和する、又は軽減する治療処置を指す。例えば、過剰体重に起因する、若しくは過剰体重を特徴とする疾患又は病状の「重症度を低減する（こと）」というフレーズは、疾患若しくは病状の重症度を低減すること（例えば、非治療患者と比較して体重の減少、又は血糖コントロールの向上）を指す。

【0085】

本明細書で用いる場合、「G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチド」は、グルカゴン受容体において、ネイティブグルカゴンと比べ、少なくとも約 1 %、5 %、1 0 %、2 0 %、3 0 %、4 0 %、5 0 %、6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %、9 5 %、又はそれを超える活性を呈示し、かつ、アッセイ 1 の条件下で、G L P - 1 受容体において、ネイティブ G L P - 1 と比べ、少なくとも約 1 %、5 %、1 0 %、2 0 %、3 0 %、4 0 %、5 0 %、6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %、9 5 %、又はそれを超える活性を呈示するキメラペプチドである。

【0086】

本明細書で用いる場合、用語「ネイティブグルカゴン」は、配列番号 1 の配列を含む、天然に存在するグルカゴン、例えば、ヒトグルカゴンを指す。用語「ネイティブ G L P - 1」は、天然に存在する G L P - 1、例えば、ヒト G L P - 1 を指し、例えば、G L P - 1 (7 ~ 3 6) アミド (配列番号 2)、G L P - 1 (7 ~ 3 7) 酸 (配列番号 3) 又はこれら 2 つの化合物の混合物を包含する総称である。本明細書で用いる場合、「グルカゴン」又は「G L P - 1」は、それ以上の呼称がない場合、ネイティブヒトグルカゴン又はネイティブ G L P - 1 をそれぞれ意味するものとする。他に指示のない限り、「グルカゴン」は、ヒトグルカゴンを指し、また、「G L P - 1」は、ヒト「G L P - 1」を指す。

【0087】

G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチド

本明細書には、グルカゴン受容体と G L P - 1 受容体の両方に結合するペプチドが記載される。例示的なペプチドは、国際公開第 2 0 1 4 / 0 9 1 3 1 6 号パンフレットに記載されており、これは、その全体を参照により本明細書に組み込む。特定の実施形態では、ペプチドは、M E D I 0 3 8 2、すなわち、残基 1 0 に γ グルタミン酸リンカー及びパルミトイル基誘導化を含有する配列番号 1 9 の配列を含む 3 0 アミノ酸直鎖ペプチドである。特定の実施形態では、本明細書に記載のペプチドは、グルカゴン及び G L P - 1 活性のコアゴニストである。このようなペプチドは、本明細書において、G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドと呼ぶ。本明細書に記載する G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドは、減量を促進し、増量を予防するか、又は望ましい体重を維持する上で好都合な比で G L P - 1 及びグルカゴン活性を有し、かつ最適化された可溶性、製剤化性、及び安定性を備える。特定の実施形態では、本明細書に記載する G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドは、ヒト G L P - 1 及びヒトグルカゴン受容体において活性であり、特定の実施形態では、G L P - 1 受容体において天然リガンドと比較した相対活性は、グルカゴン受容体でのものより、少なくとも約 1 倍、2 倍、5 倍、8 倍、1 0 倍、1 5 倍、2 0 倍、又は 2 5 倍高い。

【0088】

特定の実施形態では、開示する G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドは、グルカゴン及び G L P - 1 受容体において望ましい力価を有し、減量を促進する上で望ましい相対力価を有する。特定の実施形態では、開示する G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドは、c A M P アッセイ 1 (実施例 2 を参照) での E C 5 0 により示されるように、G L P - 1 受容体において、1 0 , 0 0 0 p M 未満、5 0 0 0 p M 未満、2 5 0 0 p M 未満、1 0 0 0 p M 未満、9 0 0 p M 未満、8 0 0 p M 未満、7 0 0 p M 未満、6 0 0 p M 未満、5 0 0 p M 未満、4 0 0 p M 未満、3 0 0 p M 未満、2 0 0 p M 未満、1 0 0 p M 未満、5 0 p M 未満、2 5 p M 未満、2 0 p M 未満、1 5 p M 未満、1 0 p M 未満、5 p M 未満、4 p M 未満、3 p M 未満、又は 2 p M 未満の *i n v i t r o* 力価を呈示する。特定の実施形態では、開示する G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドは、4 . 4 % ヒト血清アルブミン中の c A M P アッセイ (アッセイ 2、実施例 2 を参照) での E C 5 0 により示されるように、G L P - 1 受容体において、1 0 , 0 0 0 p M 未満、5 0 0 0 p M 未満、2 5 0 0 p M 未満、1 0 0 0 p M 未満、9 0 0 p M 未満、8 0 0 p M 未満、7 0 0 p M 未満、6 0 0 p M 未満、5 0 0 p M 未満、4 0 0 p M 未満、3 0 0 p M 未満、2 0 0 p M 未満、1 0 0 p M 未満、5 0 p M 未満、2 5 p M 未満、2 0 p M 未満、1 5 p M 未満、1 0 p M 未満、5 p M 未満、4 p M 未満、3 p M 未満、又は 2 p M 未満の *i n v i t*

r o力価を呈示する。特定の実施形態では、開示するG L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドは、c A M P アッセイ1（実施例2を参照）でのE C 5 0により示されるように、グルカゴン受容体において、1 0 , 0 0 0 p M未満、5 0 0 0 p M未満、2 5 0 0 p M未満、1 0 0 0 p M未満、9 0 0 p M未満、8 0 0 p M未満、7 0 0 p M未満、6 0 0 p M未満、5 0 0 p M未満、4 0 0 p M未満、3 0 0 p M未満、2 0 0 p M未満、1 0 0 p M未満、5 0 p M未満、2 5 p M未満、2 0 p M未満、1 5 p M未満、1 0 p M未満、5 p M未満、4 p M未満、3 p M未満、又は2 p M未満のi n v i t r o力価を呈示する。特定の実施形態では、開示するG L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドは、4 . 4 %ヒト血清アルブミン中のc A M P アッセイ（アッセイ2、実施例2を参照）でのE C 5 0により示されるように、グルカゴン受容体において、1 0 , 0 0 0 p M未満、5 0 0 0 p M未満、2 5 0 0 p M未満、1 0 0 0 p M未満、9 0 0 p M未満、8 0 0 p M未満、7 0 0 p M未満、6 0 0 p M未満、5 0 0 p M未満、4 0 0 p M未満、3 0 0 p M未満、2 0 0 p M未満、1 0 0 p M未満、5 0 p M未満、2 5 p M未満、2 0 p M未満、1 5 p M未満、1 0 p M未満、5 p M未満、4 p M未満、3 p M未満、又は2 p M未満のi n v i t r o力価を呈示する。特定の実施形態では、本明細書に開示するG L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドは、アッセイ2で用いる場合、ネイティブリガンドと比較して、約0 . 0 1 ~ 0 . 5 0の範囲、例えば、約0 . 0 2 ~ 0 . 3 0、例えば、約0 . 0 2、0 . 0 3、0 . 0 4、0 . 0 5、0 . 0 6、0 . 0 7、0 . 0 8、0 . 0 9、0 . 1 0、0 . 1 1、0 . 1 2、0 . 1 3、0 . 1 4、0 . 1 5、0 . 1 6、0 . 1 7、0 . 1 8、0 . 1 9、0 . 2 0、0 . 2 1、0 . 2 2、0 . 2 3、0 . 2 4、0 . 2 5、0 . 2 6、0 . 2 7、0 . 2 8、又は0 . 3 0の相対G L P 1 - R / g l u c R力価比を有する。

【0089】

特定の実施形態では、開示するG L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドは、c A M P アッセイ1（実施例2を参照）でのE C 5 0により示されるように、グルコース依存性インスリン分泌刺激ペプチド（胃抑制ペプチド）（G I P R : g a s t r i c i n h i b i t o r y p e p t i d e）で、1 0 , 0 0 0 p M未満、5 0 0 0 p M未満、2 5 0 0 p M未満、1 0 0 0 p M未満、9 0 0 p M未満、8 0 0 p M未満、7 0 0 p M未満、6 0 0 p M未満、5 0 0 p M未満、4 0 0 p M未満、3 0 0 p M未満、2 0 0 p M未満、1 0 0 p M未満、5 0 p M未満、2 5 p M未満、2 0 p M未満、1 5 p M未満、1 0 p M未満、5 p M未満、4 p M未満、3 p M未満、又は2 p M未満のi n v i t r o力価を呈示する。特定の実施形態では、開示するG L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドは、4 . 4 %ヒト血清アルブミン中のc A M P アッセイ（アッセイ2、実施例2を参照）でのE C 5 0により示されるように、G I P Rで、1 0 , 0 0 0 p M未満、5 0 0 0 p M未満、2 5 0 0 p M未満、1 0 0 0 p M未満、9 0 0 p M未満、8 0 0 p M未満、7 0 0 p M未満、6 0 0 p M未満、5 0 0 p M未満、4 0 0 p M未満、3 0 0 p M未満、2 0 0 p M未満、1 0 0 p M未満、5 0 p M未満、2 5 p M未満、2 0 p M未満、1 5 p M未満、1 0 p M未満、5 p M未満、4 p M未満、3 p M未満、又は2 p M未満のi n v i t r o力価を呈示する。

【0090】

特定の実施形態では、本明細書に開示するG L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドは、許容可能な可溶性、製剤化しやすさ、血漿安定性、及び改善された薬物動力学特性の1つ又は複数の基準を有する。特定の実施形態では、開示するG L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドは、広範なp H範囲にわたって標準バッファー中に可溶性である。

【0091】

特定の実施形態では、G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドは、一般的バッファー溶液中に、最大0 . 5 m g / m l、0 . 6 m g / m l、0 . 7 m g / m l、0 . 8 m g / m l、0 . 9 m g / m l、1 m g / m l、2 m g / m l、3 m g / m l、4 m g / m l、5 m g / m l、6 m g / m l、7 m g / m l、8 m g / m l、9 m g / m l、1 0 m g / m l、又はそれを超える濃度で、バッファー系に、例えば、0 . 2 5 ~ 1 5 0 m Mのイオン強度の範囲で可溶性であり、限定はしないが、リン酸バッファー、T r i s バッファ

一、グルタミン酸バッファー、酢酸バッファー、コハク酸バッファー、又はヒスチジンバッファーが挙げられる。例示的バッファーとしては、100mMグルタミン酸pH4.5バッファー、100mM酢酸pH5バッファー、100mMコハク酸pH5バッファー、100mMリン酸pH6バッファー、100mMヒスチジンpH6バッファー、100mMリン酸pH6.5バッファー、100mMリン酸pH7.0バッファー、100mMヒスチジンpH7.0バッファー、100mMリン酸pH7.5バッファー、100mM Tris pH7.5バッファー、100mM Tris pH8.0バッファーが挙げられる。特定の実施形態では、開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドは、例えば、pH4.0～pH8.0のpH範囲にわたって、例えば、pH4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、又は8.5で、0.8mg/mlの標準的バッファーに可溶性である。特定の実施形態では、開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドは、pH4.5～8.0、5.0～8.0、5.5～8.0、6.0～8.0、6.5～8.0、7.0～8.0、4.5～8.5、5.5～8.5、5.5～8.5、6.0～8.5、6.5～8.5、又は7.0～8.5の標準的バッファーに可溶性である。

【0092】

特定の実施形態では、開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドは、標準的医薬製剤中に製剤化可能である。例示的製剤として、限定はしないが、以下のものが挙げられる：0.1M Tris pH7.5、150mM マンニトール、最終製剤pH=7.2；0.05M Tris、50mM アルギニン／プロリン、最終製剤pH=8.0；又はリン酸ナトリウムバッファー（pH8）／1.85%W/Vプロピレングリコール、最終製剤pH=7.0。特定の実施形態では、開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドは、最大0.5mg/ml、0.6mg/ml、0.7mg/ml、0.8mg/ml、0.9mg/ml、1mg/ml、2mg/ml、3mg/ml、4mg/ml、5mg/ml、6mg/ml、7mg/ml、8mg/ml、9mg/ml、10mg/ml、又はそれを超える濃度で、上記又は他の製剤に可溶性である。

【0093】

特定の実施形態では、開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドは、血清又は血漿中のプロテアーゼに対して許容可能に安定している。グルカゴン又はGLP-1の一般的分解産物としては、+1産物（酸）及びDPP IV分解産物がある。+1質量を有する産物は、グルタミンのアミド基又はC末端での脱アミド化から生じ得る。分解産物は、血漿中のプロテアーゼDPP IVの作用から生じ得る。特定の実施形態では、開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドは、37℃の血漿中24時間後、最大30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、又は100%のレベルで血漿中に安定したままである。

【0094】

本明細書において、アミノ酸配列：

HX2QGTF TSDX10SX12X13LX15X16X17X18AX20X21FX23X24WLX27X28GX30；

（ここで、X2は、G又はSであり、X10は、Y又はKであり、X12は、K、E、R、又はSであり、X13は、K又はYであり、X15は、D又はEであり、X16は、S又はGであり、X17は、E、R、Q、又はKであり、X18は、R、S、又はAであり、X20は、R、K、又はQであり、X21は、D又はEであり、X23はV又はIであり、X24は、A又はQであり、X27は、E又はVであり、X28は、A又はKであり、X30は、G又はRである）（配列番号4）。特定の実施形態では、上に示す単離されたペプチド（配列番号4）が提供され、ここで、X2は、Gであり、X10は、Kであり、X12は、E、R、又はSであり、X13は、Kであり、X17は、E又はKであり、X18は、Sであり、X20は、Rであり、X27は、Eであり、且つ／又はX28は、Aである。特定の実施形態では、上に示す単離されたペプチド（配列番号4）が提供され、ここで、X10は、Kであり、X12は、Eであり、X17は、Eであり、X20は、

10

20

30

40

50

Rであり、X 2 7は、Eであり、且つ／又はX 2 8は、Aである。

【0095】

特定の実施形態では、上に示す単離されたペプチドが提供され、ここで、X 2は、Sであり、X 1 0は、Y又はKであり、X 1 2は、K、E、R、又はSであり、X 1 3は、K又はYであり、X 1 5は、Dであり、X 1 6は、Sであり、X 1 7は、E、R、Q、又はKであり、X 1 8は、R、S、又はAであり、X 2 0は、Rであり、X 2 1は、Dであり、X 2 3は、Vであり、X 2 4は、Aであり、X 2 7は、E又はVであり、X 2 8は、Aであり、X 3 0は、Gである（配列番号5）。特定の実施形態では、上に示す単離されたペプチドが提供され、ここで、X 1 7がEで、且つX 1 8がRであるとき、X 2は、Sであり、X 1 0は、Y又はKであり、X 1 2は、K、E、R、又はSであり、X 1 3は、K又はYであり、X 1 5は、Dであり、X 1 6は、Sであり、あるいは、X 1 7がRで、且つX 1 8がSであるとき、X 2 0は、Rであり、X 2 1は、Dであり、X 2 3は、Vであり、X 2 4は、Aであり、X 2 7は、E又はVであり、X 2 8は、Aであり、X 3 0は、Gである（それぞれ、配列番号6及び配列番号7）。特定の実施形態では、上に示す単離されたペプチドが提供され、ここで、X 1 7がEで、且つX 1 8がRであるとき、X 2は、Sであり、X 1 0は、Yであり、X 1 2は、Kであり、X 1 3は、Kであり、X 1 5は、Dであり、X 1 6は、Sであり、あるいは、X 1 7がRで、且つX 1 8がSであるとき、X 2 0は、Rであり、X 2 1は、Dであり、X 2 3は、Vであり、X 2 4は、Aであり、X 2 7は、Vであり、X 2 8は、Aであり、X 3 0は、Gである（それぞれ、配列番号8及び配列番号9）。特定の実施形態では、上に示す単離されたペプチドが提供され、ここで、X 1 7がEで、且つX 1 8がRであるとき、X 2は、Sであり、X 1 0は、Kであり、X 1 2は、K、E、R、若しくはSであり、X 1 3は、Yであり、X 1 5は、Dであり、X 1 6は、Sであり、また、X 1 7がRで、且つX 1 8がSであるとき、X 2 0は、Rであり、X 2 1は、Dであり、X 2 3は、Vであり、X 2 4は、Aであり、X 2 7は、Eであり、X 2 8は、Aであり、X 3 0は、Gである（それぞれ、配列番号10及び配列番号11）。特定の実施形態では、上に示す単離されたペプチドが提供され、ここで、X 1 7がEで、且つX 1 8がRであるとき、X 2は、Sであり、X 1 0は、Kであり、X 1 2は、Eであり、X 1 3は、Yであり、X 1 5は、Dであり、X 1 6は、Sであり、あるいは、X 1 7がRで、且つX 1 8がSであるとき、X 2 0は、Rであり、X 2 1は、Dであり、X 2 3は、Vであり、X 2 4は、Aであり、X 2 7は、Eであり、X 2 8は、Aであり、X 3 0は、Gである（それぞれ、配列番号12及び配列番号13）。特定の実施形態では、上に示す単離されたペプチドが提供され、ここで、X 1 7がEで、且つX 1 8がRであるとき、X 2は、Sであり、X 1 0は、Kであり、X 1 2は、Rであり、X 1 3は、Yであり、X 1 5は、Dであり、X 1 6は、Sであり、あるいは、X 1 7がRで、且つX 1 8がSであるとき、X 2 0は、Rであり、X 2 1は、Dであり、X 2 3は、Vであり、X 2 4は、Aであり、X 2 7は、Eであり、X 2 8は、Aであり、X 3 0は、Gである（それぞれ、配列番号14及び配列番号15）。

【0096】

本明細書に記載するG L P－1／グルカンアゴニストペプチドとしては、限定されないが、G 7 3 0（配列番号16）、G 7 9 7（配列番号17）、G 8 4 9（配列番号18）、G 9 3 3（配列番号19）、G 8 6 5（配列番号20）、G 7 9 6（配列番号21）、G 8 1 2（配列番号22）及びG 3 8 0（配列番号23）がある。これらのG L P－1／グルカンアゴニストペプチドを表1に列記する：

【0097】

10

20

30

40

50

【表 1】

表 1: GLP-1/グルカゴンペプチド配列

ペプチド	配列	配列番号
G730	HSQGT FTSDY SKXLD SERAR DFVAW LVAGG-アミド X13 = K(gE-palm)	16
G797	HSQGT FTSDX SEYLD SERAR DFVAW LEAGG-アミド X10 = K(gE-palm)	17
G849	HSQGT FTSDX SRYLD SRSAR DFVAW LEAGG-アミド X10 = K(gE-palm)	18
G933	HSQGT FTSDX SEYLD SERAR DFVAW LEAGG-酸 X10 = K(gE-palm)	19
G865	HSQGT FTSDX SSYLD SRSAR DFVAW LEAGG-アミド X10 = K(gE-palm)	20
G796	HSQGT FTSDX SSYLD SRRAR DFVAW LEAGG-アミド X10 = K(gE-palm)	21
G812	HSQGT FTSDX SKYLE GQAAK EFAIW LEKGR-アミド X10 = K(gE-palm)	22
G380	HGQGT FTSDY SKYLD SXRAQ DFVQW LVAGG-アミド X17 = K(gE-palm)	23
G931	HSQGT FTSDY SKXLD SERAR DFVAW LVAGG-酸 X13 = K(gE-palm)	24
G934	HSQGT FTSDX SKYLE GQAAK EFAIW LEKGR-酸 X10 = K(gE-palm)	25
G973	HSQGT FTSDX SSYLD SRSAR DFVAW LEAGG-酸 X10 = K(gE-palm)	26
GLP1	HAEGT FTSDV SSYLE GQAAK EFAIW LVKGR	配列番号 2 (7~36 アミド)/ 配列番号 3 (7~37 酸)
グルカゴン	HSQGT FTSDY SKYLD SRRAR DFVQW LMNT	配列番号 1

K(gE-Palm) = γ -グルタミン酸リンカーを介して、 ϵ -窒素と共役したパルミトイル基を有するリシン

【0098】

特定の実施形態では、単離されたペプチドは、G933（配列番号19）である。

【0099】

ペプチドG797及びG933はいずれも、12位にグルタミン酸残基を有し、実施例2に示すように、グルカゴン及びGLP-1受容体の両方で頑健な活性を維持する。対応する残基は、エクセンディン-4及びグルカゴンではリシンであり、GLP-1においてはセリンである。この残基は、受容体と接触すると考えられていないが、正から負への電荷の変化が、隣接する環境を改変し得る。さらに、G797、G849及びG933は、27位にグルタミン酸残基を有する。残基27はエクセンディン-4ではリシンであり、GLP-1（バリリン）及びグルカゴン（メチオニン）では非荷電疎水性残基である。エキセナチド（exenatide）のリシンは、残基Glu127及びGlu24におけるGLP1受容体との静電的相互作用をもたらす（C. R. Underwood et al J Biol Chem 285 723-730 (2010); S. Runge et al J Biol Chem 283 11340-11347 (2008)）。27位の電荷が負に変化すると、GLP1R力価の損失を予想し得るのに対し、この変化は、G797、G849、及びG933におけるGLP1R活性と適合性である。

【0100】

MEDI0382は、グルカゴン様ペプチド-1（GLP-1）及びグルカゴン受容体の合成ペプチド二重アゴニストである。MEDI0382は、G933（配列番号19）であり、これは、残基10に γ -グルタミン酸リンカー及びパルミトイル基誘導化を含む。

【0101】

MEDI0382は、化学的に合成される。樹脂上でのペプチド鎖伸長は、Fmoc- α -アミノ酸のカップリングのために製造者が供給するプロトコルを用いて、固相ペプチド合成装置により実施する。グルタミン残基20及び24は、脱アミノ化に対して感受性ではないアミノ酸で置換され、アルギニン残基17は、タンパク質分解に対する感受性を低減するためにグルタミン酸塩で置換される。

【0102】

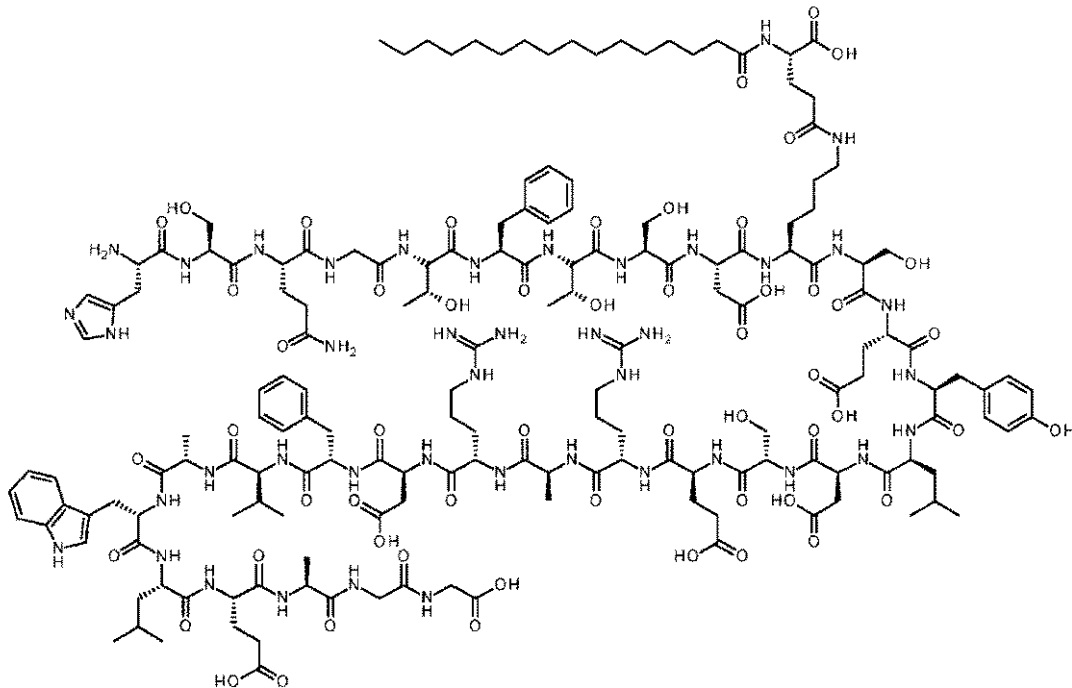
MEDI0382の配列を以下に示す：

【0103】

L-ヒスチジル-L-セリル-L-グルタミニルグリシル-L-トレオニル-L-フェニルアラニル-L-トレオニル-L-セリル-L- α -アスパルチル-（N6-[N-(1-オキソヘキサデシル)-L- γ -グルタミル]）-L-リシル-L-セリル-L- α -

グルタミル-L-チロシル-L-ロイシル-L- α -アスパルチル-L-セリル-L- α -グルタミル-L-アルギニル-L-アラニル-L-アルギニル-L- α -L-アスパルチル-L-フェニルアラニル-L-バリル-L-アラニル-L-トリプトフィル-L-ロイシル-L- α -グルタミル-L-アラニルグリシルグリシン

【化1】



【0104】

GLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドの製造方法

本開示は、GLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドの製造方法を提供する。本明細書に記載するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドは、任意の好適な方法により製造することができる。例えば、特定の実施形態では、本明細書に記載するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドは、当業者には周知の方法、例えば、Merrifield (1963, J. Am. Chem. Soc. 85: 2149-2154) により記載される固相合成法により、化学的に合成される。例えば、標準的試薬（例えば、実施例1で説明するような）を用いる自動合成装置により、固相ペプチド合成を達成することができる。

【0105】

あるいは、本明細書に記載するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドは、当業者には周知である好都合なベクター／宿主細胞の組み合わせを用いて、組換えにより生産することもできる。GLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドを組換えにより生産するための様々な方法が入手可能である。一般に、GLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を適切な発現ビヒクル、例えば、挿入されたコード配列の転写及び翻訳に必要なエレメントを含有するベクターに挿入する。GLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドをコードする核酸を適正なリーディングフレーム内のベクターに挿入する。次に、GLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドを発現する好適な宿主細胞に、発現ベクターをトランスフェクトする。好適な宿主細胞として、限定はしないが、細菌、酵母、又は哺乳動物細胞がある。市販の様々な宿主発現ベクター系を用いて、本明細書に記載のGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドを発現させ得る。

【0106】

修飾、コンジュゲート、融合、及び誘導体化

特定の実施形態では、本明細書に記載のGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドは

、アミノ酸修飾により安定化される。特定の実施形態では、C末端アミノ酸のカルボキシル基をアミド化する。特定の実施形態では、C末端アミノ酸は、アミド化グリシン、例えば、G 7 3 0、G 7 9 7、G 8 4 9、G 8 6 5、G 7 9 6、G 8 1 2 及び G 3 8 0 である。特定の実施形態では、例えば、G 9 3 3、すなわち、C末端グリシンは、非修飾酸である。特定の実施形態では、1又は複数個のアミノ酸残基がアシル化されている G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドが提供される。例えば、特定の実施形態では、本明細書に記載する G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドは、1又は複数個のリシン残基を含有し、ここで、パルミトイル部分は、N (ε) 基と結合している。特定の実施形態では、リンカーは、リシンとパルミトイル基との間に組み込まれる。このリンカーはγグルタミン酸基、又は限定されないが、βアラニン及びアミノヘキサン酸などの別のリンカーであってもよい。コレステロール又はミリストイル基の付加といった異なるアシル化方法を用いてもよい。特定の実施形態では、13位（例えば、G 7 3 0）にパルミトイル部分を付加する。特定の実施形態では、パルミトイル部分は、10位（例えば、G 7 9 7、G 8 4 9、G 9 3 3、G 8 6 5、G 7 9 6、及び G 8 1 2）に付加される。特定の実施形態では、パルミトイル部分は、17位（例えば、G 3 8 0）に付加される。

【0107】

本明細書に記載の G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチド、例えば、G 7 3 0、G 7 9 7、G 8 4 9、及び G 9 3 3 は、実施例 1 に記載するように、血清アルブミンとの結合によりその半減期を延長し、これによって、腎クリアランスの傾向を低減するために、パルミトイル化することができる。

【0108】

上記に代わり、又はこれに加えて、例えば、半減期を延長するために、本明細書に記載の G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドを異種部分と結合することができる。異種部分は、タンパク質、ペプチド、タンパク質ドメイン、リンカー、有機ポリマー、無機ポリマー、ポリエチレングリコール (PEG)、ビオチン、アルブミン、ヒト血清アルブミン (HSA)、HSA FcRn 結合部位、抗体、抗体のドメイン、抗体断片、単鎖抗体、ドメイン抗体、アルブミン結合ドメイン、酵素、リガンド、受容体、結合ペプチド、非 F n I I I スカフォールド、エピトープタグ、組換えポリペプチドポリマー、サイトカイン、又はこれらの部分の 2 つ以上の組み合わせであってよい。

【0109】

例えば、G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドを異種ポリペプチドと融合させることができる。組換え遺伝子融合及び発現又は化学結合のいずれかによって、本ペプチドをタンパク質と融合させることができる。融合するパートナーとして好適なタンパク質として、限定はしないが、ヒト血清アルブミン、抗体、及び抗体の Fc 部分との融合を含む抗体断片がある。G L P - 1 は、力価を保持しながら、これらのタンパク質と融合されている (L. Baggio et al, Diabetes 53 2492-2500 (2004); P. Barrington et al Diabetes, Obesity and Metabolism 13 426-433 (2011); P. Paulik et al アメリカ糖尿病学会 (American Diabetes Association) 2012, Poster 1946)。伸長された組換えペプチド配列は、ペプチドに高分子量を付与することも記載されている (V. Schellenberger et al Nature Biotechnol 27 1186-1190 (2009); P A S y l a t i o n (欧州特許出願公開第 2 1 7 3 8 9 0 号明細書))。特定の実施形態では、C末端での融合パートナー、例えば、アルブミン又は Fc 部分と一緒に、G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドを融合タンパク質の N 末端部分として組み込む。本明細書に記載の G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドは、ヒト血清アルブミンに対する親和性を有する「A l b u d a b s」などのペプチド又はタンパク質ドメインに融合することもできる (M. S. Dennis et al J Biol Chem 277 35035-35043 (2002); A. Walker et al Protein Eng Design Selection 23 271-278 (2010))。

本明細書に開示する G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドを異種ポリペプチド、例えば、アルブミン又は F c 領域と融合させる方法は、当業者には周知である。

【 0 1 1 0 】

さらに安定化させるか、又は半減期を延長するために、他の異種部分を G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドと結合することもできる。化学的融合の場合、特定の実施形態は、遊離 N 末端の維持を特徴とするが、誘導体化のための別の地点を作製することもできる。さらに別の方法は、高分子量ポリエチレングリコール (P E G) などの大きな化学物部分 (l a r g e c h e m i c a l m o i e t y) とペプチドを誘導体化するものである。「ペグ化 G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチド」は、これに共有結合した P E G 鎖を有する。 G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドの誘導体化、例えば、ペグ化を、パルミトイル化したリシン、あるいは、置換された、又は誘導体化を可能にするような伸長により組み込まれたシステインなどの残基において実施することができる。前述の G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドフォーマットは、 i n v i t r o 及び / 又は i n v i v o で、相対力価と、 G L P - 1 及びグルカゴン受容体活性化の間の均衡とに関して特徴付けることができる。

【 0 1 1 1 】

一般的用語「ポリエチレングリコール鎖」又は「 P E G 鎖」は、エチレンオキシドの縮合ポリマーと水の混合物を指し、これは、一般式 $H(OCH_2CH_2)_nOH$ (n は、3、4、5、6、7、8、9、又はそれを超える整数である) で表される分岐又は直鎖状である。 P E G 鎖は、約 500 ~ 約 40,000 ダルトンの範囲から選択される平均総分子量を有するエチレングリコールのポリマーを含む。 P E G 鎖の平均分子量は、数値により示され、例えば、 P E G - 5,000 は、約 5,000 の総平均分子量を有するポリエチレングリコール鎖を指す。

【 0 1 1 2 】

P E G 化は、当分野では公知の P E G 化反応のいずれかにより実施することができる。例えば、 F o c u s o n G r o w t h F a c t o r s , 3 : 4 - 1 0 , 1 9 9 2 及び欧州特許出願公開第 0 1 5 4 3 1 6 号明細書及び同第 0 4 0 1 3 8 4 号明細書を参照されたい。 P E G 化は、反応性ポリエチレングリコール分子 (又は類似の反応性水溶性ポリマー) とのアシル化反応又はアルキル化反応を用いて実施することができる。

【 0 1 1 3 】

P E G 化 G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドを調製する方法は、一般に、 (a) 分子が、1 又は複数個の P E G 基に結合する条件下で、 G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドをポリエチレングリコール (例えば、 P E G の反応性エステル若しくはアルデヒド誘導体) と反応させるステップと、 (b) 反応産物を取得するステップを含む。

【 0 1 1 4 】

医薬組成物

さらには、代謝疾患、例えば、肥満の治療のために製剤化される、有効量の本明細書に記載の G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドを含有する組成物、例えば、医薬組成物が提供される。

【 0 1 1 5 】

本開示の組成物は、公知の方法に従い製剤化することができる。好適な調製方法は、例えば、 R e m i n g t o n ' s P h a r m a c e u t i c a l S c i e n c e s , 第 1 9 版, A . R . G e n n a r o , e d . , M a c k P u b l i s h i n g C o . , E a s t o n , P A (1 9 9 5) に記載されており、この文献は、参照によりその全体を本明細書に組み込むものとする。組成物は、限定はしないが、水溶液、エマルジョン、ゲル、懸濁液、凍結乾燥形態、又は当分野で知られる任意の他の形態などの様々な形態であってよい。さらに、組成物は、例えば、希釈剤、結合剤、安定剤、及び防腐剤などの薬学的に許容される添加剤を含んでもよい。製剤化されたら、本発明の組成物を対象に直接投与することができる。

【 0 1 1 6 】

本発明の組成物と一緒に用いることができる担体は、当分野では公知であり、限定はしないが、例えば、チログロブリン、ヒト血清アルブミンのようなアルブミン、破傷風トキソイド、及びポリ-L-リシン、ポリ-L-グルタミン酸のようなポリアミノ酸、インフルエンザ、B型肝炎ウイルスコアタンパク質などが挙げられる。様々な水性担体を用いることができ、例えば、水、緩衝水、0.8%食塩水、0.3%グリシン、ヒアルロン酸などがある。従来の公知の滅菌技術で組成物を滅菌することもできるし、又は濾過滅菌することもできる。得られた組成物をそのまま、又は凍結乾燥して、使用のためにパッケージングすることができ、凍結乾燥した調製物は、投与前に滅菌液と合わせる。組成物は、生理学的条件に近づけるのに必要な、pH調節及び緩衝剤、張性調節剤、湿潤剤などの薬学的に許容される補助物質、例えば、酢酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、モノラウリン酸ソルビタン、オレイン酸トリエタノールアミンなどを含有してもよい。

【0117】

治療方法

有効な血糖コントロールによる実質的な非外科的減量は、依然として2型糖尿病患者の重要なアンメットニーズである。本明細書に記載する治療方法は、このニーズを満たすことができる。

【0118】

GLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）は、グルカゴンの作用、例えば、食物摂取の抑制又は血糖値の調節と、GLP-1の作用、例えば、胃運動性の抑制、又はインスリン放出の促進を組み合わせることができる。従って、これらは、過剰な脂肪組織の排除を加速し、持続可能な減量を誘導すると共に、血糖コントロールを改善することができる。GLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）はまた、高コレステロール、及び高LDL-コレステロール又は異常なHDL／LDL比などの心血管リスク因子を低減するように作用することもできる。GLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）は、さらに、トリグリセリドを低減するように作用することもできる。

【0119】

本開示は、肥満又は肥満関連疾患若しくは障害を治療する方法を提供し、この方法は、治療を必要とする対象に、50～600 µg又は100～600 µg（例えば、50、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、又は600 µg）の本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）を投与するステップを含む。特定の事例では、投与は、食餌及び運動を補助するものである。さらに、肥満又は肥満関連疾患若しくは障害の治療のための50～600 µg又は100～600 µg（例えば、50、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、又は600 µg）のGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）が提供される。肥満又は肥満関連疾患若しくは障害の治療のための薬剤の製造における、50～600 µg又は100～600 µg（例えば、50、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、又は600 µg）の本明細書に記載するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）の使用も提供される。50～600 µg又は100～600 µgの本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）は、単回又は分割用量で投与することができる。さらに、50～600 µg又は100～600 µgの本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）は、漸増用量（例えば、100 µgの初期用量、150又は200 µgの第2用量、並びに任意選択で、200、300若しくは400 µgの第3用量といった用量漸増法、例えば、その際、初期用

10

20

30

40

50

量及び／若しくは第2用量は、3～10日間又は3～7日間投与する）で投与することができる。特定の事例では、対象は、2型糖尿病を有する。特定の事例では、対象は、30～39.9 kg/m²のボディマスインデックス（BMI）を有する。特定の事例では、対象は、少なくとも40のBMIを有する。

【0120】

本開示は、減量方法も提供し、この方法は、治療を必要とする対象に、50～600 µg又は100～600 µg（例えば、50、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、又は600 µg）の本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）を投与するステップを含む。50～600 µg又は100～600 µgの本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）は、単回又は分割用量で投与することができる。さらに、50～600 µg又は100～600 µgの本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）は、漸増用量（例えば、100 µgの初期用量、150又は200 µgの第2用量、並びに任意選択で、200、300若しくは400 µgの第3用量といった用量漸増法、例えば、その際、初期用量及び／若しくは第2用量は、3～10日間又は3～7日間投与する）で投与することができる。特定の事例では、対象は、2型糖尿病を有する。特定の事例では、対象は、27～40 kg/m²のBMIを有する。特定の事例では、対象は、30～39.9 kg/m²のBMIを有する。特定の事例では、対象は、少なくとも40のBMIを有する。特定の事例では、対象は過剰体重である。特定の事例では、対象は肥満である。

【0121】

本開示は、体脂肪を減らす方法も提供し、この方法は、治療を必要とする対象に、50～600 µg又は100～600 µg（例えば、50、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、又は600 µg）の本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）を投与するステップを含む。50～600 µg又は100～600 µgの本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）は、単回又は分割用量で投与することができる。さらに、50～600 µg又は100～600 µgの本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）は、漸増用量（例えば、100 µgの初期用量、150又は200 µgの第2用量、並びに任意選択で、200、300若しくは400 µgの第3用量といった用量漸増法、例えば、その際、初期用量及び／若しくは第2用量は、3～10日間又は3～7日間投与する）で投与することができる。特定の事例では、対象は、2型糖尿病を有する。特定の事例では、対象は、27～40 kg/m²のBMIを有する。特定の事例では、対象は、30～39.9 kg/m²のBMIを有する。特定の事例では、対象は、少なくとも40のBMIを有する。特定の事例では、対象は過剰体重である。特定の事例では、対象は肥満である。特定の事例では、脂肪は、肝臓脂肪である。肝臓脂肪の減少によって、インスリン感受性の増大及び／又は肝機能の改善を達成することができる。特定の事例では、対象の肝臓脂肪は、少なくとも20%減少する。特定の事例では、対象の肝臓脂肪は、約20%～約40%減少する。特定の事例では、投与によって、肝臓脂肪の約三分の一の減少が達成される。特定の事例では、対象の肝体積は縮小する。特定の事例では、投与によって、ヘモグロビンA1c（HbA1c）レベルが（例えば、少なくとも0.6%、少なくとも0.9%、約0.5%～約1.5%、約0.5%～約2%、約0.5%～約3%、又は6.3%以上）低下する。

【0122】

本開示は、さらに、体重を管理する方法も提供し、この方法は、治療を必要とする対象に、50～600 µg又は100～600 µg（例えば、50、100、125、150

、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、又は600 μ g)の本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド(例えば、MED10382)を投与するステップを含む。50～600 μ g又は100～600 μ gの本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド(例えば、MED10382)は、単回又は分割用量で投与することができる。さらに、50～600 μ g又は100～600 μ gの本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド(例えば、MED10382)は、漸増用量(例えば、100 μ gの初期用量、150又は200 μ gの第2用量、並びに任意選択で、200、300若しくは400 μ gの第3用量といった用量漸増法、例えば、その際、初期用量及び／若しくは第2用量は、3～10日間又は3～7日間投与する)で投与することができる。特定の事例では、投与は、食餌及び運動を補助するものである。特定の事例では、対象は、2型糖尿病を有する。特定の事例では、対象は、27～40 kg/m^2 のBMIを有する。特定の事例では、対象は、30～39.9 kg/m^2 のBMIを有する。特定の事例では、対象は、少なくとも40のBMIを有する。特定の事例では、対象は過剰体重である。特定の事例では、対象は肥満である。

【0123】

本開示は、さらに、非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)を治療する方法も提供し、この方法は、治療を必要とする対象に、50～600 μ g又は100～600 μ g(例えば、50、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、又は600 μ g)の本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド(例えば、MED10382)を投与するステップを含む。50～600 μ g又は100～600 μ gの本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド(例えば、MED10382)は、単回又は分割用量で投与することができる。さらに、50～600 μ g又は100～600 μ gの本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド(例えば、MED10382)は、漸増用量(例えば、100 μ gの初期用量、150又は200 μ gの第2用量、並びに任意選択で、200、300若しくは400 μ gの第3用量といった用量漸増法、例えば、その際、初期用量及び／若しくは第2用量は、3～10日間又は3～7日間投与する)で投与することができる。特定の事例では、投与は、食餌及び運動を補助するものである。投与によって、体重を減らす、又は肥満を治療することもできる。特定の事例では、対象は、27～40 kg/m^2 のBMIを有する。特定の事例では、対象は、30～39.9 kg/m^2 のBMIを有する。特定の事例では、対象は、少なくとも40のBMIを有する。特定の事例では、対象は過剰体重である。特定の事例では、対象は肥満である。

【0124】

本明細書に記載するように、50～600 μ g又は100～600 μ g(例えば、50、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、又は600 μ g)の本明細書に記載のGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド(例えば、MED10382)は、増量の予防、脂肪(例えば、肝臓脂肪)増加の予防、減量の促進、脂肪(例えば、肝臓脂肪)減少の促進、過剰体重の低減、脂肪(例えば、肝臓脂肪)の低減、又は病的肥満を含む肥満の治療(例えば、食欲、給餌、食物摂取、カロリー摂取、及び／又はエネルギー消費の管理により)のために投与することができる。エネルギー消費の増加は、例えば、肝臓中の脂肪酸及び／又はグルコースの酸化増大によって達成され得る。本開示は、さらに、過剰体重又は過剰体脂肪に起因する、若しくはそれらを特徴とする疾患又は病状を治療又は予防する方法も提供し、この方法は、治療を必要とする対象に、50～600 μ g又は100～600 μ g(例えば、50、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、又は600 μ g)の本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド(例えば、MED10

382)を投与するステップを含む。特定の実施形態では、投与は、食餌及び運動を補助するものである。さらに、50～600 µg又は100～600 µg（例えば、50、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、又は600 µg）の本明細書に記載のGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED I 0382）は、他の肥満関連代謝障害の治療のために使用することもできる。50～600 µg又は100～600 µgの本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED I 0382）は、単回又は分割用量で投与することができる。さらに、50～600 µg又は100～600 µgの本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED I 0382）は、漸増用量（例えば、100 µgの初期用量、150又は200 µgの第2用量、並びに任意選択で、200、300若しくは400 µgの第3用量といった用量漸増法、例えば、その際、初期用量及び／若しくは第2用量は、3～10日間又は3～7日間投与する）で投与することができる。他の肥満関連（過剰体重関連）障害の例を以下に挙げるが、これらに限定されるわけではない：インスリン抵抗性、耐糖能障害、糖尿病前期、空腹時血糖値上昇、2型糖尿病、高血圧、脂質異常症（又はこれら代謝リスク因子の組み合わせ）、グルカゴン産生腫瘍、心血管疾患、例えば、うっ血性心不全、アテローム性動脈硬化（atherosclerosis）、動脈硬化、冠動脈性心疾患、又は抹消動脈疾患、発作、呼吸不全、又は腎疾患。

【0125】

本開示は、さらに、2型糖尿病を治療する方法も提供し、この方法は、治療を必要とする対象に、50～600 µg又は100～600 µg（例えば、50、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、又は600 µg）の本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED I 0382）を投与するステップを含む。50～600 µg又は100～600 µgの本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED I 0382）は、単回又は分割用量で投与することができる。さらに、50～600 µg又は100～600 µgの本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED I 0382）は、漸増用量（例えば、100 µgの初期用量、150又は200 µgの第2用量、並びに任意選択で、200、300若しくは400 µgの第3用量といった用量漸増法、例えば、その際、初期用量及び／若しくは第2用量は、3～10日間又は3～7日間投与する）で投与することができる。特定の事例では、投与は、食餌及び運動を補助するものである。投与によって、体重を減らす、又は肥満を治療することもできる。特定の事例では、対象は、27～40 kg/m²のBMIを有する。特定の事例では、対象は、30～39.9 kg/m²のBMIを有する。特定の事例では、対象は、少なくとも40のBMIを有する。特定の事例では、対象は過剰体重である。特定の事例では、対象は肥満である。

【0126】

本開示は、さらに、血糖コントロールを改善する、又は血糖コントロールを達成する方法も提供し、この方法は、治療を必要とする対象に、50～600 µg又は100～600 µg（例えば、50、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、又は600 µg）の本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED I 0382）を投与するステップを含む。50～600 µg又は100～600 µgの本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED I 0382）は、単回又は分割用量で投与することができる。さらに、50～600 µg又は100～600 µgの本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED I 0382）は、漸増用量（例えば、100 µgの初期用量、150又は200 µgの第2用量、並びに任意選択で、200、3

00若しくは400 μg の第3用量といった用量漸増法、例えば、その際、初期用量及び／若しくは第2用量は、3～10日間又は3～7日間投与する）で投与することができる。特定の事例では、投与は、食餌及び運動を補助するものである。投与によって、体重を減らす、又は肥満を治療することもできる。特定の事例では、対象は、2型糖尿病を有する。特定の事例では、対象は、27～40 kg/m^2 のBMIを有する。特定の事例では、対象は、30～39.9 kg/m^2 のBMIを有する。特定の事例では、対象は、少なくとも40のBMIを有する。特定の事例では、対象は過剰体重である。特定の事例では、対象は肥満である。血糖コントロールの改善は、混合食試験を用いて評価することができる。特定の事例では、血糖コントロールの改善によって、混合食試験後の濃度－時間曲線下グルコース面積（AUC）の少なくとも10%減少（例えば、処置前のAUCと比較して）がもたらされる。特定の事例では、血糖コントロールの改善によって、混合食試験後のAUCの少なくとも15%減少（例えば、処置前のAUCと比較して）がもたらされる。特定の事例では、血糖コントロールの改善によって、混合食試験後のグルコースAUCの少なくとも20%減少（例えば、処置前のAUCと比較して）がもたらされる。特定の事例では、血糖コントロールの改善によって、混合食試験後のグルコースAUCの少なくとも25%減少（例えば、処置前のAUCと比較して）がもたらされる。特定の事例では、血糖コントロールの改善によって、混合食試験後のグルコースAUCの少なくとも30%減少（例えば、処置前のAUCと比較して）がもたらされる。血糖コントロールの改善は、ヘモグロビンA1c及びフルクトサミンに基づいて評価することもできる。

【0127】

本開示は、さらに、減量及び血糖コントロールの方法も提供し、この方法は、治療を必要とする対象に、50～600 μg 又は100～600 μg （例えば、50、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、又は600 μg ）の本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）を投与するステップを含む。50～600 μg 又は100～600 μg の本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）は、単回又は分割用量で投与することができる。さらに、50～600 μg 又は100～600 μg の本明細書に開示するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）は、漸増用量（例えば、100 μg の初期用量、150又は200 μg の第2用量、並びに任意選択で、200、300若しくは400 μg の第3用量といった用量漸増法、例えば、その際、初期用量及び／若しくは第2用量は、3～10日間又は3～7日間投与する）で投与することができる。特定の事例では、投与は、食餌及び運動を補助するものである。投与によって、体重を減らす、又は肥満を治療することもできる。特定の事例では、対象は、2型糖尿病を有する。特定の事例では、対象は、27～40 kg/m^2 のBMIを有する。特定の事例では、対象は、30～39.9 kg/m^2 のBMIを有する。特定の事例では、対象は、少なくとも40のBMIを有する。特定の事例では、対象は過剰体重である。特定の事例では、対象は肥満である。特定の事例では、投与によって、少なくとも1.0 kg 、少なくとも1.3 kg 、又は少なくとも2.0 kg の減量が達成される。特定の事例では、対象の体重は、少なくとも3.5 kg 又は少なくとも5 kg 減少する。特定の事例では、対象の体重は、約2～約30 kg 減少する。特定の事例では、対象の体重は、少なくとも2%、少なくとも4%、少なくとも5%、又は少なくとも10%減少する。特定の事例では、対象の体重は、約2%～約20%、約2%～約25%、又は約2%～約30%減少する。

【0128】

特定の事例では、本明細書に記載するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）の投与によって、少なくとも1 kg の減量が達成される。特定の事例では、本明細書に記載するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）の投与によって、少なくとも1.3 kg の減量が達成される。特定の事例では、本明細書に記載するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドの投与によっ

て、少なくとも1.5 kgの減量が達成される。特定の事例では、本明細書に記載するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）の投与によって、4週間にわたる1日1回の反復投与後に、1～3 kgの減量がもたらされる。特定の事例では、本明細書に記載するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）の投与によって、4週間にわたる1日1回の反復投与後に、1.3～2 kgの減量がもたらされる。

【0129】

本明細書に記載するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）の投与経路は、例えば、経口、非経口、吸入又は局部であってよい。本明細書で用いる場合、用語「非経口」は、例えば、静脈内、動脈内、腹腔内、筋内、皮下、直腸、又は腔内投与を含む。投与のための別の形態例として、注射液、特に、静脈内又は動脈内注射又は滴注用の溶液がある。本明細書に記載するGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）は、単回用量又は複数回用量として投与することができる。特定の実施形態では、50～600 µg又は100～600 µg（例えば、50、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、又は600 µg）のGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドを、皮下注射により投与する。

【0130】

非経口製剤は、単回ボラス用量、注入又は負荷ボラス用量（loading bolus dose）に続く維持用量であってよい。これらの組成物は、特定の一定又は変動間隔、例えば、1日1回、又は「必要に応じた」基準に基づき、投与することができる。また、要望される最適応答（例えば、治療又は予防応答）をもたらすように、投与レジメンを調節することもできる。

【0131】

特定の事例では、50～600 µg又は100～600 µg（例えば、50、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、又は600 µg）の本明細書に記載のGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）は、1日1回投与することができる。特定の事例では、50～600 µg又は100～600 µg（例えば、50、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、又は600 µg）の本明細書に記載のGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）は、注射（例えば、皮下投与）により1日1回投与することができる。特定の事例では、50～600 µg又は100～600 µg（例えば、50、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、又は600 µg）の本明細書に記載のGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）は、注射（例えば、皮下投与）により1日1回投与することができる。特定の事例では、50～600 µg又は100～600 µg（例えば、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、又は600 µg）の本明細書に記載のGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）は、単一用量又は分割用量で投与することができる。特定の事例では、50～600 µg又は100～600 µg（例えば、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、又は600 µg）の本明細書に記載のGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）は、漸増用量（例えば、100 µgの初期用量、15

10

20

30

40

50

0又は200 μ gの第2用量、並びに任意選択で、200、300若しくは400 μ gの第3用量といった用量漸増法、例えば、その際、初期用量及び／若しくは第2用量は、3～10日間又は3～7日間投与する）で投与することができる。特定の事例では、本明細書に記載のGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）は、初期用量として100 μ gを4日間、第2用量として150 μ gを4日間投与し、第3用量として200 μ gを毎日投与することができる。特定の事例では、本明細書に記載のGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）は、初期用量として100 μ gを5日間、第2用量として150 μ gを5日間、第3用量として200 μ gを5日間投与し、第4用量として300 μ gを毎日投与することができる。特定の事例では、明細書に記載のGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）は、初期用量として100 μ gを5日間、第2用量として200 μ gを5日間投与し、第3用量として300 μ gを毎日投与することができる。

10

【0132】

特定の事例では、明細書に記載のGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）の半減期は、約7～約13時間である。特定の事例では、明細書に記載のGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）の半減期は、約9～約13時間である。特定の事例では、明細書に記載のGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）の半減期は、約7～約12時間である。特定の事例では、明細書に記載のGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）の半減期は、約10～約12時間である。特定の事例では、明細書に記載のGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチド（例えば、MED10382）の半減期は、約8～約11時間である。

20

【0133】

キット

また別の実施形態では、本開示は、GLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドを含むキットを提供し、これは、本明細書に記載の方法を実施するために用いることができる。特定の実施形態では、キットは、1つ又は複数の容器に入った、本明細書に開示のGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドを含む。当業者であれば、当分野では公知の確立されたキットフォーマットの1つに、開示されるGLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドを容易に組み込むことができることを容易に認識されよう。

30

【実施例】

【0134】

実施例1：GLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドの合成、修飾、及び特性決定
略語のリスト：

Boc：tert-ブチロキシカルボニル

tert-Bu：tert-ブチル

DCM：ジクロロメタン

DIC：ジイソプロピルカルボジイミド

Fmoc：9-フルオレニルメトキシカルボニル

HOBt：1-ヒドロキシベンゾトリアゾール

40

HPLC：高性能液体クロマトグラフィー

Mtt：4-メチルトリチル

NMP：N-メチルピロリドン

Pbf：2, 2, 4, 6, 7-ペンタメチルジヒドロベンゾフラン-5-スルホニル

TFA：トリフルオロ酢酸

TIS：トリイソプロピルシラン

Trt：トリフェニルメチル、トリチル

【0135】

GLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドを以下のように合成した： NovaSyn TGR又は予めロードしたFmoc-Wang樹脂（NovaBiochem）上でのペ

50

プチド鎖の伸長を、PRELUDE（商標）固相ペプチド合成装置（Protein Technologies, Tucson, AZ, USA）を用いて実施した。N-メチルピロリドン（NMP）でのアミノ酸のヒドロキシベンゾトリアゾールエステルのカップリングのために製造者供給のプロトコルを適用した。アミノポリエチレングリコールのアミノ基及びアミノ酸の α アミノ基の半永久的保護のために、フルオレニルメトキシカルボニル（Fmoc）基を使用し、セリン、トレオニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、チロシンについてはtert-ブチル（tert-Bu）で、アルギニンについては2, 2, 4, 6, 7-ペンタメチルジヒドロベンゾフラン-5-スルホニル（Pbf）で、また、ヒスチジンについてはトリチル（Trt）で、側鎖を保護した。1位のヒスチジンのN末端アミノ基をtert-ブチロキシカルボニル基（Boc）で保護した。続いて側鎖の化学修飾が必要であれば、Lys（Mtt）をペプチド鎖に組み込んだ。

10

【0136】

ペプチド鎖伸長が終了したら、2% TFA及び5% TISを含有するDCM（10×7 ml、各0.5分）で、ペプチド樹脂を洗浄することにより、Mtt基を除去した。脂質部分とLysの側鎖のカップリングを、HOBtの存在下で、カップリング試薬としてDICを用い、PRELUDE（商標）ペプチド合成装置で実施した。

【0137】

TFA:TIS:水（95:2.5:2.5）の混合物を用いて、樹脂からペプチドを切断した。室温で2時間後、ペプチジル樹脂を濾過し、TFAで洗浄した後、合わせた濾液を真空で乾燥まで蒸発させた。残留物をエーテルと一緒に粉碎し、形成された沈殿物を濾過し、エーテルで洗浄した後、乾燥させた。粗ペプチドを水中の5%酢酸に溶解させ、Varian 920-LCシステムに取り付けたPolaris 3 C8-Aカラム上の逆相高速液体クロマトグラフィーにより分析した。15分間にわたる10~90%バッファーBの標準勾配システムを分析に用いた。バッファーAは、水中0.1% TFAであり、バッファーBは、アセトニトリル中0.1% TFAであった。HPLCプロフィールを210 nmで記録した。半分取C18 RP XBridge Watersカラムを用いたVarian ProStarシステムで分取を実施した。30分間にわたる、30~70%バッファーBの勾配で、水及びアセトニトリルの前述した溶媒系を分離に用いた。クロマトグラフィーにより均質な産物（>97%純度）をエレクトロスプレー質量分析により分析した（Mass Lynx, Waters）。

20

30

【0138】

実施例2: in vitro試験

グルカゴン及びGLP-1受容体媒介cAMP生成

細胞cAMP活性アッセイにおけるペプチドの生物学的活性（アッセイ1）:

実施例1の方法により合成したGLP-1/グルカゴンアゴニストペプチドの生物学的活性を、生物学的活性、例えば、1つ又は複数の細胞受容体応答の刺激について、下記の方法により試験した。ヒト、マウス、ラット、又はイヌGLP-1受容体（GLP-1R）、グルカゴン受容体（GCGR）又はグルコース依存性インスリン分泌性ペプチド（胃抑制ポリペプチド）受容体（GIPR）を発現する安定な細胞株を、標準的方法によりHEK293又はCHO細胞において産生させた。これら各種受容体のペプチド活性化により、cAMPセカンドメッセンジャーの下流生産が起こるが、これは、機能活性アッセイで測定することができる。

40

【0139】

「アッセイ培地」を使用して、cAMPアッセイを実施した:

アッセイ培地: 0.5 mM IBMX（Sigma #I7018）を含有する、DMEM（Gibco #41966）中の10% FBS。

低タンパク質結合384ウェルプレート（Greiner #781280）を用いて、アッセイ培地で作製した試験サンプルの11回の1:5連続希釈を実施した。サンプル希釈物は全て、2回反復して作製した。

【0140】

50

目的の受容体を発現する細胞の凍結クライオバイアル (cryo-vial) を水浴中で急速に解凍し、予熱したアッセイ培地に移した後、 $240\times g$ で5分回転させた。最適化濃度 (例えば、 1×10^5 細胞/mlのhGCGR細胞、 0.5×10^5 細胞/mlのhGLP-1R及びhGIPr細胞) で、細胞をアッセイ培地に再懸濁させた。

【0141】

希釈プレートから、5 μ Lレプリカを黒色浅型ウェル (shallow-well) U底384ウェルプレート (Corning #3676) にスタンプした。これに、5 μ L細胞懸濁液を添加して、プレートを室温で30分インキュベートした。

【0142】

市販のcAMPダイナミック2HTRFキット (Cisbio、Cat #62AM4PEJ) を用いて、cAMPレベルを測定した後、製造業者の推奨事項に従い、2つのステッププロトコルを実施した。手短には、抗cAMPクリプテート (ドナー発蛍光団) 及びcAMP-d2 (アクセプター発蛍光団) を、キットに備えられたコンジュゲート及び溶解バッファーで各々1/20希釈することにより、個別に作製した。5 μ Lの抗cAMPクリプテートをアッセイプレートの全てのウェルに添加し、5 μ LのcAMP-d2を、非特異的結合 (NSB) ウェル以外の全てのウェルに添加し、これらにコンジュゲート及び溶解バッファーを添加した。プレートを室温で1時間インキュベートした後、励起波長320nm及び発光波長620nm及び665nmを用いて、Envision (Perkin Elmer) で読み取った。

【0143】

合成GLP-1/グルカゴンアゴニストペプチドの配列、並びに「アッセイ培地」中で実施するcAMPアッセイにおいて決定されたそれらのEC50値を表2に示す。表2に示すペプチドは全て、C末端アミドを伴って合成された。別のGLP-1/グルカゴンアゴニストペプチドは、C末端アミノ酸を伴って合成され、「アッセイ培地」中で実施するcAMPアッセイで決定されたEC50値を表3に示す。「アッセイ培地」中で実施する、更なるGLP-1/グルカゴンアゴニストペプチドのEC50を表4に示す。表4に示すペプチドは全て、「酸」と表示されていない限り、C末端アミドを有し、酸と表示されている場合には、それらはC末端酸を有する。

【0144】

10

20

30

40

50

【表 2】

表 2: C 末端アミドを有する GLP-1/グルカゴンアゴニストペプチドの cAMP 活性
(アッセイ 1)

	アッセイ培地中でのアッセイ		
ペプチド	ヒト GlucR EC50	ヒト GLP1R EC50	ヒト GIPr EC50
	M	M	M
G730	6.23E-12	1.8E-11	4.5E-08
G797	6.14E-12	1.4E-11	3.4E-09
G849	2.26E-12	9.0E-12	1.7E-08
G865	1.26E-11	8.3E-12	2.2E-08
G796	1.76E-12	1.3E-11	1.4E-08
G812	8.17E-12	1.1E-11	2.7E-09
G380	2.17E-10	7.7E-11	1.3E-07
GLP1		8.1E-11	
グルカゴン	3.3E-12		

【 0 1 4 5 】

【表 3】

表 3: C 末端酸を有する GLP-1/ グルカゴンアゴニストペプチドの cAMP 活性
(アッセイ 1)

ペプチド	ヒト GlucR EC50	ヒト GLP1R EC50	ヒト GIPr EC50
	M	M	M
G931	1.78E-11	1.30E-10	0.00E+00
G933	5.92E-12	3.20E-11	9.70E-09
G934	6.30E-12	1.80E-11	3.60E-09
G973	8.90E-12	1.20E-11	4.70E-08

【 0 1 4 6 】

【表 4】

表 4:更なる GLP-1/グルカゴンアゴニストペプチドの cAMP 活性(アッセイ 1)

このセクションにおける親配列 HSQGT FTSDY SKYLD SRRAQ DFVQW LVAGG ペプチドは全て、残基 26～30 に LVAGG を含む				
	hGlucR	hGLP1R	hGIPR	パルミトイル化の部位及び 種類、親配列中の置換
	EC50 M	EC50 M	EC50 M	
グルカゴン	3.3E-12	4.2E-09	1.99E-07	
GLP1	1.53E-07	8.1E-11	1.53E-07	
g715	2.53E-12	2.04E-11	9.98E-10	K(gE-palm)10
g716	2.46E-09	1.29E-08	1.18E-08	K(gEpalm)11

10

【 0 1 4 7 】

20

30

40

50

【表 5】

g702	1.49E-09	3.35E-09	0.00E+00	K(gEpalm)12, E17
g728	2.44E-09	1.69E-10	3.95E-07	K(gEpalm)12, E17 R20 A24
g729	3.19E-11	7.29E-11	2.09E-07	K(gEpalm)13 E17
g730	1.50E-11	3.95E-11	5.66E-08	K(gEpalm)13 E17 R20 A24
g875	1.29E-10	2.98E-11	2.90E-08	K(gEpalm)13 R20 A24, E17 Aib2
g841	データなし			K(gEpalm)13 R20 A24, S18 R12 酸
g802	1.81E-09	9.64E-11	9.12E-08	K(gEpalm)13, R20 A24, E17, E12
g820	1.17E-11	3.39E-11	7.11E-08	K(gEpalm)13, R20 A24, E17, R12
g842	8.31E-12	5.12E-11	8.83E-08	K(gEpalm)13, R20 A24, E17, R12 酸
g733	6.20E-08	2.31E-11	8.17E-07	K(gEpalm)14, G2 E3
g803	1.08E-11	2.96E-11	3.29E-08	K(gEpalm)14, R20 E24, S18
g843	データなし			K(gEpalm)14, R20 E24, S18 R12 酸
g732	3.96E-11	2.32E-11	2.94E-08	K(gEpalm)14, R20 A24, E17 G2
g777	1.24E-12	2.74E-11	4.53E-09	K(gEpalm)14, R20 A24, E17
g844	データなし			K(gEpalm)14, R20 A24, E17 R12 Aib2 酸
g845	データなし			K(gEpalm)14, R20 A24, E17 R12 酸
g821	4.63E-12	5.58E-11	1.40E-08	K(gEpalm)14, R20 A24, E17, R12
g846	3.41E-11	4.38E-11	1.18E-08	K(gEpalm)14, R20 A24, E17, E12
g731	2.77E-11	4.22E-11	4.07E-08	K(gEpalm)14, E12
g670	8.00E-12	2.03E-11	1.49E-08	K(gEpalm)14, S18
g335	1.05E-11	7.33E-11	5.82E-07	K(gE-palm)17
g336	1.77E-12	3.66E-11	1.96E-08	K(gE-gE-palm)17
g384	4.29E-11	2.72E-11	1.70E-08	K(gEpalm)17, Aib2
g380	3.62E-10	1.00E-10	6.09E-07	K(gEpalm)17, G2
g736	9.19E-10	8.54E-11	0.00E+00	K(gEpalm)17, G2, A20 A24
g381	1.93E-09	9.08E-11	5.45E-07	K(gEpalm)17, E3
g678	4.52E-09	1.06E-10	1.23E-07	K(gEpalm)17, G2 E20
g599, g688	6.98E-11	1.20E-10	1.12E-07	K(gEpalm)17, E20
g679	1.89E-10	1.35E-10	1.17E-07	K(gEpalm)17, G2 E24
g600, g689	5.47E-12	6.66E-11	8.28E-08	K(gEpalm)17, E24
g680	3.68E-09	1.95E-10	9.67E-08	K(gEpalm)17, G2 E20 E24
g639	8.21E-08	2.44E-10	8.21E-08	K(gEpalm)17, S2 E3 E20 E24
g681	3.99E-08	2.83E-10	1.24E-07	K(gEpalm)17, G2, E3 E20 E24
g720	3.52E-10	5.34E-11	0.00E+00	K(gEpalm)17, G2 R20 E24 R12
g660	1.52E-09	1.06E-09	3.32E-07	K(gEpalm)17, G2 R20 E24

【 0 1 4 8 】

10

20

30

40

50

【表 6】

g835	4.24E-10	1.91E-10	9.72E-08	K(gEpalm)17, R20 E24, E12
g776	4.65E-12	7.02E-11	4.79E-08	K(gEpalm)17, R20 E24
g823	9.48E-12	9.73E-11	8.42E-08	K(gEpalm)17, R20 E24, R12
g867	7.04E-12	4.48E-11	4.17E-08	K(gEpalm)17, R20 A24
g736	9.20E-10	8.54E-11	0.00E+00	K(gEpalm)17, A20 A24, G2
g737	7.34E-07	8.14E-11	0.00E+00	K(gEpalm)17, A20 A24, G2 E3
g675	3.84E-08	1.51E-10	1.61E-06	K(gEpalm)17, E12 R20 A24 G2
このセクションにおける親配列 HSQGT FTSDY SKYLD SRRAQ DFFVQW LEAGG ペプチドは全て、例えば LERGG のような別に記載のない限り、 残基 26 から前方に配列 LEAGG を有する。				
	hGlucR	hGLPIR	hGIPR	パルミトイル化の部位及び種類、 親配列中の置換
	EC50 M	EC50 M	EC50 M	
g717	4.55E-13	5.77E-12	1.48E-09	K(gEpalm)10, LEAGG
g796	1.81E-12	1.40E-11	1.74E-08	K(gEpalm)10, LEAGG, R20 A24 S12
g847	データなし			K(gEpalm)10, LEAGG, R20 A24 S18 E12 Aib2 酸
g797	9.64E-12	2.26E-11	4.64E-09	K(gEpalm)10, LEAGG, R20 A24 E17 E12
g798	5.10E-13	9.07E-12	1.51E-09	K(gEpalm)10, LEAGG, R20 A24 E17
g848	9.66E-13	9.42E-12	2.77E-09	K(gEpalm)10, LEAGG, R20 A24 E17 R12
g849	2.28E-12	9.07E-12	1.81E-08	K(gEpalm)10, LEAGG, R20 A24 S18 R12
g701	3.83E-09	7.40E-09	0.00E+00	K(gEpalm)12, LERGG, G2 E17
g840	5.30E-12	1.45E-10	1.02E-07	LEAGG, R20 A24, E17
g824	1.05E-12	4.71E-11	5.74E-08	K(gEpalm)14, LEAGG, R20, E24
g780	7.92E-13	1.20E-11	6.40E-08	K(gEpalm)14, LEAGG, R20 A24
g601	4.93E-13	3.98E-11	7.41E-08	K(gEpalm)14, LEAGG
g816	1.10E-12	3.16E-11	2.00E-08	K(gEpalm)14, LEAGG, E17
g817	1.68E-12	2.51E-11	1.52E-08	K(gEpalm)14, LEAGG, A18
g876	1.04E-11	8.63E-11	7.90E-08	K(gEpalm)14, LEAGG, R20, E24, E12
g805	1.44E-12	2.28E-11	9.97E-08	K(gEpalm)14, LEAGG, R20 E24
g850	2.19E-12	2.12E-11	8.96E-08	K(gEpalm)14, LEA, R20, A24, S18 R12
g836	1.55E-11	1.24E-10	1.00E-07	K(gEpalm)14, LEAGG, R20 E24, E17
g804	1.95E-12	7.15E-11	9.97E-08	K(gEpalm)14, LEA, R20, A24
g618	データなし			K(Ahx-palm)20, LEKGR
g781	2.86E-12	1.04E-10	4.02E-07	K(gEpalm)16, LEAGG, R20 A24
g782	1.56E-10	2.54E-11	1.43E-06	K(gEpalm)18, LEAGG, R20 A24
g744	3.92E-11	2.45E-09	0.00E+00	K(gE-palm)20, LEAGG
g746	3.54E-11	1.15E-08	0.00E+00	K(gE-palm)24, LEAGG
g747	9.42E-11	3.16E-09	1.04E-06	K(gE-palm)31, LEAGG
g512	6.06E-11	9.80E-11	4.07E-07	K(gEpalm)17, LEAGG, G2,
g513	7.23E-10	1.75E-10	2.98E-07	K(gEpalm)17, LEAGG, E3,
g734	8.28E-08	6.95E-11	1.17E-06	K(bA-palm)17, LEAGG, R20 A24, E3 E12

【 0 1 4 9 】

10

20

30

40

50

【表 7】

g837	2.13E-10	4.67E-10	1.14E-07	K(gE-palm)17, LEAGG, R20 A24 E12
g838	5.68E-12	2.37E-11	8.43E-08	K(Ahx-palm)17, LEAGG, R20 A24 E12
g783	9.11E-11	4.24E-11	8.46E-07	K(bA-palm)17, LEAGG, R20 A24 E12
g851	データなし			K(bA-palm)17, LEAGG, R20 A24, R12 酸
g852	データなし			K(bA-palm)17, LEAGG, R20 A24, R12 Aib2 酸
g819	2.34E-12	1.80E-11	1.03E-07	K(bA-palm)17, LEAGG, R20 A24
g536	4.78E-12	7.45E-11	0.00E+00	
g600	5.47E-12	6.66E-11	1.24E-07	K(gE-palm)17, LVAGG, E24
g599	9.62E-11	8.76E-11	1.13E-07	K(gE-palm)17, LVAGG, E20
このセクションにおける親配列 HSQGT5 FTSDY10 SKYLD15 SRRAQ20 DFVQW25 LERGG-アミドペプチドは全て、例えば、LENT のような別の記載がない限り、残基 26 から前方に配列 LERGG を有する。				
	hGlucR	hGLP1R	hGIPR	パルミトイル化の部位及び種類、親配列中の置換
	EC50 M	EC50 M	EC50 M	
g825	3.67E-12	1.91E-11	8.67E-08	K(Ahx-palm)17, LENT, R20 E24, E12
g588	7.23E-11	1.10E-10	9.80E-08	K(gE-palm)17, LERGG, G2,
g614	3.65E-12	9.31E-12	9.93E-08	K(Ahx-palm)17, LERGG, E12
g684	1.64E-10	1.51E-11	1.46E-07	K(Ahx-palm)17, LERGG, R20 A24 E12 G2
g721	3.23E-09	4.11E-10	9.79E-07	K(gE-palm)17, LERGG, R20 A24 E12 G2
g724	3.09E-08	1.90E-11	9.33E-07	K(Ahx-palm)17, LERGG, R20 A24 E12 G2 E3
g772	1.84E-10	2.92E-10	1.54E-06	K(gE-palm)17, LERGG, R20 A24 E12
g795	1.10E-10	7.34E-11	5.79E-07	K(bA-palm)17, LERGG, R20 A24 E12
g794	4.69E-12	1.57E-11	3.22E-08	K(Ahx-palm)17, LERGG, R20 A24 E12
g826	4.23E-12	2.93E-11	5.80E-08	K(Ahx-palm)17, LERGG, R20 A24 E12 酸
g727	2.18E-10	2.63E-11	1.77E-07	K(Ahx-palm)17, LERGG, R20 A24 E12 G2 酸
g683	3.72E-10	1.59E-11	1.26E-07	K(Ahx-palm)17, LERGG, A20 A24 E12 G2
g722	1.11E-08	4.26E-10	1.67E-06	K(gE-palm)17, LERGG, A20 A24 E12 G2
g725	5.99E-08	2.52E-11	1.48E-06	K(Ahx-palm)17, LERGG, A20 A24 E12 G2 E3
g818	8.90E-12	2.10E-11	9.40E-08	K(Ahx-palm)17, LERGG, A20 A24 E12
g682	1.95E-10	1.43E-11	1.22E-07	K(Ahx-palm)17, LERGG, R20 E24 E12 G2
g723	8.95E-09	3.30E-10	7.61E-07	K(gE-palm)17, LERGG, R20 E24 E12 G2
g726	1.31E-08	7.91E-12	2.15E-07	K(Ahx-palm)17, LERGG, R20 E24 E12 G2 E3
g771	5.51E-12	1.75E-11	3.71E-08	K(Ahx-palm)17, LERGG, R20 E24 E12

10

20

30

40

【 0 1 5 0 】

50

【表 8】

g617	データなし			K(Ahx-palm)20, LERGG, G2, E12,
g787	4.36E-11	6.65E-09	0.00E+00	K(Ahx-palm)20, LERGG, A24 E17
g806	9.9E-12	1.71E-10	1.05E-07	K(Ahx-palm)21, LERGG, A18
g616	データなし			K(Ahx-palm)24, LERGG, G2, E12
g701	3.83E-09	7.4E-09	0.00E+00	K(gEpalm)12, LERGG, G2 E17
このセクションにおける親配列 HSQGT5 FTSDY10 SKYLD15 SRRAQ20 DFFVQW25 LVAGG 伸長ペプチドは、C 末端から残基 30 に表示の残基と、C 末端アミドを有する。				
	hGlucR	hGLP1R	hGIPR	配列に対する伸長
	EC50 M	EC50 M	EC50 M	
g316	1.06E-11	3.14E-11	3.65E-09	SSGGSS
g317	0.00E+00	2.63E-09	0.00E+00	SSGGSS K
g318	9.04E-09	1.14E-09	0.00E+00	SSGGSSK(palm)
g402	5.96E-11	8.57E-11	0.00E+00	SGSGSG
g319	1.04E-11	3.61E-11	0.00E+00	PSSGA PPPSK
g320	3.20E-12	9.38E-12	1.01E-09	PSSGA PPPSK(palm)
g315	5.04E-12	2.73E-11	1.97E-08	GGGG
g325	1.03E-11	2.61E-11	0.00E+00	GGGGK
g326	2.82E-12	2.47E-11	1.26E-08	GGGGK(palm)
g327	2.32E-12	1.93E-11	1.28E-08	GGGGK(gEpalm)
g321	2.79E-11	2.72E-11	6.41E-09	KNNRNNIAK
g322	3.55E-12	1.06E-11	1.72E-09	KNNRNNIAK(palm)

略語: K(gE-palm) = γ グルタミン酸リンカーを介して ϵ 窒素と共役したパルミトイル基を有するリシン;
 K(Ahx-palm) = アミノヘキサン酸リンカーを介して、 ϵ 窒素と共役したパルミトイル基を有するリシン;
 K(bA-palm) = β アラニン酸リンカーを介して ϵ 窒素と共役したパルミトイル基を有するリシン; Aib, アミノイソ酪酸。K(palm) = ϵ 窒素と直接共役したパルミトイル基を有するリシン。

【0151】

様々な血漿中濃度の血清アルブミンの存在下でのグルカゴン及びGLP-1受容体媒介cAMP生成アッセイ（アッセイ2）。

以下のように、cAMP生成を誘導するペプチドのアゴニスト力価決定を、それぞれ4.4、3.2及び3.2%のヒト、ラット若しくはマウス血清アルブミンの存在下、ヒト、ラット若しくはマウスグルカゴン受容体（GlucR若しくはGCGRと略される）又はGLP-1受容体を発現するCHO細胞において測定した。

【0152】

ヒト、マウス若しくはラットGlucR又はGLP-1受容体の安定な組換え発現を有するCHO細胞をDMEM10%FBS及びゲネチシン（100 μ g/ml）中で培養した。凍結保存細胞ストックを2 $\times$ 10⁷/バイアルで、1 $\times$ 細胞凍結培地-DMSO血清不含有（Sigma Aldrich）中で調製し、-80℃で保存した。細胞を37℃で急速解凍してから、ヒト、ラット、及びマウス血清アルブミンについてそれぞれ4.4、3.2及び3.2%で血清アルブミンを含有するアッセイバッファー（DMEM）で希釈した。ペプチドをDMSOで順次希釈した後、表示の最終濃度で血清アルブミンを含有するDMEMで100倍希釈した。次に、希釈したペプチドを384黒色シャローウェルマイクロタイターアッセイプレートに移した。細胞をアッセイプレートに添加し、室温で30分間インキュベートした。インキュベーション後、アッセイを停止し、CisBio Bioassaysから入手可能なHTRF（登録商標）dynamic d2 cAMP

アッセイキットを用い、製造者のガイドラインに従って cAMP レベルを測定した。Perkin Elmer ENVISION（登録商標）蛍光プレートリーダーでプレートを読み取った。ヒト及びラット血清アルブミンは、Sigma Aldrich から購入し、マウス血清アルブミンは、Equitech Bio Ltd から購入した。

【0153】

製造者のガイドラインに記載されている通り、データを %ΔF に変換し、4-パラメータロジスティックフィットにより分析して、EC₅₀ 値を決定した。選択したペプチドのアッセイ 2 EC₅₀ 値を表 5 に示す。決定されたアッセイ 2 EC₅₀ 値は、組換え細胞株中の GLP-1 で試験したペプチド及びグルカゴン受容体の固有力価と、血清アルブミンに対するペプチドのアフィニティ（遊離ペプチドの量を決定する）の両方に依存的であった。血清アルブミンとの結合は、得られた EC₅₀ 値を高める。アルブミンの様々な血漿中濃度での遊離ペプチドの割合及び 0% HSA での EC₅₀ は、HSA 濃度による cAMP 生成の変動に基づいて計算することができる。例えば、G730 及び G933 は、4.4% HSA の遊離ペプチドについては、0.85% 及び 0.29%、並びに 0% HSA の GLP1R での EC₅₀ については、7 pM 及び 6 pM の値をそれぞれ付与した。G797 及び G849 は、4.4% HSA の遊離ペプチドについては、0.82% 及び 0.48%、並びに 0% HSA の GLP1R での EC₅₀ については、7 pM 及び 2 pM の値をそれぞれ付与した。異なるペプチド間で、及び異なる条件下で、GLP1R 及び GlucR での活性の均衡を比較するため、下記の計算を用いてこれらを相関させることができ、その際、EC₅₀ を天然のリガンドの EC₅₀ と関連付ける。

【0154】

【表 9】

表 5: 様々な血漿中濃度の血清アルブミンの存在下での GLP-1/グルカゴンアゴニストペプチドの EC₅₀ 力価 (アッセイ 2)

ペプチド	4.4% ヒト血清アルブミン 下でのアッセイ			3.2% マウス血清アルブミンの 下でのアッセイ			3.2% ラット血清アルブミン 下でのアッセイ		
	ヒト GLP1R EC ₅₀ pM	ヒト GlucR EC ₅₀ pM	ヒト GlucR/ GLP1R 比 ¹	マウス GLP1R EC ₅₀ pM	マウス GlucR EC ₅₀ pM	マウス GlucR/ GLP1R 比 ¹	ラット GLP1R EC ₅₀ pM	ラット GlucR EC ₅₀ pM	ラット GlucR/ GLP1R 比 ¹
G730	455	402	0.122	1100	5460	0.04	81	45080	0.06
G797	739	1137	0.07	290	764	0.08	60	23170	0.08
G849	172	79	0.235	88	103	0.17	44	4055	0.33
G933	943	564	0.179	540	377	0.29	136	15500	0.27
G865	150	570	0.027	96	1100	0.021	18	87100	0.01
G796	140	53	0.275	130	34	0.78	23	2000	0.36
G812	316	764	0.044	130	947	0.032	19	14100	0.04
G380	6543	53590	0.013	15000	576000	0.006			
GLP1	25			21			1.9		
グルカゴン		2.7		9700	4.97		557	60	

¹ GlucR/GLP1R 比は、以下のように決定した:

相対力価 GlucR = EC₅₀ グルカゴン / EC₅₀ 試験ペプチド

相対力価 GLP1R = EC₅₀ GLP1 / EC₅₀ 試験ペプチド

GlucR/GLP1R 比 = 相対力価 GlucR / 相対力価 GLP1R

【0155】

血漿中ペプチドの安定性試験。ペプチド G 7 3 0、G 7 9 7、G 8 4 9 及び G 9 3 3 の血漿中安定性を以下のように決定した。

【0156】

E p p e n d o r f L o w B i n d T u b e 内に固体ペプチドを計量して導入し、DMSO中に溶解させることにより、約200 μ mol/Lのペプチドのストック溶液を調製した。10 μ Lのストック溶液をE p p e n d o r f L o w B i n d T u b e 内の990 μ Lの血漿に添加して、初期濃度約2 μ mol/Lの血漿中ペプチドを得た。ヒト、ラット及びマウスからの凍結ブランク血漿を解凍し、温度37℃に加熱した後、ストック溶液を添加した。スパイクした血漿サンプルを穏やかに混合し、実験の開始前に、約5分間平衡させた。血漿サンプルをG a l a x y R C O₂インキュベータ内で37℃にて48時間インキュベートした。0、1、2、6、5、17、24及び48時間時点でサンプリング（30 μ L）を実施した。サンプルは、分析まで-70℃で保存した。

【0157】

血漿サンプルを次のようにしてアッセイした。30 μ Lの血漿サンプルは、96ウェルローバインドプレート（E p p e n d o r f P r o t e i n L o B i n d）内の180mLの低温エタノールで沈殿させたタンパク質であった。混合及び遠心分離後、100 μ Lの上清を新しいプレートに移し、1 μ Lを分析カラム上に注射した。

【0158】

ポジティブエレクトロスプレーイオン化と共に、中高分解能質量分析計（P e r k i n E l m e r P e n T O F）に接続した μ L C - システム（L C E x i g e n t μ L C）を用いて分析を実施した。分析カラムは、2.7 μ mの粒径を有する、5cm、1mm A g i l e n t P o r o s h e l l（注文品）C18-カラムであった。流量：低速逆相勾配を用いて、0.1mL/分。移動相は、アセトニトリル及び0.1%ギ酸を含む水であった。

【0159】

得られたデータを、次の分解産物：+1産物（酸）及びDPP I V - 切断産物についてマニュアルで評価した。+1質量（mass）を有する産物は、グルタミンのアミド基又はC末端での脱アミドから生じ得る。血漿中のプロテアーゼDPP I Vの作用から、切断産物が生じる。ペプチドの分解及びペプチド産物の形成のいずれも、初期ペプチド濃度のパーセンテージで記録した。ピークを積分し、残留ペプチド（%）を計算した：（ピーク面積/ピーク面積0H）*100。24時間時点のデータを表6に示す。G 7 9 7 及び G 9 3 3 の場合、脱アミド及びDPP I V切断のレベルは低かった。

【0160】

【表10】

表 6: 血漿中のペプチド安定性

	24hでのマウス血漿中の血漿安定性			24hでのヒト血漿中の血漿安定性			24hでのラット血漿中の血漿安定性		
ペプチド	% 安定した ペプチド	% +1 産物	% DPP 切断産物 /+1 DPP 切断産物	% 安定した ペプチド	% +1 産物	% DPP 切断産物 /+1 DPP 切断産物	% 安定した ペプチド	% +1 産物	% DPP 切断産物 /+1 DPP 切断産物
G730	65	15	14 / 5	100	<1	<1	24	58	2
G797	84	<1	1	85	<1	<1	60	<1	1
G849	38	<1	22	100	<1	<1	69	16	3
G933	83		1	86		<1	85		<1

【0161】

可溶性

ペプチドの可溶性を、以下のように、4.5～8.0のpH範囲内の様々なバッファー

種において評価した。G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドの乾燥粉末を室温の様々なバッファー中で再構成した。N a n o D r o p 2000分光光度計を用いて、280 nmで吸光度を測定し、下記の等式を用いて、ペプチド濃度を計算した：

$$c = (A_{280} * M_w) / \epsilon$$

式中、cは、濃度、 ϵ は、消散係数、Mwは、分子量であり、

A_{280} は、280 nmでの吸光度であり、

$$\epsilon = (1 \times \text{Trp} = 5560) + (1 \times \text{Tyr} = 1200)$$

【0162】

結果を表7に示す。ペプチドの各々は、pH範囲（6.5～8.5）にわたって、0.8 mg / で可溶性であった。G 7 3 0は、4.5～8.0のpH範囲で可溶性であり、G 7 9 7は、6.～8.0のpH範囲で可溶性であり、G 9 3 3は、6～8.0のpH範囲で可溶性であった。G 9 3 3の可溶性は、いくつかの異なるバッファー系で試験し、これらも表7に示す。G 9 3 3は、少なくとも次のバッファー系において1 mg / mlで可溶性であった：ヒスチジン（pH 6及び7；イオン強度：0.25～100 mM）、リン酸ナトリウム（pH 6～7.5；イオン強度：0.25～100 mM）、及びトリス / ヒドロキシメチルアミノメタン（pH 7～9；イオン強度：0.25～100 mM）。

【0163】

10

20

30

40

50

【表 1 1】

表 7: ペプチド溶解度プロフィール (全バッファー: 100mM のイオン強度)

バッファー	濃度 (mg/ml) A280 標的 1mg/ml			
	G730	G797	G849	G933
グルタミン酸塩 pH 4.5	0.83	0.023	NA	0.02
酢酸塩 pH 5	NA	NA	NA	0.03
コハク酸塩 pH 5	NA	NA	NA	1.1
リン酸塩, pH =6	0.14	0.84	0.06	1.2
ヒスチジン pH 6	NA	NA	NA	1.2
リン酸塩 pH 6.5	0.83	0.84	NA	NA
リン酸塩, pH 7.0	NA	NA	NA	1.1
ヒスチジン, pH 7.0	NA	NA	NA	1.1
リン酸塩 pH 7.5	0.85	0.86	NA	1.2
Tris pH 7.5	0.83	0.89	0.89	1.2
Tris pH 8.0	1.1	0.83	0.89	1.2

【0164】

製剤化。ペプチド可溶性を下記の3つの異なる等張製剤で評価した：

1. デフォルト製剤 (DF) = 0.1M Tris pH 7.5、150mM マンニトール。最終製剤 pH = 7.2
2. バックアップ製剤 1 (BF1) = 0.05M Tris、50mM アルギニン／プロリン。最終製剤 pH = 8.0
3. バックアップ製剤 2 (BF2) = リン酸ナトリウムバッファー (pH 8) / 1.85%W/V プロピレングリコール。最終製剤 pH = 7.0

【0165】

可溶性を上記に詳述したように測定し、結果を表 8 に示す。G730、G797 及び G933 は、DF 中に少なくとも 5mg/ml まで可溶性であり、DF 中の G849 の最大可溶性は、3.7mg/ml であり、G797 は、BF1 中に少なくとも 10mg/ml まで可溶性であり、G933 は、BF2 中に少なくとも 10mg/ml まで可溶性であった。

【0166】

10

20

30

40

50

【表 1 2】

表 8: 製剤中のペプチド可溶性

主要候補	製剤濃度	製剤	10 mg/ml への可溶性 (BF2)
G730	5mg/ml	DF	不可
G797	5mg/ml	DF/BF1	可
G849	3.7 mg/ml	DF	n/a
G933	5mg/ml	DF	可

濃度は、A280nm により決定

【0 1 6 7】

1 ヶ月以内に、逆相超性能液体クロマトグラフィー（R P U P L C）により純度を測定することによって D F の安定性を評価した。保存条件は、5 °C、2 5 °C、4 0 °C 及び - 8 0 °C であった。結果を表 9 及び 1 0 に示す。

【0 1 6 8】

【表 1 3】

表 9 安定性条件下で 1 ヶ月後のペプチド製剤の純度

ペプチド	5 °C	2 5 °C	4 0 °C	マイナス 80C
G730_DF	97.7	96.1	86.1	97.7
G797_BF1	98.72	98.84	77.54	NA
G849_DF	95.5	NA	NA	NA
G933_DF	97.8	95.9	88.9	98.9

【0 1 6 9】

【表 1 4】

表 10: 安定性条件下で 1 ヶ月後のペプチド製剤純度の減少 (T0 と比較した%)

主要候補	5 °C	2 5 °C	4 0 °C	マイナス 80C
G730_DF	0.82	2.43	12.54	0.3
G797_BF1	0.24	0.12	21.65	0.3
G849_DF	n/a	n/a	n/a	n/a
G933_DF	0.3	2.2	9.3	(-)0.8

ペプチドは全て、可溶性、製剤化適性及び安定性に関して許容される特性を示した。

【0 1 7 0】

実施例 3 : i n v i v o 試験

G 7 3 0、G 7 9 7、及び G 8 1 2（試験 A）。選択した本明細書に開示の G L P - 1 / グルカゴンアゴニストペプチドを以下のように食餌性肥満（D I O）マウスモデルで試験した。9 ~ 1 1 週齢の雌 C 5 7 / B l 6 J H s d O l a（Harlan Laboratories, UK）に対して D 1 2 4 9 2（Research Diets, NJ, U S A）及びチョコレート菓子の d e l i c a t o b a l l（Delicata Bakv

erk, Sweden) の高脂肪食餌を開始し、これを動物施設への移送までの 16 週間、3 週間の順応期間及び薬剤処置の間、維持したが、食餌の 2 つの成分のカロリー含量を表 11 に示す。マウスを 9 群 (n = 5 ~ 6) に分け、29 週齢で処置を開始した。治療群及び投与を表 12 に示す。

【0171】

【表 15】

表 11: DIO 食餌の内容

製品	タンパク質 (%)	炭水化物 (%)	脂肪 (%)	Kcal 脂肪 (%)	総 Kcal/グラム
Delicatoball (Delicata Bakverk AB, Huddinge, Sweden)	5	53	31	54	5.05
D12492 (research Diets, NJ, USA)	26.2	26.3	34.9	60	5.24

10

【0172】

【表 16】

表 12: 試験 A の処置群

ペプチド	用量	動物の数
ビヒクル	NA	6
リラグルチド	26.6 nmol/kg	6
G730	10 nmol/kg	6
G730	20 nmol/kg	5
G730	50 nmol/kg	6
G797	5 nmol/kg	5
G797	20 nmol/kg	6
G797	50 nmol/kg	6
G812	20 nmol/kg	5

20

30

【0173】

GLP-1 / グルカゴンアゴニストペプチド G730、G797、及び G812、並びにリラグルチド (Liraglutide) をビヒクルである 100 mM Tris / 150 mM マンニトール、pH 7.4 中に製剤化した。治療薬は、動物を高脂肪食餌で維持しながら、14 日間 1 日 2 回皮下投与した。投与期間全体を通して、動物の体重を毎日モニターした。14 日目に、血漿グルコース及びインスリンの測定のために、4 時間の絶食時間後、意識のあるマウスから血液サンプルを取得した。次に、イソフルランを用いてマウスを麻酔した後、眼の裏の毛細血管床から末梢血液を採取した。次のパラメータを測定した：トリグリセリド、総コレステロール、非エステル化脂肪酸 (NEFA)、 β -ヒドロキシ酪酸及び線維芽細胞増殖因子 21 (FGF21) の血液化学測定値 (以下の表 14 及び 15)。

40

【0174】

リラグルチド及びビヒクルと比較して、体重に対するリラグルチド並びに GLP-1 / グルカゴンアゴニストペプチド G730、G797、及び G812 による処置の効果を図

50

1～4に示す。G730又はG797のいずれかで処置された動物は、14日間の投与期間にわたって用量依存的且つ連続的な減量を示した。50 nmol/kgで、G730及びG797で処置された動物は、ビヒクルで処置した動物と比較して、14日目に約24%の体重変化を経験した。

【0175】

G730又はG797で処置されたマウスは、第14日にグルコースの用量依存的減少を示した(表13)。また、これらの2つの処置によって、特により高い用量で、インスリンレベルの低下も観察された(表13)。インスリン感受性指数である恒常性モデル評価(Homeostatic model assessment)(HOMA)は、20 nmol/kgのG730と、20及び50 nmol/kgのG797で、有意に改善した。HOMAは、血漿インスリンと血糖値の和を用いて、 β -細胞機能及びインスリン抵抗性を評価するモデル化方法である(表14)。総血漿コレステロールは、リラグルチド、全用量のG730及びG797のいずれによっても低下したが、血漿非エステル化脂肪酸(NEFA)レベル並びに血漿及び肝性トリグリセリド(TG)に顕著な変化はなかった。 β -ヒドロキシ酪酸(BetH)は、減量と一致して、増加レベルへの傾向を有した。線維芽細胞増殖因子21(FGF21)は、概して、二重GLP-1/グルカゴンアゴニストペプチド処置により増加した。

【0176】

【表17】

表 13: グルコース、インスリン、及びHOMAに対するGLP-1/グルカゴンアゴニストペプチド処置の効果

ペプチド	用量 (nmol/kg)	出発 bw (g)	SEM	14日目のBW (ビヒクル平均 からの%変化)	SEM	グルコース (mM)	SEM	インスリン (nM)	SEM	HOMA	SEM
ビヒクル	0	47,4	± 3,7	0,0	± 0	8,8	± 0,6	0,8	± 0,23	7,2	± 2,0
リラグルチド	27	47,5	± 1,8	-13,3	± 1,4	8,0	± 0,2	0,3	± 0,12	2,8	± 1,1
G730	10	44,5	± 2,2	-7,5	± 1,1	7,2	± 0,3 *	0,4	± 0,14	3,3	± 1,1
G730	20	45,9	± 3,6	-15,6	± 2,2	6,7	± 0,6 *	0,2	± 0,06	1,7	± 0,5 *
G730	50	46,1	± 2,4	-24,0	± 5,1	5,9	± 0,7 *	0,3	± 0,13	2,1	± 1,0
G797	5	47,5	± 1,2	-5,7	± 3,2	7,5	± 0,3	0,7	± 0,25	5,3	± 2,0
G797	20	47,4	± 2,2	-16,0	± 4,4	7,1	± 0,6	0,3	± 0,09	2,0	± 0,8 *
G797	50	47,2	± 1,8	-25,4	± 2,0	6,6	± 0,5 *	0,1	± 0,01 *	0,6	± 0,1 *
G812	20	49,2	± 3,4	-8,7	± 1,4	8,0	± 0,4	0,7	± 0,23	6,0	± 2,1

結果は、両側分布、二標本不等分散検定により評価する。

* は、ビヒクルと比較して $p < 0.05$ を示す。

【0177】

【表 18】

表 14: 別の血液化学測定値に対するGLP-1/グルカゴンアゴニストペプチド処置の効果

ペプチド	用量 (nmol/kg)	肝性TG (g TG/100g 組織)	SEM	血漿TG (mM)	SEM	血漿 NEFA (mM)	SEM	血漿 コレステロール (mM)	SEM	BeHy (µmol/l)	SEM	PGF21 (pg/mL)	SEM
ビヒクル	0	13.6	± 0.5	0.19	± 0.02	0.32	± 0.01	1.65	± 0.22	389	± 45	2757	± 517
リラグルチド	27	13.1	± 2.0	0.24	± 0.02	0.24	± 0.01	1.75	± 0.15 *	345	± 21	2481	± 550
G796	10	9.0	± 0.9 *	0.21	± 0.02	0.28	± 0.02 *	1.35	± 0.15 *	428	± 54	1969	± 219
G796	20	17.7	± 3.4	0.20	± 0.03	0.25	± 0.03	2.45	± 0.30 *	730	± 93	2295	± 500
G796	50	28.1	± 10.1	0.25	± 0.03	0.32	± 0.03	3.29	± 0.35 *	1477	± 179	3294	± 2907
G797	5	13.0	± 1.1	0.16	± 0.02	0.24	± 0.02	1.32	± 0.18 *	392	± 111	2362	± 342
G797	20	17.7	± 5.7	0.14	± 0.02	0.27	± 0.03	2.11	± 0.27 *	559	± 240	7177	± 2455
G797	50	15.6	± 5.8	0.12	± 0.02 *	0.34	± 0.03	1.85	± 0.07 *	1257	± 285	3379	± 919 *
G812	20	7.9	± 0.6 *	0.13	± 0.01 *	0.21	± 0.01	2.79	± 0.24 *	555	± 53	3207	± 388

結果は、両側分布、二標本不等分散t検定により評価する;

* は、ビヒクルと比較して $p < 0.05$ を示す。

【0178】

G865、G933、及びG796（試験B）。GLP-1／グルカゴンペプチドのさらに別のセットを、上と同じプロトコルを使用するが、表15に示す処置群及び用量を用いて、食餌性肥満モデルで試験した。

【0179】

【表 19】

表 15: 試験 B の処置群

ペプチド	用量	動物の数
ビヒクル	NA	6
リラグルチド	26.6 nmol/kg	6
G865	5 nmol/kg	6
G865	10 nmol/kg	6
G933	5 nmol/kg	6
G933	10 nmol/kg	6
G796	20 nmol/kg	6
G796	50 nmol/kg	6

【0180】

GLP-1／グルカゴンアゴニストペプチドG865、G933、及びG796、並びにリラグルチドを、ビヒクルである100mM Tris／150mMマンニトール、pH7.4で製剤化した。治療薬は、動物を高脂肪食餌で維持しながら、14日間1日2回皮下投与した。投与期間全体を通して、動物の体重を毎日モニターした。14日目に、血漿グルコース及びインスリンの測定のために、4時間の絶食時間後、意識のあるマウスから血液サンプルを取得した。次に、イソフルランを用いてマウスを麻酔して、眼の裏の毛細血管床から末梢血液を採取した。次のパラメータを測定した：トリグリセリド、総コレステロール、非エステル化脂肪酸（NEFA）、β-ヒドロキシ酪酸及び線維芽細胞増殖因子21（FGF21）の血液化学測定値（以下の表16及び17）。

【0181】

リラグルチド及びビヒクルと比較して、体重に対するリラグルチド並びにGLP-1／グルカゴンゴニストペプチドG933、G865、及びG796による処置の効果を図5～8に示す。G933、G865、又はG796のいずれかで処置された動物は、14日間の投与期間にわたって用量依存的且つ連続的な減量を示した。

【0182】

治療後14日目の血糖値、インスリンレベル及びHOMAを、表16に示す。治療後14日目の総血漿コレステロールレベル、血漿非エステル化脂肪酸(NEFA)レベル、血漿及び肝性トリグリセリド(TG)レベル、 β -ヒドロキシ酪酸(BeHy)レベル、及び線維芽細胞増殖因子21(FGF21)レベルを表17に示す。

【0183】

【表20】

表16: グルコース、インスリン、及びHOMAに対するGLP-1/グルカゴンゴニストペプチド処置の効果

ペプチド	用量 (nmol/kg)	出発bw (g)	SEM	14日目のBW (ビヒクル平均 からの%変化)	SEM	グルコース (mM)	SEM	インスリン (nM)	SEM	HOMA	SEM
ビヒクル	0	46.9	± 1	0	± 0	8.7	± 0.8	0.58	± 0.09	5.05	± 0.8
リラグルチド	27	46.3	± 1.7	-14	± 2.1	7.7	± 0.7	0.31	± 0.07 *	2.51	± 0.7 *
G865	5	46.9	± 0.8	-4	± 0.1	6.2	± 0.6 *	0.33	± 0.08	2.14	± 0.6 *
G865	10	47.0	± 0.9	-14	± 3.4	6.6	± 0.5 *	0.36	± 0.06	2.43	± 0.5 *
G933	5	48.1	± 1.6	-11	± 2.7	6.2	± 0.8 *	0.53	± 0.13	3.31	± 0.8
G933	10	48.6	± 0.5	-19	± 3.5	7.2	± 0.6 *	0.27	± 0.07 *	1.98	± 0.6 *
G796	20	50.9	± 1.3	-16	± 0.6	6.1	± 0.2 *	0.38	± 0.05	2.24	± 0.2 *
G796	50	49.7	± 0.8	-23	± 1.6	6.4	± 1.1 *	0.43	± 0.14	2.87	± 1.1

結果は、両側分布、二標本不等分散検定により評価する。

*は、ビヒクルと比較して $p<0.05$ を示す。

【0184】

【表21】

表17: 別の血液化学測定値に対するGLP-1/グルカゴンゴニストペプチド処置の効果

ペプチド	用量 (nmol/kg)	肝性TG (g TG/100g 組織)	SEM	血漿TG (mM)	SEM	血漿 NEFA (mM)	SEM	血漿 コレステロール (mM)	SEM	BeHy (μ mol/l)	SEM	FGF21 (pg/mL)	SEM
ビヒクル	0	17.53	± 1.30	0.25	± 0.01	0.28	± 0.03	4.56	± 0.33	387.52	± 87.4	2002	± 174
リラグルチド	27	18.4	± 2.5	0.28	± 0.03 *	0.29	± 0.02	3.26	± 0.23 *	572.25	± 82.4 *	2990	± 729
G865	5	20.7	± 5.6	0.26	± 0.03	0.29	± 0.05	3.06	± 0.14 *	775.06	± 295.5 *	8151	± 4788
G865	10	22.3	± 5.1	0.23	± 0.02	0.27	± 0.03	2.89	± 0.24 *	567.46	± 169.3 *	5953	± 3408
G933	5	11.3	± 0.8 *	0.19	± 0.01 *	0.26	± 0.03	2.88	± 0.28 *	673.08	± 117.2	2682	± 248
G933	10	14.7	± 4.1	0.16	± 0.01 *	0.27	± 0.03	2.32	± 0.20 *	693.56	± 158.3 *	4459	± 1249
G796	20	9.6	± 0.9 *	0.26	± 0.05	0.24	± 0.02 *	2.11	± 0.07 *	360.49	± 51.1	6441	± 1784
G796	50	9.9	± 0.6 *	0.16	± 0.01 *	0.21	± 0.02	1.91	± 0.05 *	451.80	± 63.4	9830	± 3278

結果は、両側分布、二標本不等分散検定により評価する。

*は、ビヒクルと比較して $p<0.05$ を示す。

【0185】

実施例4：単一用量漸増試験

(A) 対象

合計362人の対象が、ドイツにおいて試験に参加することに同意した。対象は、以下の選択及び除外基準についてスクリーニングされた。

【0186】

選択基準：

10

20

30

40

50

- ・ 健常なボランティア、スクリーニングの時点で年齢 18～45 歳；
- ・ ボディマスインデックス ≥ 22 且つ $\leq 30 \text{ kg/m}^2$ 、及び体重 $\geq 70 \text{ kg}$ ；並びに
- ・ 複数回の挿管に適した静脈アクセス

【0187】

除外基準：

・ G933 の評価又は対象の安全性若しくは試験結果の解釈を妨げ得るあらゆる状態。
 具体的な例として以下を含む：（a）急性若しくは慢性膵炎の病歴、又はスクリーニング時の正常値上限（ULN）を超える膵アミラーゼ若しくはリパーゼ、（b）治療を必要とする胃不全麻痺の病歴、（c）安全性及び耐容性データの解釈に影響を及ぼす可能性がある、上部胃腸管に影響する手術の病歴、（d）胆嚢摘出により処置されていない急性胆嚢炎のエピソードを招いた胆石症、又は既知胆道疾患の病歴、（e）多発性内分泌腺腫症 2 型（MEN-2）、甲状腺 C 細胞肥厚を示唆する血清カルシトニン（カルシトニンレベル $> 50 \text{ ng/L}$ ）の病歴若しくは家族歴、又はスクリーニング時の甲状腺髄様癌、（f）臨床的に有意な心調律異常の病歴、例えば、持続性若しくは発作性心房細動／心房粗動、発作性上室性頻拍症、発作性室性頻拍症、埋込み型ペースメーカーデバイス若しくは心臓除細動器／除細動器の存在、（g）治療済み若しくは症候性心不全の病歴、並びに（h）過去の心筋梗塞又は脳血管障害（例えば、発作）の病歴；

・ 胃腸、腎、若しくは肝疾患（ジルベール症候群を除く）又は薬剤の吸収、分布、代謝、若しくは排泄を妨げることがわかっているその他のいずれかの状態の病歴又は存在；

・ 非黒色腫皮膚癌を除く癌の病歴；

・ 1 日目の投与前 4 週間以内のあらゆる臨床的に重要な病、医学的／外科的処置、若しくは外傷；

・ スクリーニング時の B 型肝炎表面抗原陽性又は C 型肝炎ウイルス抗体血清学；

・ スクリーニング時のヒト免疫不全ウイルス（HIV）テスト陽性、又は病歴若しくは対象の口頭報告によって決定される抗レトロウイルス薬剤の使用；

・ スクリーニング時の正常範囲外の血清カリウム又はカルシウム；

・ スクリーニング時に ULN を超える血清クレアチニン、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、又は総ビリルビン；

・ 治験担当医師により判断される、臨床化学、血液学、若しくは検尿結果における他のいかなる臨床的に重要な異常も、本試験から排除とすべきである。

・ 次の医療製品のいずれかの使用：（a）GLP-1 受容体アゴニストの同時若しくは以前の使用、（b）スクリーニング前の 28 日以内に全身性コルチコステロイドの現在若しくは以前の使用、又は（c）体重のコントロールのために許可されたいずれかの医療製品若しくは植物性生薬の使用又は 1 日目～7 日目の 1 週間前から食欲が抑制されている（prohibited）；

・ 以下：（a）収縮期血圧 $< 90 \text{ mmHg}$ 若しくは $\geq 140 \text{ mmHg}$ 、（b）拡張期血圧 $< 50 \text{ mmHg}$ 若しくは $\geq 90 \text{ mmHg}$ 、又は（c）心拍数 < 50 若しくは > 90 拍／分のいずれかとして定義される、仰臥位安静 10 分後の異常なバイタルサイン；

・ 律動、伝導（例えば、ウォルフ・パーキンソン・ホワイ特症候群、洞不全症候群）、又は 12 誘導 ECG の形態学におけるいずれかの臨床的に重要な異常、あるいは、治験担当医師の意見で、心拍数について補正された QT 間隔（QTc）の変化の解釈の妨げとなり得る ECG におけるあらゆる異常、例えば、異常 T 波形態、又は左心室肥大など；

・ フリデリシア（Fridericia）式を用いた延長 QT（QTcF） > 450 ミリ秒、又は 12 誘導 ECG に基づく短縮 QTcF < 340 ミリ秒、又は QT 延長症候群の家族歴；

・ < 120 ミリ秒までの PR（RQ）間隔又は延長 > 200 ミリ秒（1 度房室ブロック）；

・ 間欠性 2 度ブロック（睡眠中のウェンケバッハ（Wenckebach）ブロックは除外しない）若しくは 3 度ブロック、又は房室解離；

10

20

30

40

50

- ・ 50～110ミリ秒の範囲外のQRS間隔；
- ・ 過去3年以内の薬物乱用の既知又は疑われる病歴
- ・ 過去3年以内のアルコール乱用又はアルコールの過剰摂取の病歴；
- ・ 現在の喫煙者（＞0タバコ／日）；対象はまた、スクリーニング時に試験するコチニンについて陽性の場合にも除外される；
- ・ スクリーニング若しくは試験施設への入院時の乱用薬物についてのスクリーンで陽性か、又は治験薬の投与前の試験施設入院時のアルコール呼気テストで陽性。慢性不安又は睡眠障害のためにベンゾジアゼピンを使用する対象は、試験への参加が許可される場合もある。
- ・ 重度のアレルギー／過敏症の病歴又は進行中の臨床的に重要なアレルギー／過敏症
- ・ スクリーニング前2ヵ月以内の全血若しくは赤血球の献血、又はあらゆる血液喪失＞500mL
- ・ 別の新規化学実体（市販のために承認されていない化合物として定義される）の摂取、又は本試験における治験薬の投与の少なくとも30日若しくは5半減期（どちらか長い方）以内に薬剤治療を含むいずれか他の臨床試験への参加。除外期間は、最終投与、又は最後の来院から治験薬の30日若しくは5半減期後（どちらか長い方）に開始するものとする。同意し、スクリーニングを受けたが、本試験又は以前の試験にランダム化されていない対象は、除外されない；あるいは
- ・ 公的若しくは司法命令により、対象が、施設に送致されるような精神疾患。

【0188】

スクリーニングの後、313人の対象が、選択／除外基準を満たさないと決定された。残る48人の対象をランダム化し、G933を投与した。48人の処置患者のデモグラフィックスを以下の表に示す。

【0189】

10

20

30

40

50

表 18 治療薬を1回以上投与された集団における、デモグラフィックス

パラメータ	プラセボ N = 12	G933						合計 N = 48	
		5 µg N = 6	10 µg N = 6	30 µg N = 6	100 µg N = 6	150 µg N = 6	300 µg N = 6	合計 N = 36	
年齢(歳)									
平均	32.8	37.3	31.8	33.2	27.8	34.5	28.3	36	32.3
SD	9.1	6.4	6.8	10.4	4.3	6.5	5.9	26.12	7.7
中央値	29.0	37.0	34.0	32.5	28.5	33.0	26.5	2.29	31.0
最小、最大	22, 45	28, 45	22, 39	20, 45	20, 32	27, 44	21, 38	25.79	20, 45
性別									
男性	12 (100%)	6 (100%)	6 (100%)	6 (100%)	6 (100%)	6 (100%)	6 (100%)	36 (100%)	48 (100%)
人種 ^a									
アメリカンインディアン 又はアラスカ先住民	0	0	0	0	0	1 (16.7%)	0	1 (2.8%)	1 (2.1%)
アジア系	1 (8.3%)	0	0	0	0	0	0	0	1 (2.1%)
白人	11 (91.7%)	6 (100%)	5 (83.3%)	6 (100%)	6 (100%)	5 (83.3%)	6 (100%)	34 (94.4%)	45 (93.8%)
その他	0	0	1 (16.7%)	0	0	0	0	1 (2.8%)	1 (2.1%)
民族									
ヒスパニック 又はラテン系	0	0	0	0	0	1 (16.7%)	1 (16.7%)	2 (5.6%)	2 (4.2%)
ヒスパニック 又はラテン系以外	12 (100%)	6 (100%)	6 (100%)	6 (100%)	6 (100%)	5 (83.3%)	5 (83.3%)	34 (94.4%)	46 (95.8%)
体重 (kg)									
平均	84.71	88.82	81.82	81.22	84.93	83.68	91.03	85.25	85.11
SD	12.10	10.48	7.66	7.28	8.23	12.90	11.07	9.79	10.28
中央値	78.30	88.15	80.80	78.95	83.80	77.85	94.65	83.60	81.90
最小、最大	73.8, 108.1	77.2, 107.5	72.8, 90.5	74.2, 90.6	75.9, 95.9	71.2, 101.0	74.3, 101.0	71.2, 107.5	71.2, 108.1

【表 2 3】

表 18 治療薬を1回以上投与された集団における、デモグラフィックス

パラメータ	プラセボ N = 12	G933						合計 N = 48	
		5 µg N = 6	10 µg N = 6	30 µg N = 6	100 µg N = 6	150 µg N = 6	300 µg N = 6	合計 N = 36	
身長 (cm)									
平均	181.28	179.17	182.83	181.17	180.30	177.67	182.00	180.52	180.71
SD	5.33	5.31	8.57	4.45	6.71	6.38	3.41	5.86	5.69
中央値	180.00	177.00	179.00	181.50	180.00	175.00	182.00	179.50	180.00
最小、最大	174.0、 191.0	174.0、 188.0	176.0、 198.0	174.0、 186.0	171.0、 190.0	170.0、 186.0	177.0、 187.0	170.0、 198.0	170.0、 198.0
BMI (kg/m ²)									
平均	25.67	27.61	24.47	24.74	26.09	26.36	27.44	26.12	26.01
SD	2.41	2.25	1.64	1.91	1.55	2.16	2.82	2.29	2.30
中央値	25.27	27.39	24.24	24.51	26.19	25.42	28.64	25.79	25.79
最小、最大	22.3、 29.9	24.4、 30.4	22.7、 27.1	22.2、 27.5	23.7、 28.0	24.6、 29.5	22.4、 29.8	22.2、 30.4	22.2、 30.4

BMI = ボディマスインデックス; Max = 最大; Min = 最小; N = 対象の数; SD = 標準偏差

a. 各人種カテゴリーは、1つのカテゴリーのみを選択した対象をカウントする

【0191】

(B) 試験デザイン

第1相、ランダム化、盲検式、単一用量漸増試験を実施した。提案される試験のフローチャートを図9に示す。コホート当たり8人の対象を計画した。各コホートにおいて、対象を3：1でG933 (MED10382) 又はプラセボにランダム化した。

【0192】

GPL-1及びグルカゴンモジュレータに関する臨床文献データを用いて実施したPK／PDモデル化に基づき、臨床的に有効なG933の用量は、300～2000 µg／日の範囲であることが予測された。従って、5、10、30、100、300、600、1

10

20

30

40

50

200、及び2000 μg G933の増加用量を選択した。用量漸増に進む前に、各コホートについての安全性データを評価した。安全性をさらに高めるために、提案された用量範囲の下限で倍増加を最大にし、最後の用量増加が2倍未満になるように段階的に減少させた。この試験で提案される最大用量レベルは、2000 μg であった。サルのAUCデータに基づいて提案される2000 μg の最大ヒト用量の安全裕度は、0.8であった。

【0193】

対象は、試験の間、1用量のG933を投与された。全対象について、ランダム化前の28日以内（-29日目～-2日目）にスクリーニング来院を実施した。対象は、治験薬を受ける前日の晩（-1日目）に施設に入院し、翌朝の投薬前に、資格基準の反復評価、4時間にわたる心電図遠隔モニタリングの実施、身体能力レベルの標準化が実施できるようにした。最小8時間にわたり一晩絶食した後、1日目に、ベースライン安全評価及び血液サンプルを採取してから、単一皮下（SC）用量のG933又はプラセボいずれかを対象に投与した。対象は、1日目及び2日目を通して、定時評価及び安全性モニタリング（連続的遠隔測定及び断続的なデジタル心電図[ECG]による心臓モニタリングを含む）のために試験施設に滞在し、退院まで収容された。対象は、安全性評価が実施され、血液サンプルが採取されてから3日目の朝に施設から退院した。対象は、4日目、7日目、及び28日目に、外来患者として施設に再来院した。

【0194】

スクリーニングの後、各対象の試験期間は、約29日であり、これには、入院患者評価期間と外来患者の追跡調査期間が含まれた。

【0195】

薬力学的評価のために、1日目に、グルコース及びインスリンレベルの測定のために血液サンプルを各食事（朝食、昼食、及び夕食）前、並びに各食事の開始から1及び2時間（ ± 15 分）後に採取した。1日目の各食事の開始を記録し、各食事は、30分以内に消費するようにした。

【0196】

免疫学的評価のために、1日目、投与から約1週間後、投与から約1か月後に抗薬物抗体（ADA）のサンプリングを行った。

【0197】

薬物動態（PK）評価の場合、サンプリング時間は、投与前、並びに投与から1、2、4、6、8、10、12、16、24、36、48、及び72時間後（投与から最初の2時間については ± 15 分、48時間までの残りの時点については ± 30 分）であった。1日目には、各食事（朝食、昼食、及び夕食）前、並びに各食事の開始から1及び2時間（ ± 15 分）後にPKサンプルも採取するようにした。

【0198】

（C）結果

用量漸増は、プロトコルに従って計画した通り、5～300 μg まで実施したが、有意な嘔吐の事象により立証されるように、300 μg は認容されなかったため、最終コホートについては用量を150 μg まで漸減した。実際の試験のフローチャートを図9に付与し、対象の素因を図10に示す。

【0199】

5 μg のG933については、3人の対象のみが少なくとも1つの血漿中定量可能なレベルを示したことから、PKパラメータを得ることができなかった。5及び10 μg のG933群の全対象において、2～4.5時間から16～24時間までG933の血漿中濃度が測定可能であった。G933の血漿中濃度は、100及び300 μg のG933群の全対象において、48時間まで測定可能であった。いずれの対象も、投与から72時間後のG933の血漿中濃度は定量下限に満たなかった。

【0200】

全G933用量について平均濃度-時間プロファイルが、ピーク後に明らかな単一指数関数的降下を示し、ピークから投与後48時間までに濃度の非常に急速な減少が起こった。

【0201】

単一用量血漿 G933 PK パラメータ推定値を対象及び処置別に列記し、表 19 に処置別にまとめる。

【0202】

【表 24】

表 19 単一用量 G933 中央薬物動態パラメータ推定値のまとめ (幾何平均[95% CI])

パラメータ	用量 (μg)					
	5	10	30	100	150	300
C _{max} (ng/mL) ^a	0.47 [0.44-0.50] N=3	0.80 [0.62-1.03] N=6	3.00 [2.59-3.47] N=6	6.19 [4.29-8.92] N=6	8.97 [6.20-12.97] N=6	20.98 [16.21-27.14] N=6
T _{max} (hr) ^b	7.00 [5.88-10.00] N=3	6.94 [4.00-13.50] N=6	9.00 [4.50-10.02] N=6	7.53 [4.50-10.00] N=6	9.00 [4.00-12.00] N=6	4.50 [4.00-5.88] N=6
t _{1/2} (hr) ^a	nc	nc	11.43 [8.42-15.50] N=4	12.07 [9.58-15.20] N=6	10.97 [8.60-13.99] N=6	9.54 [8.63-10.56] N=6
AUC(0-last) (ng·hr/mL) ^a	1.96 [0.58-6.64] N=3	9.97 [7.01-14.17] N=6	51.99 [44.55-60.67] N=6	137.33 [106.15-177.67] N=6	194.60 [162.84-232.56] N=6	364.47 [298.50-445.02] N=6
AUC(0-∞) (ng·hr/mL) ^a	nc	nc	63.10 [51.49-77.33] N=4	150.03 [118.44-190.04] N=6	209.03 [178.45-244.86] N=6	379.12 [310.26-463.25] N=6
% extrap AUC(0-∞) (ng·hr/mL) ^c	nc	nc	13.97 [7.22-20.73] N=4	8.35 [3.21-13.48] N=6	6.80 [1.92-11.69] N=6	3.86 [2.64-5.07] N=6
CL/f (L/hr) ^a	nc	nc	0.48 [0.39-0.58] N=4	0.67 [0.53-0.84] N=6	0.72 [0.61-0.84] N=6	0.79 [0.65-0.97] N=6

% extrap AUC(0-∞) = 外挿により得られた AUC(0-∞) のパーセンテージ;

AUC = 濃度-時間曲線下面積; AUC(0-last) = ゼロ時間から最後の定量的な濃度までの AUC; AUC(0-∞) = ゼロ時間から無限大までの AUC;

CL/f = 見掛けのクリアランス; C_{max} = 最大観測濃度; CI = 信頼区間; t_{1/2} = 半減期; T_{max} = C_{max} までの時間; n = 統計解析に含まれる値の数;

nc = 未計算

^b 幾何平均(95%CI)

^c 中央値(範囲)

^d 算術平均(95%CI)

【0203】

G933 は、用量 5 ~ 150 μg の G933 の単回投与後最大濃度までの平均時間 (t_{max}) 7.0 ~ 9.0 時間で、最高用量 300 μg では 4.5 時間の平均 t_{max} で吸収された。

【0204】

10

20

30

40

50

72時間のサンプリング期間にわたる視覚検査に基づく少なくとも3つのデータポイントを用いて、G933の見掛け排出半減期($t_{1/2}$)を決定した。5 μ g用量群の対象において $T_{1/2}$ は、血漿中濃度が低すぎたため、評価することができなかった。%AUC_{ex}が20%を超えた他の用量群でも、 $t_{1/2}$ 及び結果としてAUC_{0- ∞} は記録されなかった。幾何平均 $t_{1/2}$ 値は、約10～12時間であった。

【0205】

変動係数(CV)により表される最大血漿中濃度(C_{max})及びAUC_{0- ∞} の対象間変動は、いずれのパラメータについても中度(3～37%)であった。

【0206】

ベースライン時又はベースライン後にADA陽性の対象はいなかった。

10

【0207】

試験期間を通して、血圧、脈拍、食物摂取、及び有害事象をモニターしたが、それを表20にまとめる。

【0208】

全ての治療中に発生した有害事象(TEAE)は、グレード1(軽度)又はグレード2(中度)の重症度であった。それらを以下の表21にまとめる。

【0209】

20

30

40

50

表 20

用量 (μg)	中央脈拍 ピーク (bpm) (a)	投与後の 中央脈拍の 最大変化 (bpm) (b)	中央 拡張期 BP ピーク (mm Hg)	投与後の 中央 拡張期 BP の 最大変化 (mm Hg)	中央 収縮期 BP ピーク (mm Hg)	投与後の 中央 収縮期 BP の 最大変化 (mm Hg)	嘔吐 (嘔吐 エピソード) を有する 対象の数	プラセボ と比較 した 対 1 日 食物摂取 総量 (%)(c)	朝食後の 中央血糖 ピーク (mmol/L) (d)	昼食後の 中央血糖 ピーク (mmol/L) (e)	夕食後の 中央血糖 ピーク (mmol/L) (f)
0	72.2	11.8	77	8.5	134	12	0 (0)	100	7.5	5.2	7.1
5	79.7	11.3	79.5	13	122	10.5	0 (0)	100	6.2	4.9	7.0
10	72.8	12.7	71.5	8	124.5	9.5	0 (0)	100	5.8	5.1	6.0
30	70	9.8	76.5	10.5	124	13.5	0 (0)	96	5.4	4.4	5.2
100	72	16.8	86.5	16	129.5	8.5	1 (1)	82	5.5	4.7	5.2
150	81	15.7	75	15	128.5	7.5	4 (9)	60	5.1	5.1	5.2
300	102	35.5	80	19	138.5	26	5 (30)	23	4.7	5.1	4.9

BP = 血圧

(a) 中央脈拍ピークは、投与前から 28 日目までの最大脈拍の中央値として定義される

(b) 投与後の中央脈拍の最大変化は、投与前から 28 日目までの脈拍の最大変化の中央値として定義される

(c) 朝食、昼食及び夕食を通した 1 日食物摂取総量

(d) 中央血糖値は、投与から 3.5 時間後に相当する、朝食から約 1 時間後に収集した

(e) 中央血糖値は、投与から 7 時間後に相当する、昼食から約 1 時間後に収集した

(f) 中央血糖値は、投与から 13.5 時間後に相当する、夕食から約 1 時間後に収集した

表 21 治験薬を 1 回以上投与された集団において、器官別大分類及び基本語による、治療中に発生した有害事象

器官別大分類 ^a 基本語 (MedDRA Version 18.0)	プラセボ N = 12	G933							合計 N = 36
		5 µg N = 6	10 µg N = 6	30 µg N = 6	100 µg N = 6	150 µg N = 6	300 µg N = 6		
少なくとも 1 回の事象を有する対象	2 (16.7%)	2 (33.3%)	3 (50.0%)	4 (66.7%)	2 (33.3%)	5 (83.3%)	5 (83.3%)	21 (58.3%)	
心臓疾患	0	0	1 (16.7%)	0	1 (16.7%)	0	1 (16.7%)	3 (8.3%)	
不整脈	0	0	0	0	1 (16.7%)	0	0	1 (2.8%)	
房室ブロック 2 度	0	0	1 (16.7%)	0	0	0	0	1 (2.8%)	
心室期外収縮	0	0	0	0	0	0	1 (16.7%)	1 (2.8%)	
胃腸疾患	1 (8.3%)	0	1 (16.7%)	0	1 (16.7%)	5 (83.3%)	5 (83.3%)	12 (33.3%)	
腹部膨満	0	0	0	0	0	2 (33.3%)	0	2 (5.6%)	
腹痛	0	0	1 (16.7%)	0	0	0	0	1 (2.8%)	
下痢	0	0	1 (16.7%)	0	0	0	0	1 (2.8%)	
吐気	1 (8.3%)	0	0	0	1 (16.7%)	4 (66.7%)	3 (50.0%)	8 (22.2%)	
嘔吐	0	0	0	0	1 (16.7%)	4 (66.7%)	5 (83.3%)	10 (27.8%)	
全身障害及び投与部位の状態	0	0	0	1 (16.7%)	0	0	1 (16.7%)	2 (5.6%)	
適用部位のびらん	0	0	0	1 (16.7%)	0	0	0	1 (2.8%)	
デバイスに伴う外傷	0	0	0	0	0	0	1 (16.7%)	1 (2.8%)	
免疫系障害	0	0	0	1 (16.7%)	0	0	0	1 (2.8%)	
季節性アレルギー	0	0	0	1 (16.7%)	0	0	0	1 (2.8%)	
感染及び侵入	1 (8.3%)	1 (16.7%)	0	0	0	0	0	1 (2.8%)	
鼻咽頭炎	1 (8.3%)	1 (16.7%)	0	0	0	0	0	1 (2.8%)	
外傷、中毒、及び処置合併症	0	0	0	1 (16.7%)	0	0	0	1 (2.8%)	
処置に伴うめまい	0	0	0	1 (16.7%)	0	0	0	1 (2.8%)	
代謝及び栄養障害	0	0	0	0	0	2 (33.3%)	0	2 (5.6%)	
食欲減退	0	0	0	0	0	2 (33.3%)	0	2 (5.6%)	

【表 2 7】

表 21 試験薬を 1 回以上投与された集団において、器官別大分類及び基本語による、治療中に発生した有害事象

器官別大分類 ^a 基本語 (MedDRA Version 18.0)	プラセボ N = 12	G933							合計 N = 36
		5 µg N = 6	10 µg N = 6	30 µg N = 6	100 µg N = 6	150 µg N = 6	300 µg N = 6		
筋骨格障害及び膠原病	0	0	0	1 (16.7%)	0	0	0	1 (2.8%)	
筋骨格系胸痛	0	0	0	1 (16.7%)	0	0	0	1 (2.8%)	
神経系疾患	0	1 (16.7%)	1 (16.7%)	1 (16.7%)	1 (16.7%)	2 (33.3%)	1 (16.7%)	7 (19.4%)	
めまい	0	0	1 (16.7%)	1 (16.7%)	0	2 (33.3%)	1 (16.7%)	5 (13.9%)	
頭痛	0	1 (16.7%)	0	1 (16.7%)	1 (16.7%)	1 (16.7%)	0	4 (11.1%)	
呼吸器、胸部及び縦隔障害	0	0	0	0	0	1 (16.7%)	0	1 (2.8%)	
口咽頭痛	0	0	0	0	0	1 (16.7%)	0	1 (2.8%)	

^a 対象は、事象の回数とは無関係に、器官別大分類及び基本語各々につき 1 回とカウントされる

【0 2 1 2】

全体として、G 9 3 3 は、高用量では、嘔吐や脈拍数及び血圧の上昇が観察されたものの、良好な耐容性を示した。事前に指定された探索的エンドポイントは、プラセボと比較して、全ての用量の G P 9 3 3 で処置した対象における 1 日食物摂取総量の低減を示唆している。

【0 2 1 3】

投与後 2 . 5 ～ 1 4 時間の間隔で、食事時間頃の個別の血糖及びインスリン測定値並びに中央血漿グルコース及びインスリン血漿レベルをそれぞれ図 1 1 及び 1 2 に示す。グルコース低減効果は、全ての用量の G 9 3 3 で処置した対象の血漿血糖値に認められた。こ

10

20

30

40

50

の作用は、最初の食事時間頃に明瞭である。同様に、インスリン血漿レベルも、最初の食事時間と合致して、特に100 µg以上の用量で、用量応答を示した。

【0214】

最も頻繁なT E A E（発生率>対象の10%）は、嘔吐、吐気、めまい、及び頭痛であった。嘔吐のT E A Eは、最も高いG 9 3 3用量（100、150、及び300 µg）にだけ起こった。嘔吐を経験した10人の対象について計40回の嘔吐エピソードがあった。30回のエピソードは、300 µg用量で5人の対象から、9回のエピソードは、150 µg用量で4人の対象から、また1回のエピソードは、100 µg用量で1人の対象からであった。

【0215】

1日に、又は食事の調節にもかかわらず連続2日にわたり3件以上の嘔吐エピソードとして定義される有意な嘔吐は、150 µgのG 9 3 3群中6人の対象のうち2人（33.3%）及び300 µgのG 9 3 3群中6人の対象のうち5人（83.3%）について報告された。300 µg用量で観察された有意な嘔吐の事象のために、G 9 3 3の用量は、最終コホートについて150 µgまで漸減させた。

【0216】

150 µgまでの用量で、G 9 3 3の耐容性は、吐気、嘔吐、頻脈及び血圧に関して許容可能であった。G 9 3 3の300 µgの用量では、収縮期血圧及び脈拍数の有意な上昇があったため、許容できないレベルの嘔吐が見られた。様々な市販のG L P - 1 アゴニスト全体で、特に、吐気及び嘔吐を有する健常なボランティアにおいて、単一用量の後に有意な脈拍数上昇が認められた。G 9 3 3の胃腸管作用（嘔吐）が、心血管作用を一切起こすことなく、150 µgの単一用量で見られたことを考慮すれば、治療域が存在し、G 9 3 3は、心血管リスクプロファイルにマイナスの影響を与えることなく、血糖コントロールを改善し、且つ減量を促進すると予想される用量で、2型糖尿病を有する対象に安全に投与することができる。G 9 3 3は、この単一用量健常ボランティア試験における安全性及び耐容性を満たした。

【0217】

実施例5：複数用量漸増試験パートI

（A）対象

約75人の比較的良好にコントロールされた2型糖尿病（T 2 D M）を有する過剰体重又は肥満の対象が、本試験への参加のために登録している。登録対象は、以下の選択及び除外基準を満たす。

【0218】

選択基準：

- ・スクリーニングの時点で年齢18～65歳の男性又は女性；
- ・ボディマスインデックス27～40 kg/m²（両端の値を含む）；
- ・T 2 D Mの診断及びメトホルミン単剤療法で管理される血糖コントロール、ここで、スクリーニング前の3ヵ月間に有意な用量変化（減少若しくは増加 ≥ 500 mg/日）が起こっておらず：（a）スクリーニングヘモグロビンA 1 C（糖化ヘモグロビン；H b A 1 c）値は、6.5%～8.5%、又は任意選択で7.0%～8.5%の標的範囲内にあるべきであり；（b）メトホルミン単剤療法に加えてジペプチジルペプチダーゼ-4（D P P - I V）阻害剤を処方された対象は、スクリーニング前4週間のD P P - I V阻害剤ウォッシュアウト期間の後に、本試験に参加する資格を有する場合があります；（c）メトホルミン単剤療法に加えてスルホニル尿素の許可用量の50%未満を処方された対象は、4週間のスルホニル尿素ウォッシュアウト期間の後に、本試験に参加する資格を有する場合があります；並びに（d）メトホルミン単剤療法に加えてナトリウム-グルコース共輸送体2（S G L T 2）阻害剤を処方された対象は、4週間のS G L T 2阻害剤ウォッシュアウト期間の後、本試験に参加する資格を有する場合があります；

- ・複数回の挿管に適した静脈アクセス

- ・コホート4 対象は、スクリーニング前の少なくとも4週間にわたって ≥ 10 mg 1日

10

20

30

40

50

用量のスタチンを服用しなければならない；並びに

・コホート4対象は、スクリーニング期間中プラセボの初期自己注射後、毎日皮下（S C）注射を自己投与する意思があるか、自己投与することができなければならない。

【0219】

除外基準：

・治験薬の評価又は対象の安全性若しくは試験結果の解釈を妨げ得るあらゆる状態。具体的な例として、以下のものがある：（a）急性若しくは慢性膵炎の病歴、又はスクリーニング時の実験基準範囲の正常値上限（ULN）の2倍を超える膵アミラーゼ若しくはリパーゼ、（b）治療を必要とする胃不全麻痺の病歴、（c）安全性及び耐容性データの解釈に影響を及ぼす可能性がある、上部GI管に影響する手術の病歴、（d）胆嚢摘出により処置されていない急性胆嚢炎のエピソードを招いた胆石症、又は既知胆道疾患の病歴、並びに（e）スクリーニング時の甲状腺C細胞肥厚を示唆する血清カルシトニン（カルシトニンレベル $>50\text{ ng/L}$ ）、甲状腺髄様癌、又は多発性内分泌腺腫症の病歴若しくは家族歴；

・GI、腎、若しくは肝疾患（ジルベール症候群を除く）、又は薬剤の吸収、分布、代謝、若しくは排泄を妨げることがわかっているその他のいずれかの状態の病歴若しくは存在；

・癌の病歴（任意選択で、過去10年以内）、但し、非黒色腫皮膚癌を除く；

・糖尿病性足部潰瘍の病歴又は存在；

・1日目投与前4週間以内のあらゆる臨床的に重要な病（既知糖尿病を有する対象についてはT2DMを除く）、医学的／外科的処置、又は外傷；

・インスリン減少症又は血糖コントロール不良（例えば、重度の渇き、夜間頻尿、多尿症、多渴症、若しくは減量）；

・空腹時血糖 $\geq 200\text{ mg/dL}$ （ 11.11 mmol/L ）；

・スクリーニング時のB型肝炎表面抗原又はC型肝炎ウイルス抗体血清学的検査陽性；

・スクリーニング時のヒト免疫不全ウイルス（HIV）テスト陽性、又は病歴若しくは対象の口頭報告によって決定される、抗レトロウイルス薬剤を服用する対象；

・スクリーニング時のアスパラギン酸トランスアミナーゼ（AST） $\geq 2.5 \times \text{ULN}$ ；

・スクリーニング時のアラントランスアミナーゼ（ALT） $\geq 2.5 \times \text{ULN}$ ；

・スクリーニング時の総ビリルビン $\geq 2 \times \text{ULN}$ ；

・スクリーニング時に正常範囲の下限を下回るヘモグロビン；

・スクリーニング時の好中球 $< 1.5 \times 10^9/\text{L}$ ；

・スクリーニング時に正常範囲を超える甲状腺刺激ホルモン（TSH）レベル；

・糸球体濾過量（GFR） $\leq 60\text{ mL/分/1.73m}^2$ として定義される腎機能障害（GFRは、Modification in Renal Diseaseに従って推定される）；

・持続性（対象の担当医師による過去2回以上の記録として定義される）顕性アルブミン尿（ $>300\text{ mg/L}$ ）；

・重度の晩期糖尿病性合併症（うっ血性心不全若しくは末梢動脈疾患の症状を伴う大血管症、神経障害、胃不全麻痺、網膜症、腎症の症状を伴う細小血管症）；

・スクリーニング期間中の心伝導障害（例えば、ウォルフ・パーキンソン・ホワイト症候群、洞不全症候群）；

・以下：（a） <60 歳の場合、収縮期血圧 $<90\text{ mmHg}$ 若しくは $\geq 140\text{ mmHg}$ 、 ≥ 60 歳の場合、収縮期血圧 $<90\text{ mmHg}$ 若しくは $\geq 150\text{ mmHg}$ 、（b）拡張期血圧 $<50\text{ mmHg}$ 若しくは $\geq 90\text{ mmHg}$ 、又は（c）HR <45 若しくは >85 拍／分のいずれかにより定義される、仰臥位安静10分後の異常なバイタルサイン；

・安静時ECGの律動、伝導若しくは形態のあらゆる臨床的に重要な異常、並びに、異常ST-T波形態学、又は左心室肥大をはじめとする、QTc間隔変化の解釈の妨げとなり得る12誘導ECGにおけるあらゆる異常；

・延長QTcF >450 ミリ秒（両性について）若しくは短縮QTcF <340 ミリ秒

10

20

30

40

50

、又はQT延長症候群の家族歴；

- ・PR(PQ)間隔短縮<120ミリ秒(PR>120ミリ秒であるが、心室粗動のエビデンスがなければ、PR>110ミリ秒も許容される)；

- ・PR(PQ)間隔延長(>240ミリ秒)、間欠性2度若しくは3度AVブロック、又はAV解離；

- ・持続性又は間欠性脚ブロックをはじめとする、QRS持続時間>120ミリ秒；

- ・埋込み型心臓除細動器若しくは長期ペースメーカ、並びに症状性心室及び／若しくは心房性頻拍；

- ・Canadian Cardiovascular SocietyクラスIIより高度に分類される不安定狭心症若しくは安定狭心症、又は心筋梗塞若しくは発作；

- ・心不全を原因とする入院又は心不全の診断の病歴；

- ・過去3年以内の薬物乱用の既知又は疑われる病歴；

- ・過去3年以内のアルコール乱用又はアルコールの過剰摂取の病歴；

- ・スクリーニング若しくは試験施設への入院時の乱用薬物のスクリーンで陽性か、又は治験薬の投与前の試験施設入院時のアルコールについてのスクリーンで陽性。慢性不安又は睡眠障害のためにベンゾジアゼピンを使用する患者は、試験への参加が許可される場合もある；

- ・重度のアレルギー／過敏症の病歴又は進行中の臨床的に重要なアレルギー／過敏症；

- ・スクリーニング前の2ヵ月間の全血若しくは赤血球の献血、又はあらゆる血液喪失>500mL；

- ・別の新しい化学実体（市販のために承認されていない化合物として定義される）の摂取、又は本試験における治験薬の最初の投与前の少なくとも30日若しくは5半減期（どちらか長い方）以内に薬剤治療を含むいずれか他の臨床試験への参加。除外の期間は、最終投与、又は最後の来院から治験薬の30日若しくは5半減期後（どちらか長い方）に開始するものとする。同意し、スクリーニングを受けたが、本試験に又は以前の第1相試験にランダム化されていない対象は、除外されない；

- ・あらゆる種類の別の試験への同時参加；

- ・次の医療製品のいずれかの使用：（a）GLP-1アゴニストの同時若しくは以前の使用、（b）スクリーニング前28日以内の全身性コルチコステロイドの使用、（c）QTc間隔を延長することがわかっている化合物の使用、又は（d）1日目投与前1週間以内の、体重若しくは食欲のコントロールのために許可されたいずれかの植物性生薬若しくは医療製品の使用；

- ・公的若しくは司法命令により、対象が、施設に送致されるような精神疾患；

- ・乳酸アシドーシス又はケトアシドーシスの病歴

【0220】

（B）試験デザイン

第1／2相、ランダム化、二重盲検式、複数用量漸増試験を2つのパート（A及びB）で実施した。試験のフローチャートを図13に示す。パートAでは、メトホルミン療法を維持するT2DM対象において、約12日の期間にわたりG933（MED10382）の用量漸増レジメン、並びに用量漸増後の最大有効用量を確立し、これを長期投与期間（パートB）にわたり使用して、体重及び血糖コントロールに対するG933の効果を立証する。

【0221】

パートAは、3つのコホートから成る。コホート1は、7日間にわたって毎日投与される安定用量（例えば、100μg）の治験薬（9人の対象；G933が6人、プラセボが3人）から構成される。コホート2は、4日間の初期用量（例えば、100μg）の治験薬、及び7日間の漸増ステップ（漸増用量1；例えば、150μg）（9人の対象；G933が6人、プラセボが3人）から構成され、コホート3は、4日間の初期用量（例えば、100μg）の治験薬、4日間の漸増ステップ（漸増用量1；例えば、150μg）、及び7日間の第2漸増ステップ（漸増用量2；例えば、200μg）（9人の対象；G9

10

20

30

40

50

33が6人、プラセボが3人)で投与される。

【0222】

パートBは、1コホートから成る。このコホート(コホート4)の対象は、4日間の初期用量(例えば、100 μ g)の治験薬、4日間の漸増ステップ(漸増用量1;例えば、150 μ g)、4日間の第2漸増ステップ(漸増用量2;例えば、200 μ g)、これに続いて、在宅で28日間の漸増用量2(例えば、200 μ g)(48人の対象;G933が24人、プラセボが24人)から構成される。

【0223】

初期用量は、100 μ gである。漸増用量1及び2は300 μ g以下である。各対象の試験期間は、コホートにより異なり、入院患者複数用量漸増(MAD)又は漸増評価期間(2日目に開始し、コホート1は、8日目、コホート2は、12日目、コホート3は、16日目、及びコホート4は、13日目に終了)と、外来患者追跡調査期間とから構成される。さらに、コホート4についてのみ、第2入院患者漸増ステップ後で、来院の終了前に、28日間の在宅での治験薬自己投与(毎週の来院を含む)が含まれる。

【0224】

対象は、治験薬を受ける前に2晩入院し、翌朝の投薬前に、資格基準の反復評価及びベースライン混合食試験(MMT)を実施し、身体能力のレベルを標準化する。最小8時間にわたる一晚絶食後の1日目に、安全性、効力、薬物動態(PK)、薬物力学(PD)、及び抗薬物抗体(ADA)実験室テストのためにベースライン血液サンプルを採取する。さらに、12誘導ECGを記録し、単一SC用量のG933又はプラセボいずれかを対象に投与した。

【0225】

対象は、1日中及び処置期間を通して、ECG、遠隔測定、バイタルサインのモニタリング、及び潜在的反応についての注射部位の評価をはじめとする、観察及び安全性テストのために施設に滞在する。加えて、コホート4の場合、携帯型24時間血圧モニタリング(ABPM)を実施する。

【0226】

1日目と、全コホートについて達成された最も高い用量レベルの最終日に混合食試験(MMT)処置を実施する。追加時点は、漸増用量1の第1日(コホート2)、漸増用量2の第1日(コホート3)、漸増入院期間からの退院日(漸増用量2の第5日;コホート4)、及び28日の在宅自己投与期間中の毎週の来院(コホート4)を含む。MMTのために、対象は、5分以内に標準食(Ensure Plus(登録商標))を消費し、標準食の消費直前及び240分後に、グルコース及びグルコース代謝に関するパラメータの測定のために、定時の連続血液サンプルを採取する。入院期間中、朝食の15分前及び2時間後、正午、並びに夕食、及び就寝前に、指先の血糖サンプルを収集する。

【0227】

コホート4対象は、最終日エンドポイントを収集するために、在宅自己投与期間の終わりに一晚滞在するために再入院する。

【0228】

第1用量の前、入院投与期間中(及びコホート4の外来期間中)、施設からの退院時、並びに7日及び14日追跡調査来院時を含む(しかし、これらに限定されない)複数の時点で、体重を測定する。

【0229】

G933の薬物動態サンプルを、投与前及び投与後、並びにG933の最後の投与から48時間後まで、コホートによって様々な時点で取得する。メトホルミン濃度のためのサンプルは、G933の投与前に採取する。抗薬物抗体サンプルは、投与前と、最後の投与から最大28時間後までの様々な時点で取得する。

【0230】

対象は、本試験で最後の用量を投与された翌日、施設から退院する。治験薬の最後の投与から約28日後に最終安全性評価のために追跡調査来院を実施する。

10

20

30

40

50

【0231】

(C) 効力評価

プラセボと比較して、G933の複数用量後の血糖コントロール及び体重に対する影響を評価するために、コホート4におけるMMTグルコースAUC（MMT後最大240分）の変化率及びベースライン（-1日目）から処置終了までの体重の変化を、共分散の分析を用いて、ベースライン測定値及び処置群について調節することにより、G933群とプラセボ群の間で比較する。処置終了時の測定値がない場合には、入手可能な最後の測定値で代用する。比較は、0.1の両側有意水準で実施する。プラセボ群と比較してG933処置群における体重減少（例えば、4週間の1日1回反復投与で1.3～2.0kg）は、例えば、100～300μgの用量のG933が、減量に有効であることを立証するものである。

10

【0232】

コホート4において、ヘモグロビンA1c（糖化ヘモグロビンHA1c）及びフルクトサミンのベースライン（-2日目）からの変化、並びにMMT後24時間のグルコースAUCのベースライン（-1日目）からの変化率を体重の評価と同様に分析した。24時間グルコースAUC分析は、MMT前／後のグルコース代謝パネルからのグルコース測定値、並びに血清化学血糖値及びPDグルコースサンプルを含み、ここで、これらの結果は、特異な時点からのものである。プラセボ群と比較してG933処置群における血糖コントロールの増大（例えば、混合食試験（MMT）後の濃度－時間曲線下グルコース面積（AUC）の少なくとも20%の減少並びに／又はヘモグロビンA1c及びフルクトサミンにより測定される通り）は、例えば、100～300μgの用量のG933が、血糖コントロールに有効であることを立証するものである。

20

【0233】

(D) 結果

(i) パートA：コホート1～3

G933は、最大15日にわたって、1日1回（QD）最大200μgの用量で首尾よく投与された。

【0234】

G933によって正常レベルに対して有意なグルコース低減が、空腹時血漿グルコース及び混合食試験からの食後血糖の両方で観察された。混合食試験では、コホート1～3の全てにおいて、曲線下グルコース面積（AUC）が>40%減少した（図14）。コホート1（7日目）及びコホート3（9及び15日目）におけるベースライン空腹時血糖値の変化を図15に示す。

30

【0235】

最大2kgの実質的な減量への用量依存的傾向が認められた。結果を図16に示すが、これは、G933が、2型糖尿病を有する過剰体重／肥満患者の体重を実質的に低減したことを立証するものである。コホート3では、2kg超の差が観察された。

【0236】

G933は、用量漸増により、200μgまで良好な耐容性を示した。反復投与後の薬物動態を図17に示す。PKは線形であり、予測可能であった。半減期は、約11時間であった。複数回の1日投与後にはわずかな蓄積があるか、又は全くないかであり、4日目から7日目まで定常状態が達成された。試験した用量範囲内の最大血漿中濃度は、4.21ng/mL及び18.90ng/mLであった。平均1日曝露は、2.89ng/mL～12.45ng/mLの範囲であった。

40

【0237】

ただ1つのサンプルが、ベースライン後、抗G933抗体に対して陽性であることが確認された。

【0238】

有害事象は、管理可能であり、GLP-1モノアゴニストについて予想されるものと一致していた。

50

【0239】

報告された大部分の吐気及び嘔吐の事象は、処置の開始時、すなわち、100 µg 用量レベルで起こった。嘔吐は、G933を受けた患者の26% (n=5) に起こり、プラセボでは起こらなかった。コホート1では、嘔吐事象は報告されなかった。コホート2では、2人の活性患者において3回の嘔吐事象が報告された。いずれの症例も、100 µg を投与する1日目に起き、またいずれの症例も、介入なしで解消された。コホート3では、3人の活性患者において13回の嘔吐事象が報告された。2人の対象は、1日目に嘔吐し、これらの症例は介入なしで解消された。1人の対象は、1日目と5日目に6回嘔吐した。3日目に静脈内食塩水を投与し、この対象は、5日目に試験を中止した。

【0240】

4人(44.4%)のプラセボ患者及び7人(36.8%)のG933処置患者において、心臓に有害事象が報告された。その頻度は、全ての活性コホートで、用量と共に増加しないことがわかった。約10 bpmの脈拍数増加が、G933による処置後の各コホートにおいて観察された。収縮期血圧及び拡張期血圧に有意な変化は見られなかったが、G933又はプラセボにいずれかを受けた全てのコホートに血圧降下の傾向が認められた。

【0241】

4人(44.4%)のプラセボ患者及び13人(68.4%)のG933処置患者において胃腸(GI)有害事象が報告された。GI有害事象は、コホート1、2、及び3のそれぞれ3、4、及び6人の患者に及ぼされた。最も主要なGI有害事象は吐気であり、これは、6人(31.6%)のG933処置患者に報告された。

【0242】

コホート3の6人(85.7%)のG933処置患者に食欲減退が報告された。

【0243】

1件の重篤な有害事象(SAE)：マイコプラズマ肺炎が報告された。

【0244】

要約すると、G933は、良好な耐受性を示し、有意な食後血糖の減少をもたらし、臨床的に有意な用量依存的減量を示した。

【0245】

(ii) パートB：コホート4

G933は、41日の投与期間にわたって、血糖及び減量を有効に低下させた。ベースライン(1日目)から41日目までの曲線下グルコース面積(AUC)の平均減少を図18に示す。この時間の経過で、G933は、38.5%の減少(90% C.I. -47.1、-29.0)をもたらしたのに対し、プラセボは、16.1%の減少(90% C.I. -24.9、-8.0)しかもたらさなかった(p値：0.001)。G933は、HbA1cにより測定されるように、血糖コントロールも改善した(図19を参照)。41日の処置の後、HbA1cは、7.2%のベースライン平均から42日目の6.3%の平均へと、0.92パーセント減少した。これに対し、プラセボは、7.3%のベースライン平均から6.7%の平均へと、HbA1cを0.58パーセント低減したに過ぎなかった。

【0246】

体重に対するG933の効果を図20及び21に示す。図20は、G933による41日の処置の後、患者が、約3.83 kg 減量したのに対し、プラセボを受けた患者は、約1.71 kg しか減量しなかったことを示す(G933とプラセボの差2.12 kg ; p<0.001)。さらに、G933で処置した44%の患者が、少なくとも5 kg 減量したのに対し、プラセボを受けた患者で、少なくとも5 kg 減量したのは、わずか8%であった。図21は、G933による41日の処置の後、患者が、その体重の約4.18%を減量したのに対し、プラセボを受けた患者は、その体重の約1.71%しか減量しなかったことを示す(G933とプラセボの差2.47% ; p<0.001)。加えて、G933で処置した患者の84%が、その体重の少なくとも2%を減量したのに対し、プラセボを受けた患者で、その体重の少なくとも2%減量したのは、42%に過ぎなかった。

【0247】

G933による処置は、肝臓脂肪の減少も達成した。(図22を参照)。プラセボに対するG933によるベースライン(95%CI)からの肝臓脂肪の平均相対減少率は、20.5%(7.2、33.9)であった($p=0.004$)。G933で処置した患者には、プラセボと比較して、肝体積の有意な減少も観察された(0.14L(-0.24、-0.03)、 $p=0.01$)。

【0248】

全体として、G933及びプラセボで処置した患者において有害作用は均衡を保った。有害作用を以下の表にまとめる。死亡は起こらなかった。

【0249】

【表28】

下記を有する対象	プラセボ N=26	200 µg の G933 N=25
少なくとも1回の事象	21 (80.8%)	22 (88.8%)
少なくとも1回のG933関連事象	15 (57.7%)	20 (80.0%)
少なくとも1回の $\geq$ グレード3重症度の事象	2 (7.7%)	0
死亡(グレード5重症度)	0	0
少なくとも1回の重篤な事象	1 (3.8%)	0
少なくとも1回の重篤且つ/又は $\geq$ グレード3重症度の事象	2 (7.7%)	0
少なくとも1回のG933関連の重篤な事象	1 (3.8%)	0
G933の中止を招く少なくとも1回の事象	1 (3.8%)	3 (12.0%)

【0250】

計17人の患者が、吐気を報告した：プラセボを受けた4人(15.4%)と、G933で処置した13人(52.0%)。計8人の患者が、嘔吐した：プラセボを受けた0人と、G933で処置した8人(32.0%)。吐気及び嘔吐は、早期の投与ほど頻度が高かった。(図23を参照)。

【0251】

心臓及び血流力学パラメータに有害な変化は観察されなかった。収縮期又は拡張期血圧の上昇も観察されなかった。13日目に12.8拍/分(bpm)の脈拍数の増加が見られたが、41日目までに6.9bpmに下降した。

【0252】

全体として、G933は、41日期間の血糖低下及び減量の両方に関して有効であった。混合食試験に基づくグルコース代謝は正常化し、これは、HbA1cの有意な減少を伴った。意外なことに、リラグルチド(3mg)による処置について予想されたものよりも、高い減量の推定値が観測された。

【0253】

G933は、最大41日まで、100 µgから200 µgまでの漸増用量に対して良好な耐容性を示し、200 µgによる処置から1週間以内の定常状態達成と、複数回投与後の最小蓄積が確認された。200 µg用量レベルで観察された最大血漿中濃度は、1.98 ng/mL~34.30 ng/mLであった。

【0254】

実施例6：複数用量漸増試験パートII

(A) 対象

約32人の比較的良好にコントロールされた2型糖尿病（T2DM）を有する過剰体重又は肥満の対象が、本試験への参加のために登録している。登録対象は、下記の例外を除いて、実施例5に記載した選択及び除外基準を満たす者である。

【0255】

選択基準：

- ・コホート5及び6の対象は、スクリーニング期間中プラセボ（又は通常の食塩水）の初期自己注射後、毎日皮下（SC）注射を自己投与する意思があり、且つ自己投与することができなければならない。

【0256】

除外基準：

- ・以下：（a）収縮期血圧<90mmHg若しくは ≥ 140 mmHg；（b）拡張期血圧<50mmHg若しくは ≥ 90 mmHg；又は（c）心拍数<45若しくは>85拍／分のいずれかにより定義される、仰臥位安静10分後の異常なバイタルサイン；

- ・Canadian Cardiovascular SocietyクラスIIより高度に分類される不安定狭心症若しくは安定狭心症、又は心筋梗塞若しくは発作のいずれかの以前の病歴、又は過去12ヵ月以内の一過性脳虚血発作の病歴。

【0257】

（B）試験デザイン

ランダム化、二重盲検式、複数用量漸増試験を実施した。本試験のフローチャートを図24に示す。この試験は、2つのコホート：コホート5及びコホート6から成る。コホート5は、16人の対象（活性12、プラセボ4）から成り、5日間にわたる100 μ gのG933（MED10382）投与の開始後、150 μ gを5日間、200 μ gを5日間、そして300 μ gを7日間投与する。コホート6は、更なる16人の対象（活性12、プラセボ4）から成り、5日間にわたる100 μ gのG933投与の開始後、200 μ gを5日間、そして300 μ gを7日間投与する。コホート5及びコホート6は、計約32人の対象を有し、並行して試験を実施する。

【0258】

試験は、コホート5及び6の両方について、3日目に開始する入院患者漸増評価期間と、外来患者追跡調査期間から構成される。最初の4日と、300 μ gを投与する最後の日

は入院する。

【0259】

コホート1～4について実施例5に記載したように、対象は診療施設に入院する。しかし、彼らは、3日目に終了する初期入院期間を有し、その後、G933の在宅自己投与期間を行うが、300 μ g用量の開始まで、用量漸増ステップ毎に診療施設に来院する。対象は、300 μ g用量の開始のための第2の入院期間を有し、これは第4日で終了し、その後、この用量での在宅自己投与が続く。

【0260】

1日目と、達成される最も高い用量レベルの最後の日に、混合食試験（MMT）処置を実施する。追加時点は、300 μ g用量を開始する前（コホート5は16日目で、コホート6は11日目）と、投与の終了時（コホート5は22日目で、コホート6は17日目）を含む。MMTは、実施例5に記載の通りに実施する。

【0261】

第1用量の前、入院投与期間中、外来患者期間中、施設からの退院時、7日～14日の追跡調査来院時、並びに来院の28日終了時を含む（しかし、これらに限定されない）複数の時点で、体重を測定する。

【0262】

G933の薬物動態サンプルを、投与前及び投与後、並びにG933の最後の投与から48時間後まで、コホートによって様々な時点で取得する。メトホルミン濃度のためのサンプルは、G933の投与前に採取する。抗薬物抗体サンプルは、投与前と、最後の投与から最大28日後までの様々な時点で取得する。

10

20

30

40

50

【0263】

対象は、本試験で最終用量を投与された後、施設から退院する。治験薬の最後の投与から約28日後に最終安全性評価のために追跡調査来院を実施する。

【0264】

(C) 結果

G933は、コホート5及び6において、グルコースを有効に低下させた。コホート5及び6で観察されたグルコースAUCレベルをそれぞれ図25及び26に示す。コホート5では、G933による処置は、41.7%のグルコースAUC減少(90% C.I. -49.9、-33.5)をもたらしたのに対し、プラセボによる処置は、8.0%のグルコース低減(90% C.I. -19.6、3.6)しかもたらさなかった($p < 0.001$)。コホート6において、G933による処置は、35.8%のグルコースAUC減少(90% C.I. -43.3、-28.3)をもたらしたのに対し、プラセボによる処置は、-6.9%のグルコース低減(90% C.I. -20.2、6.3)しかもたらさなかった($p = 0.002$)。グルコースAUCに対する効果は、以前のコホートと同等であり、すなわち、約40%の減少を標準化した。全コホートにおけるベースライングルコースAUCからの変化率(%)を図27に示す。図28に示すように、G933は、コホート5及び6の空腹時血糖値も有効に低下させた。

【0265】

G933は、減量においても有効であった。図29に示すように、22日の処置後、コホート5においてG933で処置した患者は、約3.09 kg 減量したのに対し、プラセボで処置した患者は、約0.98 kg しか減量しなかった(2.11 kg の差)。同様に、17日の処置後では、コホート6においてG933で処置した患者は、約2.23 kg 減量したのに対し、プラセボで処置した患者は、約0.35 kg しか減量しなかった(1.88 kg の差)。コホート5(2.11 kg)及び6(1.88 kg)のいずれも、22日及び17日後に、コホート4での41日の投与中に観察されたものと同等の減量を示した。

【0266】

体重及び血糖値の変化を図30と一緒にプロットし、以下の表22にまとめる。

【0267】

【表29】

表22

コホート N= 活性	体重 (kg)	グルコース AUC	空腹時血糖 (mg/dl)
1 100 ug n=6	-1.1	-27.3	-28.00
2 150 ug n=6	-0.5	-8.9	-17.90
3 200 ug n=6	-2.4	-31.6	-43.20
4 200 ug n=25	-2.11	-22.5	-32.62
5 300 ug n=12	-2.11	-33.7	-24.40
6 300 ug n=12	-1.88	-28.9	-36.94

【0268】

G933は、コホート5及び6において、良好な耐容性を示し、有害事象プロファイルは、リラグルチドなどの他の市販のGLP-1類似体と一致した。いずれのコホートにも死亡又は重篤な有害事象は観察されなかった。

【0269】

いずれの漸増スケジュールも、最大300 µg用量のG933が、吐気及び嘔吐に関して良好な耐容性であることを立証している。コホート5では、計4人の患者が、8回の吐気のエピソードを報告した：プラセボを受けた患者1人（20%）及びG933を受けた患者3人（27.3%）。計3人の患者が、8回の嘔吐エピソードを報告した：プラセボを受けた患者はおらず（0%）、G933を受けた患者3人（27.3%）。コホート6では、計5人の患者が、6回の吐気のエピソードを報告した：プラセボを受けた患者はおらず（0%）、G933を受けた患者5人（41.7%）。1人の患者が、2回嘔吐した：プラセボを受けた患者はおらず（0%）、G933を受けた患者1人（8.3%）。対象が、最初の用量から48時間後に外来患者になると、より低い割合の吐気（8/24 = 33%）及び嘔吐（4/24 = 16%）が観察された。

10

【0270】

携帯型血圧測定は、G933処置患者において、収縮期血圧／拡張期血圧（SBP／DBP）にベースラインからの上昇は示さず、下降への潜在的傾向を示した。コホート5では、22日のG933の投与後、心拍数がベースラインから約7.6拍／分（BPM）増加し、これは、以前、並びに他のGLP-1類似体及びコホート4で観察されたものと一致した。コホート6では、17日のG933の投与後、心拍数がベースラインから約5.9拍／分（BPM）増加した。

【0271】

両方の漸増計画により得られた300 µgの最高用量で7日後のG933の血漿中濃度を図31に示す。プロファイルは、特に定常状態に達すると、重複するが、これは、この用量レベルでの曝露が、採用した漸増計画とは独立であることを示唆している。300 µg用量で観察された最大血漿中濃度は、7.9 ng/mL～30.9 ng/mLの範囲であった。

20

【0272】

複数用量漸増試験結果のまとめ（パートI及びII）

全体として、100～300 µgの用量範囲で、G933は、約8～11時間の半減期を有する線形PK、毎日の反復投与後のわずかな蓄積、並びに試験した全4用量レベルで4日目～7日目の定常状態達成を示した。これらの結果により、単一用量試験（実施例4）からの結果が確認された。300 µgの最高用量で7日後に到達した血漿中濃度は、採用した漸増計画とは独立であった。Cmaxの対象間変動は、より小さなコホートでは約20～30%、より大きなコホート4では40～50%であった。試験した用量試験範囲内で、且つ採用した漸増計画を用いた最大血漿中濃度は、1.98 ng/mL～34.3 ng/mLの範囲であり、平均1日血漿中濃度は、0.87 ng/mL～16.3 ng/mLの範囲であった。

30

【0273】

安全性及び耐容性プロファイルは、他のGLP-1模倣物と同等であり、重要なことには、G933は、減量及び血糖コントロールの両方をもたらした。

【0274】

本開示は、本開示の個別の態様の単一の例示として意図される記載の具体的実施形態、並びに本開示の範囲内で機能的に均等であるあらゆる組成物又は方法によって範囲を限定されるわけではない。実際に、本明細書において図示及び記載するもの以外に、本開示の様々な改変形態が、以上の説明及び添付の図面から、当業者には明らかになるであろう。こうした改変形態は、添付する特許請求の範囲に含まれるものとする。

40

【0275】

本明細書で述べた全ての刊行物及び特許出願は、あたかも各刊行物又は特許出願が、具体的かつ個別に参照により組み込まれると示されているのと同じ範囲まで、参照により本明細書に組み込まれるものとする。

50

【図面】
【図 1】

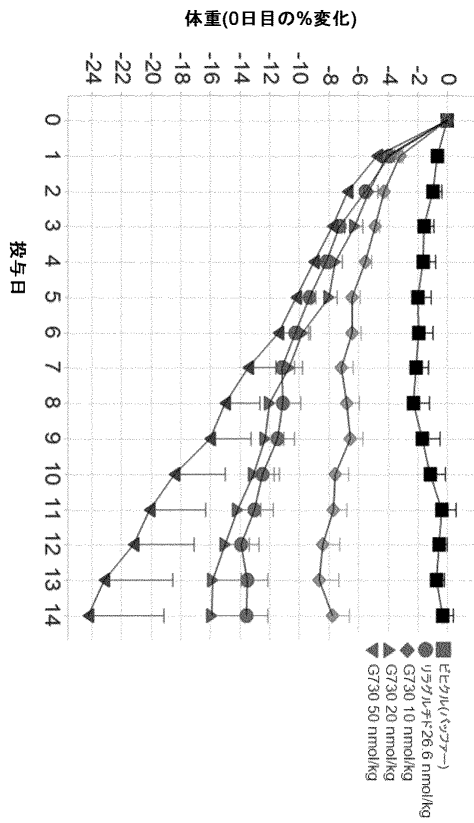


図 1

【図 2】

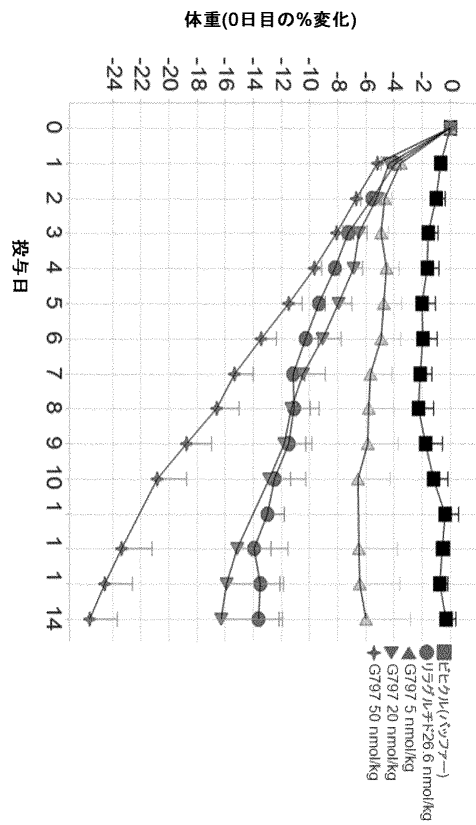


図 2

【図 3】

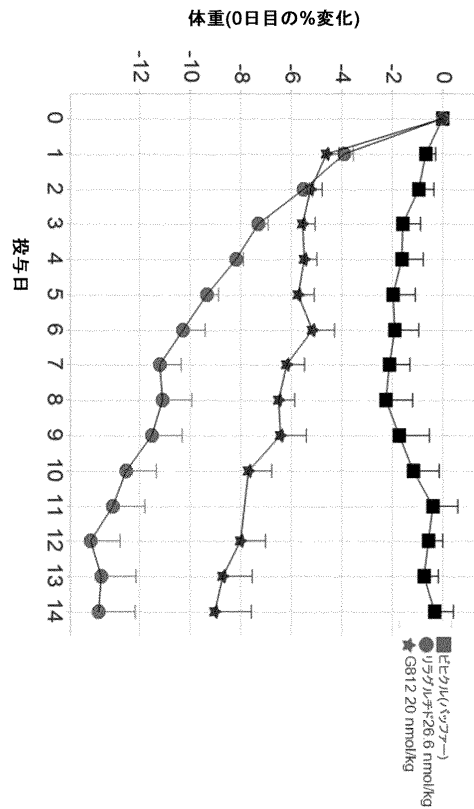


図 3

【図 4】

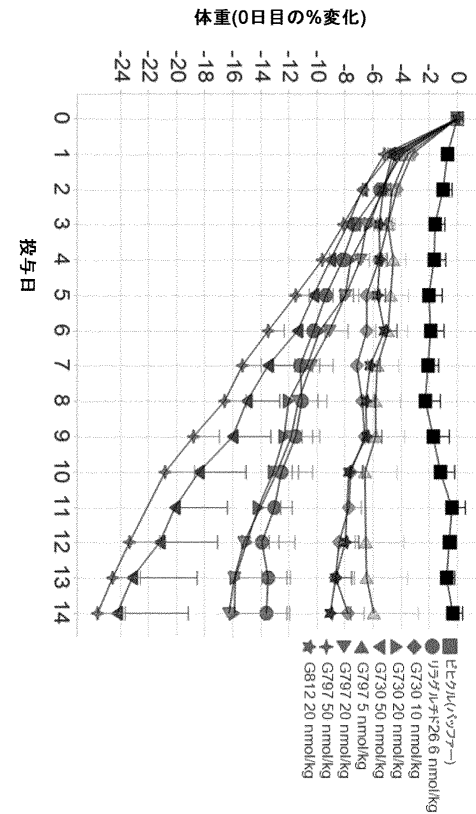


図 4

10

20

30

40

50

【図 5】

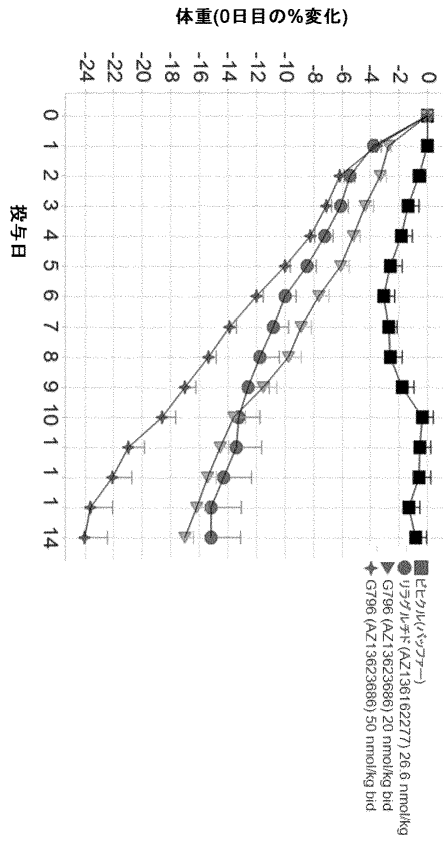


図 5

【図 6】

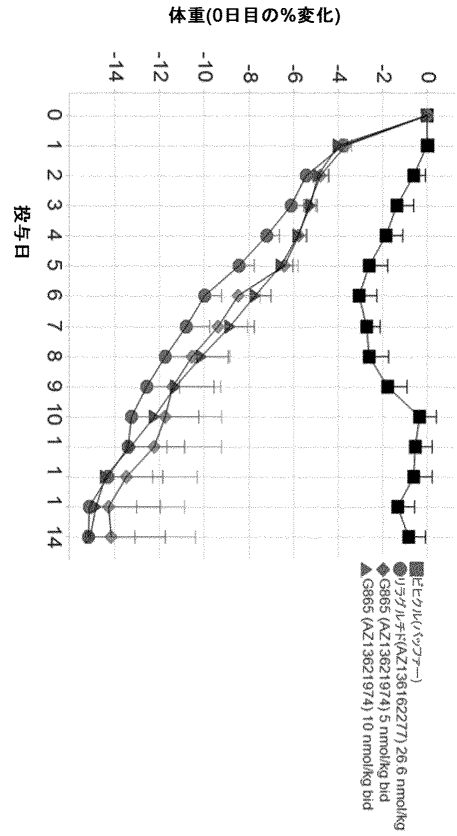


図 6

【図 7】

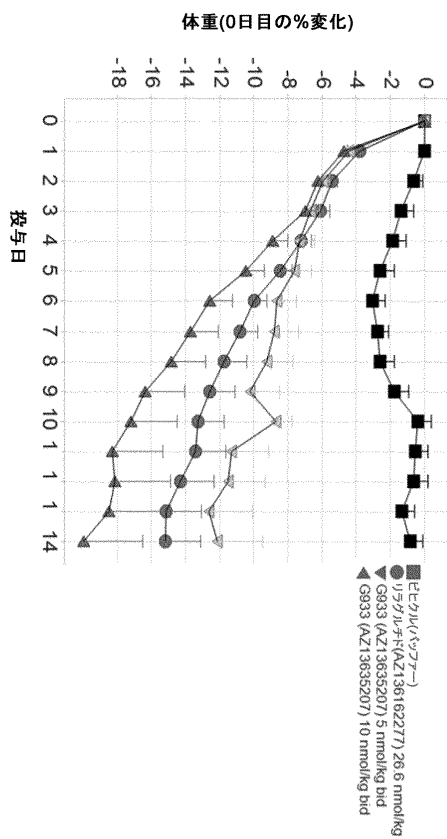


図 7

【図 8】

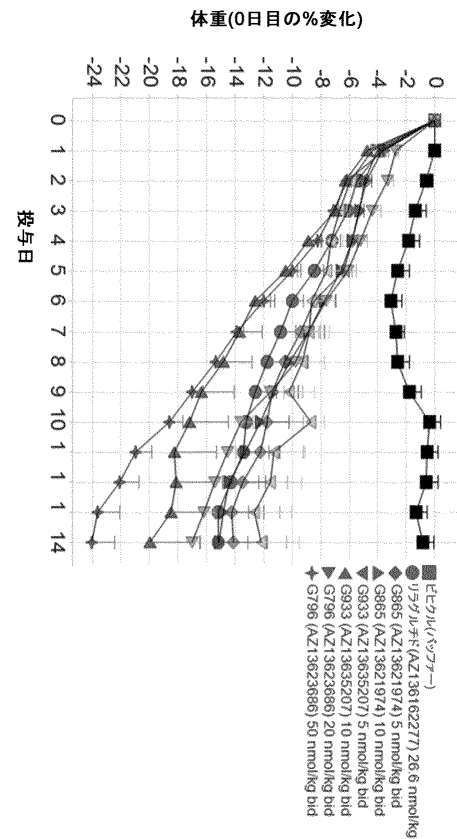


図 8

10

20

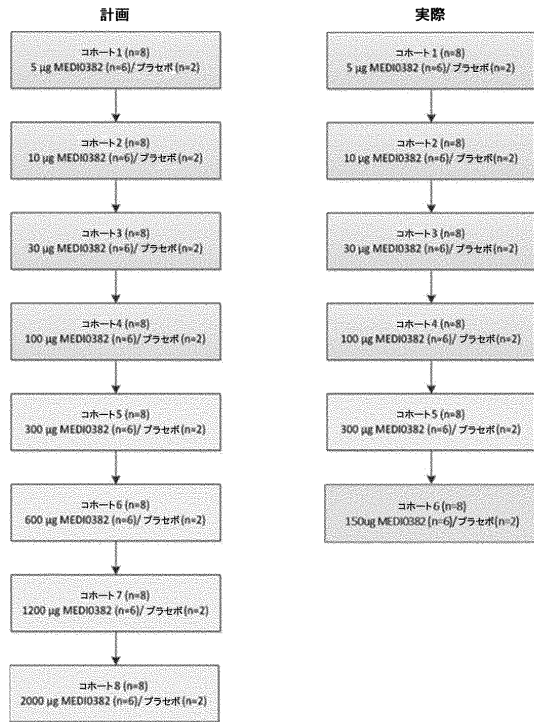
30

40

50

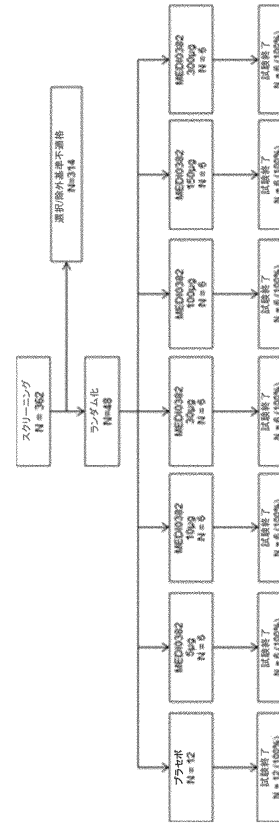
【図 9】

図 9



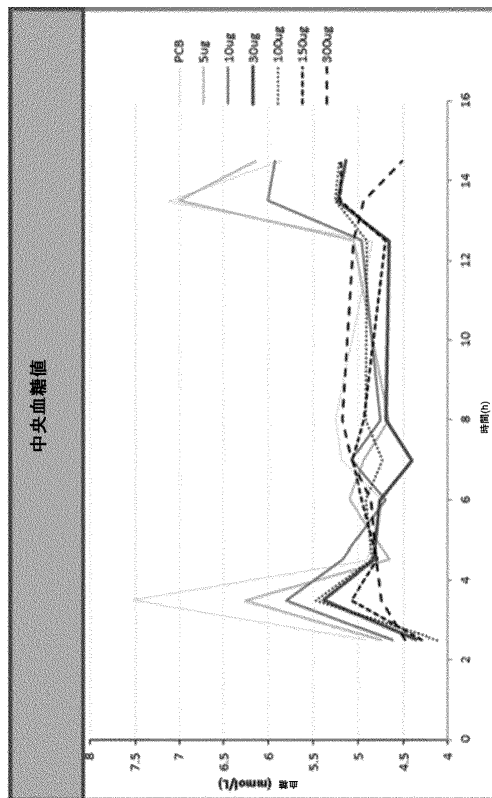
【図 10】

図 10



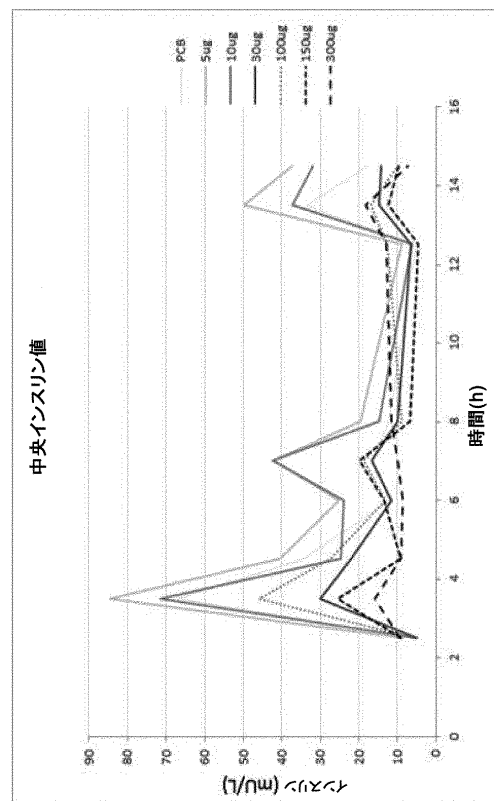
【図 11】

図 11



【図 12】

図 12



10

20

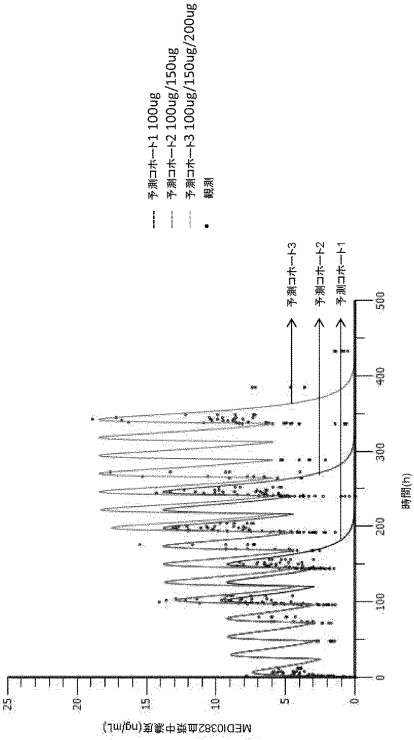
30

40

50

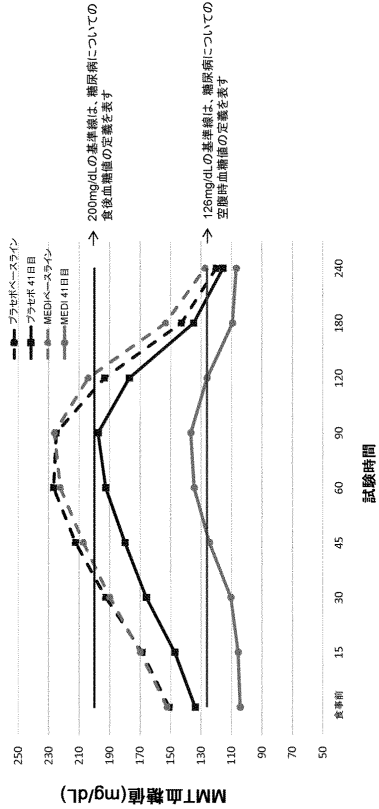
【図 17】

図 17



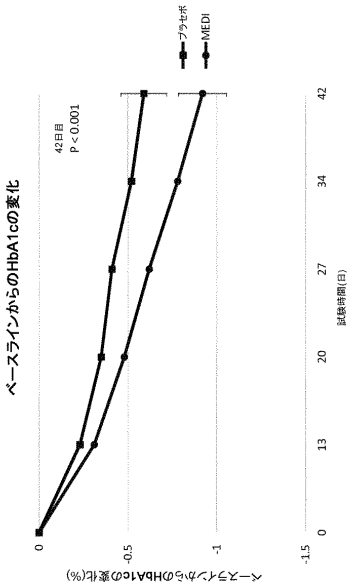
【図 18】

図 18



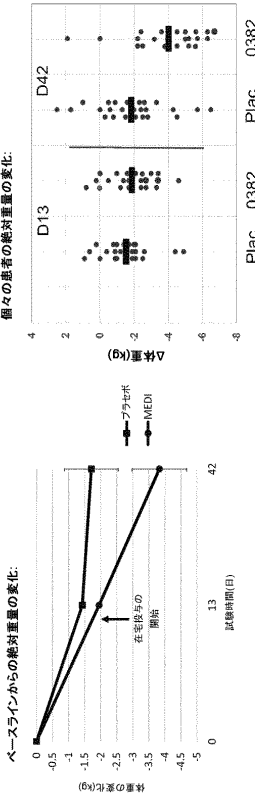
【図 19】

図 19

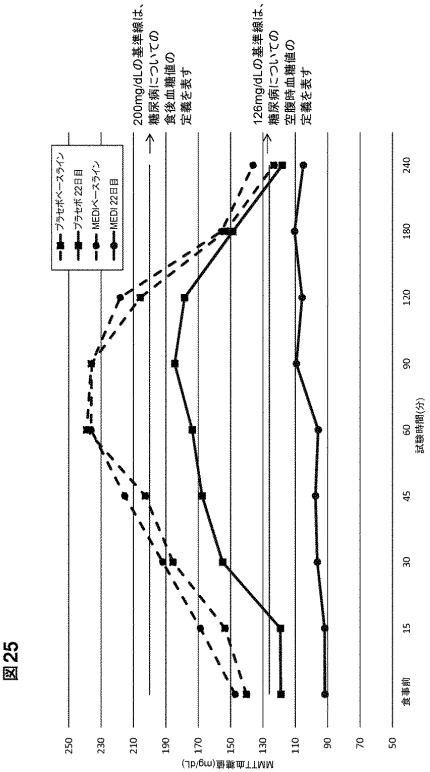


【図 20】

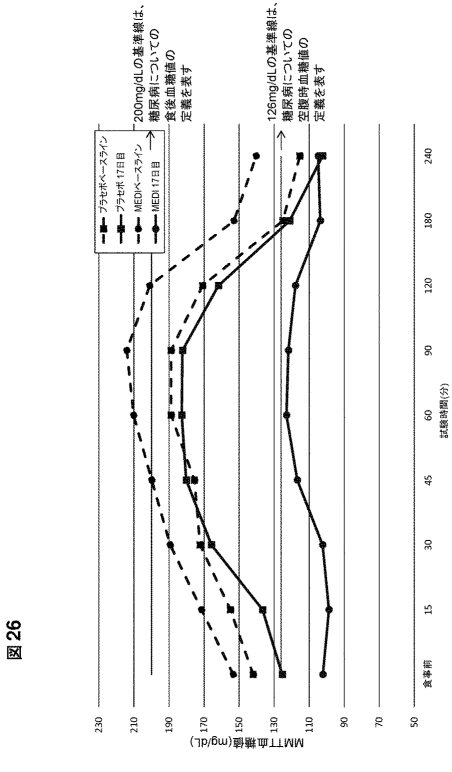
図 20



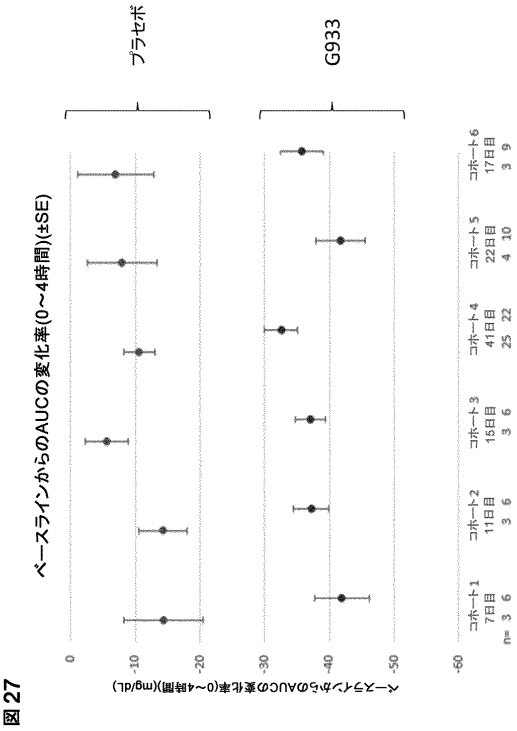
【図 25】



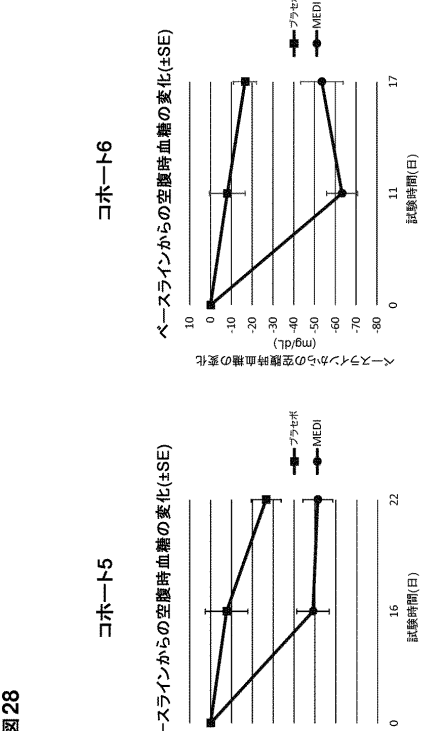
【図 26】



【図 27】



【図 28】



【図 29】

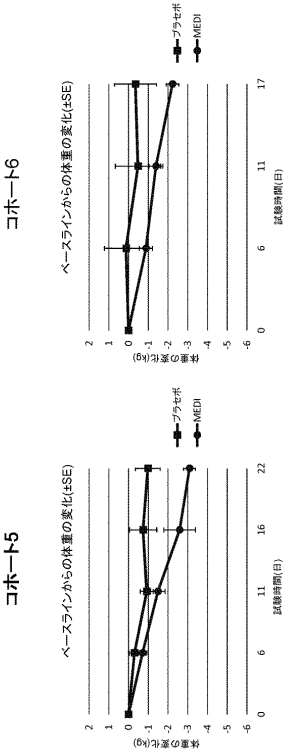


図 29

【図 30】

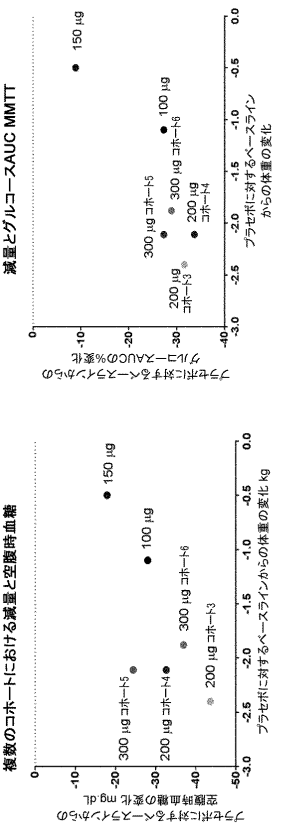


図 30

【図 31】

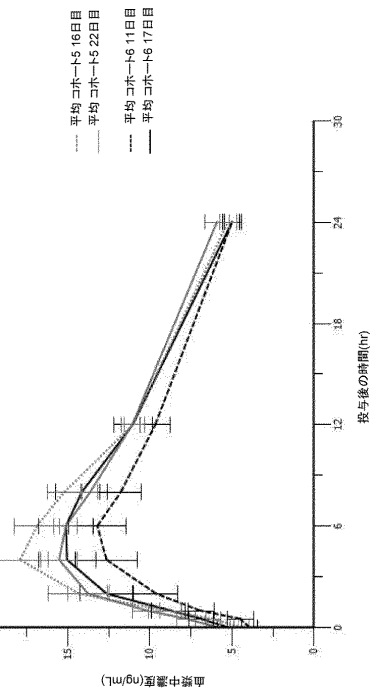


図 31

10

20

30

40

50

【配列表】
0007237590000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

C O 7 K 14/605 (2006.01)

F I

C O 7 K 14/605

Z N A

弁理士 櫻井 陽子

(72)発明者

マリア・アレクサンドラ・ベドナレック

英国シービー２１・６ジーエイチ、ケンブリッジシャー、ケンブリッジ、グランタ・パーク、ミル
スタイン・ビルディング、メディューン・リミテッド

(72)発明者

ルッツ・ウルリッヒ・イエルクトウス

英国シービー２１・６ジーエイチ、ケンブリッジシャー、ケンブリッジ、グランタ・パーク、ミル
スタイン・ビルディング

(72)発明者

フィリップ・アンベリー

英国シービー２１・６ジーエイチ、ケンブリッジシャー、ケンブリッジ、グランタ・パーク、ミル
スタイン・ビルディング

(72)発明者

マルチェッラ・ペトロネ

英国シービー２１・６ジーエイチ、ケンブリッジシャー、ケンブリッジ、グランタ・パーク、ミル
スタイン・ビルディング

審査官

横田 倫子

(56)参考文献

特表２０１６－５０１２５６（ＪＰ，Ａ）

国際公開第２０１２／１３８９４１（ＷＯ，Ａ１）

特表２０１３－５４５７２４（ＪＰ，Ａ）

特表２０１１－５２４４１９（ＪＰ，Ａ）

特表２０１３－５１８１１５（ＪＰ，Ａ）

特表２０１５－５２４４２７（ＪＰ，Ａ）

特表２０１１－５２４４１０（ＪＰ，Ａ）

肝臓，Vol.55 Suppl.1，p.A54(PD1-14)

(58)調査した分野 (Int.Cl.，ＤＢ名)

A 6 1 K 3 8 / 0 0

A 6 1 P

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

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)

U n i P r o t / G e n e S e q