

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2021-533113

(P2021-533113A)

(43) 公表日 令和3年12月2日(2021.12.2)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 14/475 (2006.01)	C O 7 K 14/475	4 C O 8 4
A61P 21/00 (2006.01)	A 6 1 P 21/00	Z N A 4 H O 4 5
A61P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A61P 9/10 (2006.01)	A 6 1 P 9/10	
A61P 3/04 (2006.01)	A 6 1 P 3/04	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 59 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2021-505195 (P2021-505195)
 (86) (22) 出願日 令和1年7月31日 (2019.7.31)
 (85) 翻訳文提出日 令和3年3月12日 (2021.3.12)
 (86) 国際出願番号 PCT/IB2019/056537
 (87) 国際公開番号 W02020/026167
 (87) 国際公開日 令和2年2月6日 (2020.2.6)
 (31) 優先権主張番号 18187131.0
 (32) 優先日 平成30年8月2日 (2018.8.2)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 欧州特許庁 (EP)

(71) 出願人 504389991
 ノバルティス アーゲー
 スイス国 バーゼル リヒトシュトラーセ
 35
 (74) 代理人 100092783
 弁理士 小林 浩
 (74) 代理人 100095360
 弁理士 片山 英二
 (74) 代理人 100120134
 弁理士 大森 規雄
 (74) 代理人 100186897
 弁理士 平川 さやか
 (74) 代理人 100104282
 弁理士 鈴木 康仁

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 新規なマイオカイン及びその使用

(57) 【要約】

本発明は、マイオカイン活性を有する C 1 o r f 5 4 ポリペプチド及びその変異体、並びに筋肉が関連する障害を処置、回復又は予防するための組成物及び方法を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

マイオカイン活性を有する、配列番号 3 若しくは配列番号 4 の群から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも 95 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列からなる単離ポリペプチド。

【請求項 2】

配列番号 3 若しくは配列番号 4 のいずれか 1 つの前記配列内で、1 個、2 個、3 個、4 個若しくは 5 個のアミノ酸が、修飾、欠失、付加及び/又は置換されている、請求項 1 に記載の単離ポリペプチド。

【請求項 3】

配列番号 3 若しくは配列番号 4 のいずれか 1 つのアミノ酸配列からなる、請求項 1 に記載の単離ポリペプチド。

【請求項 4】

治療において使用するための、単離された C 1 o r f 5 4 ポリペプチド若しくはその変異体。

【請求項 5】

医薬として使用するための、単離された C 1 o r f 5 4 ポリペプチド若しくはその変異体。

【請求項 6】

医薬として使用するための、

- a . アミノ酸配列である配列番号 2、3、若しくは 4 からなるポリペプチド；
 - b . 配列番号 2、3、若しくは 4 のアミノ酸配列を含むポリペプチド；
 - c . 配列番号 2、3、若しくは 4 に対して少なくとも 95 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチド；及び
 - d . 配列番号 2、3、若しくは 4 に対して少なくとも 95 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチド
- から選択されるポリペプチド。

【請求項 7】

医薬の製造において使用するための、

- a . アミノ酸配列である配列番号 2、3、若しくは 4 からなるポリペプチド；
 - b . 配列番号 2、3、若しくは 4 のアミノ酸配列を含むポリペプチド；
 - c . 配列番号 2、3、若しくは 4 に対して少なくとも 95 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチド；及び
 - d . 配列番号 2、3、若しくは 4 に対して少なくとも 95 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチド
- から選択されるポリペプチド。

【請求項 8】

マイオカイン活性を有する、請求項 4 ~ 7 のいずれか一項に記載の使用のためのポリペプチド。

【請求項 9】

対象における筋肉が関連する障害の処置において使用するための、請求項 4 ~ 6 及び 8 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 10】

対象における筋肉が関連する障害の処置において使用するためのポリペプチドであって、前記処置は、前記対象に有効量の

- a . アミノ酸配列である配列番号 2、3、若しくは 4 からなるポリペプチド；
- b . 配列番号 2、3、若しくは 4 のアミノ酸配列を含むポリペプチド；
- c . 配列番号 2、3、若しくは 4 に対して少なくとも 95 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチド；
- d . 配列番号 2、3、若しくは 4 に対して少なくとも 95 % のアミノ酸配列同一性を有す

10

20

30

40

50

るアミノ酸配列を含むポリペプチドから選択されるポリペプチドを投与することを含み；前記ポリペプチドは、マイオカイン活性を有する、ポリペプチド。

【請求項 1 1】

a . 医薬有効量の

i) アミノ酸配列である配列番号 2、3、若しくは 4 からなるポリペプチド；

i i) 配列番号 2、3、若しくは 4 のアミノ酸配列を含むポリペプチド；

i i i) 配列番号 2、3、若しくは 4 に対して少なくとも 95 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチド；及び

i v) 配列番号 2、3、若しくは 4 に対して少なくとも 95 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチド

から選択される少なくとも 1 種のポリペプチドであって、前記ポリペプチドは、マイオカイン活性を有する、ポリペプチド；並びに

b . 少なくとも 1 種の薬学的に許容される担体、賦形剤又は添加剤を含む、医薬組成物。

【請求項 1 2】

筋肉が関連する障害の処置において使用するための、請求項 1 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 3】

対象における筋肉が関連する障害を処置する方法であって、前記方法は、前記対象に有効量の

a . アミノ酸配列である配列番号 2、3、若しくは 4 からなるポリペプチド；

b . 配列番号 2、3、若しくは 4 のアミノ酸配列を含むポリペプチド；

c . 配列番号 2、3、若しくは 4 に対して少なくとも 95 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチド；

d . 配列番号 2、3、若しくは 4 に対して少なくとも 95 % のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチド

から選択されるポリペプチドを投与することを含み、

前記ポリペプチドは、マイオカイン活性を有する、方法。

【請求項 1 4】

前記筋肉が関連する障害が、筋萎縮、整形外科的傷害、筋肉傷害、筋肉衰弱、心不全、化学療法、脳卒中後、二次性筋肉喪失、サルコペニア、肥満又は代謝症候群から選択されるか、又はこれらによってもたらされる障害である、請求項 9 若しくは 10 に記載の使用のためのポリペプチド、又は請求項 1 2 に記載の医薬組成物、又は請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記マイオカイン活性が、筋機能増加活性を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の単離ポリペプチド、又は請求項 8 ~ 10 のいずれか一項に記載の使用のためのポリペプチド、又は請求項 1 1 若しくは 1 2 に記載の医薬組成物、又は請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 6】

前記マイオカイン活性が、筋強度増加活性を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の単離ポリペプチド、又は請求項 8 ~ 10 のいずれか一項に記載の使用のためのポリペプチド、又は請求項 1 1 若しくは 1 2 に記載の医薬組成物、又は請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記マイオカイン活性が、筋再生改善活性を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の単離ポリペプチド、又は請求項 8 ~ 10 のいずれか一項に記載の使用のためのポリペプチド、又は請求項 1 1 若しくは 1 2 に記載の医薬組成物、又は請求項 1 3 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、第1染色体オープンリーディングフレーム54 (C1orf54) ポリペプチド及びその変異体に関する。本発明は、マイオカイン活性を有するヒト第1染色体オープンリーディングフレーム54 (C1orf54) ポリペプチド及びその変異体を提供する。本発明は、治療において使用するための、ヒト第1染色体オープンリーディングフレーム54 (C1orf54) ポリペプチド及びその変異体を提供する。特に、本発明は、筋肉が関連する障害を処置、回復又は予防するための、マイオカイン活性を有するC1orf54ポリペプチド及びその変異体を提供する。

【背景技術】

【0002】

多くの一般の急性及び慢性状態は、筋骨格の機能低下と関連している。例えば、手術、下肢の傷害、集中治療室 (ICU) ミオパチー、又は加齢に関連した健康上の制約に続いて廃用性萎縮を有する患者は、典型的には、筋肉量及び機能の進行性の喪失を経験する。正常に機能しない再生としばしば連動した筋肉量又は強度の低減は、不都合な帰結、例えば、重度の機能的な制限、転倒の危険性の増加、身体障害、及び生活の質の低減を伴う。筋骨格の機能低下は、現代社会の全ての社会人口統計学的層に亘る全ての年齢の男性及び女性において共通であり、世界的に数億人の人々に影響を与えている。筋骨格の機能低下の蔓延は年齢と共に著しく増加し、多くは最も一般的な生活習慣要因、例えば、低い身体的活動によってさらに影響を受ける。したがって、これらの状態は、大きな未だ対処されていない医学的及び社会経済的な必要性を表す。現在の処置は、予防又は治療を標的とするよりむしろ、症状の管理に限定されることが多い。

【0003】

骨格筋は、高い可塑性及び運動に対して高い応答性を有する組織である。衛星細胞 (筋肉前駆細胞) は典型的には、運動及び傷害によって活性化され、筋組織のリモデリングにおいて重要な役割を果たしている。運動は、とりわけ、精神疾患、神経系疾患、代謝性疾患、心血管疾患、肺疾患、筋骨格障害、及びがんについて高度に効果的な治療である (Pedersen and Saltin (2015) Scand J Med Sci Sports 25 Suppl 3, 1-72)。筋肉由来分泌因子は、運動の有益な効果の媒介に関与していると考えられる (Giudice and Taylor (2017) Curr Opin Pharmacol 34, 49-55)。このような因子は、オートクリン、パラクリン又はエンドクリン効果を発揮し得る種々のサイトカイン及びペプチドを含み、「マイオカイン」と集合的に称される (Pedersen and Febbraio (2012) Nat Rev Endocrinol 8, 457-465)。骨格筋セクレトームの分析は、運動又は収縮に応じて分泌される数百のマイオカインを明らかにしてきた。しかし、全てのマイオカインが筋肉の成長に対してプラスの効果をもたらすとは限らない。マイオカインであるミオスタチンは、例えば、筋発生を疎外し、陰性の筋肉制御因子である (Elkina et al. (2011) J Cachexia Sarcopenia Muscle 2, 143-151)。さらに、冒されている患者について、激しい身体的活動を発揮することは一般に困難である。公知の筋肉同化剤は筋肉量を増加させ、これは筋肉強度の増加をそれに続いてもたらし得るが、同化剤は種々の望ましくない副作用をもたらし得る。ステロイドの使用は、高血圧 (Urhausen A, Albers T, Kindermann W. Heart Br Card Soc. 2004; 90(5): 496-501)、心臓の心室の機能の低下 (Pope HG, Kanayama G, Athey A, Ryan E, Hudson JI, Baggish A. Am J Addict Am Acad Psychiatry Alcohol Addict. 2014; 23(4): 371-377)、心血管疾患、例えば、心臓発作 (Vanberg P, Atar D. Handb Exp Pharmacol. 2010; (195): 411-457)、動脈損傷 (Baggish AL, Weiner RB, Kanayama G, et al. 2017; 13

10

20

30

40

50

5 (2 1) : 1 9 9 1 - 2 0 0 2) 及 び 脳 卒 中 (E l S c h e i c h T , W e b e r A - A , K l e e D , S c h w e i g e r D , M a y a t e p e k E , K a r e n f o r t M . J P e d i a t r E n d o c r i n o l M e t a b J P E M . 2 0 1 3 ; 2 6 (1 - 2) : 1 6 1 - 1 6 5) と 関 連 付 け ら れ て き た 。 さ ら に 、 筋 肉 容 量 の 増 加 は 、 必 ず し も 筋 肉 強 度 の 増 加 に つ な が ら ない (H a y a s h i d a I , T a n i m o t o Y , T a k a h a s h i Y , K u s a b i r a k i T , T a m a k i J . P L o S O n e . 2 0 1 4 N o v 3 ; 9 (1 1) : e 1 1 1 8 1 0) 。 し た が っ て 、 筋 肉 強 度 に 対 す る 直 接 の 質 的 効 果 を 伴 う 運 動 の 効 果 を 模 倣 す る マ イ オ カ イ ン を ベ ー ス と す る 処 置 を 提 供 す る こ と に つ い て 強 い 医 学 上 の 必 要 性 が 存 在 す る 。

【 発 明 の 概 要 】

【 0 0 0 4 】

本 開 示 の あ る 特 定 の 実 施 形 態 を 、 下 記 の 態 様 に お い て 説 明 す る 。

1 . マ イ オ カ イ ン 活 性 を 有 す る 、 配 列 番 号 3 若 し く は 配 列 番 号 4 の 群 か ら 選 択 さ れ る ア ミ ノ 酸 配 列 に 対 し て 少 な く と も 9 5 % の ア ミ ノ 酸 配 列 同 一 性 を 有 す る ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る 単 離 ポ リ ペ プ チ ド 。

2 . 1 個 、 2 個 、 3 個 、 4 個 若 し く は 5 個 の ア ミ ノ 酸 が 、 配 列 番 号 3 若 し く は 配 列 番 号 4 の い ず れ か 1 つ の 配 列 内 で 修 飾 、 欠 失 、 付 加 及 び / 又 は 置 換 さ れ て い る 、 態 様 1 に 記 載 の 単 離 ポ リ ペ プ チ ド 。

3 . 配 列 番 号 3 若 し く は 配 列 番 号 4 の い ず れ か 1 つ の ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る 、 態 様 1 に 記 載 の 単 離 ポ リ ペ プ チ ド 。

4 . 治 療 に お い て 使 用 す る た め の 、 C 1 o r f 5 4 ポ リ ペ プ チ ド 若 し く は そ の 変 異 体 。

5 . 医 薬 と し て 使 用 す る た め の 、 C 1 o r f 5 4 ポ リ ペ プ チ ド 若 し く は そ の 変 異 体 。

6 . 医 薬 と し て 使 用 す る た め の 、

a . ア ミ ノ 酸 配 列 で あ る 配 列 番 号 2 、 3 、 若 し く は 4 か ら な る ポ リ ペ プ チ ド ;

b . 配 列 番 号 2 、 3 、 若 し く は 4 の ア ミ ノ 酸 配 列 を 含 む ポ リ ペ プ チ ド ;

c . 配 列 番 号 2 、 3 、 若 し く は 4 に 対 し て 少 な く と も 9 5 % の ア ミ ノ 酸 配 列 同 一 性 を 有 す る ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る ポ リ ペ プ チ ド ;

d . 配 列 番 号 2 、 3 、 若 し く は 4 に 対 し て 少 な く と も 9 5 % の ア ミ ノ 酸 配 列 同 一 性 を 有 す る ア ミ ノ 酸 配 列 を 含 む ポ リ ペ プ チ ド ; 及 び

e . ア ミ ノ 酸 配 列 (こ こ で 、 1 個 、 2 個 、 3 個 、 4 個 若 し く は 5 個 の ア ミ ノ 酸 は 、 配 列 番 号 2 、 3 、 若 し く は 4 の い ず れ か 1 つ の 配 列 内 で 修 飾 、 欠 失 、 付 加 及 び / 又 は 置 換 さ れ て い る) を 含 む か 、 又 は こ れ か ら な る ポ リ ペ プ チ ド か ら 選 択 さ れ る ポ リ ペ プ チ ド 。

7 . 医 薬 の 製 造 に お い て 使 用 す る た め の 、

a . ア ミ ノ 酸 配 列 で あ る 配 列 番 号 2 、 3 、 若 し く は 4 か ら な る ポ リ ペ プ チ ド ;

b . 配 列 番 号 2 、 3 、 若 し く は 4 の ア ミ ノ 酸 配 列 を 含 む ポ リ ペ プ チ ド ;

c . 配 列 番 号 2 、 3 、 若 し く は 4 に 対 し て 少 な く と も 9 5 % の ア ミ ノ 酸 配 列 同 一 性 を 有 す る ア ミ ノ 酸 配 列 か ら な る ポ リ ペ プ チ ド ;

d . 配 列 番 号 2 、 3 、 若 し く は 4 に 対 し て 少 な く と も 9 5 % の ア ミ ノ 酸 配 列 同 一 性 を 有 す る ア ミ ノ 酸 配 列 を 含 む ポ リ ペ プ チ ド ; 及 び

e . ア ミ ノ 酸 配 列 (こ こ で 、 1 個 、 2 個 、 3 個 、 4 個 若 し く は 5 個 の ア ミ ノ 酸 は 、 配 列 番 号 2 、 3 、 若 し く は 4 の い ず れ か 1 つ の 配 列 内 で 修 飾 、 欠 失 、 付 加 及 び / 又 は 置 換 さ れ て い る) を 含 む か 、 又 は こ れ か ら な る ポ リ ペ プ チ ド か ら 選 択 さ れ る ポ リ ペ プ チ ド 。

8 . マ イ オ カ イ ン 活 性 を 有 す る 、 態 様 4 ~ 7 の い ず れ か に 記 載 の 使 用 の た め の ポ リ ペ プ チ ド 。

9 . 対 象 に お け る 筋 肉 が 関 連 す る 障 害 の 処 置 の た め の 医 薬 と し て 使 用 す る た め の 、 態 様 4 ~ 8 の い ず れ か に 記 載 の ポ リ ペ プ チ ド 。

9 . a . 対 象 に お け る 筋 肉 が 関 連 す る 障 害 の 処 置 の た め の 医 薬 の 製 造 に お い て 使 用 す る た め の 、 態 様 4 ~ 8 の い ず れ か に 記 載 の ポ リ ペ プ チ ド 。

10

20

30

40

50

10．対象における筋肉が関連する障害の処置において使用するためのポリペプチドであって、処置は、対象に有効量の

- a．アミノ酸配列である配列番号2、3、若しくは4からなるポリペプチド；
 - b．配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチド；
 - c．配列番号2、3、若しくは4に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチド；
 - d．配列番号2、3、若しくは4に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチド；及び
 - e．アミノ酸配列（ここで、1個、2個、3個、4個若しくは5個のアミノ酸は、配列番号2、3、若しくは4のいずれか1つの配列内で修飾、欠失、付加及び/又は置換されている）を含むか、又はこれからなるポリペプチドから選択されるポリペプチドを投与することを含み；
- 前記ポリペプチドは、マイオカイン活性を有する、ポリペプチド。

10

11．a．医薬有効量の

- i) アミノ酸配列である配列番号2、3、若しくは4からなるポリペプチド；
 - ii) 配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチド；
 - iii) 配列番号2、3、若しくは4に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチド；
 - iv) 配列番号2、3、若しくは4に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチド；及び
 - v) アミノ酸配列（ここで、1個、2個、3個、4個若しくは5個のアミノ酸は、配列番号2、3、若しくは4のいずれか1つの配列内で修飾、欠失、付加及び/又は置換されている）を含むか、又はこれからなるポリペプチドから選択される少なくとも1種のポリペプチド（前記ポリペプチドは、マイオカイン活性を有する）；並びに
- b．少なくとも1種の薬学的に許容される担体、賦形剤又は添加剤を含む、医薬組成物。

20

12．筋肉が関連する障害の処置において使用するための、態様11に記載の医薬組成物。

13．対象における筋肉が関連する障害を処置する方法であって、前記方法は、対象に有効量の

30

- a．アミノ酸配列である配列番号2、3、若しくは4からなるポリペプチド；
 - b．配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチド；
 - c．配列番号2、3、若しくは4に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチド；
 - d．配列番号2、3、若しくは4に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチド；及び
 - e．アミノ酸配列（ここで、1個、2個、3個、4個若しくは5個のアミノ酸は、配列番号2、3、若しくは4のいずれか1つの配列内で修飾、欠失、付加及び/又は置換されている）を含むか、又はこれからなるポリペプチドから選択されるポリペプチドを投与することを含み、
- 前記ポリペプチドは、マイオカイン活性を有する、方法。

40

14．前記筋肉が関連する障害が、筋萎縮、整形外科的傷害、筋肉傷害、筋肉衰弱、心不全、化学療法、脳卒中後、二次性筋肉喪失、サルコペニア、肥満又は代謝症候群から選択されるか、又はこれらによってもたらされる障害である、態様9及び10のいずれかに記載の使用のためのポリペプチド。

14．a．前記筋肉が関連する障害が、筋萎縮、整形外科的傷害、筋肉傷害、筋肉衰弱、心不全、化学療法、脳卒中後、二次性筋肉喪失、サルコペニア、肥満又は代謝症候群から選択されるか、又はこれらによってもたらされる障害である、態様12に記載の医薬組成物。

50

14 . b . 前記筋肉が関連する障害が、筋萎縮、整形外科的傷害、筋肉傷害、筋肉衰弱、心不全、化学療法、脳卒中後、二次性筋肉喪失、サルコペニア、肥満又は代謝症候群から選択されるか、又はこれらによってもたらされる障害である、態様13に記載の方法。

15 . 前記マイオカイン活性が、筋機能増加活性を含む、態様1～3のいずれかに記載の単離ポリペプチド。

15 . a . 前記マイオカイン活性が、筋機能増加活性を含む、態様8～10のいずれかに記載の使用のための単離ポリペプチド。

15 . b . 前記マイオカイン活性が、筋機能増加活性を含む、態様11～12のいずれかに記載の医薬組成物。

15 . c . 前記マイオカイン活性が、筋機能増加活性を含む、態様13に記載の方法。

16 . 前記マイオカイン活性が、筋肉強度増加活性を含む、態様1～3のいずれかに記載の単離ポリペプチド。

16 . a . 前記マイオカイン活性が、筋肉強度増加活性を含む、態様8、9及び10のいずれかに記載の使用のためのポリペプチド。

16 . b . 前記マイオカイン活性が、筋肉強度増加活性を含む、態様11～12のいずれかに記載の医薬組成物。

16 . c . 前記マイオカイン活性が、筋肉強度増加活性を含む、態様13に記載の方法。

17 . 前記マイオカイン活性が、筋肉再生改善活性を含む、態様1～3のいずれかに記載の単離ポリペプチド。

17 a . 前記マイオカイン活性が、筋肉再生改善活性を含む、態様8～10のいずれかに記載の使用のためのポリペプチド。

17 b . 前記マイオカイン活性が、筋肉再生改善活性を含む、態様11～12のいずれかに記載の医薬組成物。

17 c . 前記マイオカイン活性が、筋肉再生改善活性を含む、態様13に記載の方法。

18 . ポリペプチドが、少なくとも2つのサイクルを含む断続的な投薬スケジュールに従って投与され、各サイクルが、(a)前記C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を対象に投与される投薬期間、及び(b)休止期間を含む、対象における筋肉が関連する障害の処置において使用するための、態様4～6、10、12、14、14a、14b、15a、15b、16a、16b、17a及び17bのいずれかに記載のポリペプチド又は医薬組成物。

19 . 対象に有効量のC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を投与することを含み、ここで、ポリペプチドが、少なくとも2つのサイクルを含む断続的な投薬スケジュールに従って投与され、ここで、各サイクルが、(a)前記C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を対象に投与される投薬期間、及び(b)休止期間を含む、態様13、14c、15c、16c及び17cのいずれかに記載の、対象における筋肉が関連する障害を処置する方法。

20 . 対象における筋肉が関連する障害を処置する方法であって、前記方法は、対象に有効量の

a . アミノ酸配列である配列番号2、3、若しくは4からなるポリペプチド；

b . 配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチド；

c . 配列番号2、3、若しくは4に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチド；

d . 配列番号2、3、若しくは4に対して少なくとも95%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチド；及び

e . アミノ酸配列(ここで、1個、2個、3個、4個若しくは5個のアミノ酸は、配列番号2、3、若しくは4のいずれか1つの配列内で修飾、欠失、付加及び/又は置換されている)を含むか、又はこれからなるポリペプチド

から選択されるポリペプチドを投与することを含み；

ここで、前記ポリペプチドは、マイオカイン活性を有し、ここで、有効量の前記ポリペプチドは、少なくとも2つのサイクルを含む断続的な投薬スケジュールに従って投与され、

10

20

30

40

50

ここで、各サイクルは、(a) 治療的有効量の前記 C 1 o r f 5 4 ポリペプチド若しくはその変異体が患者に投与される投薬期間、及びその後の (b) 休止期間を含む、方法。

【図面の簡単な説明】

【0005】

【図1-1】図1：相同タンパク質（出現順に、それぞれ、配列番号46～68）を伴うヒト C 1 o r f 5 4 (UniProt ID Q8WFF1) (配列番号1) のアラインメント。配列は、それぞれ、www.uniprot.org (The UniProt Consortium (2017), Nucleic Acids Research, 45 (D1): D158 - D169) 又は www.ensembl.org (Zerbino et al. (2018) Nucleic Acids Research, 46 (D1): D754 - D761) から、2015年8月18日に取得し、Jalview (Waterhouse et al. (2009) Bioinformatics, 25 (9): 1189 - 1191) において MUSCLE アルゴリズム (Edgar (2004) Nucleic Acids Research, 32 (5): 1792 - 1797) を使用して整列させた。

10

【図1-2】(上記の通り。)

【図2】ほとんど体を動かさないマウスと比較した、運動したマウスの四頭筋における C 1 o r f 5 4 mRNA レベルの増加。C 1 o r f 5 4 mRNA レベルは、運動の直後に上昇し、運動の停止の30分後、60分後及び180分後において上昇したままだった。n = 7 ~ 8 匹のマウス/群。全ての値は平均 ± SEM として表す。limma - voom Bioconductor パッケージを使用してカウント/100万リードに対して微分解析を行った。全ての p 値は、Benjamini 及び Hochberg 複数試験補正を使用して調節した。ほとんど体を動かさない群からの統計的有意差を下記のように示す：* * p < 0.01、* * * p < 0.001。FPKM = フラグメント/トランスクリプトのキロベース/マッピングされた100万リード。

20

【図3】単独で又は組み合わせた異なる運動パラダイムに回答した、若年の対象からのヒト骨格筋における C 1 O R F 5 4 mRNA レベルの増加。トレーニング前及びトレーニング後の個々の値を、若年の参加者の群からの各対象について示す。n = 7 ~ 11 人の参加者/群。トレーニング後の値が入手可能でなかったため、CT群における1人の対象を統計解析から除外した。全ての p 値は、Benjamini 及び Hochberg 複数試験補正を使用して調節した。トレーニング前からの統計的有意差を下記のように示す：* p < 0.05、* * p < 0.01。FPKM = フラグメント/トランスクリプトのキロベース/マッピングされた100万リード、HIIT = 激しいエアロビクスインターバルトレーニング、RT = レジスタンストレーニング、CT = 複合運動トレーニング。

30

【図4】ビヒクル (PBS)、又は示した用量にてビヒクル中で配合したアミノ酸配列である配列番号25を含む単離されたタンパク質で処理したマウスの腓腹筋における Myo d 1 mRNA における変化。n = 5 匹のマウス/群。全ての値は平均 ± SEM として表す。統計的有意差は、1元配置 ANOVA、それに続いてフィッシャー LSD によってアセスメントし、下記のように示す：* p < 0.05。Mpk = ミリグラム/体重キログラム。

40

【図5】示した用量を伴う組換え完全長ヒト C 1 o r f 5 4 (配列番号2、MyBioSources、参照 MBS1284901)、又はビヒクルによる6時間の処理によるヒト筋芽細胞における MYOD1 mRNA の用量依存的減少。値は、平均 ± SEM として表す (群毎に n = 4)。統計的有意差を1元配置 ANOVA 及びチューキー事後検定によってアセスメントし、下記のように示す：緩衝液対照と比較して、* * p < 0.01、* * * p < 0.001；グラフにおいて示したように比較して、# p < 0.05、## p < 0.01、### p < 0.001。

【図6】図6A：ビヒクル又はアミノ酸配列である配列番号25を含む1mg/kgの単離された C 1 o r f 5 4 タンパク質による処置に回答した絶対筋力の増加。図6B：ビヒクル又はアミノ酸配列である配列番号25を含む1mg/kgの単離された C 1 o r f 5

50

4 タンパク質による処置に应答した収縮力の増加。筋収縮力は、腓腹筋重量に対して絶対筋力を正規化することによって計算する。パネル A 及び B について、 $n = 9$ 匹のマウス / 群。全ての値は、平均 \pm SEM として表す。統計的有意差は複数の対応のない t 検定比較によってアセスメントし、下記のように示す：* $p < 0.05$ 及び ** $p < 0.01$ 。

【図 7】ビヒクル、又はアミノ酸配列である配列番号 25 を含む単離された C1orf54 タンパク質による処置に続く、マウス腓腹筋における Pax7 陽性衛星細胞の数。値は、平均 \pm SEM として表す。 $n = 9 \sim 10$ 匹のマウス / 群。統計的有意差は対応のない t 検定によってアセスメントし、下記のように示す：** $p < 0.01$ 。

【図 8】1% FBS を含有する成長培地中の $1 \mu\text{g} / \text{mL}$ の組換え完全長ヒト C1orf54 タンパク質（配列番号 2、MyBioSources、参照 MBS1284901）（四角）及び溶媒対照（丸）で処理された一次ヒト筋芽細胞の成長曲線（コンフルエンスパーセントでの）。値は、平均 \pm SEM として表す（群毎に $n = 6$ ）。統計的有意差は複数の対応のない t 検定比較によってアセスメントし、下記のように示す：* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$ 及び *** $p < 0.001$ 。

【発明を実施するための形態】

【0006】

一般的定義

本発明をより容易に理解し得るために、特定の用語を最初に定義する。さらなる定義は、詳細な説明を通して説明する。

【0007】

用語「含むこと」は、「含めること」及び「からなること」を意味し、例えば、X を「含む」組成物は、もっぱら X からなり得るか、又は何かさらなるもの、例えば、X + Y を含み得る。

【0008】

本発明は、生物活性を有する C1orf54 ポリペプチド及びその変異体を含む。本明細書において使用する場合、用語「第 1 染色体オープンリーディングフレーム 54 (C1orf54) ポリペプチド」は、第 1 染色体オープンリーディングフレーム 54 (C1orf54) 遺伝子によってコードされるポリペプチドを指し、特に好ましいのは、好ましくは、本明細書においてシグナルペプチドを伴わない C1orf54 ポリペプチドを指す、配列番号 2 において示すようなアミノ酸配列を有する、ヒト第 1 染色体オープンリーディングフレーム 54 (C1orf54) である (UniGene ID: 141426、UniGene Hs. 91283、NM_024579.3、NP_078855.2、配列番号 1 を有する Uniprot 受託番号 Q8WWF1、これは、本明細書において、シグナルペプチドを含む C1orf54 ポリペプチドを指す)。

【0009】

明瞭性及び一貫性のために、本出願を通して及び特許請求の範囲において C1orf54 タンパク質におけるアミノ酸残基の番号付けは、シグナルペプチドを伴わない（すなわち、配列番号 2）C1orf54 の野生型 C1orf54 タンパク質配列の番号付け（Uniprot 受託番号 Q8WWF1）をベースとする。本明細書において、この配列番号 2 は、「完全長配列」と称される。

【0010】

用語「C1orf54 ポリペプチド」はまた、本明細書において開示されている C1orf54 ポリペプチドの変異体（例えば、アミノ酸配列番号 3 若しくは配列番号 4 を含む C1orf54 ポリペプチド、又は他の短縮型、融合若しくは変異 C1orf54 ポリペプチド）を含む。この用語はまた、個々に及び一緒にポリペプチドのそれぞれを指す。例えば、 の調製、 の精製、 の誘導、 の投与、 を含有する組成物、 による疾患の処置などについての記載は、個々又は一緒に各ポリペプチドに関する。C1orf54 ポリペプチド変異体は、マイオカイン活性を有する C1orf54 野生型配列から少なくとも 1 個のアミノ酸（例えば、欠失、置換又は付加）が異なるタンパク質であり、ここで、用語「野生型配列」は、少なくとも 1 つの天然に存在する生物において利用

10

20

30

40

50

可能であるポリペプチド若しくは遺伝子配列、又は人によって変化していないか、変異していないか、若しくは他の方法で操作されていないポリペプチド若しくは遺伝子配列を指す。このような野生型配列は、自然から単離することができるか、又は組換え若しくは合成手段によって生じさせることができる。

【0011】

本明細書に記載されているC1orf54ポリペプチドは、種々の源、例えば、ヒト組織のタイプから単離し得るか、又は組換え若しくは合成法によって調製し得る。

【0012】

本明細書において使用する場合、用語「ポリペプチド」、「ペプチド」及び「タンパク質」は、互換的に使用されて、アミノ酸残基のポリマーを説明する。用語「ポリペプチド」は、これらに全く限定されないが、組換え完全長、プロペプチド及び/又は成熟ポリペプチド形態、並びに生物活性を有するフラグメント若しくはスプライス変異体、又は完全長ポリペプチドに由来する生物活性を有する組換えによって作製された短縮型を意味することができる。ポリペプチドの組換え形態は、例えば、原核細胞及び/若しくは真核細胞における組換えタンパク質の発現、それに続く1つ若しくは複数の単離及び精製ステップ、並びに/又はペプチド合成機を使用してポリペプチド若しくはその部分を化学的に合成することを含めた、当業者には周知である標準的な方法及びプロトコルによって生じさせることができる。さらに、用語「ポリペプチド」は、1個若しくは複数のアミノ酸残基が対応する天然に存在するアミノ酸の人工的な化学的模倣物であるアミノ酸ポリマー、並びに天然に存在するアミノ酸ポリマー及び天然に存在しないアミノ酸ポリマーに適用される。

10

20

【0013】

本明細書において使用する場合、用語「単離ポリペプチド」は、その本来若しくは天然の環境（例えば、これが天然に存在する場合、自然環境）から取り出されたポリペプチドを指すことを意図する。例えば、生きている動物中に存在する天然に存在するポリヌクレオチド又はポリペプチドは単離されていないが、自然系において共存する材料のいくらか又は全てからヒトの介入によって分離された同じポリヌクレオチド又はポリペプチドは、単離されている。このようなポリヌクレオチドは、ベクターの部分でよく、且つ/又はこのようなポリヌクレオチド又はポリペプチドは、組成物の部分でよく、このようなベクター又は組成物はそれが自然において見出される環境の部分ではないという点で、まだ単離することができる。

30

【0014】

本明細書において使用する場合、「保存的に修飾された変異体」は、コードされた配列中の単一のアミノ酸又はアミノ酸の僅かな割合を変化させ、付加し、置換し、且つ/又は欠失させる、ペプチド、ポリペプチド、又はタンパク質配列への個々の置換、欠失又は付加を指し、ここで、変化は、化学的に同様のアミノ酸によるアミノ酸の置換をもたらす。機能的に同様のアミノ酸を実現する保存的置換表は、当技術分野において公知である。このような保存的に修飾された変異体は、本発明の多形変異体、種間ホモログ、及び対立遺伝子を除外しない。同様の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当技術分野で定義されてきた。これらのファミリーは、塩基性側鎖（例えば、リシン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、無電荷極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、トリプトファン）、非極性側鎖（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン）、ベータ分岐側鎖（例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン）及び芳香族側鎖（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）を有するアミノ酸を含む。このように、ポリペプチド若しくはその変異体におけるアミノ酸残基は、好ましくは、同じ側鎖ファミリーからの別のアミノ酸残基で置き換えることができる。

40

【0015】

用語「配列類似性」は、最良配列アラインメントの同じ位置におけるアミノ酸が同一又

50

は同様、好ましくは、同一であることを意味する。「同様のアミノ酸」は、同様の特徴、例えば、極性、溶解性、親水性、疎水性、電荷、又はサイズを有する。

【0016】

用語「アミノ酸配列同一性パーセント(%)」は、本明細書に記載のようなC1orf54ポリペプチド及びバリエーション配列に関して、必要に応じて、配列を整列させ、ギャップを導入して、配列同一性の最大パーセントを達成した後に、且つ配列同一性の部分として保存的置換を考慮しない、特定のC1orf54ポリペプチド配列におけるアミノ酸残基と同一である、候補配列におけるアミノ酸残基の百分率として定義される。アミノ酸配列同一性パーセントを決定する目的のためのアラインメントは、当技術分野の範囲内の様々な方法で、例えば、公的に利用可能なコンピュータソフトウェア、例えば、EMBOSSニードル、BLAST、BLAST-2、ALIGN又はMegalign(DNAStar)ソフトウェアを使用して達成することができる。当業者は、比較される配列の完全長に亘る最大アラインメントを達成するのに必要とされる任意のアルゴリズムを含めた、アラインメントを測定するために適正なパラメータを決定することができる。「アミノ酸配列類似性パーセント(%)」は、アミノ酸配列同一性%を決定するのに使用する同じ計算によって決定されるが、計算における同一のアミノ酸に加えて保存的アミノ酸置換を含む。

10

【0017】

用語「同一の」は、2つ若しくはそれより多い核酸又はポリペプチド配列との関連で、同じ配列を有する2つ若しくはそれより多い配列又は部分配列を指す。

20

【0018】

2つ若しくはそれより多いポリペプチドにおける類似の位置は、アミノ酸配列又は構造的類似性に基づいて、ポリペプチド配列を整列させることによって決定することができる。このようなアラインメントツールは、好ましくは、AlignEMBOSSニードルについて標準的な設定(マトリックス: Blosum62、ギャップオープン10.0、ギャップ伸長0.5)を使用して、例えば、ワールドワイドウェブ、例えば、ClustalW(www.ebi.ac.uk/clustalw)又はAlign(<http://www.ebi.ac.uk/emboss/align/index.html>)上で得ることができる。満足できるアラインメントを生じさせるためにいずれかの配列においてギャップを導入することが必要であり得ることを当業者は理解する。2つ若しくはそれより多いC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体における残基は、残基が最良配列アラインメントで整列している場合、「対応している」と言われる。2つのポリペプチドの間の「最良配列アラインメント」は、最も大きな数の整列された同一の残基を生じさせるアラインメントと定義される。

30

【0019】

本明細書に開示されているように、本発明は、最良配列アラインメントを使用したタンパク質の全長に亘り、及び/又は最良配列アラインメントの領域に亘り、単離されたC1orf54ポリペプチド、好ましくは、C1orf54ポリペプチドアミノ酸配列に対して、少なくとも約80%のアミノ酸配列類似性、代わりに、少なくとも約81%のアミノ酸配列類似性、代わりに、少なくとも約82%のアミノ酸配列類似性、代わりに、少なくとも約83%のアミノ酸配列類似性、代わりに、少なくとも約84%のアミノ酸配列類似性、代わりに、少なくとも約85%のアミノ酸配列類似性、代わりに、少なくとも約86%のアミノ酸配列類似性、代わりに、少なくとも約87%のアミノ酸配列類似性、代わりに、少なくとも約88%のアミノ酸配列類似性、代わりに、少なくとも約89%のアミノ酸配列類似性、代わりに、少なくとも約90%のアミノ酸配列類似性、代わりに、少なくとも約91%のアミノ酸配列類似性、代わりに、少なくとも約92%のアミノ酸配列類似性、代わりに、少なくとも約93%のアミノ酸配列類似性、代わりに、少なくとも約94%のアミノ酸配列類似性、代わりに、少なくとも約95%のアミノ酸配列類似性、代わりに、少なくとも約96%のアミノ酸配列類似性、代わりに、少なくとも約97%のアミノ酸配列類似性、代わりに、少なくとも約98%のアミノ酸配列類似性、代わりに、少なく

40

50

とも約99%のアミノ酸配列類似性、好ましくは、100%の配列同一性を有するアミノ酸配列からなるヒトC1orf54ポリペプチドに関し、ここで、最良配列アラインメントは、本明細書において配列番号2として示したアミノ酸配列では、標準的な設定、好ましくは、EMBOSS::ニードル(マトリックス: Blosum62、ギャップオープン10.0、ギャップ伸長0.5)を使用して、当技術分野において公知のツール、例えば、Alignで得ることができる。

【0020】

「C1orf54ポリペプチド変異体」又は「C1orf54変異体」は、最良配列アラインメントを使用したタンパク質の全長に亘り、及び/又は最良配列アラインメントの領域に亘り、少なくとも80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%のアミノ酸配列類似性、好ましくは、100%の配列同一性を有する、本明細書に定義されているような生物活性のあるC1orf54ポリペプチドを意味し、ここで、最良配列アラインメントは、完全長C1orf54ポリペプチド配列、例えば、配列番号2、又は完全長C1orf54ポリペプチド配列、例えば、本明細書に記載のような配列番号3若しくは配列番号4の任意の他のフラグメントでは、標準的な設定、好ましくは、EMBOSS::ニードル(マトリックス: Blosum62、ギャップオープン10.0、ギャップ伸長0.5)を使用して、公知のツール、例えば、Alignで得ることができる。C1orf54変異体はまた、シグナルペプチド配列を含むC1orf54前駆体タンパク質、例えば、アミノ酸配列番号1を含むポリペプチドである。C1orf54変異体はまた、C1orf54タンパク質を含む融合タンパク質、例えば、別の異種ポリペプチド又はアミノ酸配列、例えば、免疫グロブリンFc領域、ヒト血清アルブミン(HSA)ポリペプチドに融合しているか、又は例えば、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体の生物学的(例えば、血清)半減期を増加させるために別の部分、例えば、ポリエチレングリコール(PEG)にコンジュゲートしているC1orf54タンパク質を含むタンパク質である。一実施形態では、このようなC1orf54変異体は、タグポリペプチドを有するC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体の融合物を含む。タグは一般に、C1orf54ポリペプチドのアミノ末端又はカルボキシ末端に置かれる。C1orf54変異体はまた、完全長C1orf54ポリペプチド又はC1orf54変異体の短縮型であり、ここで、短縮型は、ポリペプチドのN末端において、又はポリペプチドのC末端において、又はポリペプチドのN末端及びポリペプチドのC末端の両方においてよい。本発明によれば、配列番号3及び配列番号4を有するポリペプチドは、配列番号2に示す完全長C1orf54ポリペプチドのこのような短縮型変異体である。変異体はまた、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ若しくはそれより多いアミノ酸の位置においてアミノ酸の置換、修飾、付加及び/又は欠失を含有する生物活性を有するポリペプチドを含み、最良配列アラインメントを使用したフラグメントの全長に亘り、及び/又は最良配列アラインメントの領域に亘り、少なくとも80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%の配列類似性、好ましくは、100%の配列同一性を有し、ここで、最良配列アラインメントは、配列番号2、3、若しくは4において示すアミノ酸配列では、標準的な設定、好ましくは、EMBOSS::ニードル(マトリックス: Blosum62、ギャップオープン10.0、ギャップ伸長0.5)を使用して、当技術分野において公知のツール、例えば、Alignで得ることができる。本明細書に記載のような適切な生物系、例えば、in vitro又はin vivoでアセスメントするように、本明細書に記載のようなC1orf54変異体は、このようなタンパク質が配列番号2において示すような完全長C1orf54タンパク質の機能的等価物と考えることができるという意味でその生物活性を保持し、すなわち、変異体は、例えば、本明細書に記載のような増加する筋機能の生物活性を保持するか、又は変異体は、配列番号2において示すような完全長C1orf54ポリペプチドについて観察される、生物活性の少なくとも1つを超える。C1orf54変異体はまた、アミノ酸配列

10

20

30

40

50

である配列番号5～9又は配列番号10～14のいずれかを含む単離ポリペプチドである。

【0021】

さらに、C1orf54ポリペプチドに関する機能的等価物は、少なくとも1つの自然変異又は人工的変異を含むC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体として理解される。変異は、C1orf54ポリペプチドの生物活性を減少させない1個若しくは複数のアミノ酸の挿入、欠失又は置換であり得る。

【0022】

上記のような融合タンパク質の場合、配列同一性又は配列類似性は、このような融合タンパク質のC1orf54部分のみに基づいて定義されるべきであり、すなわち、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体に由来しないさらなるアミノ酸は、このようなアラインメントにおいて考慮されず、すなわち、アラインメントスコアの計算から除外される。上記のような短縮型タンパク質の場合、配列同一性又は配列類似性は、短縮型C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体のみに基づいて定義されるべきである。変異体は、融合又は短縮型C1orf54ポリペプチド変異体に対して、例えば、配列番号3若しくは配列番号4を有するC1orf54ポリペプチド変異体に対して、少なくとも80%、81%、82%、83%、84%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%同一であるアミノ酸配列を示し得る。

【0023】

比較のための配列のアラインメントの方法は、当技術分野において公知である。比較のための配列の最適なアラインメントは、例えば、Smith and Waterman (1970) Adv. Appl. Math. 2: 482cの局所相同性アルゴリズムによって、Needleman and Wunsch (1970) J. Mol. Biol. 48: 443の相同性アラインメントアルゴリズムによって、Pearson and Lipman (1988) Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85: 2444の類似法への探求によって、これらのアルゴリズムのコンピューター化された遂行 (Wisconsin GeneticsソフトウェアパッケージにおけるGAP、BESTFIT、FASTA、及びTFASTA、Genetics Computer Group、575 Science Dr., Madison, WI) によって、又は手操作によるアラインメント及び目視検査 (例えば、Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology (1995 supplement) を参照されたい) によって行うことができる。

【0024】

配列比較のための好ましいアルゴリズムは、EMBOS Sニードルであり、これは、2つの入力配列を読み、それらの最適なグローバル配列アラインメントをファイルに書く。このプログラムは、Needleman-Wunschアラインメントアルゴリズムを使用して、2つの配列のそれらの全長に沿った最適なアラインメント (ギャップを含めた) を見つける。EMBOS Sニードルについての標準的な設定は、ギャップオープン10.0について10.0のペナルティー及びギャップ伸長について0.5を伴う、BLOSUM62スコアリングマトリックスである。

【0025】

C1orf54ポリペプチドは、それらの生理学的環境と情報交換するために筋細胞が使用する複雑系の部分であり、したがって、これはマイオカインとして分類される。

【0026】

本明細書において使用する場合、用語「マイオカイン」は、筋細胞によって産生され、発現され、放出されるサイトカイン、ペプチド又はポリペプチド、プロテオグリカンペプチド、生理活性脂質、セカンドメッセンジャーなどを指す。

【0027】

本明細書において使用する場合、用語「マイオカイン活性」は、対象、細胞、又は組織

10

20

30

40

50

、例えば、脂肪組織、脳、膵臓、腸、肝臓、免疫細胞、骨、肝臓及び腫瘍細胞に対する、マイオカイン、又はマイオカインシグナルによって生じるオートクリン、パラクリン及び/又はエンドクリン効果を指す。マイオカイン活性は、阻害性又は刺激性であり得る。このような「マイオカイン活性」は、筋肉肥大、筋肉再生の増加、筋肉強度の増加（力発揮能力）、一次ヒト骨格筋細胞の増殖、筋神経支配の増加、細胞外マトリックスリモデリングに対する効果、骨代謝のモデュレーション（例えば、骨量、骨密度、骨形成、骨石灰化、骨治癒）、脂肪代謝のモデュレーション（例えば、脂肪分解の増加、リポタンパク質リパーゼ活性の減少、脂肪組織の褐変の増加、熱産生の増加、脂肪組織量の減少、脂肪酸酸化の増加、循環及び/又は肝臓トリグリセリドのレベルの減少、総体脂肪の減少、内臓脂肪の減少）、免疫細胞応答のモデュレーション、免疫調節性プロセスのレギュレーション、炎症過程のモデュレーション、免疫細胞の応答のモデュレーション、炎症の低減、エネルギー消費の刺激、全身代謝のモデュレーション、全身インスリン感受性のモデュレーション、グルコース代謝のレギュレーション（例えば、グルコース取込みの増加、グリコーゲン合成の増加、グルコース酸化の増加、グルコース耐性の改善、インスリン感受性の改善）、膵ベータ細胞生存率の促進、アルファ細胞過形成、全身性の心血管適応（心拍出量の増加、血液容量の増進を含めた）、血管形成の増加（例えば、血管新生、骨格筋細胞又はその近くの毛細血管化、改善された酸素供給及び利用、血管修復プロセスの増加、アテローム発生の減少、血圧の制御）、心臓保護、認知機能及び記憶の改善、ストレス及びうつつの減少、脳神経発生、がん保護（例えば、アポトーシスの増加、及び免疫エフェクター細胞の動員を介した）、並びに抗加齢効果をもたらし得る。本明細書において使用する場合、前記マイオカイン活性は好ましくは、筋機能における増加をもたらす。

10

20

【0028】

本明細書において使用する場合、用語「筋機能の増加」又は「増加した筋機能」又は「筋機能増加活性」（など）は、i) 筋肉強度の増加、ii) 筋肉前駆細胞増殖の増加、iii) 筋肉再生活性の改善、又はiv) 筋肉疲労性抵抗性の増加の少なくとも1つ若しくは複数をもたらす活性を指すことを意図する。用語「増加（した）」又は「改善された」は、*in vivo* 又は *in vitro* で測定されるパラメーター（例えば、筋肉強度、筋肉前駆細胞増殖、筋肉再生活性、衛星細胞増殖アッセイ又は筋肉疲労性抵抗性）が、第1の時点と比較して第2の時点において高い状態を指す。前記パラメーターは、例えば、本明細書に記載のような適切な *in vitro* 及び/又は *in vivo* でのアッセイ、例えば、ヒト筋芽細胞 *in vitro* 増殖アッセイ又は *in vivo* でのマウス衛星細胞増殖又は筋肉強度を評価する方法を使用してアセスメントすることができる。

30

【0029】

本明細書において使用する場合、用語「筋肉強度」（など）は、筋肉、又は筋肉群が合計で生じさせることができる力の最大量を指す。筋肉強度は、種々の方法、例えば、握力、1回反復最大強度試験、筋肉耐久性の時間依存試験、筋肉疲労の時間依存試験、又は筋肉耐久性及び疲労の時間依存試験などによって評価し得る。筋肉強度は、単一又は複数の関節及び呼吸筋及び他の筋肉（例えば、肺機能試験）に亘り、動的（例えば、30秒の椅子立ち上がり試験、階段昇降試験、膝の屈曲/伸展）又は静的（例えば、握力測定、アイソメトリック膝伸展/屈曲）動作によってアセスメントし得る。

40

【0030】

本明細書において使用する場合、対象における用語「筋肉強度の増加」（など）はまた、処置の前と比較し、少なくとも2週間後、少なくとも4週間後、少なくとも8週間後、少なくとも12週間後、少なくとも16週間後、少なくとも20週間後、少なくとも24週間後、少なくとも28週間後、少なくとも32週間後、少なくとも36週間後、少なくとも40週間後、少なくとも44週間後、少なくとも48週間後、少なくとも52週間又はそれより長い処置の後で測定した、筋肉強度及び/又は身体的能力の増加を指すことを意図する。

【0031】

身体的能力は、簡易身体能力バッテリー（SPPB）、歩調スピード測定、タイムドア

50

ップアンドゴー試験 (T G U G)、階段昇降力試験 (S C P T)、400m 歩行試験及び / 又は6分歩行距離試験 (6 M W D) によってアセスメントし得る。

【0032】

本明細書において使用する場合、用語「レギュレートする」は、機能のレベル又は活性が、本発明によって提供される薬剤の非存在下で観察されるものより大きいか、等しいか、若しくは満たないことを説明するために使用される。

【0033】

用語「対象」又は「患者」は、本明細書において使用する場合、筋肉が関連する障害若しくは疾患を患い得るか、又は苦しんでいるか、或いは筋機能の増加から他に利益を得る、ヒト及び動物を含むことを意図する。対象の例は、哺乳動物、例えば、ヒト、イヌ、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ネコ、及びトランスジェニックのヒトではない動物を含む。一実施形態では、対象は、ヒト、例えば、筋肉が関連する障害を患っているか、患う危険性があるか、又は患う潜在力があるヒトである。好ましい実施形態では、対象は、ヒト対象、例えば、筋肉が関連する障害を有するヒト患者である。別の実施形態では、対象は、動物、例えば、前記動物の除脂肪体重又は筋機能を増加させるために本明細書において開示された方法 (例えば、C1orf54の投与) によって処置されるウシ又はブタである。

【0034】

本明細書において使用する場合、対象は、このような対象 (患者) が生物学的に、医学的に又は生活の質においてこのような処置から利益を得る場合、処置を「必要としている」。

【0035】

本明細書において使用する場合、用語「筋肉量」は、筋肉の重量、質量、面積、又は容量によって表されるような筋肉又は筋肉群の量又はサイズを指す。筋肉量はまた、総除脂肪体重、体の区画、例えば、脚の除脂肪体重、又は脚若しくは腕の区画の断面積として表し得る。筋肉の容量又は質量は、筋肉の面積、容量、又は質量を提供する任意の公知であるか若しくは他の有効な技術、例えば、二重エネルギーX線吸収測定法 (D X A)、バイオインピーダンス分析 (B I A)、コンピューター断層撮影 (C T) スキャン、超音波、磁気共鳴イメージング (M R I)、又は脂肪非含有軟部組織当たりの総若しくは部分的体内カリウム (T B K 若しくは P B K) を使用して決定することができる。

【0036】

本明細書において使用する場合、用語「衛星細胞」は、筋線維の基底膜の下に天然に位置しており、且つ自己再生することができ、新たな骨格筋細胞を形成する (すなわち、筋原性) ことができる、小さな単核幹細胞を指すことを意図する。衛星細胞の最も決定的なマーカーは、出生後筋肉の全ての衛星細胞において存在し、且つそれらが分化し始めるまで増殖性筋芽細胞において発現している P a x 7 である。

【0037】

本明細書において使用する場合、用語「筋肉の再生能」、「筋肉再生活性」又は「筋肉再生改善活性」 (など) は、生存若しくは機能的筋細胞の総数を増加させるか、回復するか、又は維持し、且つ損傷、例えば、疾患又は傷害に続く組織喪失に回答した欠陥のある筋線維の置換を実現するための、筋細胞の再成長又は修復のプロセスを指すことを意図する。この損傷に回答して、衛星細胞は活性化され、コミットされた筋芽細胞となり、これは次いで、増殖し始め、修復のための前駆細胞の集団を拡張させる (例えば、K u a n g and R u d n i c k i (2 0 0 8) T r e n d s M o l M e d 1 4 , 8 2 - 9 1 を参照されたい)。最終的に、増殖性筋芽細胞は細胞周期から離脱し、最終分化を起こす。これらは互いに融合し、再生しつつある筋線維を形成し、損傷され死んだものを置き換える。用語「筋肉の再生能」又は「筋肉再生活性」 (など) はまた、衛星細胞が媒介する成長 (細胞周期に再び入り、増殖するか、現存する筋線維中に融合するか、又は新たな筋線維を形成する)、シンシチウム筋線維成長又は筋芽細胞依存性の新規の筋線維分化のプロセスを含み、それによって、筋線維成長はまた、筋芽細胞依存性であり得、

10

20

30

40

50

新規の筋線維分化は、衛星細胞依存性であり得、ここで、筋線維は、現存する筋肉線維中に融合し、且つ/また再生する筋線維のサイズを増加させ、且つ/又は新たな筋肉線維を形成し、それによって、骨格筋再生を促進する。

【0038】

本明細書において使用する場合、用語「筋肉が関連する障害」は、人間が正常な日々の独立性を維持するのに必要とされるレベルで筋肉がその機能を遂行することができないような、筋肉機能障害（例えば、筋肉強度若しくは筋力の低減、再生能の低減及び/又は耐久性の低減）をもたらす疾患若しくは障害を指すことを意図する。対象は、それらの生理学的タスクを適当に行う正常な機能を損ない得る。このような筋肉機能障害は、身体障害、損なわれた可動性、機能的独立性の喪失、頻繁な転倒、転倒する恐れ、傷害を与える転倒、筋肉の消耗、正常な機能が損なわれた不安定な歩調、不都合な歩調力学、側彎症、走りジャンプすることが困難なこと、物を持ち上げることが困難であること、筋強直、眼瞼下垂、筋肉肥大、筋肉の発育不全若しくは萎縮、呼吸困難、歩行不能、学習不能、バランスの不均衡、臥位若しくは座位から起き上がることが困難であること、立ち上がるのにガウアーの手段を使用すること、及び/又は耐久性の低減をもたらし得る。

10

【0039】

本明細書において使用する場合、用語「筋肉喪失」は、筋肉量及び質の悪化の状態を指すことを意図する。筋肉喪失の非限定的な症状は、筋肉量の喪失若しくは低減、除脂肪筋肉の喪失若しくは低減、筋肉重量の喪失若しくは低減、筋肉周囲長の喪失若しくは低減、筋機能の喪失若しくは低減、筋肉強度の喪失若しくは低減、可動性の喪失若しくは低減、又は任意のこれらの組合せであり得る。例えば、筋肉喪失は、加齢、疾患（例えば、がん及び肝疾患）、無活動、傷害（例えば、肝臓移植）、又は任意のこれらの組合せによってもたらし得る。本明細書において使用する場合、用語「筋肉喪失」は、筋肉老化の自然のプロセス、並びに先天性の病状及び後天性の病状を包含する。筋肉老化は、進行性の骨格筋喪失をもたらす、これらに限定されないが、サルコペニアを含む。用語「筋肉喪失」はまた、任意の先天性又は後天性の筋肉の退化、骨格筋に影響を与える衰弱、機能障害及び/又は喪失を包含する。先天性の病状は、これらに限定されないが、ミオパチー（例えば、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）、ベッカー筋ジストロフィー、先天性筋ジストロフィー、肢帯筋ジストロフィー（LGMD）、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー、筋緊張性筋ジストロフィー、眼球咽頭型筋ジストロフィー、末梢型筋ジストロフィー、及びエメリ-ドレフュス型筋ジストロフィー）を含む。対照的に、骨格筋に影響を与える後天性の病状は遺伝せず、炎症（例えば、炎症性ミオパチー）、薬物（例えば、薬物誘発性ミオパチー）、外傷若しくは傷害（例えば、外傷によって誘発されるミオパチー若しくは手術によって誘発されるミオパチー）、結合組織及び筋肉の虚血（例えば、バージャー病）、がん（例えば、がんによって誘発されるサルコペニア）又はそれどころか食餌（例えば、食餌によって誘発されるミオパチー）によって誘発し得る。一部の実施形態では、開示されている組成物、使用、キット、方法及び化合物は、患者における筋肉喪失を低減、抑止又は反転させる。

20

30

【0040】

本明細書において使用する場合、用語「二次性筋肉喪失」は、傷害、疾病又は外傷からもたらされる、筋肉量及び質の悪化の状態を指すことを意図する。これらには、これらに限定されないが、脳卒中、自動車事故、重度の火傷、戦闘傷害、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、糖尿病、がん、手術と関連する活動、筋肉及び関節を長時間動かすことができないこと（例えば、ベッドでの安静、ギブス固定）、並びに体内で負の窒素バランスを生じさせる他の状態が含まれる。10日超のベッドでの安静による不使用は、骨格筋、強度及び患者の機能の喪失をもたらすことが長く認識されてきたが、短期間の不使用（10日未満）の後でかなりの筋肉喪失及び萎縮が既に起こることが今やまた理解されている（Dirks et al. (2016) Diabetes 65, 2862-2875、Wall et al. (2013) Ageing Res Rev 12, 898-906）。したがって、用語「二次性筋肉喪失」は、短期間の不使用及び長期間の不使用の後に

40

50

起こる筋肉喪失を包含する。一部の実施形態では、開示されている組成物、使用、キット、方法及び化合物は、患者における二次性筋肉喪失を低減、抑止又は反転させる。

【0041】

本明細書において使用する場合、用語「サルコペニア」は、Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis (Cruz-Jentoft et al. (2010) Age Ageing 39, 412-423)及びInternational Working Group on Sarcopenia (Fielding et al. (2011) J Am Med Dir Assoc 12, 249-256)によって定義されているような、高齢者において見られる、骨格筋量、強度の進行性及び全身性の喪失、並びに損なわれた機能的能力によって特性決定される症候群を指す。さらに、サルコペニアは、疾患、手術及び他の状態と関連する骨格筋量及び機能の喪失を説明するために使用される(がん(Collins et al (2014) BMJ Open; 4:e003697. doi:10.1136/bmjopen-2013-003697)、肝硬変(Georgiou et al (2018) Clin Nutr ESPEN. 24:185-186)、慢性閉塞性肺疾患(Jones et al (2015) Thorax. 70:213-8)、末梢動脈疾患(Addison et al (2018) Arch Phys Med Rehabil. 99(4):623-628)、脳卒中後(Ryan et al (2017) Arch Phys Med Rehabil. 98(3):495-499)、及び心不全(Saitoh et al (2018) Expert Rev Cardiovasc Ther. 16(2):133-142)、並びに臓器移植を経験したもの(Meek and Madill (2017) Clin Nutr ESPEN. 22:76-80)及び股関節骨折から回復しているもの(Landi et al (2017) Osteoporos Int. 28:1569-1576. doi:10.1007/s00198-017-3929-z)。一般に、サルコペニアの診断は、低い筋肉量、並びに低い筋肉強度及び低い身体的能力の少なくとも1つの存在を必要とする。用語「サルコペニア」は、一次性サルコペニア(加齢に関連したサルコペニア)及び二次性サルコペニアを含み、ここで、筋肉及び機能の喪失は、別の状態(例えば、ベッドでの安静、無活動、座ることの多い生活形態、及び体調不良からもたらされる、活動が関連するサルコペニア; 心臓、肺、肝臓、腎臓及び/若しくは脳の進行性臓器不全、炎症性疾患、悪性腫瘍又は内分泌疾患と関連する、疾患が関連するサルコペニア、並びに例えば、吸収不良、胃腸障害、又は食欲不振をもたらす医薬品の使用による、エネルギー及び/又はタンパク質の不適切な食物摂取からもたらされる栄養が関連するサルコペニアを含めた)の帰結である。一部の実施形態では、開示されている組成物、使用、キット、方法及び化合物は、患者におけるサルコペニアを低減、抑止又は反転させる。

【0042】

本明細書において使用する場合、用語「悪液質」は、Special Interest Groups (SIG) 「cachexia-anorexia in chronic wasting diseases」及び「nutrition in geriatrics」(Muscaritoli et al. (2010) Clin Nutr 29, 154-159)によって定義されているような、脂肪組織の喪失を伴う若しくは伴わない骨格筋の喪失による、進行性の体重喪失、筋肉の消耗/喪失及び疲労によって特性決定される消耗を指す。悪液質は、炎症、インスリン抵抗性、食欲不振、並びに重度の慢性疾病、例えば、がん、慢性心不全、慢性心筋症、慢性腎不全、末期腎疾患、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、肝不全、肝硬変、後天性免疫不全症候群(AIDS)、重度の火傷傷害及び関節リウマチによる筋肉のタンパク質の分解の増加と関連付けられることが多い。一部の実施形態では、開示されている組成物、使用、キット、方法及び化合物は、患者における悪液質を低減、抑止又は反転させる。

【0043】

本明細書において使用する場合、用語「筋肉衰弱」は、外傷、例えば、手術及び急性又

10

20

30

40

50

は長期に亘る傷害、不使用に続いて、例えば、脳卒中、若しくは高レベルの炎症、又は収縮強度にかかわらず個々の筋肉若しくは筋肉群の下部の力発揮能力によってもたらされる関節の周りの力の減少をもたらす他の状態に続いて見られる、筋肉強度の喪失を含む。手術後の筋肉衰弱は、外科手術に続く1つ若しくは複数の筋肉の強度における低減を指す。衰弱は、全身化（すなわち、全身衰弱）し得るか、又は特定の領域、体の側面、肢、若しくは筋肉に局在化し得る。外傷後の筋肉衰弱は、外傷性エピソード（例えば、体の傷害、手術又は脳卒中）に続いて、1つ若しくは複数の筋肉の強度における低減によって特性決定される。一部の実施形態では、開示されている組成物、使用、キット、方法及び化合物は、患者における筋肉衰弱を低減、抑止又は反転させる。

【0044】

本明細書において使用する場合、用語「投与すること」は、医薬活性成分、例えば、本明細書に記載のようなC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体の投与量を、それを必要とする対象に与える方法を指すことを意図する。

【0045】

用語「薬学的に許容される」は、本明細書において使用する場合、正しい医学的判断の範囲内で、合理的な利益/リスク比に見合った、過剰な毒性、刺激作用、アレルギー応答及び他の問題又は合併症を伴わない、対象、例えば、哺乳動物又はヒトの組織との接触に適したそれらの化合物、材料、組成物及び/又は剤形を指す。

【0046】

本明細書において使用する場合、用語「薬学的に許容される担体、賦形剤又は添加剤」又は「担体、賦形剤又は添加剤」は、組成物を増強若しくは安定化させるか、又は組成物の調製を促進するために使用することができる、医薬組成物の調製又は使用において有用な物質を指す。薬学的に許容される担体は、溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤及び抗真菌剤、等張剤並びに吸収遅延剤などを含み、例えば、生理学的に適合性であり、且つ必要に応じて動物、又はヒトに投与したとき、拒絶反応、アレルギー反応又は他の有害反応を生じさせない、適切な賦形剤、界面活性剤、抗酸化剤、保存剤、緩衝剤、かさ増し剤、凍結防止剤、リオプロテクタント、塩、薬物安定剤、結合剤、添加剤、崩壊剤、滑沢剤、湿潤剤、甘味剤、香味剤、染料、及びこれらの組合せ、溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤及び抗真菌剤、等張剤並びに吸収遅延剤などを含む（例えば、Remington The Science and Practice of Pharmacy, 22nd Ed. Pharmaceutical Press, 2013, pp. 1049-1070を参照されたい）。任意の通常の媒体又は薬剤が活性化合物と不適合でない限りは、本明細書に記載されている組成物におけるその使用が意図される。

【0047】

用語「医薬組成物」は、本明細書において使用する場合、それらの所望の活性のために最も適した身体的な部位への投与、例えば、全身投与に適した形態での、少なくとも1種の薬学的に許容される担体、賦形剤又は添加剤と一緒に、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を指す。用語「医薬組成物」は、対象に影響を与えている特定の疾患若しくは状態を処置するために対象、例えば、哺乳動物又はヒトに投与される、少なくとも1種の治療剤、好ましくは、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を含有する混合物又は溶液を指すことを意図する。他に示さない場合、これらは、例えば、様々な通常の混合、粉碎、直接圧縮、造粒、糖コーティング、溶解、凍結乾燥プロセス、又は当業者には容易に明らかである製作技術を用いて、それ自体公知の様式で調製される。必要な有効量は、複数の投与量単位の投与によって達し得るため、各剤形の個々の用量の単位含量は、それ自体で有効量を構成する必要はないことを認識されたい。単一の剤形を生じさせるために担体材料と合わせることができる活性剤の量は、処理される対象、及び投与の特定のモードによって変化する。単一の剤形を生じさせるために担体材料と合わせることができる活性剤の量は一般に、治療効果を生じさせる組成物のその量である。一般に、100パーセントのうち、この量は、薬学的に許容される担体と組み合わせた、約0.01パーセント～約99パーセントの範囲の活性剤、約0.1パーセント～約70パーセント

10

20

30

40

50

、又は約1パーセント～約30パーセントの範囲の活性剤であり得る。

【0048】

本発明の医薬組成物は、「治療的有効量」又は「有効量」の明細書に記載されているC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を含み得る。本明細書において使用する場合、用語「有効量」、「有効用量」、「医薬有効量」、「薬学的に有効な用量」、「治療的有効量」又は「治療有効用量」（など）は互換的に使用され、筋肉が関連する疾患若しくは障害の臨床的に観察可能な徴候及び症状のベースラインを超えた観察可能な若しくは臨床的に意味がある改善を実現し、且つ/又は筋肉が関連する疾患若しくは障害と関連する1つ若しくは複数の症状を予防するか、発生を阻害するか、回復させるか、遅延させるか、軽減するか、抑止するか、逆転させるか、又は処置するのに必要である投与量にて、及びこれらについて必要である期間について十分である、本明細書に記載されているC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体の量/用量を指すことを意図する。有効量は、疾患のタイプ、使用される組成物、投与経路、処置される哺乳動物のタイプ、考慮している特定の哺乳動物の身体的特徴、併用する医薬品、並びに医術における当業者が認識する他の要因、例えば、個体の病態、年齢、性別、及び体重によって決まる。治療的有効量はまた、治療剤の治療的に有益な効果は、任意の毒性効果又は有害な効果を補ってなお余り有る。このような化合物の毒性及び治療有効性は、例えば、LD50（集団の50%に対して致死的な用量）及びED50（集団の50%において治療的に有効な用量）を決定するために、細胞培養物又は実験動物において標準的な医薬手順によって決定することができる。毒性効果及び治療効果の間の用量比は治療指数であり、これはLD50/ED50の比として表すことができる。大きな治療指数を示す化合物が好ましい。毒性の副作用を示す化合物を使用し得る一方、非感染細胞への潜在的な損傷を最小化し、それによって、副作用を低減させるために、冒された組織の部位に対してこのような化合物を標的とする送達系を設計するように注意を要するべきである。細胞培養アッセイ及び動物試験から得られるデータは、ヒトにおいて使用するための投与量範囲を配合することにおいて使用することができる。このような化合物の投与量は、好ましくは、僅かな毒性を伴う若しくは毒性を伴わないED50を含む循環濃度の範囲内にある。投与量は、用いる剤形及び投与経路によってこの範囲内で変化し得る。本発明の方法において使用する任意の化合物について、治療有効用量は、細胞培養アッセイから最初に推定することができる。用量は、細胞培養において決定するようなIC50（すなわち、症状の最大半量阻害を達成する試験化合物の濃度）を含む循環血漿濃度範囲を達成するように動物モデルにおいて配合し得る。このような情報を使用して、ヒトにおける有用な用量をより正確に決定することができる。血漿中のレベルは、例えば、高速液体クロマトグラフィーによって測定し得る。別の実施形態では、用語「治療的有効量」は、細胞、又は組織、又は細胞ではない生物学的材料、又は媒体に投与したとき、細胞、組織又は細胞ではない生物学的材料上のマイオカインとして少なくとも部分的に作用するのに有効である本発明のC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体の量を指す。

【0049】

本明細書において使用する場合、疾患若しくは障害に関連して、用語「予防する」、「予防すること」又は「予防」は、対象が状態を発生させる可能性を減少させることをもたらず、状態（例えば、特定の疾患若しくは障害又はその臨床症状）を発生させる危険性がある対象の予防的処置を指す。一部の実施形態では、開示されている組成物、使用、キット、方法及び化合物は、患者における予防的処置において使用される。

【0050】

本明細書において使用する場合、筋肉が関連する障害と関連して、用語「処置する」、「処置すること」又は「処置」は、一実施形態では、疾患若しくは障害を回復させること（すなわち、疾患、又はその臨床症状の少なくとも1つの発生を遅延又は抑止又は軽減させること）を指す。別の実施形態では、「処置する」、「処置すること」又は「処置」は、患者によって識別可能でないことがあるものを含めて、少なくとも1つの身体的パラメータを軽減又は回復させることを指す。さらに別の実施形態では、「処置する」、「処

置すること」又は「処置」は、身体的に（例えば、識別できる症状の安定化）、生理学的に（例えば、身体的パラメータの安定化）、又は両方において疾患若しくは障害をモジュレートすることを指す。さらに別の実施形態では、「処置する」、「処置すること」又は「処置」は、筋肉が関連する障害の発症又は発生又は進行を遅延させることを指す。

【0051】

本明細書に記載されている全ての方法は、本明細書において他に示さない限り、又は他に文脈によって明らかに矛盾しない限り、任意の適切な順序で行うことができる。本明細書において提供するありとあらゆる例、又は例示的な言語（例えば、「など」）の使用は、単に本発明をより明確にすることを意図し、他に特許請求する本発明の範囲に対する限定を提起しない。

10

【0052】

本発明の詳細な説明

本発明は、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体がマイオカイン活性を有するという知見に部分的に基づいている。C1ORF54 mRNAの発現のレベルは、対象における運動に应答して骨格筋において増加することが発見されてきた。

【0053】

したがって、本発明は、マイオカイン活性を有するそのC1orf54変異体を提供する。本発明はまた、医薬として使用するためのC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を提供する。本発明はまた、治療における使用のための、又は医薬の調製における使用のための、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を提供する。本発明はまた、筋肉が関連する障害の処置、予防又は回復において使用するための、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を含む医薬組成物を提供する。結果的に、マイオカイン活性を有する非常に望ましいC1orf54ポリペプチド及びその変異体、並びに新規な治療的なアプローチを、本発明によって提供する。

20

【0054】

さらに提供するのとは、本明細書に記載のようなC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体（例えば、液体若しくは凍結乾燥した形態）、又は本明細書に記載のようなC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を含む医薬組成物を含むキットである。

【0055】

本発明は、それを必要とする対象に有効量のマイオカイン活性を有する単離されたC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を投与することを含む、筋肉が関連する障害を処置、予防、又は回復させる方法をさらに提供する。

30

【0056】

一実施形態では、本発明は、配列番号3若しくは配列番号4から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%又は少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド分子を提供し、ここで、前記アミノ酸配列は、マイオカイン活性を有するC1orf54変異体をコードする。

【0057】

また提供するのとは、a)異種制御配列に作動可能に連結している核酸配列を提供することと；b)ポリペプチドの発現を可能とする条件下で(a)の核酸を発現させ、それによって、組換えポリペプチドを産生することを含む、そのアミノ酸配列が、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、95%、97%、99%、若しくは100%同一である組換えポリペプチドを産生する方法である；又は配列番号16、17、若しくは18のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、95%、97%、99%、若しくは100%の配列同一性を有する核酸によってコードされるアミノ酸配列。また提供するのとは、異種プロモーターに作動可能に連結している、上記の方法において記載するような、産生されるC1orf54ポリペプチド及びその変異体、例えば、アミノ酸配列番号2、3、若しくは4を含むC1orf54ポリペプチド及びその変異体をコードする配列番号16、17、若しくは18から選択されるポリヌクレオチドを含むベクターである。また提供するのとは、前記ベクターの

40

50

1つ若しくは複数を含む単離された宿主細胞である。また提供するのは、(a)前記ベクターの1つ若しくは複数を含む宿主細胞を培養することと；(b)前記C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を回収することを含む、上記の方法に従ってC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を産生するプロセスである。

【0058】

代わりに、提供するのは、a)異種制御配列に作動可能に連結している核酸配列を提供することと；b)ポリペプチドの発現を可能とする条件下で(a)の核酸を発現させ、それによって、組換えポリペプチドを産生することを含む、そのアミノ酸配列が、配列番号10~14のアミノ酸配列に対して少なくとも80%、85%、90%、95%、97%、99%、若しくは100%同一である組換えポリペプチドを産生する方法である；又は配列番号19~23のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも80%、85%、90%、95%、97%、99%、若しくは100%の配列同一性を有する核酸によってコードされるアミノ酸配列。また提供するのは、異種プロモーターに作動可能に連結している、記載するような、産生されるC1orf54ポリペプチド及びその変異体、例えば、アミノ酸配列番号10~14を含むC1orf54ポリペプチド及びその変異体をコードする配列番号19~23から選択されるポリヌクレオチドを含むベクターである。また提供するのは、前記ベクターの1つ若しくは複数を含む単離された宿主細胞である。また提供するのは、(a)前記ベクターの1つ若しくは複数を含む宿主細胞を培養することと；(b)前記C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を回収することを含む、上記の方法に従ってC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を産生するプロセスである。

10

20

【0059】

他の研究者は、C1orf54をコードするポリヌクレオチドのクローニング及び単離(Gregory et al. (2006) Nature 441, 315-321、Hartley et al. (2000) Genome Res 10, 1788-1795、Strausberg et al. (2002) Proc Natl Acad Sci U S A 99, 16899-16903)並びにコードされたポリペプチドが分泌されるという事実について従前記載してきた(国際公開第1998/42738号パンフレット、国際公開第1999/18127号パンフレット、欧州特許第1104808号明細書)。

30

【0060】

種々のC1orf54ポリペプチド及びその変異体は、本発明によって使用することができる。本発明は、マイオカイン活性を有する様々なC1orf54ポリペプチド及びその変異体の使用を意図する。一部の実施形態では、本発明は、完全長C1orf54ポリペプチドアミノ酸配列又はその変異体の使用を提供する。一部の実施形態では、本発明は、マイオカイン活性を保持するC1orf54配列、又はその変異体の(完全長配列ではなく)一部を含むC1orf54ポリペプチドを提供する。このように、一部の実施形態では、本発明のC1orf54ポリペプチドは、マイオカイン活性を有する、ヒト(例えば、配列番号2)C1orf54タンパク質配列の少なくともフラグメント(例えば、少なくとも60個、少なくとも65個、少なくとも70個、少なくとも75個、少なくとも80個、少なくとも85個、少なくとも90個、少なくとも95個、少なくとも100個、少なくとも105個、少なくとも110個の連続したアミノ酸)を含む。

40

【0061】

一部の実施形態では、本発明のC1orf54タンパク質は、天然マウス(例えば、配列番号24)、イヌ(例えば、配列番号32)、ウシ(例えば、配列番号33)又はウマ(例えば、配列番号31)のC1orf54ポリペプチド配列の少なくともフラグメント(例えば、少なくとも60個、少なくとも65個、少なくとも70個、少なくとも75個、少なくとも80個、少なくとも85個、少なくとも90個、少なくとも95個、少なくとも100個、少なくとも105個、少なくとも110個の連続したアミノ酸)を含む。

【0062】

50

一部の実施形態では、本発明は、C末端配列の少なくとも一部を欠いている、例えば、C末端から少なくとも10個、20個、30個、40個、50個のアミノ酸、例えば、10個、20個、30個、40個、50個のアミノ酸を欠いている、C1orf54ポリペプチド変異体（これらに限定されないが、配列番号1～14のいずれかを含めた）を提供する。

【0063】

一部の実施形態では、本発明は、N末端配列の少なくとも一部を欠いている、例えば、N末端から少なくとも10個、20個、30個、40個、50個のアミノ酸、例えば、10個、20個、30個、40個、50個のアミノ酸欠いている、C1orf54ポリペプチド変異体（これらに限定されないが、配列番号1～14のいずれかを含めた）を提供する。

10

【0064】

本発明のC1orf54ポリペプチドは、天然に存在するC1orf54ポリペプチドの変異体及び短縮型、並びにマイオカイン活性を有する本明細書に記載されているC1orf54ポリペプチド変異体の変異体及び短縮型を包含する。本発明は、本発明の方法におけるマイオカイン活性を有する天然に存在するC1orf54ポリペプチドのC1orf54ポリペプチド変異体及び短縮型の使用を包含する。マイオカイン活性を有する活性変異体は、例えば、本明細書に記載のような当業者には公知のいくつかの方法で同定することができる。一部の実施形態では、活性タンパク質のアミノ酸アラインメントを確立して、インバリエントであるか、又は保存されたアミノ酸変化を含むそれらの位置を同定することができる。

20

【0065】

したがって、本発明の一態様は、配列番号3のアミノ酸配列に対して少なくとも95%、少なくとも97%又は少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列からなる単離ポリペプチドを提供し、ここで、ポリペプチドは、マイオカイン活性を有する。

【0066】

本発明の別の態様は、配列番号4のアミノ酸配列に対して少なくとも95%、少なくとも97%又は少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列からなる単離ポリペプチドを提供し、ここで、ポリペプチドは、マイオカイン活性を有する。

30

【0067】

一実施形態では、提供するものは、配列番号3及び配列番号4の群から選択されるアミノ酸配列を含むか、又はこれからなる単離ポリペプチドであり、ここで、1個、2個、3個、4個若しくは5個のアミノ酸は、配列番号3若しくは配列番号4の任意の1つの配列内で修飾、欠失又は置換されており、ここで、ポリペプチドは、マイオカイン活性を有する。

【0068】

別の実施形態では、本発明は、配列番号3のアミノ酸配列からなる単離ポリペプチドを提供し、ここで、ポリペプチドは、マイオカイン活性を有する。

【0069】

別の実施形態では、本発明は、配列番号4のアミノ酸配列からなる単離ポリペプチドを提供し、ここで、ポリペプチドは、マイオカイン活性を有する。

40

【0070】

本発明のC1orf54ポリペプチドはまた、非天然C1orf54タンパク質フランキング配列を含むことができる。例えば、マイオカイン活性を有するC1orf54ポリペプチドの一部は1つ若しくは複数の異種アミノ酸と融合して、融合タンパク質を形成することができる。融合パートナー配列は、これらに限定されないが、アミノ酸タグ、非L（例えば、D）アミノ酸、又は*in vivo*での半減期及び/若しくはプロテアーゼ抵抗性を延長させる他のアミノ酸模倣物、ターゲティング配列又は他の配列、例えば、ヒト免疫グロブリンFcフラグメントを含むことができる。一実施形態では、本発明は、1つ

50

若しくは複数の異種アミノ酸、ペプチド又はタンパク質に融合したC1orf54ポリペプチドを提供し、ここで、異種アミノ酸、ペプチド又は融合タンパク質パートナーは、アミノ酸タグ、in vivoでの半減期延長剤、ターゲティング配列、ヒト免疫グロブリンFcフラグメントを含むことができる。

【0071】

さらなる実施形態では、本発明による単離されたC1orf54ポリペプチド、例えば、配列番号3及び配列番号4の群から選択されるアミノ酸配列からなる単離されたC1orf54ポリペプチドは、マイオカイン活性を有し、ここで、前記マイオカイン活性は、筋機能増加活性を含む。

【0072】

別の実施形態では、本発明による単離されたC1orf54ポリペプチド、例えば、配列番号3及び配列番号4の群から選択されるアミノ酸配列からなる単離されたC1orf54ポリペプチドは、マイオカイン活性を有し、ここで、前記マイオカイン活性は、筋肉強度増加活性を含む。

【0073】

さらに別の実施形態では、本発明による単離ポリペプチド、例えば、配列番号3及び配列番号4の群から選択されるアミノ酸配列からなる単離されたC1orf54ポリペプチドは、マイオカイン活性を有し、ここで、前記マイオカイン活性は、筋肉再生改善活性を含む。

【0074】

医薬組成物

本明細書において提供するものは、薬学的に許容される担体、添加剤又は賦形剤と一緒に配合される、マイオカイン活性を有する単離されたC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を含む医薬組成物である。組成物は、医学的狀態を処置するのに適した1種若しくは複数の他の治療剤をさらに含有することができる。

【0075】

本明細書に記載されている医薬組成物は、種々の当技術分野において公知の方法によって投与することができる。投与の経路及び/又はモードは、所望の結果によって変化し得る。投与経路によって、マイオカイン活性を有するC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体は、化合物を不活性化し得る酸及び他の自然条件の作用から化合物を保護する材料でコーティングし得る。このように、別の態様において、本発明は、本明細書において開示されているC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、及び少なくとも1種の薬学的に許容される担体、賦形剤又は添加剤を含有する組成物、例えば、医薬組成物を提供する。

【0076】

したがって、提供するものは、医薬有効量の

- i . アミノ酸配列である配列番号2、3、若しくは4からなるポリペプチド；
 - ii . 配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチド；
 - iii . 配列番号2、3、若しくは4に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチド；
 - iv . 配列番号2、3、若しくは4に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチド；及び
 - v . アミノ酸配列（ここで、1個、2個、3個、4個若しくは5個のアミノ酸は、配列番号2、3、若しくは4のいずれか1つの配列内で修飾、欠失、付加及び/又は置換されている）を含むか、又はこれからなるポリペプチドから選択される少なくとも1種のポリペプチド（ここで、前記ポリペプチドは、マイオカイン活性を有する）；
- 並びに少なくとも1種の薬学的に許容される担体、賦形剤又は添加剤を含む医薬組成物である。

10

20

30

40

50

【 0 0 7 7 】

また提供するものは、

- i . アミノ酸配列である配列番号 2、3、若しくは 4 からなるポリペプチド；
- i i . 配列番号 2、3、若しくは 4 のアミノ酸配列を含むポリペプチド；
- i i i . 配列番号 2、3、若しくは 4 に対して少なくとも 95% の同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチド；
- i v . 配列番号 2、3、若しくは 4 に対して少なくとも 95% の同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチド；
- v . アミノ酸配列（ここで、1 個、2 個、3 個、4 個若しくは 5 個のアミノ酸は、配列番号 2、3、若しくは 4 のいずれか 1 つの配列内で修飾、欠失、付加及び / 又は置換されている）を含むか、又はこれからなるポリペプチドから選択される少なくとも 1 種のポリペプチド（ここで、前記ポリペプチドは、マイオカイン活性を有する）；

並びに少なくとも 1 種の薬学的に許容される担体、賦形剤又は添加剤を含む医薬組成物である。別の実施形態では、前記医薬組成物は、筋肉が関連する障害の処置において使用するためである。一実施形態では、前記マイオカイン活性は、筋機能増加活性を含む。一実施形態では、前記筋機能増加活性は、本明細書に記載されているアッセイによって決定される。別の実施形態では、前記マイオカイン活性は、筋肉強度増加活性を含み得る。別の実施形態では、前記筋機能増加活性は、本明細書に記載されているアッセイによって決定される。また別の実施形態では、前記マイオカイン活性は、筋肉再生改善活性を含み得る。また別の実施形態では、前記筋再生改善活性は、本明細書に記載されているアッセイによって決定される。別の実施形態では、前記マイオカイン活性は、筋肉強度増加活性及び筋再生改善活性を含み得る。一実施形態では、本明細書において提供する医薬組成物は、筋肉が関連する障害の処置において使用するためである。一実施形態では、本明細書において提供する医薬組成物は、筋萎縮、整形外科的傷害、筋肉傷害、筋肉衰弱、心不全、化学療法、及び脳卒中後、二次性筋肉喪失、サルコペニア、悪液質、肥満又は代謝症候群から選択されるか、又はこれらによってもたらされる筋肉が関連する障害の処置において使用するためである。

【 0 0 7 8 】

一実施形態では、組成物は、薬学的に許容される担体、添加剤又は賦形剤と一緒に配合される。

【 0 0 7 9 】

投与量レジメンを調節して、最適な所望の応答（例えば、治療応答）を実現する。例えば、単一のボラスを投与してもよいか、いくつかの分割用量をある期間に亘って投与してもよいか、又は用量は治療状況の事情によって示されるように比例的に低減若しくは増加させてもよい。投与量単位形態は、本明細書において使用する場合、処置される対象のための単位投与量として適した物理的個別単位を指し；各単位は、必要とされる医薬担体と関連した所望の治療効果を生じさせるように計算された所定の量の活性化化合物を含有する。本発明の投与量単位形態についての明細は、活性化化合物の独自の特性及び達成される特定の治療効果、並びに個体における感受性の処置のためのこのような活性化化合物を配合する技術分野における固有の制限によって影響され、直接これらによって決まる。C 1 o r f 5 4 ポリペプチド若しくはその変異体、又は前記 C 1 o r f 5 4 ポリペプチド若しくはその変異体を含む医薬組成物の治療的有効量は、約 0 . 0 0 1 ~ 1 5 0 m g / 宿主の体重 k g、又は 0 . 0 1 ~ 3 0 m g / k g、より通常に、0 . 1 ~ 1 0 m g / k g の範囲である。当業者は、投与経路（例えば、静脈内又は皮下）によって変化する適切な有効用量を同定することを理解している。全身投与のいくつかの方法において、投与量を調節して、1 ~ 1 0 0 0 μ g / m l、いくつかの方法では、2 5 ~ 5 0 0 μ g / m l の C 1 o r f 5 4 ポリペプチド若しくはその変異体の血漿濃度を達成する。代わりに、組成物は、持続放出配合物でよく、この場合、より頻繁でない投与が必要とされる。投与量及び頻度は、患者における C 1 o r f 5 4 ポリペプチド若しくはその変異体の半減期によって変化する

10

20

30

40

50

。投与量及び投与の頻度は、処置が予防的又は治療的であるかによって変化することができる。予防的用途において、例えば、相対的に低い投与量を、長期間に亘り相対的に頻繁でない間隔で投与する。治療的用途において、疾患の進行が低減若しくは終了するまで、又は患者が疾患の症状の部分的若しくは完全な回復を示すまで、例えば、相対的に短い間隔での相対的に高い投与量が時折必要とされる。その後、患者に予防的レジメンを投与することができる。本明細書において提供する医薬組成物中の活性剤の実際の投与量レベルは、患者に対して有毒であることを伴わずに、特定の患者、組成物、及び投与のモードについて所望の治療応答を達成するのに有効である活性剤の量を得るように変動し得る。選択された投与量レベルは、用いられる本発明の特定の組成物の活性、又は投与経路、投与の時間、用いられる特定の化合物の排せつ率、処置の期間、用いられる特定の組成物と組み合わせて使用される他の薬物、化合物及び/又は材料、処置される患者の年齢、性別、体重、状態、身体全体の健康及びこれまでの病歴、並びに医術において公知の同様の要因を含めた種々の薬物動態学的要因によって決まる。例示的な処置方式は、少なくとも1日1回、少なくとも週1回、2週間に少なくとも1回、3週間に少なくとも1回、4週間に少なくとも1回、1カ月に少なくとも1回、3カ月に少なくとも1回、又は3～6カ月に少なくとも1回の投与を必要とする。本発明の組成物に含まれる治療有効用量のC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体の投与は、病徴の重症度の減少、病徴がない期間の頻度及び期間の増加、又は疾患の苦痛による機能低下若しくは身体障害の予防、すなわち、筋肉強度及び/又は筋肉の再生能の増加をもたらすことができる。

10

20

30

40

50

【0080】

患者は、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体の有効量、すなわち、当該の筋肉が関連する障害を処置するか、回復させるか、又は予防するのに十分な量を受ける。治療効果はまた、身体症状の低減を含み得る。治療効果は、運動の効果を模倣し得る。投与量は、単回投与スケジュール又は複数回投与スケジュールによるものでよい。投与量は、断続的でよい。断続的な投薬の間に、例えば、本明細書に記載のような医薬組成物に含まれる、治療有効用量のC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドを、患者に投与し、それによって、本明細書に記載のようなC1orf54の生物活性を誘発し、それに続いて、例えば、医薬組成物に含まれる、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドが、C1orf54生物活性が誘発状態と比較して減少するように、前記患者に投与されない期間が続く。一実施形態では、断続的な投薬スケジュールは、少なくとも2つのサイクルを含み、各サイクルは、(a)例えば、本明細書に記載のような医薬組成物に含まれる、治療の有効量のC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドを患者に投与する投薬期間、及びその後の(b)休止期間を含む。

【0081】

本発明の組成物は、当技術分野において公知の種々の方法の1つ若しくは複数を使用して、1つ若しくは複数の投与経路によって投与することができる。当業者が認識するように、投与の経路及び/又はモードは、所望の結果によって変化する。本発明の治療用タンパク質のための投与経路は、例えば、注射又は注入による、静脈内、筋内、皮内、腹腔内、皮下、局所送達、脊髄又は他の非経口投与経路を含む。一実施形態では、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、又は前記C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を含む組成物は、静脈内に投与される。別の実施形態では、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、又は前記C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を含む組成物は、皮下に投与される。別の実施形態では、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、又は前記C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を含む組成物は、筋肉内に投与される。

【0082】

本発明の使用及び方法

例えば、本明細書に開示されているようなC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、又は前記C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を含む組成物は、治療の有用性を有する。例えば、これらの分子は、対象に投与することができ、疾患の処置、予防法において、及び/又は病徴の発症を遅延させるために使用し得る。本発明は、治療において又は医薬として使用するための、例えば、本明細書に開示されているようなC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、又は前記C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を含む組成物を提供する。本発明はさらに、病理学的障害、例えば、筋肉が関連する障害の処置において使用するための、例えば、本明細書に開示されているようなC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、又は前記C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を含む組成物を提供する。本発明はさらに、病理学的障害、例えば、
10 筋肉が関連する障害の処置のための医薬の製造における、例えば、本明細書に開示されているようなC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、又は前記C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を含む組成物の使用を提供する。一実施形態では、本発明は、筋機能の増加において使用するための、例えば、本明細書に開示されているようなC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、又は前記C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を含む組成物に関する。特定の一実施形態では、前記筋機能は、増加した筋肉強度を含む。特定の実施形態では、本発明は、それを必要とする患者において筋肉強度を増加させることにおいて使用するための、例えば、本明細書に開示されているよう
20 なC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、又は前記C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を含む組成物に関する。筋肉強度を増加させる必要性は、特に、筋肉が関連する障害の帰結として本明細書において記述する状態の1つに起因し得るか、又はこれは、やはり筋機能の増加から利益を得る、本明細書において記述しない状態、例えば、病的状態に起因し得る。別の実施形態では、前記筋機能は、改善された筋肉再生を含む。別の実施形態では、前記筋機能は、増加した筋肉強度及び改善された筋肉再生を含む。

【0083】

一態様において、本発明は、治療において使用するための本明細書に記載のようなC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を提供する。したがって、本発明は、医薬として使用するための、

- a. アミノ酸配列である配列番号2、3、若しくは4からなるポリペプチド；
- b. 配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチド；
- c. 配列番号2、3、若しくは4に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチド；
- d. 配列番号2、3、若しくは4に対して少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチド；及び
- e. アミノ酸配列（ここで、1個、2個、3個、4個若しくは5個のアミノ酸は、配列番号2、3、若しくは4のいずれか1つの配列内で修飾、欠失、付加及び/又は置換されている）を含むか、又はこれからなるポリペプチドから選択されるポリペプチドを提供する。

【0084】

一実施形態では、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドは、マイオカイン活性を有する。さらなる実施形態では、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドは、対象における筋肉が関連する障害の処置における使用のためである。

【0085】

別の態様において、本発明は、医薬の製造において使用するための、本明細書に記載のようなC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体を提供する。本発明は、医薬の製造において使用するための、

- a. アミノ酸配列である配列番号2、3、若しくは4からなるポリペプチド；

- b . 配列番号 2、3、若しくは 4 のアミノ酸配列を含むポリペプチド；
- c . 配列番号 2、3、若しくは 4 に対して少なくとも 95% の同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチド；
- d . 配列番号 2、3、若しくは 4 に対して少なくとも 95% の同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチド；及び
- e . アミノ酸配列（ここで、1個、2個、3個、4個若しくは5個のアミノ酸は、配列番号 2、3、若しくは 4 のいずれか 1 つの配列内で修飾、欠失、付加及び / 又は置換されている）を含むか、又はこれからなるポリペプチドから選択されるポリペプチドを提供する。

【0086】

10

一実施形態では、医薬の製造において使用するための、C1orf54 ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号 2、3、若しくは 4 のアミノ酸配列を含むポリペプチドは、マイオカイン活性を有する。さらなる実施形態では、C1orf54 ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号 2、3、若しくは 4 のアミノ酸配列を含むポリペプチドは、対象における筋肉が関連する障害の処置のための医薬の製造における使用のためである。

【0087】

さらなる態様において、本発明は、対象における筋肉が関連する障害を処置することにおいて使用するためのポリペプチド若しくはその変異体を提供し、ここで、処置は、対象に、

20

- a . アミノ酸配列である配列番号 2、3、若しくは 4 からなるポリペプチド；
 - b . 配列番号 2、3、若しくは 4 のアミノ酸配列を含むポリペプチド；
 - c . 配列番号 2、3、若しくは 4 に対して少なくとも 95% の同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチド；
 - d . 配列番号 2、3、若しくは 4 に対して少なくとも 95% の同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチド；及び
 - e . アミノ酸配列（ここで、1個、2個、3個、4個若しくは5個のアミノ酸は、配列番号 2、3、若しくは 4 のいずれか 1 つの配列内で修飾、欠失、付加及び / 又は置換されている）を含むか、又はこれからなるポリペプチドから選択されるポリペプチドを投与することを含み、
- ここで、前記ポリペプチドは、マイオカイン活性を有する。

30

【0088】

別の態様において、本発明は、対象における筋肉が関連する障害を処置することにおいて使用するためのポリペプチド若しくはその変異体を提供し、ここで、処置は、対象に有効量の

- f . アミノ酸配列である配列番号 2、3、若しくは 4 からなるポリペプチド；
 - g . 配列番号 2、3、若しくは 4 のアミノ酸配列を含むポリペプチド；
 - h . 配列番号 2、3、若しくは 4 に対して少なくとも 95% の同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチド；又は
 - i . 配列番号 2、3、若しくは 4 に対して少なくとも 95% の同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドから選択されるポリペプチドを投与することを含み；
- ここで、前記ポリペプチドは、マイオカイン活性を有する。

40

【0089】

本発明はさらに、治療的有効量の C1orf54 ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号 2、3、若しくは 4 のアミノ酸配列を含むポリペプチド、又は前記 C1orf54 ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号 2、3、若しくは 4 のアミノ酸配列を含むポリペプチドを含む医薬組成物を、前記患者に投与することを含む、病理学的障害、例えば、筋肉が関連する障害を患っている患者を処置する方法を提供する。したがって、本発明は、本明細書に記載のようなマイオカイン活性を有する、例えば、医薬

50

組成物に含まれる、治療的有効量の C 1 o r f 5 4 ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号 2、3 若しくは 4 を有するポリペプチドを投与することを含む、筋肉が関連する障害を処置する方法を提供し、ここで、前記マイオカイン活性は、筋機能増加活性を含む。前記筋機能は、筋肉強度及び / 又は筋肉再生を含む。特定の実施形態では、本発明は、筋肉強度を増加させるための方法に関する。別の実施形態では、前記筋機能は、改善された筋肉再生を含む。別の実施形態では、前記筋機能は、増加した筋肉強度及び改善された筋肉再生を含む。筋肉強度を増加させる必要性は、特に、筋肉が関連する障害の帰結として本明細書において記述する状態の 1 つに起因し得るか、又はこれは、やはり筋機能の増加から利益を得る、本明細書において記述しない状態、例えば、病的状態に起因し得る。

10

【 0 0 9 0 】

したがって、本発明は、本明細書に記載のような C 1 o r f 5 4 ポリペプチド若しくはその変異体を投与することを含む、筋肉が関連する障害を処置する方法を提供する。本発明は、対象における筋肉が関連する障害を処置する方法を提供し、ここで、前記方法は、対象に治療的有効量の

- a . アミノ酸配列である配列番号 2、3、若しくは 4 からなるポリペプチド ;
 - b . 配列番号 2、3、若しくは 4 のアミノ酸配列を含むポリペプチド ;
 - c . 配列番号 2、3、若しくは 4 に対して少なくとも 9 5 % の同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチド ;
 - d . 配列番号 2、3、若しくは 4 に対して少なくとも 9 5 % の同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチド ; 及び
 - e . アミノ酸配列 (ここで、1 個、2 個、3 個、4 個若しくは 5 個のアミノ酸は、配列番号 2、3、若しくは 4 のいずれか 1 つの配列内で修飾、欠失、付加及び / 又は置換されている) を含むか、又はこれからなるポリペプチドから選択されるポリペプチドを投与することを含み ;
- ここで、前記ポリペプチドは、マイオカイン活性を有する。

20

【 0 0 9 1 】

下記のセクションにおいて、上記の使用及び方法の様々な態様及び実施形態を記載し、全てのこれらの態様及び実施形態は一緒に合わせることができる。下記のページにおいて開示されている教示は、全てが互いに合わせることができ、これらのページの様々な部分からのフィーチャを合わせる特定の態様及び実施形態は、当業者には適当に開示されていると考えられることを当業者は理解する。

30

【 0 0 9 2 】

例えば、本発明の医薬組成物に含まれる、単離された C 1 o r f 5 4 ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号 2、3、若しくは 4 のアミノ酸配列を含むポリペプチドは、例えば、本明細書において提供するような、例えば、本発明を行うためのモードによって説明されているような *in vitro* 及び *in vivo* での試験において示されるようなマイオカイン活性を示し、したがって、治療、又は *in vivo* 若しくは *in vitro* での使用に適用される。特に意図されるのは、筋機能の増加、例えば、筋肉強度及び / 又は改善された筋肉再生から利益を得る疾患及び障害である。

40

【 0 0 9 3 】

したがって、本発明は、筋肉強度を増加させることにおいて使用するための、例えば、本明細書に記載のような医薬組成物に含まれる、C 1 o r f 5 4 ポリペプチド及びその変異体、例えば、配列番号 2、3、若しくは 4 のアミノ酸配列を含むポリペプチドを提供する。

【 0 0 9 4 】

本発明はまた、筋肉強度を増加させるための医薬として使用するための、例えば、本明細書に記載のような医薬組成物に含まれる、C 1 o r f 5 4 ポリペプチド及びその変異体、例えば、配列番号 2、3、若しくは 4 のアミノ酸配列を含むポリペプチドを提供する。

【 0 0 9 5 】

50

さらに、本発明は、例えば、本明細書に記載のような医薬組成物に含まれる、有効量の C1orf54 ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号 2、3、若しくは 4 のアミノ酸配列を含むポリペプチドを投与することを含む、それを必要とする対象において筋肉強度を増加させる方法を提供する。

【0096】

骨格筋は、高い可塑性及び運動に対する高い応答性を有する組織である。衛星細胞（筋肉前駆細胞）は典型的には、運動及び傷害によって活性化され、筋組織のリモデリングにおいて重要な役割を果たしている。MyoD は、主に衛星細胞を分化へと推進することによって衛星細胞の運命を決定する重要な転写因子である。MyoD を欠いている筋肉前駆細胞は、より幹細胞様表現型を取り戻し、傷害された筋肉中への注射の後、野生型細胞と比較してかなりより高い効率性を伴って生着する。さらに、MyoD を欠いている衛星細胞は、筋肉線維の基底膜の下で検出することができ、生着の後、増殖及び生存の増加を示す (Asakura et al. (2007) Proc Natl Acad Sci USA 104, 16552-16557)。したがって、MyoD を一過性に減少させることが望ましい。本発明の C1orf54 ポリペプチドは、*in vitro* (実施例 5、図 5) 又は *in vivo* (実施例 4、図 4) で MyoD のレベルを減少させる。

10

【0097】

したがって、本明細書において提供するものは、対象にこのようなポリペプチド又は医薬組成物を投与することを含む、それを必要とする対象における筋機能を増加させることにおいて使用するためのマイオカイン活性を有する、例えば、医薬組成物に含まれる、C1orf54 ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号 2、3、若しくは 4 のアミノ酸配列を含むポリペプチドであり、ここで、前記ポリペプチド又は医薬組成物の投与は、MyoD のレベルを減少させ、それによって、対象において、筋機能の増加、適切には筋肉強度の増加及び / 又は改善された筋肉再生を促進する。

20

【0098】

別の実施形態では、提供するものは、治療的有効量の C1orf54 ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号 2、3、若しくは 4 のアミノ酸配列を含むポリペプチドを投与することを含む、筋肉が関連する障害を処置する方法であり、ここで、前記ポリペプチドの投与は、MyoD のレベルを減少させ、それによって、対象において、筋機能の増加、適切には筋肉強度の増加及び / 又は改善された筋肉再生を促進する。

30

【0099】

一実施形態では、例えば、本明細書に記載のような医薬組成物に含まれる、C1orf54 ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号 2、3、若しくは 4 のアミノ酸配列を含むポリペプチドは、筋芽細胞の増殖の刺激において使用するため、及び / 又は衛星細胞の頻度若しくは数を増加させるためである。前記使用は、*in vivo* 又は *in vitro* での使用、好ましくは、*in vivo* での使用であり得る。

【0100】

したがって、一実施形態では、本明細書において提供するものは、対象に前記ポリペプチド又は医薬組成物を投与することを含む、それを必要とする対象における筋機能を増加させることにおいて使用するためのマイオカイン活性を有する、例えば、医薬組成物に含まれる、C1orf54 ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号 2、3、若しくは 4 のアミノ酸配列を含むポリペプチドであり、ここで、前記ポリペプチド又は医薬組成物の投与は、筋芽細胞の増殖を刺激し、それによって、対象において、筋機能の増加、適切には筋肉強度の増加及び / 又は改善された筋肉再生を促進する。

40

【0101】

さらなる実施形態では、本発明はまた、対象に前記ポリペプチド又は医薬組成物を投与することを含む、それを必要とする対象における筋機能を増加させることにおいて使用するためのマイオカイン活性を有する、例えば、医薬組成物に含まれる、C1orf54 ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号 2、3、若しくは 4 のアミノ酸配列を含むポリペプチドを提供し、ここで、ポリペプチド又は医薬組成物の投与は、対象の骨格

50

筋の幹細胞又は衛星細胞の頻度又は数を増加させ、それによって、対象において、筋機能の増加、適切には筋肉強度の増加及び／又は改善された筋肉再生を促進する。

【0102】

別の実施形態では、本発明は、治療的有効量のC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドを投与することを含む、筋肉が関連する障害を処置する方法を提供し、ここで、前記ポリペプチドの投与は、筋芽細胞の増殖を刺激し、それによって、対象において、筋機能の増加、適切には筋肉強度の増加及び／又は改善された筋肉再生を促進する。

【0103】

さらに別の実施形態では、本発明は、治療的有効量のC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドを投与することを含む、筋肉が関連する障害を処置する方法を提供し、ここで、前記ポリペプチドの投与は、対象の骨格筋の幹細胞又は衛星細胞の頻度又は数を増加させ、それによって、対象において、筋機能の増加、適切には筋肉強度の増加及び／又は改善された筋肉再生を促進する。

10

【0104】

一実施形態では、本発明はまた、例えば、医薬組成物に含まれる、有効量の単離されたC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドを、衛星細胞を含む単離された生体試料に投与するステップを含む、衛星細胞の自己再生及び／又は分化を促進するための*in vitro*の方法を提供する。さらなる実施形態では、提供するものは、前記衛星細胞が筋芽細胞へと増殖及び／又は分化するのに十分である時間及び条件下で、前記細胞と、例えば、医薬組成物に含まれる、ある量のC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドとを接触させることを含む、筋芽細胞への衛星細胞の増殖及び／又は分化を刺激するための方法である。一実施形態では、本発明はまた、筋芽細胞成長を促進するための、例えば、医薬組成物に含まれる、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドの*in vitro*での使用を提供する。一実施形態では、提供するものは、例えば、本明細書に記載のような医薬組成物に含まれる、有効量のC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドを、筋芽細胞を含む単離された生体試料に投与することを含む、筋芽細胞成長を促進するための*in vitro*での方法である。前記生体試料は、ヒト骨格筋に由来する細胞(hSKMDC)でよい。

20

30

【0105】

別の実施形態では、本発明は、

- a) 単離された衛星細胞と候補薬剤又は候補薬剤の組合せとを接触させるステップ；
 - b) 前記細胞の細胞表現型をアセスメントするステップ；
 - c) ステップb)における細胞表現型を、前記薬剤又は薬剤の組合せの非存在下での衛星細胞の表現型と、及び／又は例えば、医薬組成物に含まれる、単離されたC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドと接触した衛星細胞の表現型と比較するステップ
- を含む、衛星細胞の自己再生及び／又は分化を促進する薬剤又は薬剤の組合せを同定するための*in vitro*でのスクリーニング方法を提供する。

40

【0106】

好ましい一実施形態によれば、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドは、筋肉が関連する障害に影響を受けている対象において使用するためである。別の好ましい実施形態では、本発明は、筋肉が関連する障害で冒されている対象における使用のための、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドを含む医薬組成物を提供する。別の好ましい実施形態では、提供す

50

るのは、治療有効用量の本明細書に記載のようなC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドを投与することを含む、筋肉が関連する障害を有する対象を処置する方法である。

【0107】

多数の筋肉が関連する障害は、筋肉機能障害をもたらすことが示されてきた。これらの筋肉が関連する障害には、これらに限定されないが、1つ若しくは複数の筋骨格の疾患若しくは障害、例えば、全ての原因からの筋萎縮、遺伝性若しくは劣性遺伝性ミオパチー（例えば、筋ジストロフィー）及び薬物誘発性ミオパチー（例えば、グルココルチコイドによる処置からもたらされる）を含めたミオパチー、筋肉消耗疾患（例えば、根底にある疾病、例えば、後天性免疫不全疾患[AIDS]、うっ血性心不全、関節リウマチ、がん、慢性閉塞性肺疾患[COPD]、肝不全若しくは肝硬変、火傷、敗血症からの結果であり得る悪液質）、長期化した不使用（例えば、麻痺、神経傷害、昏睡、安静、及びICU滞在からもたらされる）、整形外科的傷害、筋肉傷害、手術（例えば、関節置換手術）によって誘発される衰弱、化学療法、脳卒中後、横紋筋融解症、筋萎縮若しくは衰弱の加齢に関連した状態（例えば、加齢の結果であり得るサルコペニア）、肥満、代謝症候群、糖尿病、心血管傷害若しくは疾患、内分泌障害、又は免疫障害が含まれる。

10

【0108】

ある特定の実施形態では、本発明は、これらに限定されないが、任意の原因からの筋萎縮、ミオパチー、筋肉消耗疾患、長期化した不使用、整形外科的傷害、筋肉傷害、筋肉衰弱、化学療法、脳卒中後、慢性心不全、横紋筋融解症、加齢に関連した状態、例えば、サルコペニア、二次性筋肉喪失、肥満及び/又は代謝症候群を含めた筋肉が関連する障害の処置における方法における、又はこれらの処置における使用のための、化合物及び医薬組成物を提供する。このような使用又は方法は、それを必要とする対象に、例えば、マイオカイン活性を有する医薬組成物に含まれる、有効量のC1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドを投与することを含む。

20

【0109】

一実施形態では、筋肉が関連する障害は、筋肉の消耗である。筋肉の消耗は、種々の疾患、障害、他の状態、又は事象からもたらされる骨格筋組織の不随意的喪失によって特徴付けられる状態を説明するために使用される一般用語である。ミオパチー、薬物誘発性ミオパチー、神経外傷による除神経、又は変性、代謝性、若しくは炎症性ニューロパチーの結果、及び筋萎縮若しくは衰弱の加齢に関連した状態を含めた筋肉の消耗の多くの原因が存在する。

30

【0110】

一実施形態では、筋萎縮は、ミオパチー、例えば、筋強直；ネマリンミオパチー、マルチコア/ミニコアミオパチー及び筋細管（中心核）ミオパチーを含めた先天性ミオパチー、良性先天性の低血圧症、中心コア病（セントラルコアミオパチーとしてまた知られている）；ミトコンドリアミオパチー（例えば、キーンズ-セイアー症候群）；家族性周期性麻痺；炎症性ミオパチー；例えば、グリコーゲン又は脂質蓄積症によってもたらされる代謝性ミオパチー；皮膚筋炎；多発性筋炎；封入体筋炎（例えば、孤発性封入体筋炎及び遺伝性封入体ミオパチー）；骨化性筋炎；横紋筋融解症及びミオグロビン尿症に起因する。ミオパチーは、筋ジストロフィー症候群、例えば、デュシェンヌ型筋ジストロフィー、ベッカー筋ジストロフィー、筋緊張性筋ジストロフィー、顔面-肩甲-上腕筋ジストロフィー、エメリ-ドレフュス型筋ジストロフィー、眼球咽頭型筋ジストロフィー、肢帯型筋ジストロフィー、先天性筋ジストロフィー（例えば、メロシン欠損型先天性筋ジストロフィー、ベスレムミオパチー、Ulrich先天性筋ジストロフィー、福山先天性筋ジストロフィー）、脊髄性筋ジストロフィー、脊椎硬直筋ジストロフィー、末梢型筋ジストロフィー、サルコグリカノパチー又は遺伝性遠位型ミオパチーによってもたらされ得る。

40

【0111】

一実施形態では、筋萎縮は、例えば、グルココルチコイド、例えば、コルチゾール、デ

50

キサメタゾン、ベタメタゾン、プレドニゾン、メチルプレドニゾロン、又はプレドニゾロンによる処置の結果としての薬物誘発性ミオパチーである。

【0112】

一実施形態では、筋萎縮は、神経外傷による除神経の結果、又は神経筋の疾患、障害若しくは傷害（例えば、運動ニューロン疾患、例えば、筋萎縮性側索硬化症、小児脊髄性筋萎縮、若年性脊髄性筋萎縮、多病巣性伝達ブロックを伴う自己免疫性運動ニューロパチー）、パーキンソン病、ハンチントン病、重症筋無力症、中心核ミオパチー（例えば、X連鎖筋細管ミオパチー）、自己免疫性神経変性疾患（例えば、ギランバレー症候群、慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー、Lambert-Eaton筋無力症候群）、クロイツフェルトヤコブ病、及び脳卒中若しくは脊髄傷害による麻痺を含めた、変性、代謝性、若しくは炎症性ニューロパチーの結果である。

10

【0113】

一実施形態では、筋萎縮は、筋機能の増加から利益を得る、加齢に関連した筋萎縮若しくは衰弱の状態である。処置し得る筋肉が関連する障害の例は、これらに限定されないが、サルコペニア、皮膚萎縮、筋肉の消耗、廃用性筋萎縮、アテローム性動脈硬化、動脈硬化、肺気腫、骨粗鬆症、骨関節炎、免疫機能不全、高血圧、認知症、ハンチントン病、アルツハイマー病、白内障、加齢黄斑変性症、がん、脳卒中、虚弱、正常な機能が損なわれた腎臓機能、及び加齢に関連した聴力喪失を含めた加齢/老化と関連するものを含む。

【0114】

本発明の一実施形態では、筋肉が関連する障害は、骨格固定化（例えば、外傷、安静、自発的な無活動、非自発的な無活動、傷害による）、栄養不全（例えば、絶食若しくは飢餓）、心筋症、心筋梗塞、狭心症、がん、HIV消耗症候群、又は内分泌障害、例えば、甲状腺若しくは副腎又は下垂体障害からもたらされる。

20

【0115】

一実施形態では、筋肉が関連する障害は、I I型糖尿病を含めた代謝性障害、糖尿病が関連する筋萎縮、代謝症候群/症候群X/インスリン抵抗性症候群、高血糖症、肥満及び肥満が関連するサルコペニアである。

【0116】

一実施形態では、筋肉が関連する障害は、例えば、除脂肪体重の喪失及び/若しくは筋肉の消耗を患っている成人及び小児の火傷傷害、又は敗血症及び集中治療室（ICU）中に発症する衰弱を患っている患者を含めた、重度及び中等度の火傷傷害において見られる急性筋肉の消耗性疾患である。

30

【0117】

一実施形態では、筋肉が関連する障害は、根底にある疾病、例えば、後天性免疫不全疾患[AIDS]、うっ血性心不全、関節リウマチ、がん、慢性閉塞性肺疾患[COPD]、肝硬変、火傷、敗血症、多発性硬化症、結核、ヒト免疫不全ウイルス、栄養不良、パーキンソン病、気腫、心不全、運動ニューロン疾患、嚢胞性線維症、認知症、サルコペニア、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、腎臓疾患、及び腎臓の不全によってもたらし得る悪液質である。

【0118】

一実施形態では、筋肉が関連する障害は、肢（すなわち、脚又は腕）、頭蓋骨、脊椎、骨盤又は関節（すなわち、膝又は股関節）の骨折である。このように、一実施形態では、筋肉が関連する障害は、上腕骨、橈骨、尺骨、手根骨、中手骨、鎖骨、肩甲骨、大腿骨、寛骨、膝蓋骨、脛骨、腓骨、距骨、踵骨、足根骨、中足骨、坐骨又は腸骨の1つ若しくは複数の傷害又は骨折である。別の実施形態では、筋肉が関連する障害は、下記の関節：膝、股関節、足首、肩、肘、手首の1つ若しくは複数に対する手術である。このような手術は、股関節、膝、肩又は他の関節の1つ若しくは複数の置換を含む。一実施形態では、本発明はまた、対象に本発明のポリペプチド又は医薬組成物と投与することを含む、例えば、手術、例えば、股関節又は膝関節置換手術からもたらされる強制的な無活動による筋肉の消耗効果を回復させることにおける、例えば、医薬組成物に含まれる、C1orf54

40

50

ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドを提供し、ここで、前記ポリペプチド又は医薬組成物は、マイオカイン活性を有する。一実施形態では、患者は、強制的な安静/無活動の予想される期間の前に、例えば、医薬組成物に含まれる、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドで事前処置し得る。患者が例えば、手術のために病院に入院したとき、このような期間は起こり得る。無活動は、例えば、骨折した肢若しくは関節のギブス固定によって、又は麻痺剤の投与によって、又は股関節若しくは脚への手術の後、又は関節置換の後、局在化し得る。

【0119】

本明細書に記載されている方法及び使用による処置は、筋肉が関連する障害を有するか、又は筋肉が関連する障害の危険性がある対象において筋肉の消耗の低減をもたらし得る。これはまた、筋肉が関連する障害を有するか、又は筋肉が関連する障害の危険性がある対象において筋肉の消耗の遅延をもたらし得る。これはまた、筋肉が関連する障害を有するか、又は筋肉が関連する障害の危険性がある対象において筋肉の消耗の抑制をもたらし得る。これはまた、筋肉が関連する障害を有するか、又は筋肉が関連する障害の危険性がある対象において筋機能の維持をもたらし得る。これはまた、筋肉が関連する障害を有するか、又は筋肉が関連する障害の危険性がある対象において機能回復を増進し得る。一実施形態では、提供するのは、脳卒中後の機能回復の増進のための、例えば、医薬組成物に含まれる、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドである。一実施形態では、提供するのは、脳卒中後の患者において機能回復が達成されるまでの時間を減少させるための、例えば、医薬組成物に含まれる、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドである。別の実施形態では、本明細書において提供するのは、股関節骨折による急性筋肉傷害及び関連する筋萎縮を有する対象における機能回復の増進のための、例えば、医薬組成物に含まれる、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドである。別の実施形態では、本明細書において提供するのは、70歳超の対象における機能回復の増進のための、例えば、医薬組成物に含まれる、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドである。別の実施形態では、本明細書において提供するのは、ICUミオパチーを有する対象における機能回復の増進のための、例えば、医薬組成物に含まれる、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドである。別の実施形態では、本明細書において提供するのは、末梢神経傷害を有する対象における機能回復の増進のための、例えば、医薬組成物に含まれる、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドである。別の実施形態では、本明細書において提供するのは、固定化を伴う整形外科的傷害を有する対象における機能回復の増進のための、例えば、医薬組成物に含まれる、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドである。別の実施形態では、本明細書において提供するのは、COPDと関連する筋肉衰弱及び/又は機能障害を有する対象における機能回復の増進のための、例えば、医薬組成物に含まれる、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドである。別の実施形態では、本明細書において提供するのは、化学療法と関連する筋肉衰弱及び/又は機能障害を有する対象における機能回復の増進のための、例えば、医薬組成物に含まれる、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドである。別の実施形

10

20

30

40

50

態では、本明細書において提供するものは、急性腎臓傷害（AKI）と関連する筋肉衰弱及び／又は機能障害を有する対象における機能回復の増進のための、例えば、医薬組成物に含まれる、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドである。別の実施形態では、本明細書において提供するものは、慢性腎臓傷害（CKI）と関連する筋肉衰弱及び／又は機能障害を有する対象における機能回復の増進のための、例えば、医薬組成物に含まれる、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドである。

【0120】

別の実施形態では、本発明はまた、健康な対象において筋機能、例えば、増加した筋肉強度及び／又は改善された筋肉再生及び／又は筋肉疲労性抵抗性における増加を増進するための、例えば、医薬組成物に含まれる、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドを提供する。

10

【0121】

提案される処置から利益を得ることができる他の患者は、集中治療又は長期入院を必要とする急性又は重篤な疾病から回復している患者；重度の外傷、例えば、自動車事故、中等度若しくは重度の火傷、戦闘傷害から回復している若年成人を含む。筋肉の喪失は、重度又は長期である大部分の疾病の一般の合併症であるため、筋肉強度の増加及び／又は筋肉再生の改善は、この喪失の根本的原因に関わらず筋肉喪失を経験している患者の回復及び機能への回復を加速することが予測される。

20

【0122】

一実施形態では、本明細書において提供するものは、対象において傷害の直後に一時的又は持続性の身体障害を予防し、二次性筋肉喪失を予防する、例えば、医薬組成物に含まれる、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3、若しくは4のアミノ酸配列を含むポリペプチドである。

【0123】

一実施形態では、本発明による方法及び使用による処置は、対象の身体的能力を改善させる。身体的能力は、これらに限定されないが、簡易身体能力バッテリー（SPPB）、歩調スピード測定、タイムドアップアンドゴー試験（TGUG）、階段昇降力試験（SCPT）、400m歩行試験及び／又は6分歩行距離試験（6MWD）を含めた種々の試験によってアセスメントし得る。

30

【0124】

本明細書において記述するような6分歩行距離試験（6MWD）は、例えば、ATS Statement: Guidelines for the Six-Minute Walk Test, Am J Respir Crit Care Med Vol 166. pp 111-117, 2002に記載されているような、医師会、例えば、American Thoracic Societyによって提供される現在の実用的ガイドラインにおいて定義されているような、現在の臨床実践に従って行われる標準的な身体運動試験を指す。

40

【0125】

本明細書において記述するような簡易身体能力バッテリー（SPPB）は、3つの別々の試験（起立バランス、8フィート（2.44メートル）を歩行する時間、及び5回、椅子から立ち上がり、座位に戻る時間）（PMID: 8126356）の基準によって、下肢の身体的パフォーマンスステータスをアセスメントするために行われる標準的な身体運動試験を指す。次いで、これらの3つの別々の試験を、0～12SPPBポイントのスケール上の成績スコアの要約へと合わせる。

【0126】

本明細書において記述するような歩調スピード測定は、8フィート（2.44メートル）～6メートルの歩行距離である確定した距離を歩行する対象の能力をアセスメントする

50

ために行われる標準的な身体運動試験を指す。好ましい実施形態では、歩調スピードは、4メートルの歩行距離に亘りアセスメントされる。歩行は、強度、協調及びバランスを必要とし、それによって、心血管系、呼吸器系、神経系、及び筋骨格系を含めた異なる器官系に対して要求する。

【0127】

本明細書において記述するようなタイムドアップアンドゴー試験(TUG)は、対象の可動性をアセスメントするために行われる標準的な身体運動試験を指す。これは、椅子から立ち上がり、3メートル歩行し、向きを変え、椅子に歩行して戻り、再び座るのに人間が要する時間を測定し、静的及び動的強度の両方を必要とする。この試験は、医師会による推奨、例えば、the American Geriatrics Society / British Geriatrics Society (2011) (J Am Geriatr Soc 59, 148 - 157) に従って行われる。

10

【0128】

本明細書において記述するような階段昇降力試験(SCPT)は、対象の下肢の強度、力、及びバランスをアセスメントするための機能試験を指す。いくつかの試験バリエーション、例えば、膝又は股関節置換(関節形成術)が、異なる患者集団のために開発されてきた。試験バリエーションは、ステップの数、個々のステップの高さ(例えば、18cm若しくは20cm)、タスク要求(昇りのみ若しくは昇り/降りを含む)、又は所定の数のステップに亘り試験の時間を計るかどうか、又は所与の期間についてステップカウントを記録するかどうか、例えば、9ステップの昇り/降り、5ステップの昇り/降り、4ステップの昇り/降り、30秒試験、6ステップの高速及び自己ペースを含む。

20

【0129】

一実施形態では、本発明による方法及び使用による処置は、対象の筋肉強度を改善させる。筋肉強度は、単一又は複数の関節及び呼吸筋及び他の筋肉(例えば、肺機能試験)に亘り、動的(例えば、30秒の椅子立ち上がり試験、階段昇降試験、膝屈曲/伸展)又は静的(例えば、握力測定、アイソメトリック膝伸展/屈曲)動作によってアセスメントし得る。筋肉強度をアセスメントするための他の一般に使用される試験は、自転車運動力測定、レジスタンストレーニング機器上の急速な動的収縮、及び最大垂直跳びを含む。

【0130】

本明細書において記述するような30秒の椅子立ち上がり試験(Jones et al. (1999) Res Q Exerc Sport 70, 113 - 119)は、対象の下肢の強度及び耐久性をアセスメントするために行われる標準的な身体運動試験を指す。これは、30秒で対象が座位から起き上がり、完全な立位となり、再び座る回数を測定する。これは、下肢強度及び耐久性の両方を必要とする。

30

【0131】

本明細書において記述するようなハンドグリップ試験は、対象の握力をアセスメントするために行われる標準的な身体運動試験を指す。握力は、握力計、例えば、Jamar握力計(Lafayette Instrument Company, USA)でアセスメントすることができる。

【0132】

本明細書において記述するような膝屈曲/伸展試験は、対象の四頭筋(膝伸展)及び/又はハムストリング(膝屈曲)の強度をアセスメントするために行われる標準的な身体運動試験を指す。アイソメトリック、アイソトニック又はアイソキネティック強度をアセスメントすることができる。

40

【0133】

キット

本開示はまた、筋肉が関連する障害を処置するためのキットを包含する。このようなキットは、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、C1orf54ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号2、3若しくは4を含むポリペプチド、(例えば、液体若しくは凍結乾燥した形態での)、又は本明細書に記載のような、C1o

50

r f 5 4 ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号 2、3 若しくは 4 を含むポリペプチドを含む医薬組成物を含む。さらに、このようなキットは、C 1 o r f 5 4 ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号 2、3 若しくは 4 を含むポリペプチドを投与するための手段（例えば、オートインジェクター、シリンジ及びバイアル、事前充填したシリンジ、事前充填したペン）、並びに使用説明書を含み得る。これらのキットは、例えば、封入されている C 1 o r f 5 4 ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号 2、3 若しくは 4 を含むポリペプチドと組み合わせた送達のための、筋肉に関連する障害を処置するためのさらなる治療剤を含有し得る。このようなキットはまた、筋肉が関連する障害を有する患者を処置するための C 1 o r f 5 4 ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号 2、3 若しくは 4 を含むポリペプチドの投与のための説明書を含み得る。このような説明書は、封入されている C 1 o r f 5 4 ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号 2、3 若しくは 4 を含むポリペプチドと共に使用するための、用量、投与経路、及び投薬レジメンを提供し得る。

10

【 0 1 3 4 】

語句「投与のための手段」は、これらに限定されないが、事前充填したシリンジ、バイアル及びシリンジ、注射ペン、自動注射装置、点滴及び静注バッグ、ポンプなどを含めた、患者に薬物を全身的に投与するための任意の利用可能な道具を指すために使用される。このようなアイテムによって、患者は薬物を自己投与し得る（すなわち、医師の援助なしで薬物を投与する）か、又は医師が薬物を投与し得る。本明細書において開示されているのは、C 1 o r f 5 4 ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号 2、3 若しくは 4 を含むポリペプチドを含む、筋肉が関連する障害を有する患者の処置において使用するためのキット、及び C 1 o r f 5 4 ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号 2、3 若しくは 4 を含むポリペプチドを患者に投与するための手段である。

20

【 0 1 3 5 】

本明細書において開示されているのは、C 1 o r f 5 4 ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号 2、3 若しくは 4 を含むポリペプチドを含むキット、又は C 1 o r f 5 4 ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号 2、3 若しくは 4 を含むポリペプチド、及び本明細書に記載のような薬学的に許容される担体、添加剤若しくは賦形剤を含む医薬組成物であり、ここで、キットは、前記 C 1 o r f 5 4 ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号 2、3 若しくは 4 を含むポリペプチド、又は前記 C 1 o r f 5 4 ポリペプチド若しくはその変異体、例えば、配列番号 2、3 若しくは 4 を含むポリペプチドを含む前記医薬組成物を、それを必要とする対象に投与するための、使用のための説明書及び手段をさらに含む。

30

【 0 1 3 6 】

配列

【 0 1 3 7 】

【表 1】

表1: 配列表

配列番号	フィーチャ	配列
ヒト <i>Clorf54</i> (<i>hsClorf54</i>)		
配列番号 1	シグナルペプチド (aa1-131)を有するアミノ酸	MDVLFVAIFAVPLILGQEYEDEERLGEDEYYQVVYYTVPSTYDDFS ADFTIDYSIFESEDRLNRLDKDITEAIETTISLETARADHPKPVTVKPV TTEPSPDLNDAVSSLRSPILLLSCAFVQVGMVFM
配列番号 15	<i>Clorf54</i> aa1-131をコードするDNA	ATGGATGTCCTCTTTGTAGCCATCTTTGCTGTGCCACTTATCCTGG GACAAGAATATGAGGATGAAGAAAGACTGGGAGAGGATGAATA TTATCAGGTGGTCTATTATTATACAGTCACCCCCAGTTATGATGA CTTTAGTGCAGATTCACCATTGATTACTCCATATTTGAGTCAGA GGACAGGCTGAACAGGTTGGATAAAGGACATAACAGAAGCAATA GAGACTACCATTAGTCTTGAAACAGCACGTGCAGACCATCCGAA GCCTGTAAGTGTGAAACCAGTAACAACGGAACCTAGTCCAGATC TGAACGATGCCGTGTCCAGTTTGCGAAGTCCTATTCCTCCTCC TGTCGTGTGCCTTTGTTTCAGGTGGGGATGTATTTTCATG
配列番号 2	シグナルペプチド (aa17-131)を伴わないアミノ酸	QEYEDEERLGEDEYYQVVYYTVPSTYDDFSADFTIDYSIFESEDRL NRLDKDITEAIETTISLETARADHPKPVTVKPVTTTEPSPDLNDAVSSL RSPILLLSCAFVQVGMVFM
配列番号 16	<i>Clorf54</i> aa17-131をコードするDNA	CAAGAATATGAGGATGAAGAAAGACTGGGAGAGGATGAATATT ATCAGGTGGTCTATTATTATACAGTCACCCCCAGTTATGATGACT TTAGTGCAGATTCACCATTGATTACTCCATATTTGAGTCAGAGG ACAGGCTGAACAGGTTGGATAAAGGACATAACAGAAGCAATAGA GACTACCATTAGTCTTGAAACAGCACGTGCAGACCATCCGAAGC CTGTAAGTGTGAAACCAGTAACAACGGAACCTAGTCCAGATCTG AACGATGCCGTGTCCAGTTTGCGAAGTCCTATTCCTCCTCCTG TCGTGTGCCTTTGTTTCAGGTGGGGATGTATTTTCATG
ヒト <i>Clorf54</i> 変異体		
配列番号 3	アミノ酸 (aa17-116)	QEYEDEERLGEDEYYQVVYYTVPSTYDDFSADFTIDYSIFESEDRL NRLDKDITEAIETTISLETARADHPKPVTVKPVTTTEPSPDLNDAVSSL RSPIP

10

20

30

40

【表 2】

配列番号 17	C1orf54 aa17-116 をコードする DNA	CAAGAATATGAGGATGAAGAAAGACTGGGAGAGGATGAATATT ATCAGGTGGTCTATTATTATACAGTCACCCCCAGTTATGATGACT TTAGTGCAGATTTACCATTGATTACTCCATATTTGAGTCAGAGG ACAGGCTGAACAGGTTGGATAAGGACATAACAGAAGCAATAGA GACTACCATTAGTCTTGAAACAGCACGTGCAGACCATCCGAAGC CTGTAACCTGTGAAACCAGTAACAACGGAACCTAGTCCAGATCTG AACGATGCCGTGTCCAGTTTGCGAAGTCTATTCCC	10
配列番号 4	アミノ酸 (aa67- 131)	DKDITEAIETTISLETARADHPKPVTVKPVTTPEPDLNDAVSSLRSPI PLLLSCAFVQVGMVFM	
配列番号 18	C1orf54 aa67-131 をコードする DNA	GATAAGGACATAACAGAAGCAATAGAGACTACCATTAGTCTTGA AACAGCACGTGCAGACCATCCGAAGCCTGTAACCTGTGAAACCAG TAACAACGGAACCTAGTCCAGATCTGAACGATGCCGTGTCCAGT TTGCGAAGTCTATTCCCCTCCTCCTGTCGTGTGCCTTTGTTTCAGG TGGGGATGTATTTTCATG	20
構築物 3: MRGS-His6-ENLYFQS-G-hsC1orf54 (aa17-131)			20
配列番号 19	DNA	ATGCGAGGTTACATCATCATCATCATGAAAATTTATATTTT CAATCAGGTCAAGAATATGAAGATGAAGAACGATTAGGTGAAG ATGAATATTATCAAGTAGTTTATTACTATACTGTAACACCAAGTT ATGACGATTTTAGTGTGATTTCACAATTGATTATTCAATTTTTGA ATCAGAGGATCGATTAACCGTTTAGATAAAGATATTACAGAGG CAATTGAAACAACAATTAGTCTGAAACAGCACGTGCTGATCAT CCAAAGCCAGTAACAGTTAAGCCAGTTACAACAGAACCTAGTCC TGACCTTAATGATGCAGTAAGCAGTCTTCGTTACCAATCCCCT TCTACTGTCATGTGCATTTGTTCAAGTTGGTATGTATTTTATG	30
配列番号 10	発現された アミノ酸	<u>MRGSHHHHHHENLYFQSQEYEDEERLGEDEYYQVYYYYTVTPSY</u> <u>DDFSADFTIDYSIFESEDRLNRLDKDITEAIETTISLETARADHPKPV</u> <u>VKPVTTPEPDLNDAVSSLRSPIPLLLSCAFVQVGMVFM</u>	
配列番号 5	精製された アミノ酸	<u>SGQEYEDEERLGEDEYYQVYYYYTVTPSYDDFSADFTIDYSIFESED</u> <u>RLNRLDKDITEAIETTISLETARADHPKPVTVKPVTTPEPDLNDAVS</u> <u>SLRSPILLLSCAFVQVGMVFM</u>	40
構築物 4: MRGS-His6-ENLYFQS-G-hsC1orf54 (aa67-131)			40
配列番号 21	DNA	ATGCGAGGTTACATCATCATCATCATGAAAATTTATATTTT CAATCAGGTGATAAAGATATTACAGAGGCAATTGAAACAACAAT TAGTCTGGAACAGCACGTGCTGATCATCCAAAGCCAGTAACAG TTAAGCCAGTTACAACAGAACCTAGTCTGACCTTAATGATGCA GTAAGCAGTCTTCGTTACCAATCCCCTTCTACTGTCATGTGCA TTTGTTCAAGTTGGTATGTATTTTATG	

【表 3】

配列番号 12	発現された アミノ酸	<u>MRGSHHHHHHENLYFQSGDKDITEAIETTISLETARADHPKPVTVKPVTTEPSPDLNDAVSSLRSPIPLLSCAFVQVGMVFM</u>
配列番号 7	精製された アミノ酸	<u>SGDKDITEAIETTISLETARADHPKPVTVKPVTTEPSPDLNDAVSSLRSPIPLLSCAFVQVGMVFM</u>
構築物 5: MRGS-His6-ENLYFQS-G-hsC1orf54 (aa17-116)		
配列番号 22	DNA	ATGCGAGGTTACATCATCATCATCATCATGAAAATTTATATTTT CAATCAGGTCAAGAATATGAAGATGAAGAACGATTAGGTGAAG ATGAATATTATCAAGTAGTTTATTACTATACTGTAACACCAAGTT ATGACGATTTTAGTGCTGATTTTACAATTGATTATTCAATTTTTGA ATCAGAGGATCGATTAAACCGTTTAGATAAAGATATTACAGAGG CAATTGAAACAACAATTAGTCTGGAAACAGCACGTGCTGATCAT CCAAAGCCAGTAACAGTTAAGCCAGTTACAACAGAACCTAGTCC TGACCTTAATGATGCAGTAAGCAGTCTTCGTTACCAATCCCA
配列番号 13	発現された アミノ酸	<u>MRGSHHHHHHENLYFQSGQEYEDEERLGEDEYYQVVYYYYTVTPSYDDFSADFTIDYSIFESEDRLNRLDKDITEAIETTISLETARADHPKPVTVKPVTTEPSPDLNDAVSSLRSPIP</u>
配列番号 8	精製された アミノ酸	<u>SGQEYEDEERLGEDEYYQVVYYYYTVTPSYDDFSADFTIDYSIFESEDRLNRLDKDITEAIETTISLETARADHPKPVTVKPVTTEPSPDLNDAVSSLRSPIP</u>
構築物 6: MG-hsC1orf54 (aa17-131)-GSS-Avi-His6		
配列番号 23	DNA	ATGGGTCAAGAATATGAAGATGAAGAACGATTAGGTGAAGATG AATATTATCAAGTAGTTTATTACTATACTGTAACACCAAGTTATG ACGATTTTAGTGCTGATTTTACAATTGATTATTCAATTTTTGAATC AGAGGATCGATTAAACCGTTTAGATAAAGATATTACAGAGGCAA TTGAAACAACAATTAGTCTGGAAACAGCACGTGCTGATCATCCA AAGCCAGTAACAGTTAAGCCAGTTACAACAGAACCTAGTCCCTGA CCTTAATGATGCAGTAAGCAGTCTTCGTTACCAATCCCACTTCT ACTGTCATGTGCATTTGTTCAAGTTGGTATGTATTTTATGGGTAG TTCAGGTTTGAATGATATCTTTGAAGCTCAAAAATGAGTGGCA CGAGCATCATCATCATCATCAT
配列番号 14	発現された アミノ酸	<u>MGQEYEDEERLGEDEYYQVVYYYYTVTPSYDDFSADFTIDYSIFESEDRLNRLDKDITEAIETTISLETARADHPKPVTVKPVTTEPSPDLNDAVSSLRSPIPLLSCAFVQVGMVFMGSSGLNDIFEAQKIEWHEHHHHHH</u>

10

20

30

40

【表4】

配列番号9	精製された アミノ酸	<u>GQEYEDEERLGEDEYYQVVYYTVPSTYDDFSADFTIDYSIFESEDR</u> <u>LNRLDKDITEAIETTISLETARADHPKPVTVKPVTTTEPSPDLNDAVSS</u> <u>LRSPIPLLLSCAFVQVGMFYM</u> <u>GSSGLNDIFEAQKIEWHEHHHHHH</u>	
構築物 7: MS-hsC1orf54 (aa17-131)			
配列番号20	DNA	ATGAGTCAAGAATATGAAGATGAAGAACGTTTAGGTGAAGATGA ATATTATCAGGTTGTTTACTACTACACTGTAACCTCCAAGCTATGA CGACTTCAGTGCTGACTTCACCATCGACTACAGCATTTTTGAGTC AGAAGATCGTTTAAACCGTCTTGACAAAGACATCACCGAAGCAA TCGAAACCACCATTTCCCTGGAAACAGCTCGTGCTGATCACCCG AAACCAGTAACCGTTAAACCGGTGACTACTGAACCGTCTCCGGA CCTGAACGACGCTGTGTCTTTTTCGTTCTCCGATTCTCTGCTG CTGTCCTGTGCATTCGTTTCAGGTTGGCATGTACTTCATG	10
配列番号11	発現された アミノ酸	<u>MSQEYEDEERLGEDEYYQVVYYTVPSTYDDFSADFTIDYSIFESEDR</u> <u>RLNRLDKDITEAIETTISLETARADHPKPVTVKPVTTTEPSPDLNDAVS</u> <u>SLRSPIPLLLSCAFVQVGMFYM</u>	20
配列番号6	精製された アミノ酸	<u>SQEYEDEERLGEDEYYQVVYYTVPSTYDDFSADFTIDYSIFESEDR</u> <u>LNRLDKDITEAIETTISLETARADHPKPVTVKPVTTTEPSPDLNDAVSS</u> <u>LRSPIPLLLSCAFVQVGMFYM</u>	
マウス C1Orf54 (mC1orf54)			
配列番号24	アミノ酸	MDVLFIALLVAPLILGQEYDHEEQLEEGDYQVAYYYTVPSTYDDFSADFTIDYSIFESEDR DFSVNFTVDYSVFESEDRLNRLNKEVTTTEAVETTASSYSLHTELM PQNPVTTKPVTTTEPVTTEPVTTEPQSPNQNDAMSTLQSPVSCFLWT LLQGGVHFM	30
構築物 1: MRGS-His6-ENLYFQS-G-mC1orf54 (aa17-148)			
配列番号29	DNA	ATGCGTGGTAGCCATCATCATCACCATGAAAATCTGTATTTT CAGAGCGGCAAGAATATGATCACGAAGAACAGCTGGAAGAGG GTGATTATTATCAGGTTGCCTATTATTATTATACCGTGACCCCGA ACTATGATGATTTTAGCGTGAATTTACCGTGGACTATAGCGTTT TTGAAAGCGAAGATCGTCTGAATCGCCTGAATAAAGAAGTTACC ACCACCGAAGCAGTTGAAACCACCGCCAGCAGCTATAGCCTGCA TACCGAACTGATGGACCCGCAGAATCCGGTGACCACCAAACCGG TTACAACCGAACCTGTTACCACGGAACCGGTGACGACAGAACCG CAGAGCCCGAATCAGAATGATGCAATGAGCACCTGCAGAGTCC GGTTAGCTGTTTCTGCTGTGGACACTGCTGCAAGGTGGTGTTC TTTTATG	40

【表5】

配列番号 27	発現された アミノ酸	<u>MRGSHHHHHHENLYFQSGQEYDHEEQLEEGDYYQVAYYYYTVT</u> <u>PNYDDFSVNFTVDYSVFE</u> <u>SEDRLNRLNKEVTTTEAVETTASSYSLHTE</u> <u>LMDPQNPNVTTKPVTTTEPVTTEPQSPNQNDAMSTLQSPVSCFL</u> <u>LWTLLQGGVHFM</u>	
配列番号 25	精製された アミノ酸	<u>SGQEYDHEEQLEEGDYYQVAYYYYTVT</u> <u>PNYDDFSVNFTVDYSVFE</u> <u>SEDRLNRLNKEVTTTEAVETTASSYSLHTE</u> <u>LMDPQNPNVTTKPVTTTEP</u> <u>VTTEPVTTEPQSPNQNDAMSTLQSPVSCFL</u> <u>LWTLLQGGVHFM</u>	10
構築物 2: <u>MG-mC1orf54 (aa17-148)-GSS-Avi-His6</u>			
配列番号 30	DNA	ATGGGTCAAGAATATGATCACGAAGAACAGCTGGAAGAGGGTG ATTATTATCAGGTTGCCTATTATTATACCGTGACCCCGAACT ATGATGATTTTAGCGTGAATTTACCGTGACTATAGCGTTTTTG AAAGCGAAGATCGTCTGAATCGCCTGAATAAAGAAGTTACCACC ACCGAAGCAGTTGAAACCACCGCCAGCAGCTATAGCCTGCATAC CGAACTGATGGACCCGAGAATCCGGTGACCACCAAACCGGTTA CAACCGAACCTGTTACCACGGAACCGGTGACGACAGAACCGCAG AGCCCGAATCAGAATGATGCAATGAGCACCTGCAGAGTCCGGT TAGCTGTTTTCTGCTGTGGACTGCTGCAAGGTGGTGTTCATTT TATGGGATCCTCTGGCCTGAACGACATCTTCGAAGCCAGAAAA TCGAGTGGCACGAGCATCATCATCATCAT	20
配列番号 28	発現された アミノ酸	<u>MGQEYDHEEQLEEGDYYQVAYYYYTVT</u> <u>PNYDDFSVNFTVDYSVFE</u> <u>SEDRLNRLNKEVTTTEAVETTASSYSLHTE</u> <u>LMDPQNPNVTTKPVTTTEP</u> <u>VTTEPVTTEPQSPNQNDAMSTLQSPVSCFL</u> <u>LWTLLQGGVHFM</u> <u>GSSGLNDIFEAQKIEWHEHHHHHH</u>	30
配列番号 26	精製された アミノ酸	<u>GQEYDHEEQLEEGDYYQVAYYYYTVT</u> <u>PNYDDFSVNFTVDYSVFE</u> <u>SEDRLNRLNKEVTTTEAVETTASSYSLHTE</u> <u>LMDPQNPNVTTKPVTTTEP</u> <u>VTTEPVTTEPQSPNQNDAMSTLQSPVSCFL</u> <u>LWTLLQGGVHFM</u> <u>GSSGLNDIFEAQKIEWHEHHHHHH</u>	
野生型ウマC1orf54 ホモログ			
配列番号 31	アミノ酸	<i>MNIFVAILAVPLILGQEYEDEEVLEEDDYYQVVYYYTVT</i> <i>PNYDDFGVNFTVDYSLF</i> <i>SEDRLNRDKEVMEPAETTISRETEHADHQKPVTLK</i> <i>PVTMEP</i>	40

【表 6】

野生型イヌClorf54 ホモログ		
配列番号 32	アミノ酸	MDVLFVAILAVPLILGQEYEDGEGLEEDDYQVVYYTVPNYDDFG ANFTVDYSMFESDRLNRLDKEVREAAETTISHETEGADPQKPETLK PMTVEPILFIHERHRERERQRQKQAPHKEPDAHKEPDAGLNPGSLDQ GPSRRQTLNR
野生型ウシClorf54 ホモログ		
配列番号 33	アミノ酸	MDVLFVAILAVPLILGQEYEDGEELEDEYYQVIYYTITPSYDEFGV NFTVDYSMFESENTVNRLDEKVEASETTISYETDRADHQKPVIEKPV TMEPQSPDLNDAVSGLQSPGPLLLSWALIQGVMYFL

10

【0143】

本発明を行うためのモード

本発明は、ほんの一例として説明してきており、本発明の範囲及び精神内にとどまる一方で、修正を行い得ることが理解される。

【実施例】

20

【0144】

実施例 1

C1orf54 発現構築物

(1) 発現構築物の設計

組換え発現のためのヒト及びマウスC1orf54構築物は、パブリックドメインにおいて利用可能な情報に基づいて設計した(Zerbino et al. (2018) Nucleic Acids Research, 46(D1): D754 - D761; The UniProt Consortium (2017), Nucleic Acids Research, 45(D1): D158 - D169)。

【0145】

30

推定上のN末端シグナルペプチド(残基M1~G16)が省略された完全長成熟マウスC1orf54残基Q17~M148(UniProt ID Q8R2K8)を、TEV切断部位を含有するN末端MRGSHHHHHENLYFQSGタグ(配列番号34)に(構築物1、構築物情報について表1を参照されたい)、又はN末端MG及びC末端GSSGLNDIFEAQKIEWHEHHHHHHタグ(配列番号35)の間に(構築物2)融合した。

【0146】

推定上のN末端シグナルペプチド(残基M1~G16)が省略された完全長成熟ヒトC1orf54残基Q17~M131(UniProt ID Q8WWF1、配列番号2)を、TEV切断部位を含有するN末端MRGSHHHHHHHENLYFQSGタグ(配列番号34)に(構築物3)、又はN末端MG及びC末端GSSGLNDIFEAQKIEWHEHHHHHHHHタグ(配列番号35)の間に(構築物6)、又はN末端MSペプチドのみに融合した。

40

【0147】

構築物4及び5の設計のために、ヒトC1orf54を、他の種からの相同配列と整理させた(図1)。配列は、それぞれ、2015年8月18日に、www.uniprot.org(The UniProt Consortium (2017), Nucleic Acids Research, 45(D1): D158 - D169)又はwww.ensembl.org(Zerbino et al. (2018) Nucleic Acids Research, 46(D1): D754 - D761)から取得し、Ja

50

l v i e w (W a t e r h o u s e e t a l . (2 0 0 9) B i o i n f o r m a t i c s , 2 5 (9) : 1 1 8 9 - 1 1 9 1) においてMUSCLEアルゴリズム (E d g a r (2 0 0 4) N u c l e i c A c i d s R e s e a r c h , 3 2 (5) : 1 7 9 2 - 1 7 9 7) を使用して整列させた。構築物4は、高度に保存され負に帯電しているN末端領域を欠いている残基D67~M131 (配列番号4)を含む一方、構築物5は、C末端疎水性領域を欠いている残基Q17~P116 (配列番号3)を含む。構築物4及び5の両方を、TEV切断部位を含有するN末端MRGSHHHHHENLYFQSGタグ (配列番号34) に融合した。

【0148】

(2) 構築物のクローニング

大腸菌 (E . c o l i) における発現のための最適化を含めたマウスC1Orf54のDNA配列は、GeneArt (ThermoFisher) から購入した。MRGS - His6 - TEV - G - mC1Orf54 (a a 1 7 - 1 4 8) (構築物1) を生じさせるために、挿入断片は、フォワードプライマー：

【化1】

5'-GAAGGAGATATACATATGCGTGGTAGCCATCATCATCACCATGAAAATCTGTAT
TTTCAGAGCGGCCAAGAATATGATCACGAAGAAC-3' (配列番号36)

10

20

及びリバースプライマー：

【化2】

5'-GTGGTGGTGGTGCTCGAGTGCGGCCGCTTATCACATAAAATGAA
CACACCTTGC-3' (配列番号37)

を使用して、N末端においてMRGS - His6 - TEV - Gを加え、PCRによってGeneArt構築物から増幅した。

【0149】

PCR産物をNdeI / NotIによって消化し、同じ制限酵素で処理したpET26b (+) 発現ベクター中に連結した。構築物2について、MG - mC1Orf54 (a a 1 7 - 1 4 8) 挿入断片を、フォワードプライマー：

【化3】

5'-GTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGGGTCAAGAATATGATCACGAA-3'
(配列番号38)

30

及びリバースプライマー：

【化4】

5'-GGCTTCGAAGATGTCGTTTCAGGCCAGAGGATCCCATAAAATGAACACCACC-3'
(配列番号39)

40

を使用してPCRによって同じ鋳型から増幅した。

【0150】

DNAフラグメントを、In-Fusion技術によって、既にGSS - Avi - His6を含有し (且つ適正な制限酵素NdeI / BamHIで処置した) pET26b (+)

50

) 骨格中にクローニングした。

【0151】

ヒトC1Orf54の場合、成熟部分のDNA配列は、インハウスアルゴリズムを使用して大腸菌(E.coli)における発現のために最適化し、その後、GeneArtにおいて5'末端におけるNdeI制限部位、及び2個の終止コドン、及び3'末端におけるNotI制限部位を含む構築物6の遺伝子合成物(MG-hsC1Orf(aa17-131)-GSS-Avi-His6)を購入した。NdeI/NotIで処理したpET26b(+)発現ベクター中へのそれに続く連結のために、DNAフラグメントをNdeI/NotIによって消化させた。構築物3~5及び7は、表2において列挙したプライマーを使用して従前の構築物6からPCRによって増幅した。4つの挿入断片全てをNdeI/NotIで消化し、構築物#6を生じさせるために使用された同じ骨格中にクローニングした。

【0152】

【表 7】

表2: 構築物3~5 及び7 を生じさせるために使用されるPCR プライマー(for=フォワードプライマー、rev=リバープライマー)

構築物3 及び5 フォワード プライマー	GAAGGAGATATACATATGCGAGGTTACATCATCATCATCATG AAAATTTATATTTTCAATCAGGTCAAGAATATGAAGATGAAG (配列 番号 40)	10
構築物3 及び4 リバー プライマー	GTGCTCGACGATATCGCGGCCGCTTATCACATAAAATACATACC (配列番号 41)	
構築物5 リバー プライマー	GTGGTGCTCGACGATATCGCGGCCGCTTATCATGGGATTGGTGAAC G (配列番号 42)	20
構築物4 フォワード プライマー	CTTTAAGAAGGAGATATACATATGCGAGGTTACATCATCATCATC ATCATGAAAATTTATATTTTCAATCAGGTGATAAAGATATTACAGA GGC (配列番号 43)	
構築物7 フォワード プライマー	CTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGTCAAGAATATGAAG (配列番号 44)	30
構築物7 リバー プライマー	GCTCGACGATATCGCGGCCGCTTATCACATGAAGTACATGCC (配列 番号 45)	40

【0153】

いずれの場合にも、ライゲーション産物を、コンピテントなDH5 大腸菌 (E. coli) 細胞中にトランスフェクトさせた。LB/カナマイシンプレート上で成長させたいくつかのコロニーを選択し、プラスミドDNAの調製を行った。陽性クローンを配列によって後で同定した。

【0154】

(3) 構築物の発現

発現プラスミドを、大腸菌 (Escherichia coli) 菌株BL21-Gold (DE3) (Agilent) 中に形質転換した。全ての構築物について、1リットルのTerrific Broth培地を一晩前培養物で播種した。DASGIPバイオ

リアクターシステム（エッペンドルフ）において発酵を行った。pH 7.01のトリガーポイントに達するまで、培養物を37℃にて成長させた。このポイントにおいて、1 mMのIPTGを添加することによって発現を誘発した。構築物1、2、4、及び7によって、培養を37℃にて5時間続けた。構築物3、5、及び6について、温度を20℃に低下させ、培養を14時間続けた。培養相の終わりに、培養物を遠心分離によって収集した。細胞ペレットを-20℃にて貯蔵し、さらなる下流の処理のために精製に供した。

【0155】

（4）組換えタンパク質の単離

大腸菌（*Escherichia coli*）における構築物1、2、3、4、6、及び7の組換え発現は、封入体の形成をもたらす。これらの構築物のいずれかを含有する大腸菌（*E. coli*）細胞を、1 gの湿った細胞ペレットについて10 mlの緩衝液を使用して0.1 MのTris/HCl、0.1 MのNaCl、1 mMのEDTA、3 mMのL-メチオニン、pH 7.0に懸濁させ、100 ml毎に1 cOmplete（商標）プロテアーゼ阻害剤カクテル錠剤（Roche）を補充した。0.1 mg/mlのニワトリ卵白リゾチームを加え、懸濁液を4℃にて穏やかに攪拌した。30分後、10 mMのMgCl₂及び10 U/mlのBenzonase（登録商標）（Merck）を加え、懸濁液を4℃にてさらに30分間攪拌した。APV2000実験室ホモジナイザー（SPX Flow）を使用して、細胞を高圧（800バール及び周囲温度にて2代継代）によって溶解した。2分の1容の60 mMのEDTA、1.5 MのNaCl、5%（v/v）Triton X-100、pH 7.0をライセートに加え、4℃にて60分間穏やかに攪拌した。封入体を遠心分離によって30分間10000×g及び4℃にて沈降させた。ペレットを1容の50 mMのTris/HCl、20 mMのEDTA、0.6 MのNaCl、3 mMのL-メチオニン、pH 7.0で1回、及び1容の50 mMのTris/HCl、0.3 MのNaCl、pH 7.0で3回、4℃にて洗浄し、各洗浄ステップの後で10000×g及び4℃にて30分間遠心した。封入体ペレットを、-20℃にて貯蔵し、その後、さらに処理した。精製のために、1 gのIBを、5 mMのDTTを有する、NaOHでpH 8.0に調節した20 mlの6 MのGdmCl、10 mMのTris、100 mMのリン酸二水素塩（緩衝液A1）に一晩周囲温度にて可溶化した。このように得られた変性タンパク溶液を遠心分離によって10000×g及び周囲温度にて30分間浄化し、その後、無菌濾過した。溶液を、7℃にて5 mMのDTTを含む緩衝液A1で平衡化した5 mlのHisTrap excel（商標）IMACカラム（GE Healthcare）上に充填した。カラムを、100 mlの10 mMのTris/HCl、30%イソプロパノール、pH 8.0、それに続いて100 mlの緩衝液A1で洗浄した。結合したタンパク質を、HClでpH 4.5に調節した6 MのGdmCl、10 mMのTris、100 mMのリン酸二水素塩（緩衝液A2）と共に単一のステップで溶出させた。1.8 mlの画分を集め、SDS-PAGEによって分析した。目的のタンパク質を含有する画分をプールした。変性タンパク質のリフォールディングのために、次いで、プールを1:1比で5 mMのDTTを補充した2 MのL-Arg-HClと混合し、1 mMのDTTを含有するPBS、pH 7.3に対して一晩透析した。透析した試料を、PEG35,000を使用して所望の濃度に濃縮し（Brooks et al. (1962) Trans, 2(4): 216-264）、無菌濾過した。C末端タグを含有する構築物2及び6を、ゲル濾過によって、又は変性IMACの直後に、下記の酵素的に切断された構築物について記載したようなRP-HPLCによってポリッシュした。

【0156】

構築物5を、この構築物を含有する大腸菌（*E. coli*）細胞のサイトゾルに可溶性発現させ、これを、50 ml毎に1 cOmplete（商標）プロテアーゼ阻害剤カクテル錠剤（Roche）を補充し、NaOHでpH 8に調節した、50 mMのリン酸二水素塩、500 mMのNaCl、20 mMのイミダゾール（緩衝液A2）、30 U/mlのBenzonase（登録商標）（Merck）、及び10 mMのMgCl₂に懸濁させた（1 gの湿った細胞ペレットについて10 mlの緩衝液を使用）。APV2000実験室

10

20

30

40

50

ホモジナイザー (SPX Flow) を使用して、細胞を高圧 (800 バール及び周囲温度にて2代継代) によって溶解した。ライセートを $10000 \times g$ 及び4にて30分間遠心した。上清を濾過し (0.22 μm)、緩衝液 A2 で平衡化した 5 ml の His Trap excel (商標) IMAC カラム (GE Healthcare) 上に一晚充填した。A280 ベースラインシグナルへと洗浄した後、10 カラム容量に亘り緩衝液 A2 中の 20 ~ 500 mM のイミダゾールの直線勾配によってタンパク質を溶出させた。1.8 ml の画分を集め、SDS-PAGE によって分析した。目的のタンパク質を含有する画分をプールし、タグの酵素的切断のために PBS、pH 7.3、1 mM の DTT に対して一晚透析した。

【0157】

構築物 1、3、4、及び5について、AcTEV (商標) プロテアーゼ (Thermo Fisher Scientific) をそれぞれの試料 (200 U/mg) に加え、それに続く30での3時間のインキュベーションによってN末端タグを酵素的に切断した。酵素的切断はMSによって確認した。残存する切断されていないタンパク質及びプロテアーゼからの切断されたものの分離を促進するために、試料を 5 mM の DTT を有する緩衝液 A1 に対して透析した。透析したタンパク質を濾過し、5 mM の DTT を含む緩衝液 A1 で平衡化した 5 mL の His Trap excel (商標) IMAC カラム (GE Healthcare) 上に充填し、フロースルーを集めた。切断されたタンパク質を含有する画分をプールし、PBS、pH 7.3、1 mM の DTT に対して一晚透析し、それに続くPEG 35,000 を使用した濃縮を行うか、又は 8 ml / 分及び50にて25 mM の炭酸水素アンモニウムで平衡化されたPOROS (商標) 20R1 (Thermo Fisher Scientific)、 $95 \times 15 \text{ mm}$ (17 ml) 若しくは $250 \times 20 \text{ mm}$ (78 ml) の RP-HPLC カラム上に充填し、平衡化緩衝液によってA280 ベースラインシグナルへと洗浄した後、20 カラム容量中の 0 ~ 75 % エタノールの直線勾配又は 75 % エタノールへのステップ勾配を伴って、8 ml / 分及び50にて溶出させた。目的のタンパク質を含有する画分をプールし、PBS、pH 7.3 に対して4度にて24時間透析し、最終的に無菌濾過した。

【0158】

構築物 7 の封入体を、0.2 M の亜硫酸ナトリウムを有する 6 M の尿素、20 mM の Tris/HCl、5 mM の EDTA、pH 8 (緩衝液 A3) に可溶化した。溶液を $10,000 \times g$ にて30分間遠心し、無菌濾過し、上記のような RP-HPLC によって精製し、PBS に対して透析し、無菌濾過した。

【0159】

実施例 2

筋肉 C1orf54 mRNA は、げっ歯類において運動によって増加する

方法：7 ~ 8 週齢の雄性 C57BL/6 マウスは、Charles River Laboratories から購入した。マウスを研究施設に7日間順応させた。それらを 25にて12:12時間の明暗サイクルと共に収容し、15.8 MJ/kg のエネルギー含量を伴う 18.2 % のタンパク質及び 3.0 % の脂肪を含有する標準的な実験室用食餌を与えた (Nafag、製品 # 3890、Kliba、Basel、Switzerland) 。食物及び水は自由に与えた。

【0160】

ほとんど体を動かさない対照動物は2匹の群で収容した。運動に供した動物を単独で収容し、回し車 (マウスのための薄型のワイヤレス回し車、Med Associates Inc、製品 # : ENV-047) に7日間連続的にアクセスさせた。8日目に、回し車へのアクセスを有する群からのマウスを、さらにトレッドミル (Panlab、Harvard Apparatus) 上の1回の運動に25分間供し、次いで、特定の時点、すなわち、トレッドミル運動の直後、30分後、60分後若しくは180分後において CO_2 で安楽死させた。ほとんど体を動かさない対照群からの動物を同じ日に安楽死させた。四頭筋筋肉を迅速に解剖し、液体窒素中で急速凍結した。標準的な手順 (TRIZOL

10

20

30

40

50

試薬 (Invitrogen) 及び QIACube 技術 (Qiagen) を使用して、総 RNA を四頭筋筋肉から抽出した。全ての試料を DNase で処理し、RNA の質及び量を 바이오アナライザー (Bioanalyzer 2100 Agilent) で測定した。リボソーム RNA 枯渇プロトコルを使用してライブラリーを生じさせた。Illumina HiSeq 2500 鎖対末端配列決定を使用して配列決定を行った。マウス参照ゲノムバージョン mm10 上に star を使用してリードをマッピングし、遺伝子レベルパラメーターを使用したフィーチャカウントを使用してカウントを生じさせた。報告したカウントは FPKM (フラグメント / Kb / 100 万) である。

【0161】

結果：本発明者らは、自発的なホイールランニング及び強制的トレッドミルランニングからなる同時の運動パラダイムを適用して、分泌されることが予想される新規な運動が誘発する因子を発見し、今までのところ特性決定されていない因子として C1orf54 を同定した：C1orf54 mRNA レベルは、ほとんど体を動かさないマウスと比較した、運動したマウスの四頭筋筋肉において増加する。実際に、上昇したレベルの C1orf54 mRNA が、運動の直後に四頭筋筋肉において検出され、少なくとも 3 時間持続し (図 2)、これは、運動が筋肉における C1orf54 mRNA の産生を刺激することを示す。

10

【0162】

実施例 3

筋肉 C1ORF54 mRNA は、運動に続いてヒトにおいて増加する

方法：様々なタイプの運動を経験しているヒトからの外側広筋バイオプシーからのトランスクリプトミクスデータを伴う公的に利用可能なデータセット (GSE97084) (Robinson et al. (2017) Cell Metab 25, 581-592) を、C1ORF54 の発現レベルについて再分析した。報告したカウントは、FPKM (フラグメント / Kb / 100 万) である。

20

【0163】

結果：マウスにおける C1orf54 mRNA 発現に対する運動の効果を考えると、公的に利用可能なデータセットを分析して、運動がヒトにおいて同様の様式で C1ORF54 をレギュレートするかどうかを評価した。参加者が異なる運動パラダイムを経験するヒトの運動研究において (Robinson et al. (2017) Cell Metab 25, 581-592)、外側広筋における C1ORF54 mRNA レベルを、各研究の若年の参加者について運動前及び後に分析した。データは、運動がヒト骨格筋における C1ORF54 のレベルを増加させたことを示す (図 3)。C1ORF54 mRNA の増加は、(Robinson et al. (2017) Cell Metab 25, 581-592) によって記載されているように、運動レジメンのタイプ (激しいエアロビクスインターバルトレーニング (HIIT)、レジスタンストレーニング (RT)、及び複合 (CT) 運動トレーニング) と無関係であり、したがって、運動に対する一般応答を反映する。

30

【0164】

実施例 4

C1orf54 は、Myod1 の転写を *in vivo* でレギュレートする

方法：7~8 週齢の雄性 C57BL/6 マウスは、Charles River Laboratories から購入した。マウスを研究施設に 7 日間順応させた。それらを 25 にて 12:12 時間の明暗サイクルを伴って収容し、15.8 MJ/kg のエネルギー含量を伴う 18.2% のタンパク質及び 3.0% の脂肪を含有する標準的な実験室用食餌を与えた (Nafag、製品 # 3890、Kliba、Basel、Switzerland)。食物及び水は自由に与えた。

40

【0165】

マウスは、ピヒクル (PBS)、又はピヒクル中で配合した配列番号 25 のアミノ酸配列を有する単離ポリペプチドの単一の腹腔内注射を受けた。注射の 60 分後、マウスを C

50

O₂で安楽死させ、腓腹筋を切除し、液体窒素中で急速凍結した。メーカーの説明書に従ってTRIzol試薬(Invitrogen)を使用して総RNAを腓腹筋から抽出した。大容量逆転写キット(Applied Biosystems)を使用して、1μgの総RNA上のランダム6量体によって逆転写を行った。リアルタイムPCRは、筋分化1(Myod1、Mm00440387__m1、Applied Biosystems)並びに2つのハウスキーピング遺伝子(Tbp、Mm00446971__m1、Applied Biosystems及びHprt、Mm03024075__m2、Applied Biosystems)のための特異的TaqManプローブを使用して、C1000サーマルサイクラー(CFX384Real-Timeシステム、Bio-Rad)上で384ウェルプレートにおいて2連で行った。自動設定を適用して、CTを決定した。2^{-CT}を使用した比較方法を使用して、相対的発現を決定した。2つのハウスキーピング遺伝子を正規化のために使用した(Tbp、Mm00446971__m1、Applied Biosystems及びHprt、Mm03024075__m2、Applied Biosystems)。全ての結果は、ビヒクルを超える倍率変化として表す。

10

【0166】

1元配置ANOVA、それに続いてフィッシャー最小有意差(LSD)を使用して統計解析を行った。確率値が<0.05であったとき、差異は有意であると考えた。GraphPad Prismバージョン7.03(GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA)によって統計的分析を行った。

20

【0167】

結果：C1orf54は、ビヒクルと比較して、0.5mg/kg又は1mg/kgの配列番号25のアミノ酸配列を有する単離ポリペプチドの単一の腹腔内注射の60分後に、腓腹筋におけるMyod1のmRNAレベルを低減させる(図4)。MyoD1は、主に衛星細胞を分化へと推進することによって、衛星細胞の運命を決定する重要な転写因子である。衛星細胞は、筋肉の成長、維持、修復及び再生に関与している(Wang and Rudnicki(2011)Nat Rev Mol Cell Biol 13, 127-133)。MyoD1を欠いている筋肉前駆細胞は、より幹細胞様表現型を取り戻し、傷害された筋肉中への注射の後、かなりより高い効率性を伴って生着し、野生型細胞と比較して生存の増加を示す。さらに、MyoD1陰性筋芽細胞由来の衛星細胞は、生着の後で筋肉線維の基底膜の下で検出することができ、MyoD1陰性筋芽細胞の自己再生特性を示す(Asakura et al.(2007)Proc Natl Acad Sci USA 104, 16552-16557)。したがって、C1orf54の活性は、MyoD1を下方制御し、それによって、幹細胞様表現型を促進することによって、筋分化に影響を与える。したがって、C1orf54は、筋機能改善活性を含む。

30

【0168】

実施例5

C1orf54は、ヒト筋細胞においてin vitroでのMYOD1の転写を阻害する

方法：一次ヒト筋細胞(hSkMDC、ロットP401061-51M、Cook Myosite, Pittsburgh, PA, USA)を解凍し、MyoTonic無血清成長培地(COOK MK-2222)、成長サプリメント(COOK MK-2288)、20%ウシ胎仔血清(Gibco、16000-044、ロット1233705)、50μg/mLのゲンタマイシン(Gibco、15710-049)及び10μg/mLのインスリン(Amimed、5-79F00-G、ロットK11988P)を含有する成長培地(GM)中で2個のT175組織培養フラスコにおいて播種した。37/5%CO₂にて5日の成長の後、細胞をDPBS(Gibco14190-144)ですすぎ、Accutase(Gibco A11105-01)で剥離し、nucleocounter(chemometec)を使用して計数した。0.2mLのGM中の40000個の細胞を、ウェル毎に0.5mLのゼラチン(EmbryoMax0.1%ゼラチ

40

50

ン溶液、Millipore ES-006-B)をコーティングした24ウェルプレート中にウェル毎に室温(RT)にて30分間播種した。翌日、細胞を、37℃にて6時間、125ng/mL、250ng/mL、500ng/mL、1000ng/mLの組換えタグ非含有ヒトC1orf54タンパク質aa17-131(配列番号2; Mybiosource、MBS1284901ロット03095)、溶媒対照(33μMのTris-HCl、3.3μMのEDTA及び0.07%グリセロール)で処理するか、又は処理しなかった。それに続いて、細胞を溶解し、メーカーの説明書(Zymoresearch)に従ってDirect-zolキットを使用して総RNAを抽出した。cDNAを大容量cDNAアーカイブキット(Applied Biosystems 4368813)を使用して合成し、TaqMan遺伝子発現マスターミックス(Applied Biosystems #4369016)、TaqManアッセイ(Hs00159528_m1、Applied Biosystems)及びABI PRISM7000配列検出システム(Applied Biosystems)を使用した定量的PCRによってMYOD1遺伝子発現を決定した。2^{-C_T}を使用した比較方法を使用して、相対的発現を決定した。遺伝子発現を3つのハウスキーピング遺伝子GAPDH(4310884E、Applied Biosystems)、TBP(Hs00427620_m1、Applied Biosystems)及びHPRT(Hs01003268_g1、Applied Biosystems)に正規化した。

10

【0169】

結果：組換えヒトC1orf54タンパク質(aa17-131、配列番号2)は、6時間の処置の後、一次ヒト筋肉前駆細胞において用量依存的様式でMYOD1遺伝子発現を阻害した(図5)。使用された最も高い用量(1000ng/mL)は、MYOD1遺伝子発現において65.6%の低減を生じさせた(図5)。後期筋原性転写因子であるマイオジェニン、C1orf54タンパク質によって有意にレギュレートされなかった(データは示さず)。MyoD1を欠いている筋細胞は、増殖の増加を示す(Sabourin et al.(1999) J Cell Biol 144, 631-643)。したがって、これらのデータは、筋肉前駆細胞の増殖を促進する一方で、C1orf54が筋分化を防止することを示す。

20

【0170】

実施例6

C1orf54は、in vivoで筋力を増加させる

方法：12週齢の雄性C57BL/6マウスは、Charles River Laboratoriesから購入した。マウスを研究施設に7日間順応させ、25℃にて12:12時間の明暗サイクルを伴って収容し、15.8MJ/kgのエネルギー含量を伴い18.2%のタンパク質及び3.0%の脂肪を含有する標準的な実験室用食餌を与えた(Nafag、製品#3890、Kliba、Basel、Switzerland)。食物及び水は自由に与えた。

30

【0171】

順応に続いて、マウスを体重によって無作為化し、ビヒクル(PBS)、又はビヒクル中で配合した1mg/kgの配列番号25のアミノ酸配列を有する単離ポリペプチドの腹腔内注射によって3日毎に処置した。各マウスは、全部で3回の注射を受けた(1日目、4日目及び7日目、ここで、1日目は、動物が注射を受ける最初の日と定義する)。9日目に、誘発された筋力を非侵襲的にアセスメントした。この目的のために、動物を麻酔し、脚を剪毛し、経皮電極を介した後脚の電気刺激によって筋収縮を誘発した。電極を四頭筋及び足に固定した。力変換器(KD45.5N)と接続した自家製ペダル上で力を記録し、刺激による足の圧力を記録した。10~120Hzの範囲の頻度を、刺激装置(刺激装置ML180、ADInstruments)を介して逐次的に適用し、強縮力を各頻度において記録した(PowerLab、ADInstruments)。

40

【0172】

複数の対応のないt検定比較を使用して、統計解析を行った。確率値が<0.05であ

50

ったとき、差異は有意であると見なした。全ての統計的分析は、GraphPad Prismバージョン7.03 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA) によって行った。

【0173】

結果：

10 ~ 70 Hz の範囲の低い刺激頻度で (最大下の力発生)、後肢の誘発された力は、ビヒクル及び 1 mg / kg の C1orf54 (配列番号 25 のアミノ酸配列を有する単離ポリペプチド) で処置された動物の間で同様である (図 6 A)。対照的に、80 ~ 120 Hz の範囲のより高い刺激頻度で、最大の力発生を反映して、C1orf54 で処置したマウスは、ビヒクル処置した動物と比較して概ね 15 % 高い絶対筋力を示す。

10

【0174】

収縮力は、主にモニターされる収縮をもたらす腓腹筋の重量に対して絶対筋力を正規化することによってアセスメントされる。より高い刺激頻度における誘発された収縮力は、ビヒクル処置した動物と比較して、C1orf54 において概ね 13 % 高い (図 6 B)。これは、C1orf54 ポリペプチドの断続的な投与が筋肉強度を増加させることを示す。

【0175】

実施例 7

C1orf54 は、in vivo での Pax7 陽性衛星細胞の数を増加させる

方法：12 週齢の雄性 C57BL/6 マウスは、Charles River Laboratories から購入した。マウスを研究施設に 7 日間順応させ、25 °C にて 12 : 12 時間の明暗サイクルを伴って収容し、15.8 MJ / kg のエネルギー含量を伴う 18.2 % タンパク質及び 3.0 % 脂肪を含有する標準的な実験室用食餌を与えた (Nafag、製品 # 3890、Kliba、Basel、Switzerland)。食物及び水は自由に与えた。

20

【0176】

順応に続いて、マウスを体重によって無作為化し、ビヒクル (PBS)、又はビヒクル中で配合した 1 mg / kg の配列番号 25 のアミノ酸配列を有する単離ポリペプチドの腹腔内注射で 3 日毎に処置した。各マウスは、全部で 4 回の注射を受けた (1 日目、4 日目、7 日目及び 10 日目、ここで、1 日目は、動物が注射を受ける 1 日目と定義する)。11 日目に、動物を CO₂ で安楽死させ、腓腹筋を迅速に解剖し、OCT (Tissue-Tek) 中に包埋し、液体窒素で冷却したイソペンタン中で凍結した。

30

【0177】

凍結した筋肉を 8 µm の断面に切断し、これを室温にて約 2 時間乾燥させ、袋中に密封したプラスチックボックス中で -20 °C にて貯蔵した。染色の日に、スライドをフリーザーから取り出し、室温にて 30 分間乾燥させ、3 % パラホルムアルデヒドで 10 分間固定した。次いで、PBTX (0.2 % Triton X100 を含有する PBS) 中の Vector M.O.M ブロッキング試薬 (Vector Laboratories、カタログ番号 MKB-2213、希釈 1 / 100) 及び 10 % ヤギ血清で 30 分間切片をブロックした。衛星細胞を検出するために、切片を、ブロッキング緩衝液中で 4 °C にて Pax7 (Developmental Studies Hybridoma Bank (DSHB)) に対する一次抗体と共に一晩インキュベートした。東京工業大学の A. Kawakami によって開発された Pax7 ハイブリドーマは、NIH の NICHHD によって生じ、University of Iowa、Department of Biology、Iowa City、IA 52242 で維持された DSHB から得た。マウス抗体は Novartis においてハイブリドーマから精製したが、ニワトリ Pax7 の抗原アミノ酸 352 - 523 を検出する。PBTX による数回の洗浄の後、PBTX 中の 10 % ヤギ血清中の架橋抗体 (ラット抗マウス IgG、Serotec、カタログ番号 MCA336、希釈 1 / 500) と共に切片を室温にて 3 時間インキュベートした。試料をそれに続いて PBTX で洗浄し、蛍光標識した二次抗体 (Alexa594 ヤギ抗ラット、

40

50

In vitro、カタログ番号A11007、希釈1/200)で室温にて1時間染色した。PBTXで洗浄した後、DAPI (Invitrogen)を有するProlong Gold antifade試薬と共に試料を乗せた。Pax7及びDAPIの両方について陽性である細胞を計数した。対応のないt検定を使用して統計解析を行った。確率値が<0.05であったとき、差異は有意であると考えた。統計的分析は、GraphPad Prismバージョン7.03 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA)によって行った。

【0178】

結果：衛星細胞の数を決定するために、筋肉切片を、衛星細胞のための確立したマーカーを表すPax7で染色した (Kuang and Rudnicki (2008) Trends Mol Med 14, 82-91)。衛星細胞は、筋肉の成長、維持、修復及び再生に関与している (Wang and Rudnicki (2011) Nat Rev Mol Cell Biol 13, 127-133)。1日目、4日目、7日目及び10日目の1mg/kgのC1orf54による断続的な処置は、ビヒクル処置と比較して概ね66%だけ、腓腹筋におけるPax7陽性衛星細胞の数をかなり増加させた (図7)。C1orf54による処置に続いて増加した数の衛星細胞は、C1orf54が筋肉の成長及び骨格筋の再生能を促進することを示す。

10

【0179】

実施例8

C1orf54は、ヒト筋芽細胞の増殖をin vitroで促進する

20

方法：Cook MyoSite、Pittsburgh、PA、USAからの一次ヒト筋細胞 (hSkMDC、ロットP201076-19M)を解凍し、3個のT175組織培養フラスコにおいてMyoTonic無血清成長培地 (COOK MK-2222)、成長サプリメント (COOK MK-8888)、10%ウシ胎仔血清 superior (Millipore、S0613、ロット15H095)及び50µg/mLのゲンタマイシン (Gibco、15710-049)を含有する成長培地 (GM)中で播種した。37/5%CO₂にて2日の成長の後、細胞をDPBS (Gibco14190-144)ですすぎ、Accutase (A11105-01)で剥離し、nucleocounter (ChemoMetec)を使用して計数した。0.1mLのGM中の1000個の細胞を、ウェル毎に0.1mLのゼラチン (EmbryoMax0.1%ゼラチン溶液、Millipore ES-006-B)でコーティングされた96ウェルプレート中にウェル毎にRTにて30分間播種した。一晚のインキュベーションの後、細胞を、FBSを有さないGMと共に2.5時間インキュベートし、それに続いて、1%FBSを含有するGMへと2.5時間培地交換した。それに続いて、細胞を、1000ng/mLの組換えタグ非含有ヒトC1orf54タンパク質 aa17-131 (配列番号2; Mybiosource、MBS1284901ロット03095)、C1orf54MBS溶媒対照 (53µMのTris-HCl、5.3µMのEDTA及び0.26%グリセロール)又は1%PBS対照で処理した。コンフルエンスパーセント (%)として細胞成長を、Incucyte FL Live-Cell分析システム (Essen Bioscience, Ltd.)を使用して生細胞イメージング (ウェル毎4時間毎に2つの像)によって測定した。

30

40

【0180】

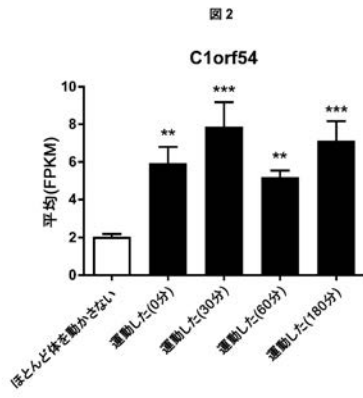
複数の対応のないt検定比較を使用して統計解析を行った。全ての統計的分析は、GraphPad Prismバージョン7.03 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA)によって行った。

【0181】

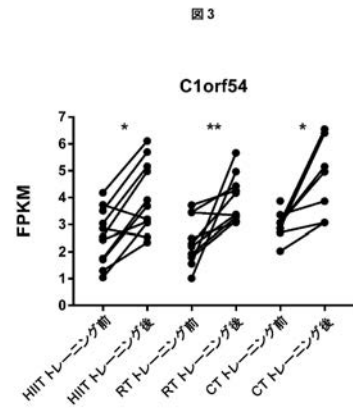
結果：組換えヒトC1orf54タンパク質 (配列番号2; aa17-131)は、C1orf54タンパク質溶媒で処理された対照細胞と比較して、処置の2日後から開始して6日目の実験の終わりまで明らかに持続的に成長を増進した (図8)。全ての条件下で細胞は連続的に成長したが、異なるスピードを伴った。これらのデータは、C1orf54

50

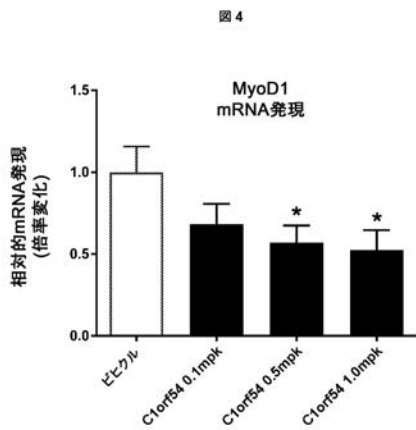
【 図 2 】



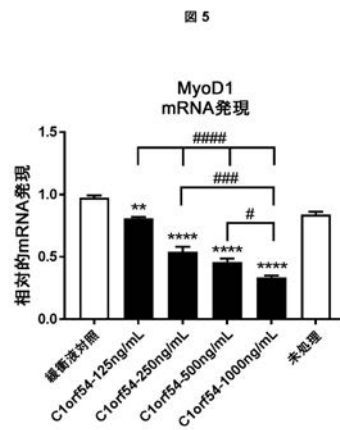
【 図 3 】



【 図 4 】

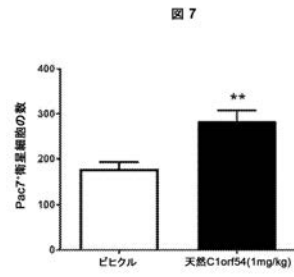
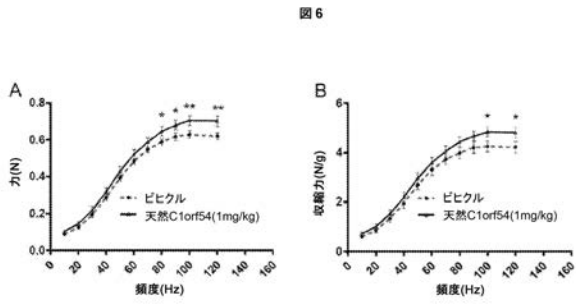


【 図 5 】

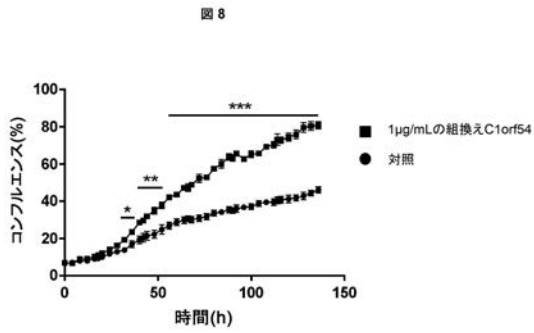


【 図 6 】

【 図 7 】



【 図 8 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/IB2019/056537

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K38/17 C07K14/47 A61P21/06 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K A61P C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, CHEM ABS Data, COMPENDEX, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 03/004532 A2 (GENEPROT INC [CH]; BOUGUELERET LYDIE [CH]; NIKNEJAD ANNE [CH]) 16 January 2003 (2003-01-16) abstract page 1, line 39 - line 40 page 16, line 26 - page 17, line 23 page 31, line 27 - page 32, line 29 claim 22; sequence 2 -----	1-17
X	Silberberg, Amanda Beth; Waddell, Thomas K.: "Evaluating the Impact of Novel Bone Marrow Cell-secreted Factors, C19orf10 and C1orf54, on Immunomodulation, Lung Cell Proliferation, and Resistance to Injury (Masters thesis)", 2017, Proquest LLC, Ann Arbor Michigan, XP002788439, ISBN: 978-1-369-68175-8 first paragraph of Section 5.2 -----	1-3, 6-10, 12-17
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 12 November 2019		Date of mailing of the international search report 25/11/2019
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Pilling, Stephen

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB2019/056537

Box No. 1 Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. forming part of the international application as filed:
- in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- on paper or in the form of an image file.
- b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
- in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
- on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2019/056537

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03004532	A2	16-01-2003	NONE

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I		テーマコード (参考)
A 6 1 P 3/00 (2006.01)	A 6 1 P	3/00	
A 6 1 K 38/17 (2006.01)	A 6 1 K	38/17	
C 1 2 N 15/19 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 0 5
	C 1 2 N	15/19	

(81) 指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T R I T O N

(72) 発明者 ホフリング, ホルガー

スイス国 4 0 0 2 バーゼル, ポストファッハ, ノバルティス ファーマ アーゲー内

(72) 発明者 ケラー, ハンスヨルグ

スイス国 4 0 0 2 バーゼル, ポストファッハ, ノバルティス ファーマ アーゲー内

(72) 発明者 ルミール, ソフィー

スイス国 4 0 0 2 バーゼル, ポストファッハ, ノバルティス ファーマ アーゲー内

(72) 発明者 サマーマター, サージ

スイス国 4 0 0 2 バーゼル, ポストファッハ, ノバルティス ファーマ アーゲー内

Fターム(参考) 4C084 AA02 AA07 BA01 BA08 BA20 BA23 CA18 CA53 MA55 MA65
 MA66 NA14 ZA361 ZA362 ZA371 ZA372 ZA701 ZA702 ZA941 ZA942
 ZB211 ZB212 ZC211 ZC212 ZC412
 4H045 AA10 AA20 AA30 BA10 CA40 DA01 EA20 EA27 FA74 GA26