

(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2017-522368

(P2017-522368A)

(43) 公表日 平成29年8月10日 (2017.8.10)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 D	4 C 0 8 4
A 6 1 K 38/28 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N	4 C 0 8 5
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 K 38/28	4 H 0 4 5
A 6 1 P 5/48 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 P 3/00 (2006.01)	A 6 1 P 5/48	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 76 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2017-516223 (P2017-516223)	(71) 出願人	516365493
(86) (22) 出願日	平成27年6月8日 (2015.6.8)		アールイーエムディー バイオセラピュー
(85) 翻訳文提出日	平成29年1月18日 (2017.1.18)		ティクス, インコーポレイテッド
(86) 国際出願番号	PCT/IB2015/001394		REMD Biotherapeutic
(87) 国際公開番号	W02015/189698		s, Inc
(87) 国際公開日	平成27年12月17日 (2015.12.17)		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 3
(31) 優先権主張番号	62/009, 328		0 1 2, カマリロ, コンスティテューショ
(32) 優先日	平成26年6月8日 (2014.6.8)		ンアヴェニュー 4 6 8
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	110001302
(31) 優先権主張番号	62/087, 182		特許業務法人北青山インターナショナル
(32) 優先日	平成26年12月3日 (2014.12.3)	(72) 発明者	ヤン, ハイ
(33) 優先権主張国	米国 (US)		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 1
			3 2 0, サウザンドオークス, ヴィアアイ
			ネズ 1 9 8

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 グルカゴン受容体アンタゴニスト抗体を使用する 1 型糖尿病の治療方法

(57) 【要約】

本開示はグルカゴン受容体遮断薬を使用して 1 型糖尿病 (T 1 D) を治療するための方法に関する。より具体的には、本開示はかなり低めの用量のインスリン補充を使用して T 1 D を治療するための方法、またはインスリン補充が無いときでも抗原結合性拮抗タンパク質、例えば、ヒトグルカゴン受容体に特異的に結合し、その機能を弱める完全ヒト抗体を使用して T 1 D を治療するための方法に関する。

【選択図】 図 3

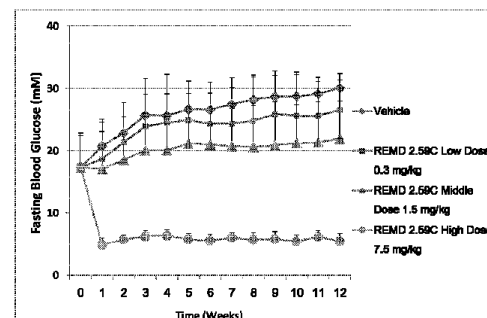


FIG. 3

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

1 型糖尿病 (T 1 D) と診断された患者を治療する方法であって、前記患者に (a) ヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与すること、および (b) インスリン補充を行うことを含む前記方法。

【請求項 2】

T 1 D に関連する 1 つ以上の症状を軽減、抑制、減弱化、または阻止する方法であって、T 1 D と診断された患者に (a) ヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与すること、および (b) インスリン補充を行うことを含む前記方法。

10

【請求項 3】

前記 1 つ以上の症状が、過剰糖新生、過剰グリコーゲン分解、高血糖症、高グルカゴン血症、ケトン症、糖尿病性ケトアシドーシス、高トリグリセリド血症、血漿中遊離脂肪酸濃度上昇、体重減少、異化作用不全症候群、末期疾患、高血圧症、糖尿病性腎症、腎機能不全、腎不全、過食症、筋肉消耗、糖尿病性神経障害、糖尿病性網膜症、または糖尿病性昏睡、過剰 H b A 1 c レベル、多飲症 (口渇感増長)、口内乾燥症 (ドライマウス)、過食症 (空腹感増長)、多尿症 (頻尿)、および疲労からなる群より選択される、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

T 1 D の発症リスクがある患者を治療する方法であって、(a) T 1 D の発症リスクがある患者を特定すること、および (b) 前記患者に (i) ヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与すること、および (i i) インスリン補充を行うことを含む前記方法。

20

【請求項 5】

T 1 D の発症リスクがある前記患者が耐糖能障害および膵臓 β 細胞の喪失または機能不全の証拠を有するものとして特定される、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記インスリン補充がインスリン補充の正常な 1 日投与量の 90 % ~ 70 % を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記インスリン補充がインスリン補充の正常な 1 日投与量の 70 % ~ 50 % を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 8】

前記インスリン補充がインスリン補充の正常な 1 日投与量の 50 % ~ 30 % を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記インスリン補充がインスリン補充の正常な 1 日投与量の 30 % ~ 15 % を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記インスリン補充がインスリン補充の正常な 1 日投与量の 15 % ~ 10 % を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 11】

前記インスリン補充がインスリン補充の正常な 1 日投与量の 10 % ~ 5 % を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

前記インスリン補充がインスリン補充の正常な 1 日投与量の 5 % ~ 1 % を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

前記インスリン補充がインスリン補充の正常な 1 日投与量の 1 % ~ 0.1 % を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

50

【請求項 14】

1 型糖尿病 (T1D) と診断された患者を治療するための方法であって、前記患者にインスリン補充を行うことなくヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与することを含む前記方法。

【請求項 15】

T1D に関連する 1 つ以上の症状を軽減、抑制、減弱化、または阻止するための方法であって、T1D と診断された患者にインスリン補充を行うことなくヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与することを含む前記方法。

【請求項 16】

前記 1 つ以上の症状が、過剰糖新生、過剰グリコーゲン分解、高血糖症、高グルカゴン血症、ケトン症、糖尿病性ケトアシドーシス、高トリグリセリド血症、血漿中遊離脂肪酸濃度上昇、体重減少、異化作用不全症候群、末期疾患、高血圧症、糖尿病性腎症、腎機能不全、腎不全、過食症、筋肉消耗、糖尿病性神経障害、糖尿病性網膜症、または糖尿病性昏睡、過剰 HbA1c レベル、多飲症 (口渇感増長)、口内乾燥症 (ドライマウス)、過食症 (空腹感増長)、多尿症 (頻尿)、および疲労からなる群より選択される、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 17】

T1D の発症リスクがある患者を治療する方法であって、(a) T1D の発症リスクがある患者を特定すること、および (b) 前記患者にインスリン補充を行うことなくヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与することを含む前記方法。

【請求項 18】

T1D の発症リスクがある前記患者が耐糖能障害および膵臓 β 細胞の喪失または機能不全の証拠を有するものとして特定される、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質が、完全ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、抗原結合性抗体断片、Fab、Fab'、Fab₂、Fab'₂、IgG、IgM、IgA、IgE、scFv、dsFv、dAb、ナノボディ、ユニボディ、ディアボディ、およびヘミボディからなる群より選択される単離抗体を含む、請求項 1 ~ 18 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 20】

前記単離アンタゴニスト抗体または抗原結合性抗体断片が少なくとも約 1×10^{-7} M、少なくとも約 1×10^{-8} M、少なくとも約 1×10^{-9} M、少なくとも約 1×10^{-10} M、少なくとも約 1×10^{-11} M、または少なくとも約 1×10^{-12} M の解離定数 (K_D) でヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

前記単離アンタゴニスト抗体が完全ヒト抗体である、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 22】

前記完全ヒト抗体が配列番号 2 の重鎖可変領域をコードするアミノ酸配列と配列番号 3 の軽鎖可変領域をコードするアミノ酸配列を備えるヒト抗 GCGR 抗体を含む、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 23】

前記完全ヒト抗体が配列番号 4 の重鎖可変領域をコードするアミノ酸配列と配列番号 5 の軽鎖可変領域をコードするアミノ酸配列を備えるヒト抗 GCGR 抗体を含む、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 24】

前記完全ヒト抗体が配列番号 6 の重鎖可変領域をコードするアミノ酸配列と配列番号 7 の軽鎖可変領域をコードするアミノ酸配列を備えるヒト抗 GCGR 抗体を含む、請求項 19 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 25】

前記完全ヒト抗体が配列番号 28 の重鎖可変領域をコードするアミノ酸配列と配列番号 47 の軽鎖可変領域をコードするアミノ酸配列を備えるヒト抗 G C G R 抗体を含む、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 26】

前記キメラ抗体が配列番号 8 の重鎖をコードするアミノ酸配列と配列番号 9 の軽鎖をコードするアミノ酸配列を備えるヒト抗 G C G R 抗体を含む、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 27】

前記キメラ抗体が配列番号 51 の重鎖をコードするアミノ酸配列および配列番号 52 の軽鎖をコードするアミノ酸配列を備えるヒト抗 G C G R 抗体を含む、請求項 19 に記載の方法。

10

【請求項 28】

前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の前記治療有効量が一週間当たり体重に対して 0.001 ~ 100 mg / kg、0.001 ~ 90 mg / kg、0.001 ~ 80 mg / kg、0.001 ~ 70 mg / kg、0.001 ~ 60 mg / kg、0.001 ~ 50 mg / kg、0.001 ~ 40 mg / kg、0.001 ~ 30 mg / kg、0.001 ~ 20 mg / kg、0.001 ~ 10 mg / kg、0.001 ~ 5 mg / kg、0.001 ~ 4 mg / kg、0.001 ~ 3 mg / kg、0.001 ~ 2 mg / kg、0.001 ~ 1 mg / kg、0.010 ~ 50 mg / kg、0.010 ~ 40 mg / kg、0.010 ~ 30 mg / kg、0.010 ~ 20 mg / kg、0.010 ~ 10 mg / kg、0.010 ~ 5 mg / kg、0.010 ~ 4 mg / kg、0.010 ~ 3 mg / kg、0.010 ~ 2 mg / kg、0.010 ~ 1 mg / kg、0.1 ~ 50 mg / kg、0.1 ~ 40 mg / kg、0.1 ~ 30 mg / kg、0.1 ~ 20 mg / kg、0.1 ~ 10 mg / kg、0.1 ~ 5 mg / kg、0.1 ~ 4 mg / kg、0.1 ~ 3 mg / kg、0.1 ~ 2 mg / kg、0.1 ~ 1 mg / kg、0.5 ~ 50 mg / kg、0.5 ~ 40 mg / kg、0.5 ~ 30 mg / kg、0.5 ~ 20 mg / kg、0.5 ~ 10 mg / kg、0.5 ~ 5 mg / kg、0.5 ~ 4 mg / kg、0.5 ~ 3 mg / kg、0.5 ~ 2 mg / kg、0.5 ~ 1 mg / kg、1 ~ 50 mg / kg、1 ~ 40 mg / kg、1 ~ 30 mg / kg、1 ~ 20 mg / kg、1 ~ 10 mg / kg、1 ~ 5 mg / kg、1 ~ 4 mg / kg、1 ~ 3 mg / kg、1 ~ 2 mg / kg、および 0.1 mg / kg ~ 1 mg / kg からなる群より選択される、請求項 1 ~ 27 のいずれか一項に記載の方法。

20

30

【請求項 29】

前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の前記治療有効量が一週間当たり体重に対して 0.01 ~ 10 mg / kg である、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 30】

前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の前記治療有効量が二週間当たり体重に対して 0.01 ~ 10 mg / kg である、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 31】

前記患者への全身投与用の医薬組成物を形成するために前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質が薬学的に許容可能な担体と混合される、請求項 1 ~ 30 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 32】

前記全身投与が静脈内注射または注入、筋肉内注射または注入、皮下注射または注入、腹膜内注射または注入、経皮注射または注入、動脈内注射または注入、胸骨内注射または注入、髄腔内注射または注入、脳室内注射または注入、尿道内注射または注入、頭蓋内注射または注入、滑膜内注射または注入から選択される、請求項 31 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

50

関連特許出願

本願は、それぞれ参照によりその全体が本明細書に援用される2014年6月8日出願された米国特許仮出願第62/009328号と2014年12月3日出願された米国特許仮出願第62/087182号の利益を主張する。

【0002】

技術分野

糖尿病は世界中の疾患による主要死因のうちの1つである。1型糖尿病(T1D;「1型真性糖尿病」、「若年発症型糖尿病」および「免疫介在型糖尿病」としても知られる)は最も高い罹患率と死亡率を有する最も重篤な疾患である。T1Dの正確な原因は完全には理解されていないが、T1Dは膵島中のインスリン産生性β細胞が自己反応性T細胞によって破壊される多因子性自己免疫疾患であると考えられている。その結果生じるインスリン欠乏により血糖と尿糖が増加することになる。他の点では、T1Dに冒されている大半の人々は発症したときには健康であり、健康体重を有するが、比較的に短時間のうちに診断されなければ急激に、且つ、危険なほどに体重を失うことがあり得る。食事と運動だけではT1Dから回復する、またはT1Dを予防することができない。現在のところT1Dに対してとることができる予防手段は無い。T1Dは短期と長期の両方で多数の重篤な合併症を引き起こす場合があり得、例えば、短期では未治療のT1Dは糖尿病性ケトアシドーシスを引き起こす場合があり得、長期では眼の損傷、内臓損傷等を引き起こす場合があり得る。失われたホルモンが外因性インスリン注射によって補われるか、または破壊された膵臓β細胞の機能置換が行われる(例えば、膵臓移植または膵島細胞移植)ことがない限り、T1Dは致死的であり得る。

10

20

【背景技術】

【0003】

インスリン療法はT1Dの主要な治療介入である。しかしながら、狭い生理的範囲内に血糖レベルを維持するために必要であるグルコース応答性の身体に合うように外因性インスリンを管理することが困難である点、例えば、外因性インスリンだけではグルカゴンの合成と放出を抑制するためにα細胞に届く傍分泌レベルのインスリン分泌を達成することができない点でインスリンは良薬ではない。外因性インスリンだけで糖化ヘモグロビンA1c(HbA1c)を正常化させることができるが、重篤な医原性高インスリン血症の発生を対価にしていることが多い。そして、不運なことに、インスリン療法は一生にわたって続けられなくてはならず、それによって重大な懸念のままである長期の悪影響を与えられる。例えば、重篤で慢性的な高インスリン血症は脂肪毒性の誘導、心血管罹病、および生命に関わる低血糖症と関連付けられている。T1Dの人はインスリン注射または注入によって生き永らえることができるが、それらはその疾患を治すこともなければ、腎不全、失明、神経損傷、心臓発作、脳卒中、および妊娠合併症を含み得るその疾患の重篤な副次的影響の可能性を必ずしも抑止することもない。T1Dの発症を予防または遅延化する代替方法を発見することを目標とする様々な進行中の治験があるが、恒久的に成功が示されたものはこれまでに無く、糖尿病の患者または糖尿病の発症リスクがある患者を治療するより好適な方法の高い必要性が残されている。

30

【0004】

グルカゴン受容体(GCGR)はGタンパク質共役受容体セクレチンサブファミリー(ファミリーB)のメンバーである。GCGRは主に肝臓で発現し、それは肝臓では肝臓でのグルコース産生を調節し、腎臓では糖新生におけるその役割を反映し、膵島のβ細胞ではβ細胞に対して傍分泌効果を有し、隣接するα細胞から分泌されるグルカゴンの役割を示唆する。高めの基底グルカゴンレベルと食後のグルカゴン分泌の抑制欠如がヒトにおいて糖尿病状態に寄与することが研究から示されている(Mullerら著、N Engl J Med誌、第283巻:109~115頁(1970年))。ヒトGCGRに特異的に結合し、その機能を弱める単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質を使用してグルカゴンの産生または機能を標的とすることによって2型糖尿病モデルにおける血糖の制御および低下と耐糖能の改善が可能になることが示されている(例えば、米国特許第7947

40

50

809号明細書(Yanら)を参照されたい)。T1Dの患者またはT1Dの発症リスクがある患者を効果的に治療するそのようなアンタゴニスト性抗原結合タンパク質の能力はまだ十分に評価されていない。

【発明の概要】

【0005】

本開示は、T1Dに対する改善型の効果的な治療法がヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離抗原結合性拮抗タンパク質によって提供され得るという本発明者らのユニークな洞察に部分的に基づく。本発明者らは、ヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の投与によってもたらされる有益な効果、すなわち、グルカゴン受容体の遮断によるグルカゴン作用の弱化によってインスリン補充の効果が補強および贈呈されてインスリン補充量が標準的なインスリン1日投与量よりもかなり少なくなること、あるいは、インスリン補充を必要とせずにT1Dの治療が可能になり、それによってより良好な糖尿病管理が達成され、一方で低血糖症、高インスリン血症および高脂血症をはじめとするインスリン単独療法に伴う合併症およびその関連のアテローム硬化性心血管合併症が著しく緩和されることを提唱する。

10

【0006】

したがって、1つの態様では本開示は1型糖尿病(T1D)と診断された患者を治療するための方法であって、前記患者に(a)ヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与すること、および(b)インスリン補充を行うことを含む前記方法に関する。様々な実施形態において、その単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は、完全ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、抗原結合性抗体断片、Fab、Fab'、Fab₂、Fab'₂、IgG、IgM、IgA、IgE、scFv、dsFv、dAb、ナノボディ、ユニボディ、またはディアボディから選択される抗体を含む。様々な実施形態において、その抗体は完全ヒトモノクローナル抗体である。様々な実施形態において、そのインスリン補充は、インスリンの正常な1日投与量の約70%~90%の間、約50%~70%の間、約30%~50%の間、約15%~30%の間、約10~15%の間、約5~10%の間、および4%、3.5%、3%、2.5%、2%、1.5%、1%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%、または0.1%を含む0%と5%の間であり得るインスリン用量を投与することを含む。

20

30

【0007】

様々な実施形態において、前記患者は自己免疫型T1Dを患っていて良い。様々な実施形態において、前記患者は化学誘導性T1Dを患っていて良い。様々な実施形態において、前記患者は様々な医学的状態下で医薬または外科手術によって機能不全になった膵臓、または膵臓の除去のために生じたT1Dを患っていて良い。様々な実施形態において、前記患者は次の発見、すなわち(a)低インスリン血症と併せた高血糖症、(b)膵臓β細胞の喪失の証拠と併せた高血糖症、(c)インスリンに対する正常な血糖応答と併せた高血糖症、(d)ケトアシドーシスと併せた高血糖症、(e)インスリン依存性と併せた高血糖症、または(f)高グルカゴン血症と併せた高血糖症の内の1つ以上の発見に基づいてT1Dであると診断されている。様々な実施形態において、「生理学的に不適当な量」が1型糖尿病の表現型を減弱化、阻止、抑制、低減、または軽減するには不十分である量として本明細書において規定される場合、前記患者は「生理学的に不適当な量」のインスリンを有し得る、または示し得る。したがって、そのような患者は非糖尿病患者から、および/または例えばインスリン抵抗性およびインスリン非感受性を特徴とする2型糖尿病の臨床症状を有する、または示す患者から区別される。

40

【0008】

別の態様では本開示はT1Dに関連する1つ以上の症状を軽減、抑制、減弱化、または阻止するための方法であって、T1Dと診断された患者に(a)ヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与すること、および(b)インスリン補充を行うことを含む前記方法を含む。様々な実施形態におい

50

て、それらの１つ以上の症状は、過剰糖新生、過剰グリコーゲン分解、高血糖症、高グルカゴン血症、ケトン症、糖尿病性ケトアシドーシス、高トリグリセリド血症、血漿中遊離脂肪酸濃度上昇、体重減少、異化作用不全症候群、末期疾患、高血圧症、糖尿病性腎症、腎機能不全、腎不全、過食症、筋肉消耗、糖尿病性神経障害、糖尿病性網膜症、または糖尿病性昏睡、過剰HbA1cレベル、多飲症（口渇感増長）、口内乾燥症（ドライマウス）、過食症（空腹感増長）、多尿症（頻尿）、または疲労から選択される。様々な実施形態において、その単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は、完全ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、抗原結合性抗体断片、Fab、Fab'、Fab₂、Fab'₂、IgG、IgM、IgA、IgE、scFv、dsFv、dAb、ナノボディ、ユニボディ、またはディアボディから選択される抗体を含む。様々な実施形態において、その抗体は完全ヒトモノクローナル抗体である。様々な実施形態において、そのインスリン補充は、インスリンの正常な１日投与量の約70%～90%の間、約50%～70%の間、約30%～50%の間、約15%～30%の間、約10～15%の間、約5～10%の間、および4%、3.5%、3%、2.5%、2%、1.5%、1%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%、または0.1%を含む0%と5%の間であり得るインスリン用量を投与することを含む。

【0009】

別の態様では本開示は１型糖尿病（T1D）と診断された患者を治療するための方法であって、前記患者にインスリン補充を行うことなくヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与することを含む前記方法に関する。様々な実施形態において、その単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は、完全ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、抗原結合性抗体断片、Fab、Fab'、Fab₂、Fab'₂、IgG、IgM、IgA、IgE、scFv、dsFv、dAb、ナノボディ、ユニボディ、またはディアボディから選択される抗体を含む。様々な実施形態において、その抗体は完全ヒトモノクローナル抗体である。

【0010】

別の態様では本開示はT1Dに関連する１つ以上の症状を軽減、抑制、減弱化、または阻止するための方法であって、T1Dと診断された患者にインスリン補充を行うことなくヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与することを含む前記方法を含む。様々な実施形態において、それらの１つ以上の症状は、過剰糖新生、過剰グリコーゲン分解、高血糖症、高グルカゴン血症、ケトン症、糖尿病性ケトアシドーシス、高トリグリセリド血症、血漿中遊離脂肪酸濃度上昇、体重減少、異化作用不全症候群、末期疾患、高血圧症、糖尿病性腎症、腎機能不全、腎不全、過食症、筋肉消耗、糖尿病性神経障害、糖尿病性網膜症、または糖尿病性昏睡、過剰HbA1cレベル、多飲症（口渇感増長）、口内乾燥症（ドライマウス）、過食症（空腹感増長）、疲労、多尿症（頻尿）、または腎臓透析から選択される。様々な実施形態において、その単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は、完全ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、抗原結合性抗体断片、Fab、Fab'、Fab₂、Fab'₂、IgG、IgM、IgA、IgE、scFv、dsFv、dAb、ナノボディ、ユニボディ、またはディアボディから選択される抗体を含む。様々な実施形態において、その抗体は完全ヒトモノクローナル抗体である。

【0011】

別の態様では本開示はT1Dの発症リスクがある患者（例えば、平均よりも高いT1Dの発症リスクを有する患者）または初発のT1Dを有し、且つ、低残留性インスリン産生を有する患者を治療するための方法を提供する。これらの治療方法は、（a）T1Dの発症リスクがある（例えば、上昇したリスクがある）患者を特定すること、および（b）前記患者にインスリン補充を行うことなく（i）ヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与することによって実行され得る。様々な実施形態において、前記方法は（ii）インスリン補充をさらに含む。T1

10

20

30

40

50

Dの発症リスクがあると特定されたその患者は、例えば、臨床的に明らかな耐糖能障害があるか、またはそれが無いT1Dの家族歴を有していること、または耐糖能障害、および膵臓β細胞の喪失もしくは機能不全の証拠があることに基づいて診断された患者であり得る。様々な実施形態において、その単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は、完全ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、抗原結合性抗体断片、Fab、Fab'、Fab₂、Fab'₂、IgG、IgM、IgA、IgE、scFv、dsFv、dAb、ナノボディ、ユニボディ、またはディアボディから選択される抗体を含む。様々な実施形態において、その抗体は完全ヒトモノクローナル抗体である。様々な実施形態において、そのインスリン補充は、インスリンの正常な1日投与量の約70%~90%の間、約50%~70%の間、約30%~50%の間、約15%~30%の間、約10~15%の間、約5~10%の間、および4%、3.5%、3%、2.5%、2%、1.5%、1%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%、または0.1%を含む0%と5%の間であり得るインスリン用量を投与することを含む。

10

20

30

40

50

【0012】

別の態様では本開示は1型糖尿病(T1D)と診断された患者において高血糖症を元に戻すための方法であって、T1Dと診断された患者にインスリン補充を行うことなくヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与することを含む前記方法を含む。様々な実施形態において、前記方法は(i)インスリン補充をさらに含む。様々な実施形態において、その単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は、完全ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、抗原結合性抗体断片、Fab、Fab'、Fab₂、Fab'₂、IgG、IgM、IgA、IgE、scFv、dsFv、dAb、ナノボディ、ユニボディ、またはディアボディから選択される抗体を含む。様々な実施形態において、その抗体は完全ヒトモノクローナル抗体である。

【0013】

別の態様では本開示は1型糖尿病(T1D)と診断された患者において膵臓β細胞のインスリン分泌機能を増強するための方法であって、T1Dと診断された患者にインスリン補充を行うことなくヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与することを含む前記方法を含む。様々な実施形態において、前記方法は(i)インスリン補充をさらに含む。様々な実施形態において、その単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は、完全ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、抗原結合性抗体断片、Fab、Fab'、Fab₂、Fab'₂、IgG、IgM、IgA、IgE、scFv、dsFv、dAb、ナノボディ、ユニボディ、またはディアボディから選択される抗体を含む。様々な実施形態において、その抗体は完全ヒトモノクローナル抗体である。

【0014】

様々な実施形態において、前記単離抗体または抗原結合性抗体断片は少なくとも約 1×10^{-7} M、少なくとも約 1×10^{-8} M、少なくとも約 1×10^{-9} M、少なくとも約 1×10^{-10} M、少なくとも約 1×10^{-11} M、または少なくとも約 1×10^{-12} Mの解離定数(K_D)でヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する。

【0015】

様々な実施形態において、ヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は、静脈内注射または注入、筋肉内注射または注入、皮下注射または注入、腹膜内注射または注入、経皮注射または注入、動脈内注射または注入、胸骨内注射または注入、髄腔内注射または注入、脳室内注射または注入、尿道内注射または注入、頭蓋内注射または注入、滑膜内注射または注入を介して前記患者に全身投与され得る医薬組成物を形成するために薬学的に許容可能な担体と混合される。

【図面の簡単な説明】

【0016】

【図1】ストレプトゾトシン (STZ) 誘導 T1D マウス試験における様々な用量 (0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、7.5 mg/kg) の抗 GCGR 抗体で処置された動物についての体重 (g) に対するインビボ効果であって、12 週間にわたってその抗体の効力について評価されたそのインビボ効果を示す折れ線グラフである。

【0017】

【図2】STZ 誘導 T1D マウス試験における様々な用量 (0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、7.5 mg/kg) の抗 GCGR 抗体で処置された動物についての摂食量 (g/日) に対するインビボ効果であって、12 週間にわたってその抗体の効力について評価されたそのインビボ効果を示す折れ線グラフである。

【0018】

【図3】STZ 誘導 T1D マウス試験における様々な用量 (0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、7.5 mg/kg) の抗 GCGR 抗体の空腹時血糖 (mmol/L) レベルに対するインビボ効果であって、12 週間にわたってその抗体の効力について評価されたそのインビボ効果を示す折れ線グラフである。

【0019】

【図4】STZ 誘導 T1D マウス試験における抗 GCGR 抗体の様々な用量 (0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、および 7.5 mg/kg) での (処置から 12 週間後に測定された) 血中 HbA1c (%) レベルに対するインビボ効果を示す棒グラフである。棒は左から右へ向かってベヒクル、0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、および 7.5 mg/kg の REMD 2.59C 抗体についての HbA1c レベル (%) を表す。

【0020】

【図5】STZ 誘導 T1D マウス試験における様々な用量 (0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、7.5 mg/kg) の抗 GCGR 抗体の (それぞれ処置から 12 週間後に測定された) アルブミン (ALB) (g/L) レベルと全タンパク質 (TP) (g/L) レベルに対するインビボ効果を示す棒グラフである。棒は左から右へ向かってベヒクル、0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、および 7.5 mg/kg の REMD 2.59C 抗体についての血中 ALB (g/L) レベル、ならびにベヒクル、0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、および 7.5 mg/kg の REMD 2.59C 抗体についての血中 TP (g/L) レベルを表す。

【0021】

【図6】STZ 誘導 T1D マウス試験における様々な用量 (0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、および 7.5 mg/kg) の抗 GCGR 抗体の (処置前 (基線) および処置から 12 週間後に測定された) インスリン (ng/mL) レベルに対するインビボ効果を示す棒グラフである。棒は左から右へ向かってベヒクル、0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、および 7.5 mg/kg の REMD 2.59C 抗体についての基線インスリン (ng/mL) レベル、ならびにベヒクル、0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、および 7.5 mg/kg の REMD 2.59C 抗体についての第 12 週インスリン (ng/mL) レベルを表す。

【0022】

【図7】STZ 誘導 T1D マウス試験における様々な用量 (0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、7.5 mg/kg) の抗 GCGR 抗体の (それぞれ処置から 12 週間後に測定された) C-ペプチド (pg/mL) レベルとグルカゴン (pg/mL) レベルに対するインビボ効果を示す棒グラフである。棒は左から右へ向かってベヒクル、0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、および 7.5 mg/kg の REMD 2.59C 抗体についての C-ペプチド (pg/mL) レベル、ならびにベヒクル、0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、および 7.5 mg/kg の REMD 2.59C 抗体についてのグルカゴン (pg/mL) レベルを表す。

【0023】

【図8】STZ 誘導 T1D マウス試験における様々な用量 (0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、7.5 mg/kg) の抗 GCGR 抗体の (それぞれ処置から 12 週間後に測定

10

20

30

40

50

された) GLP-1 (pmol/L) レベル、アセト酢酸 (AcAc) (mM) レベルおよび β -ヒドロキシ酪酸 (BOH) (mM) レベルに対するインビボ効果を示す棒グラフである。棒は左から右へ向かってベヒクル、0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、および 7.5 mg/kg の REMD 2.59C 抗体についての GLP-1 (pmol/L) レベル、ベヒクル、0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、および 7.5 mg/kg の REMD 2.59C 抗体についての AcAc (mM) レベル、ならびにベヒクル、0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、および 7.5 mg/kg の REMD 2.59C 抗体についての BOH (mM) レベルを表す。

【0024】

【図9】様々な用量の抗GCGR抗体で処置された処置から12週間後の数匹のSTZ誘導T1Dマウスに由来する様々な膵臓切片の組織学的HE染色の結果を示す図である。

10

【0025】

【図10】12週間にわたって抗GCGR抗体で処置されたSTZ誘導T1Dマウスに由来する膵臓切片に対して抗インスリン抗体と抗グルカゴン抗体を用いた免疫組織化学二重染色の結果を示す図である。ABC-HRP方法を用いてアルファ(α)細胞を染色した。そして、DAB基質によって濃褐色(矢印)として陽性細胞を再調査した。抗インスリン抗体特異的膵臓ベータ(β)細胞をABC-APキットで染色し、インスリンの分泌に関する β 細胞の回復についての陽性の証拠を示した。アルカリホスファターゼ基質を用いて赤色(矢印)に見られるように陽性標識細胞を再調査した。

20

【0026】

【図11A】様々な用量(0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、および7.5 mg/kg)の抗GCGR抗体で処置された処置から12週間後の数匹のSTZ誘導T1Dマウスに由来する膵臓組織切片中の膵臓面積を示す棒グラフである。

【図11B】様々な用量(0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、および7.5 mg/kg)の抗GCGR抗体で処置された処置から12週間後の数匹のSTZ誘導T1Dマウスに由来する前記膵臓組織切片中の膵島面積を示す棒グラフである。

【図11C】様々な用量(0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、および7.5 mg/kg)の抗GCGR抗体で処置された処置から12週間後の数匹のSTZ誘導T1Dマウスに由来する前記膵臓組織切片中の膵島のパーセンテージを示す棒グラフである。

30

【0027】

【図12A】様々な用量(0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、および7.5 mg/kg)の抗GCGR抗体で処置された処置から12週間後のSTZ誘導T1Dマウスの各々における膵島の数を示す棒グラフである。

【図12B】様々な用量(0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、および7.5 mg/kg)の抗GCGR抗体で処置された処置から12週間後のSTZ誘導T1Dマウスの各々におけるインスリン面積とグルカゴン面積を示す棒グラフである。図12Bについて、棒は左から右へ向かって処置から12週間後の時点でのベヒクル、0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、および7.5 mg/kgのREMD 2.59C抗体についてのインスリン面積、ならびにベヒクル、0.3 mg/kg、1.5 mg/kg、および7.5 mg/kgのREMD 2.59C抗体についてのグルカゴン面積を表す。

40

【0028】

【図13】8日間にわたって緩衝液($n=5$)または5 mg/kgの抗グルカゴン受容体抗体REMD-477($n=6$)で処置されたT1Dのモデルであるアロキサン誘導糖尿病マウスにおける血糖(mg/dl)レベルを示す図である。

【0029】

【図14A】非糖尿病マウスおよびアロキサン誘導糖尿病マウスにおけるリン酸化CREB(P-CREB)レベルを示す棒グラフである。

【図14B】非糖尿病マウスおよびアロキサン誘導糖尿病マウスにおけるPEPCK発現レベルを示す棒グラフである。

【0030】

50

【図 1 5 A】緩衝液で処置された非糖尿病マウス、緩衝液で処置されたアロキサン誘導糖尿病マウス、および 5 m g の抗グルカゴン受容体抗体 R E M D - 4 7 7 で処置された糖尿病マウスにおける c A M P 応答配列結合タンパク質 (P - C R E B) レベルを示す棒グラフである。

【図 1 5 B】緩衝液で処置された非糖尿病マウス、緩衝液で処置されたアロキサン誘導糖尿病マウス、および 5 m g の抗グルカゴン受容体抗体 R E M D - 4 7 7 で処置された糖尿病マウスにおけるホスホエノールビルビン酸カルボキシキナーゼ P E P C K 発現レベルを示す棒グラフである。

【 0 0 3 1 】

【図 1 6】ストレプトゾトシン (S T Z) 誘導 T 1 D マウス試験における様々な G C G R 抗体 (毎週 7 . 5 m g / k g の用量で投与) の空腹時血糖 (m m o l / L) レベルに対するインビボ効果であって、処置後 1 3 日間にわたってその抗体の効力について評価されたそのインビボ効果を示す棒グラフである。棒は左から右へ向かって 1 0 日目 (処置日) におけるベヒクル、R E M D 2 . 5 9 拮抗作用性抗体、R E M D 2 . 4 5 非拮抗作用性抗体および R E M D 2 . 1 0 拮抗作用性抗体についての空腹時血糖 (m m o l / L) レベル、1 7 日目 (処置後 7 日目) におけるベヒクル、R E M D 2 . 5 9 抗体、R E M D 2 . 4 5 抗体および R E M D 2 . 1 0 抗体についての空腹時血糖 (m m o l / L) レベル、および 2 2 日目 (処置後 1 2 日目) におけるベヒクル、R E M D 2 . 5 9 抗体、R E M D 2 . 4 5 抗体および R E M D 2 . 1 0 抗体についての空腹時血糖 (m m o l / L) レベルを表す。

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 3 2 】

本明細書において別途定義されない限り、本開示と関連して使用される科学用語および技術用語は当業者によって一般的に理解される意味を持つものとする。さらに、文脈から特に必要とされない限り、単数形の用語は複数のもを含むものとし、複数形の用語は単数のものを含むものとする。概して、本明細書に記載される細胞と組織の培養、分子生物学、免疫学、微生物学、遺伝学、およびタンパク質と核酸の化学、およびハイブリダイゼーションと関連して使用される命名法およびそれらの技術は当技術分野において一般的に使用され、且つ、よく知られているものである。概して、本開示の方法および技術は別段の指示が無い限り当技術分野においてよく知られている従来法に従って、ならびに本明細書を通して引用および議論される様々な一般的参照文献およびより特定の参照文献に記載されているように実施される。例えば、参照により本明細書に援用される S a m b r o o k 著、M o l e c u l a r C l o n i n g : A L a b o r a t o r y M a n u a l、第 2 版、コールド・スプリング・ハーバー研究所出版局、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク州 (1 9 8 9 年)、および A u s u b e l 著、C u r r e n t P r o t o c o l s i n M o l e c u l a r B i o l o g y、グリーン・パブリッシング・アソシエーツ (1 9 9 2 年)、ならびに H a r l o w および L a n e 著、A n t i b o d i e s : A L a b o r a t o r y M a n u a l、コールド・スプリング・ハーバー研究所出版局、コールド・スプリング・ハーバー、ニューヨーク州 (1 9 9 0 年) を参照されたい。酵素反応および精製技術は製造業者の仕様書に従って、当技術分野において一般的に遂行されるように、または本明細書に記載されるように実施される。本明細書に記載される分析化学、有機合成化学、および医薬化学と関連して使用される命名法ならびにそれらの実験技法および実験技術は当技術分野において一般的に使用され、且つ、よく知られているものである。化学合成、化学分析、医薬調製、製剤、および送達、および患者の治療には標準的技術が使用される。

【 0 0 3 3 】

定義

「ペプチド」、「ポリペプチド」および「タンパク質」という用語はそれぞれペプチド結合によって相互に結合した 2 個以上のアミノ酸残基を含む分子を指す。これらの用語は、例えば、あるタンパク質配列の天然タンパク質と人工タンパク質、タンパク質断片およ

10

20

30

40

50

びポリペプチド類似体（改変タンパク質、変異体、および融合タンパク質等）ならびに翻訳後に改変されたか、または他の場合では共有結合または非共有結合によって改変されたタンパク質を包含する。ペプチド、ポリペプチド、またはタンパク質は単量体でも多量体でもあり得る。ある特定の実施形態において、「ペプチド」、「ポリペプチド」、および「タンパク質」はペプチド結合を介して連結している α 炭素を有するアミノ酸鎖である。したがって、その鎖の一方の末端（アミノ末端）の末端アミノ酸は遊離アミノ基を有し、その鎖の他方の末端（カルボキシ末端）の末端アミノ酸は遊離カルボキシル基を有する。本明細書において使用される場合、「アミノ末端」（N末端と略される）という用語はペプチドのアミノ末端のアミノ酸上の遊離 α -アミノ基、またはそのペプチド内の他のいずれかの位置にあるアミノ酸の α -アミノ基（ペプチド結合に関与しているときはイミノ基）を指す。同様に、「カルボキシ末端」という用語はペプチドのカルボキシ末端上の遊離カルボキシル基、またはそのペプチド内の他のいずれかの位置にあるアミノ酸のカルボキシル基を指す。ペプチドにはまた、アミド結合と対照的にエーテル結合によって結合したアミノ酸などのペプチド模倣物を含むがこれらに限定されないあらゆるポリアミノ酸が基本的に含まれる。

【0034】

ポリヌクレオチド配列とポリペプチド配列は標準的な1文字または3文字の略記を用いて表示される。別段の指示が無い限り、ポリペプチド配列はそれらのアミノ末端を左側に有し、且つ、それらのカルボキシ末端を右側に有し、一本鎖核酸配列と二本鎖核酸配列のトップストランドはそれらの5'末端を左側に有し、且つ、それらの3'末端を右側に有する。ポリペプチドの特定の区域はアミノ酸80~119のようにアミノ酸残基番号によるか、またはSer 80~Ser 119のようにその部位の実際の残基によって指定され得る。特定のポリペプチド配列またはポリヌクレオチド配列はどのくらいその配列が基準配列と異なっているか説明することによっても記載され得る。

【0035】

本開示のポリペプチドにはあらゆる理由のために、例えば、（1）タンパク質分解に対する感受性を低下させるため、（2）酸化に対する感受性を低下させるため、（3）タンパク質複合体形成向けに結合親和性を変化させるため、（4）結合親和性を変化させるため、および（5）他の物理化学的特性または機能的特性を付与または改変するために多少なりとも改変されているポリペプチドが含まれる。例えば、単一アミノ酸置換または多重アミノ酸置換（例えば、保存的アミノ酸置換）が天然配列の中に（例えば、分子間接触部を形成するドメインの外側にあるポリペプチド部分の中に）起きて良い。「保存的アミノ酸置換」は機能的に類似のアミノ酸によるアミノ酸のポリペプチド中での置換を指す。次の6群は相互に保存的置換物であるアミノ酸をそれぞれ含む。

アラニン（A）、セリン（S）、およびトレオニン（T）

アスパラギン酸（D）およびグルタミン酸（E）

アスパラギン（N）およびグルタミン（Q）

アルギニン（R）およびリシン（K）

イソロイシン（I）、ロイシン（L）、メチオニン（M）、およびバリン（V）

フェニルアラニン（F）、チロシン（Y）、およびトリプトファン（W）

【0036】

「非保存的アミノ酸置換」はこれらのクラスのうちの1つのクラスのメンバーによる別のクラスのメンバーに対する置換を指す。ある特定の実施形態によると、そのような変更を行うときにアミノ酸の疎水性親水性指標を考慮して良い。それぞれのアミノ酸にはその疎水性特性と電荷特性に基づいて疎水性親水性指標が割り当てられている。疎水性親水性指標はイソロイシン（+4.5）、バリン（+4.2）、ロイシン（+3.8）、フェニルアラニン（+2.8）、システイン/シスチン（+2.5）、メチオニン（+1.9）、アラニン（+1.8）、グリシン（-0.4）、トレオニン（-0.7）、セリン（-0.8）、トリプトファン（-0.9）、チロシン（-1.3）、プロリン（-1.6）、ヒスチジン（-3.2）、グルタミン酸（-3.5）、グルタミン（-3.5）、アス

パラギン酸 (- 3 . 5)、アスパラギン (- 3 . 5)、リシン (- 3 . 9)、およびアルギニン (- 4 . 5) である。

【 0 0 3 7 】

相互作用性生物学的機能をタンパク質に付与する際の疎水性親水性アミノ酸指標の重要性が当技術分野において理解されている (例えば、K y t eら著、1982年、J . M o l . B i o l . 誌、第157巻：105～131頁を参照されたい)。ある特定のアミノ酸を類似の疎水性親水性指標またはスコアを有する他のアミノ酸に対して置換して良く、それでもなお類似の生物活性が保持されることが知られている。疎水性親水性指標に基づいて変更を行う際に±2以内の疎水性親水性指標を有するアミノ酸の置換がある特定の実施形態に含まれる。±1以内の疎水性親水性指標を有するアミノ酸の置換がある特定の実施形態に含まれ、±0.5以内の疎水性親水性指標を有するアミノ酸の置換がある特定の実施形態に含まれる。

10

【 0 0 3 8 】

類似のアミノ酸の置換は、特にそれによって作製された生物学的に機能的なタンパク質またはペプチドを本明細書において開示されるように免疫学的実施形態に使用するつもりである場合、親水性に基づいて効果的に行われ得ることも当技術分野において理解されている。ある特定の実施形態において、タンパク質の最大局所的平均親水性はその隣接するアミノ酸の親水性によって影響され、そのタンパク質の免疫原性と抗原性、すなわちそのタンパク質の生物学的特性と相関する。

【 0 0 3 9 】

次の親水性値がこれらのアミノ酸残基に割り当てられている：アルギニン (+ 3 . 0)、リシン (+ 3 . 0)、アスパラギン酸 (+ 3 . 0 ± 1)、グルタミン酸 (+ 3 . 0 ± 1)、セリン (+ 0 . 3)、アスパラギン (+ 0 . 2)、グルタミン (+ 0 . 2)、グリシン (0)、トレオニン (- 0 . 4)、プロリン (- 0 . 5 ± 1)、アラニン (- 0 . 5)、ヒスチジン (- 0 . 5)、システイン (- 1 . 0)、メチオニン (- 1 . 3)、バリン (- 1 . 5)、ロイシン (- 1 . 8)、イソロイシン (- 1 . 8)、チロシン (- 2 . 3)、フェニルアラニン (- 2 . 5) およびトリプトファン (- 3 . 4)。類似の親水性値に基づいて変更を行う際に±2以内の親水性値を有するアミノ酸の置換がある特定の実施形態に含まれ、±1以内の親水性値を有するアミノ酸の置換がある特定の実施形態に含まれ、±0.5以内の親水性値を有するアミノ酸の置換がある特定の実施形態に含まれる。例となるアミノ酸置換が表1に示されている。

20

30

表1

アミノ酸置換

元の残基	例となる置換	好ましい置換	
Ala	Val, Leu, Ile	Val	10
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys	
Asn	Gln		
Asp	Glu		
Cys	Ser, Ala	Ser	
Gln	Asn	Asn	
Glu	Asp	Asp	
Gly	Pro, Ala	Ala	
His	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg	20
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, ノルロイシン	Leu	
Leu	ノルロイシン, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile	
Lys	Arg, 1,4 ジアミノ 酪酸, Gln, Asn	Arg	
Met	Leu, Phe, Ile	Leu	30
Phe	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu	
Pro	Ala	Gly	
Ser	Thr, Ala, Cys	Thr	
Thr	Ser		
Trp	Tyr, Phe	Tyr	
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe	
Val	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, ノルロイシン	Leu	40

【 0 0 4 0 】

当業者はよく知られている技術を用いて本明細書において明記されるポリペプチドの適切な変異体を決定することができる。ある特定の実施形態において、当業者は、活性にとって重要であると考えられていない領域を標的とすることによって活性を損なうことなく変更することができる分子の適切な領域を特定することができる。他の実施形態において、当業者は類似のポリペプチドの間で保存されているそれらの分子の残基および部分を特定することができる。追加の実施形態において、生物活性または構造にとって重要であり得る領域ですら、生物活性を損なうことがない、またはポリペプチド構造に悪影響を与えないことがない保存的アミノ酸置換の対象とされ得る。

【 0 0 4 1 】

加えて、当業者は類似のポリペプチド中の残基であって、活性または構造にとって重要であるそれらの残基を特定する構造機能研究を再検討することができる。そのような比較を考慮すると、当業者はあるポリペプチド中のアミノ酸残基であって、類似のポリペプチドにおける活性または構造にとって重要なアミノ酸残基に対応するそれらアミノ酸残基の重要性を予測することができる。当業者はそのような予測された重要なアミノ酸残基に対する化学的に類似のアミノ酸置換を選択することができる。

【 0 0 4 2 】

当業者は三次元構造およびアミノ酸配列を類似のポリペプチド中のその構造と関連して分析することもできる。そのような情報を考慮すると、当業者はポリペプチドのアミノ酸残基の整列をその三次元構造に関して予測することができる。ある特定の実施形態において、そのポリペプチドの表面上にあると予測されるアミノ酸残基は他の分子との重要な相互作用に関与し得るので、当業者はそのような残基に対して極端な変更を行わないことを選択することができる。また、当業者はそれぞれの所望のアミノ酸残基の位置に単一のアミノ酸置換を有する検査変異体を作製することができる。次に、当業者に知られている活性アッセイ法を用いてそれらの変異体をスクリーニングすることができる。適切な変異体についての情報を集めるためにそのような変異体を使用することが可能である。例えば、特定のアミノ酸残基に対する変更が活性の棄損、活性の望ましくない低下、または不適切な活性を引き起こすことが分かった場合、そのような変更を有する変異体を回避することができる。言い換えると、当業者は、さらなる置換が単独で、または他の突然変異と組み合わせられて回避されるべき位置にあるアミノ酸をそのような日常の実験から集められた情報に基づいて容易に決定することができる。

【 0 0 4 3 】

本明細書において使用される「ポリペプチド断片」および「短縮型ポリペプチド」という用語は、対応する完全長タンパク質と比較してアミノ末端欠失および/またはカルボキシ末端欠失を有するポリペプチドを指す。ある特定の実施形態において、断片は、例えば、少なくとも5アミノ酸長、少なくとも10アミノ酸長、少なくとも25アミノ酸長、少なくとも50アミノ酸長、少なくとも100アミノ酸長、少なくとも150アミノ酸長、少なくとも200アミノ酸長、少なくとも250アミノ酸長、少なくとも300アミノ酸長、少なくとも350アミノ酸長、少なくとも400アミノ酸長、少なくとも450アミノ酸長、少なくとも500アミノ酸長、少なくとも600アミノ酸長、少なくとも700アミノ酸長、少なくとも800アミノ酸長、少なくとも900アミノ酸長、または少なくとも1000アミノ酸長であり得る。ある特定の実施形態において、断片は、例えば、多くとも1000アミノ酸長、多くとも900アミノ酸長、多くとも800アミノ酸長、多くとも700アミノ酸長、多くとも600アミノ酸長、多くとも500アミノ酸長、多くとも450アミノ酸長、多くとも400アミノ酸長、多くとも350アミノ酸長、多くとも300アミノ酸長、多くとも250アミノ酸長、多くとも200アミノ酸長、多くとも150アミノ酸長、多くとも100アミノ酸長、多くとも50アミノ酸長、多くとも25アミノ酸長、多くとも10アミノ酸長、または多くとも5アミノ酸長でもあり得る。断片はその末端のうちの一方または両方のどちらかに1個以上の追加アミノ酸、例えば、異なる天然タンパク質に由来するアミノ酸の配列（例えば、Fcドメインまたはロイシンジッパードメイン）または人工アミノ酸配列（例えば、人工リンカー配列）をさらに含み得る。

【 0 0 4 4 】

本明細書において使用される「ポリペプチド変異体」および「ポリペプチド突然変異体」という用語は、あるアミノ酸配列を備え、別のポリペプチド配列との関連で1個以上のアミノ酸残基がそのアミノ酸配列に挿入され、そのアミノ酸配列から欠失され、および/またはそのアミノ酸配列に置換されているポリペプチドを指す。ある特定の実施形態において、挿入、欠失、または置換されるアミノ酸残基の数は、例えば、少なくとも1アミノ酸長、少なくとも2アミノ酸長、少なくとも3アミノ酸長、少なくとも4アミノ酸長、少

なくとも5アミノ酸長、少なくとも10アミノ酸長、少なくとも25アミノ酸長、少なくとも50アミノ酸長、少なくとも75アミノ酸長、少なくとも100アミノ酸長、少なくとも125アミノ酸長、少なくとも150アミノ酸長、少なくとも175アミノ酸長、少なくとも200アミノ酸長、少なくとも225アミノ酸長、少なくとも250アミノ酸長、少なくとも275アミノ酸長、少なくとも300アミノ酸長、少なくとも350アミノ酸長、少なくとも400アミノ酸長、少なくとも450アミノ酸長、または少なくとも500アミノ酸長であり得る。本開示の変異体には融合タンパク質が含まれる。

【0045】

ポリペプチドの「誘導體」は化学的に改変されているポリペプチド、例えば、別の化学部分への結合、例えばポリエチレングリコールへの結合、アルブミン（例えばヒト血清アルブミン）への結合、リン酸化、およびグリコシル化があるポリペプチドである。

10

【0046】

「%配列同一性」という用語は本明細書において「%同一性」という用語と互換的に使用され、配列アラインメントプログラムを使用して整列させたときの2つ以上のペプチド配列の間のアミノ酸配列同一性のレベル、または2つ以上のヌクレオチド配列の間のヌクレオチド配列同一性のレベルを指す。例えば、本明細書において使用される場合、80%の同一性は規定のアルゴリズムによって決定される80%配列同一性と同じ事を意味し、所与の配列が別の長さの別の配列に対して少なくとも80%同一であることを意味する。ある特定の実施形態において、その%同一性は、例えば、所与の配列に対する少なくとも60%の、少なくとも65%の、少なくとも70%の、少なくとも75%の、少なくとも80%の、少なくとも85%の、少なくとも90%の、少なくとも95%、または少なくとも99%の、またはそれよりも高い配列同一性から選択される。ある特定の実施形態において、その%同一性は、例えば、約60%～約70%、約70%～約80%、約80%～約85%、約85%～約90%、約90%～約95%、または約95%～約99%の範囲内にある。

20

【0047】

「%配列相同性」という用語は本明細書において「%相同性」という用語と互換的に使用され、配列アラインメントプログラムを使用して整列させたときの2つ以上のペプチド配列の間のアミノ酸配列相同性のレベル、または2つ以上のヌクレオチド配列の間のヌクレオチド配列相同性のレベルを指す。例えば、本明細書において使用される場合、80%の相同性は規定のアルゴリズムによって決定される80%配列相同性と同じ事を意味し、したがって所与の配列のホモログがその所与の配列のある長さによって80%を超える配列相同性を有することを意味する。ある特定の実施形態において、その%相同性は、例えば、所与の配列に対する少なくとも60%の、少なくとも65%の、少なくとも70%の、少なくとも75%の、少なくとも80%の、少なくとも85%の、少なくとも90%の、少なくとも95%、または少なくとも99%の、またはそれよりも高い配列相同性から選択される。ある特定の実施形態において、その%相同性は、例えば、約60%～約70%、約70%～約80%、約80%～約85%、約85%～約90%、約90%～約95%、または約95%～約99%の範囲内にある。

30

【0048】

2つの配列間の同一性を決定するために使用され得る例となるコンピュータープログラムにはNCBIウェブサイトにおいてインターネット上で公開されているBLASTプログラム、例えば、BLASTN、BLASTX、およびTBLASTX、BLASTPおよびTBLASTNからなるパッケージが含まれるがこれらに限定されない。Altschulら著、1990年、J. Mol. Biol. 誌、第215巻：403～10頁（公表された初期設定、すなわち $w=4$ 、 $t=17$ のパラメーターに特に関連して）およびAltschulら著、1997年、Nucleic Acids Res. 誌、第25巻：3389～3402頁も参照されたい。配列検索は、所与のアミノ酸配列をGenBank Protein Sequencesおよび他の公開データベースの中のアミノ酸配列と比較して評価するときにBLASTPプログラムを使用して実行されることが典

40

50

型的である。BLASTXプログラムは全てのリーディングフレームで翻訳された核酸配列をGenBank Protein Sequencesおよび他の公開データベースの中のアミノ酸配列に対して検索することによって好ましい。BLASTPとBLASTXの両方は11.0のオープンギャップペナルティと1.0の伸長ギャップペナルティという初期パラメーターを使用して実行され、且つ、BLOSUM-62マトリックスを利用する。同文献を参照されたい。

【0049】

パーセント配列同一性の算出に加え、BLASTアルゴリズムは2つの配列間の類似性の統計分析も実施する(例えば、KarlinおよびAltschul著、Proc. Natl. Acad. Sci. USA誌、第90巻:5873~5787頁(1993年)を参照されたい)。BLASTアルゴリズムによって提供される類似性の1つの基準は最小和確率($P(N)$)であり、それは2つのヌクレオチド配列またはアミノ酸配列の間の整合が偶然に起こる確率の指標を提供する。例えば、基準核酸に対する検査核酸の比較における最小和確率が例えば約0.1未満、約0.01未満、または約0.001未満である場合にその核酸はその基準配列に対して類似していると考えられる。

10

【0050】

「単離分子」という用語は(その分子が例えばポリペプチド、ポリヌクレオチド、または抗体である場合に)その起源または誘導源によって(1)その分子の天然状態ではその分子に付随する天然結合成分と結合していない分子、(2)同じ種に由来する他の分子を実質的に含まない分子、(3)異なる種に由来する細胞によって発現される分子、または(4)自然界では生じない分子である。したがって、化学合成される分子、または自然界で起源となる細胞とは異なる細胞系で発現される分子は、その分子の天然結合成分から「単離」される。分子は、当技術分野においてよく知られている精製技術を用いて単離されることによって天然結合成分を実質的に含まないようにされても良い。分子の純度または均質性は当技術分野においてよく知られている多数の手段によってアッセイされ得る。例えば、ポリペプチド試料の純度は、当技術分野においてよく知られている技術を用いるポリアクリルアミドゲル電気泳動およびそのポリペプチドを可視化するためのそのゲルの染色を用いてアッセイされ得る。ある特定の目的のためにHPLCまたは当技術分野においてよく知られている精製のための他の手段を用いることでより高い解像度が提供され得る。

20

30

【0051】

タンパク質またはポリペプチドは、試料の少なくとも約60%~75%が単一種のポリペプチドを示すときに「実質的に純粋」であり、「実質的に均質」であり、または「実質的に精製」されている。実質的に純粋なポリペプチドまたはタンパク質はタンパク質試料の約50%(重量/重量)、60%(重量/重量)、70%(重量/重量)、80%(重量/重量)、または90%(重量/重量)を構成することが典型的であり、約95%を構成することがより一般的であり、例えば、それは99%を超える。タンパク質の純度または均質性は、タンパク質試料のポリアクリルアミドゲル電気泳動とそれに続く当技術分野においてよく知られている染色液によるそのゲルの染色時の単一ポリペプチドバンドの視覚化などの当技術分野においてよく知られている多数の手段によって示され得る。ある特定の目的のためにHPLCまたは当技術分野においてよく知られている精製のための他の手段を用いることでより高い解像度が提供され得る。

40

【0052】

「グルカゴン阻害剤」、「グルカゴン抑制剤」および「グルカゴンアンタゴニスト」という用語は互換的に使用される。各々がグルカゴンの作用またはシグナル伝達を検出可能なほど阻害する分子である。阻害剤によって引き起こされる阻害は、当技術分野においてグルカゴンシグナル伝達阻害を定量するものと認識および理解されているアッセイを用いてその阻害が検出可能である限りは完璧である必要がない。

【0053】

「抗原結合性拮抗タンパク質」は、抗原に結合する部分を含み、且つ、その抗原へのそ

50

の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の結合を促進する構造をその抗原結合部分に採らせるスキヤフォールドまたはフレームワーク部分を含んでも良いタンパク質である。抗原結合性拮抗タンパク質の例には抗体、抗体断片（例えば、抗体の抗原結合部分）、抗体誘導体、および抗体類似体が挙げられる。その単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は、例えば、移入されたCDRまたはCDR派生物を有する代替的タンパク質スキヤフォールドまたは人工スキヤフォールドを含み得る。そのようなスキヤフォールドには、例えば前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の三次元構造を安定化するために導入された突然変異を含む抗体由来スキヤフォールド、ならびに例えば生体適合性重合体を含む完全合成スキヤフォールドが含まれるがこれらに限定されない。例えば、Korndorferら著、2003年、*Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* 誌、第53巻、第1号：121～129頁（2003年）、Roqueら著、*Biotechnol. Prog.* 誌、第20巻：639～654頁（2004年）を参照されたい。加えて、ペプチド抗体模倣物（「PAM」）ならびにスキヤフォールドとしてフィブロンクシオン成分を利用する抗体模倣物に基づくスキヤフォールドを使用することができる。

【0054】

単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は、例えば、天然免疫グロブリンの構造を有し得る。「免疫グロブリン」は四量体分子である。天然免疫グロブリンではそれぞれの四量体が二対の同一のポリペプチド鎖から構成され、それぞれのペアが1本の「軽」鎖（約25kDa）と1本の「重」鎖（約50～70kDa）を有する。各鎖のアミノ末端部分は、抗原認識に対して最終的な責任がある約100アミノ酸～110アミノ酸、またはそれより多くのアミノ酸からなる可変領域を含む。各鎖のカルボキシ末端部分はエフェクター機能に対して最終的な責任がある定常領域を規定する。ヒト軽鎖はカッパ軽鎖とラムダ軽鎖に分類される。重鎖はミュー、デルタ、ガンマ、アルファ、またはイプシロンとして分類され、その抗体のアイソタイプをそれぞれIgM、IgD、IgG、IgA、およびIgEとして規定する。軽鎖と重鎖の内部では可変領域と定常領域が約12個以上のアミノ酸からなる「J」領域によって連結されており、重鎖はさらに約10個多いアミノ酸からなる「D」領域も含む。*Fundamental Immunology*、第7章（Paul, W. 編、第2版、レイブン・プレス、ニューヨーク（1989年））を全般的に参照されたい（全ての目的のために参照によりその全体が援用される）。完全な免疫グロブリンが2つの結合部位を有するように各軽鎖/重鎖対の可変領域が抗体結合部位を形成する。

【0055】

「抗体」は、免疫グロブリン遺伝子または免疫グロブリン遺伝子の断片によって実質的または部分的にコードされ、且つ、腫瘍抗原に対する特異性または病理状態で過剰発現された分子に対する特異性を有する1つ以上のポリペプチドを含むタンパク質を指す。広く認められている免疫グロブリン遺伝子にはカッパ、ラムダ、アルファ、ガンマ、デルタ、イプシロン、およびミューの定常領域遺伝子、ならびにこれらの遺伝子のサブタイプおよび多種多様な免疫グロブリン可変領域遺伝子が含まれる。軽鎖（LC）はカッパまたはラムダのどちらかとして分類される。重鎖（HC）はガンマ、ミュー、アルファ、デアルタ、またはイプシロンとして分類され、それらは次にそれぞれIgG、IgM、IgA、IgDおよびIgEの免疫グロブリンクラスを規定する。典型的な免疫グロブリン（例えば抗体）構造単位は四量体を含む。各四量体は二対の同一のポリペプチド鎖から構成され、それぞれのペアが1本の「軽」鎖（約25kD）と1本の「重」鎖（約50～70kD）を有する。各鎖のN末端は抗原認識に対して最終的な責任がある約100アミノ酸～110アミノ酸、またはそれより多くのアミノ酸からなる可変領域を規定する。

【0056】

完全長抗体では各重鎖は重鎖可変領域（本明細書においてHCVRまたは V_H と略記される）および重鎖定常領域から構成される。重鎖定常領域は C_{H1} 、 C_{H2} および C_{H3} の3ドメイン（および幾つかの例では C_{H4} ）から構成される。各軽鎖は軽鎖可変領域（

本明細書において $L_C V_R$ または V_L と略記される)および軽鎖定常領域から構成される。軽鎖定常領域は C_L の1ドメインから構成される。 V_H 領域と V_L 領域は、フレームワーク領域(FR)と呼ばれるより保存的な領域が散在する相補性決定領域(CDR)と呼ばれる超可変性領域にさらに細かく分割され得る。 V_H と V_L のそれぞれがアミノ末端からカルボキシ末端に向かって次の順序、すなわち FR_1 、 CDR_1 、 FR_2 、 CDR_2 、 FR_3 、 CDR_3 、 FR_4 の順序で配置されている3つの CDR と4つの FR から構成される。フレームワーク領域と CDR の範囲が規定されている。様々な軽鎖または重鎖のフレームワーク領域の配列がヒトなどの種の内部で比較的保存されている。抗体のフレームワーク領域、すなわち構成要素である軽鎖と重鎖のフレームワーク領域複合体は三次元空間内で CDR を配置および配列するように働く。免疫グロブリン分子はいずれかのタイプ(例えば、 IgG 、 IgE 、 IgM 、 IgD 、 IgA および IgY)、クラス(例えば、 $IgG1$ 、 $IgG2$ 、 $IgG3$ 、 $IgG4$ 、 $IgA1$ および $IgA2$)またはサブクラスの分子であり得る。

10

20

30

40

50

【0057】

抗体は完全な免疫グロブリンとして、または多数のよく特徴づけられた断片として存在する。そのような断片には標的抗原に結合する Fab 断片、 Fab' 断片、 Fab_2 、 $F(ab)'$ 断片、単鎖 Fv タンパク質(「 $scFv$ 」)、およびジスルフィド安定化 Fv タンパク質(「 $dsFv$ 」)が含まれる。 $scFv$ タンパク質は免疫グロブリンの軽鎖可変領域と免疫グロブリンの重鎖可変領域がリンカーによって結合している融合タンパク質であり、一方で $dsFv$ ではそれらの鎖の結合を安定化させるためにそれらの鎖に突然変異が形成されてジスルフィド結合が導入されている。様々な抗体断片が完全抗体の消化との関連で規定されており、当業者は化学的に、または組換えDNA法を利用することでそのような断片を新規に合成し得ることを理解する。したがって、本明細書において使用される場合、抗体という用語は、例えば、モノクローナル抗体(完全長モノクローナル抗体を含む)、ポリクローナル抗体、少なくとも2つの完全抗体から形成される多重特異性抗体(例えば、二特異性抗体)、ヒト抗体、ヒト化抗体、ラクダ化抗体、キメラ抗体、単鎖 $Fv(scFv)$ 、単鎖抗体、単ドメイン抗体、ドメイン抗体、 Fab 断片、 $F(ab)'$ 断片、所望の生物活性を示す抗体断片、ジスルフィド結合 $Fv(dsFv)$ 、イントラボディ、および上記のいずれかのエピトープ結合断片または抗原結合断片を包含する。

【0058】

Fab 断片は V_L ドメイン、 V_H ドメイン、 C_L ドメインおよび C_{H1} ドメインを有する一価断片であり、 $F(ab)'$ 断片はヒンジ領域においてジスルフィド架橋によって連結された2つの Fab 断片を有する二価断片であり、 Fd 断片は V_H ドメインと C_{H1} ドメインを有し、 Fv 断片はある抗体の単腕の V_L ドメインと V_H ドメインを有し、 dAb 断片は V_H ドメイン、 V_L ドメイン、または V_H ドメインもしくは V_L ドメインの抗原結合断片を有する(米国特許第6846634号明細書、第6696245号明細書、米国特許出願公開第05/0202512号明細書、第04/0202995号明細書、第04/0038291号明細書、第04/0009507号明細書、第03/0039958号明細書、Wardら著、Nature誌、第341巻:544~546頁(1989年))。

【0059】

単鎖抗体($scFv$)は、そのタンパク質鎖が自身の上に折り重なり、且つ、一価抗原結合部位を形成することを可能にするほど十分に長いリンカー(例えば、アミノ酸残基の合成配列)を介して連続的なタンパク質鎖を形成するために V_L 領域と V_H 領域が連結されている抗体である(例えば、Birdら著、Science誌、第242巻:423~426頁(1988年)およびHustonら著、1988年、Proc. Natl. Acad. Sci. USA誌、第85巻:5879~83頁(1988年)を参照されたい)。ディアボディは、2本のポリペプチド鎖を含み、同じ鎖の上にある2つのドメインの間で対合させるにはあまりに短いリンカーによって連結された V_H ドメインと V_L ドメイン

をそれぞれのポリペプチド鎖が含み、そうして各ドメインが別のポリペプチド鎖上にある相補的なドメインと対合するようになっている二価抗体である（例えば、H o l l i g e r 著、1993年、P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 誌、第90巻：6444～48頁（1993年）、およびP o l j a k 著、S t r u c t u r e 誌、第2巻：1121～23頁（1994年）を参照されたい）。ディアボディのそれら2本のポリペプチド鎖が同一である場合、それらの対合により生じるディアボディは2か所の同一の抗原結合部位を有することになる。2つの異なる抗原結合部位を有するディアボディを作製するために異なる配列を有するポリペプチド鎖が使用され得る。同様に、トリボディおよびテトラボディは、それぞれ3本および4本のポリペプチド鎖を含み、且つ、それぞれ同じでも異なっている良い3か所および4か所の抗原結合部位を形成する抗体である。

10

【0060】

単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は1か所以上の結合部位を有し得る。1か所より多くの結合部位が存在する場合、それらの結合部位は相互に同一であっても異なっているても良い。例えば、天然ヒト免疫グロブリンは2か所の同一な結合部位を有していることが典型的であり、一方で「二特異性」または「二官能性」抗体は2か所の異なる結合部位を有する。

【0061】

「ヒト抗体」という用語にはヒト免疫グロブリン配列に由来する1つ以上の可変領域と定常領域を有する全ての抗体が含まれる。1つの実施形態において、それら可変ドメインと定常ドメインの全てがヒト免疫グロブリン配列に由来する（完全ヒト抗体）。これらの抗体は様々な方法で調製されて良く、それらの方法の例が下で説明されており、それらにはヒト重鎖および/または軽鎖コード遺伝子に由来する抗体を発現するように遺伝的に改変されているマウスの目的の抗原による免疫を介した方法が含まれる。

20

【0062】

「ヒト化抗体」は、そのヒト化抗体がヒト患者に投与されたときにその抗体が非ヒト種抗体と比較して免疫応答を誘導する可能性が低くなるように、および/または程度が低い免疫応答を誘導するように、その非ヒト種に由来する抗体の配列と1か所以上のアミノ酸置換、欠失、および/または付加によって異なる配列を有する。1つの実施形態において、ヒト化抗体を作製するために非ヒト種抗体の重鎖および/または軽鎖のフレームワークドメインと定常ドメインの中のある特定のアミノ酸に突然変異が形成される。別の実施形態において、ヒト抗体の定常ドメインが非ヒト種の可変ドメインに融合される。別の実施形態において、非ヒト抗体がヒト患者に投与されたときのその抗体のあり得る免疫原性を減少させるためにその非ヒト抗体の1つ以上のCDR配列中の1個以上のアミノ酸残基が変更されるが、そのヒト化抗体の抗原への結合がその非ヒト抗体の抗原への結合よりもあまり悪くならないようにそれらの変更されるアミノ酸残基はその抗体の抗原への免疫特異的結合にとって重要ではないか、またはそのアミノ酸配列へ変更が保存的変更で行われるかのどちらかである。ヒト化抗体の作製法の例を米国特許第6054297号明細書、第5886152号明細書および第5877293号明細書に見ることができる。

30

【0063】

抗体を含む本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は、 10^{-7} Mまたはそれより低い解離定数（以下で定義される K_d 、または対応する K_b ）値によって判定される高い結合親和性でヒトグルカゴン受容体などの抗原に結合する場合、その抗原に「特異的に結合」する。ヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は他の種に由来するグルカゴン受容体にも同じ親和性、または異なる親和性で結合して良い。

40

【0064】

「エピトープ」は単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質（例えば、抗体）が結合する分子のその部分である。エピトープはその分子の非連続的な部分（例えば、ポリペプチドの場合、そのポリペプチドの一次配列では連続していないが、そのポリペプチドの三次

50

構造および四次構造の状況では抗原結合性拮抗タンパク質が結合するほど十分に相互に近傍にあるアミノ酸残基)を含み得る。

【0065】

「医薬組成物」は動物またはヒトにおける製薬学的用途にとって適切な組成物を指す。医薬組成物は薬理学的有効量および/または治療有効量の活性薬剤と薬学的に許容可能な担体を含む。「薬学的に許容可能な担体」は、動物またはヒトに投与されたときに有害反応、アレルギー反応、または他の不都合な反応を引き起こすことがない組成物を指す。本明細書において使用される場合、「薬学的に許容可能な担体」は標準的な医薬担体、ベヒクル、緩衝剤、およびリン酸緩衝生理食塩水溶液、5%ブドウ糖水溶液のような担体、および水中油型乳剤または油中水型乳剤のような乳剤、および様々な種類の湿潤剤、および/またはアジュバントのうちのいずれをも指す。適切な医薬担体と製剤はRemington's Pharmaceutical Sciences、第21版、2005年、マック・パブリッシング社、イーストンの中に記載されている。「薬学的に許容可能な塩」は製薬学的用途のために化合物の中に製剤することができる、例えば、金属塩(ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウム、等)およびアンモニアまたは有機アミンの塩をはじめとする塩である。

10

【0066】

本明細書において使用される場合、ヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の「治療有効量」は、本開示の方法および本請求の方法に準じて患者に与えられると次の生物学的活性のうちの1つを達成する、すなわち、1型糖尿病を治療する、または過剰糖新生、過剰グリコーゲン分解、高血糖症、高グルカゴン血症、ケトン症、糖尿病性ケトアシドーシス、高トリグリセリド血症、血漿中遊離脂肪酸濃度上昇、体重減少、異化作用不全症候群、末期疾患、高血圧症、糖尿病性腎症、腎機能不全、腎不全、過食症、筋肉消耗、糖尿病性神経障害、糖尿病性網膜症、または糖尿病性昏睡、過剰HbA1cレベル、多尿症(頻尿)、多飲症(口渇感増長)、口内乾燥症(ドライマウス)、過食症(空腹感増長)、もしくは疲労から選択されるT1Dの1つ以上の症状を軽減、抑制、減弱化、または阻止するようなタンパク質の量を指す。ある特定の実施形態において、そのような治療有効量は内在性インスリンを基本的に欠いている患者においてそのような活性を達成する。他の実施形態において、そのような治療有効量は外因性インスリンの供与が無い状態で患者においてそのような活性を達成する。

20

30

【0067】

「治療する」、「治療すること」および「治療」という用語は生物学的障害および/またはその随伴症状のうちの少なくとも1つを緩和または抑止する方法を指す。本明細書において使用される場合、疾患、障害または病気を「緩和」することは疾患、障害、または病気の症状の重症度および/または発生頻度を低減することを意味する。さらに、本明細書における「治療」への言及には治療的処置、対症的処置、および予防的処置への言及が含まれる。

【0068】

本明細書および添付されている特許請求の範囲において使用される場合、単数形の「a」、「or」、および「the」は文脈から明確にそうではないことが示されていない限り複数の指示物を含む。本明細書に記載される本開示の態様とその変形例にはある態様と変形例から「なる」こと、および/または「基本的になる」ことが含まれることが理解される。

40

【0069】

本明細書中の「約」が付いた値またはパラメーターへの言及は、その値またはパラメーター自体を対象とする変量を含む(および、その変量を説明する)。例えば、「約X」を参照する説明は「X」の説明を含む。

【0070】

1型糖尿病

糖尿病は、体によるインスリンの不適切な産生、または体によるインスリンに対する不

50

適切な応答のどちらか、またはそれら両方に起因する持続性の可変的高血糖症を特徴とする障害である。1型糖尿病(T1D)('1型真性糖尿病'および'免疫介在型糖尿病'としても知られており、以前は'若年発症型糖尿病'または'インスリン依存型糖尿病'として知られていた)は、感受性が高い個体では小児期に発症することが典型的である自己免疫障害である。自己免疫機構による大半のインスリン産生性膵臓β細胞の破壊がT1D発病の根底にある。手短に言うと、その生物がインスリン産生を担当する膵臓β細胞に対する免疫寛容を失い、且つ、自己抗体の産生に関連した主に細胞介在性の免疫応答を誘導し、それによってβ細胞の自己破壊が引き起こされる。

【0071】

現在のところ数百万人の人々がT1Dを患っており、全体の発生率は大半の集団で毎年約3~5%上昇している。T1Dの背景リスクの約50%が環境因子に起因すると考えられているが、その残りはその障害に対する感受性に影響を与える最大で20種類の様々な遺伝子に関する遺伝的原因に起因する。その遺伝的影響のうち、約50%がヒト白血球抗原(HLA)クラスIIアレルHLA-DRおよびHLA-DQ内の遺伝的変異を伴うようである。

【0072】

現在のところT1Dの治療法は存在しないが、早期検出によって長期合併症の可能性を低下させることができ、それによってクオリティ・オブ・ライフの改善、および入院を繰り返すことにより生じる費用の軽減の両方が可能になる。例えば、自己抗体陽性であると以前に特定された子供では診断時に入院率がかなり低く(3.3%対44%)、1か月後の平均糖化ヘモグロビンがより低く、且つ、1年後の平均インスリン用量がより低いことが示されている。したがって、予測的検査は診断時の罹患率と医療費を減少させるようであり、且つ、診断後の早い時期に代謝機能をより好適なものにする可能性がある。

【0073】

未治療の1型糖尿病は、例えば、糖尿病性ケトアシドーシス、過剰糖新生、過剰グリコーゲン分解、高血糖症、高グルカゴン血症、ケトン症、高トリグリセリド血症、血漿中遊離脂肪酸濃度上昇、体重減少、高血圧症、糖尿病性腎症、腎機能不全、腎不全、過食症、筋肉消耗、糖尿病性神経障害、および糖尿病性網膜症を引き起こし得る。失われたホルモンが注射による外因性インスリンを用いる治療によって補われるか、または破壊された膵臓β細胞の機能置換が行われる(例えば、膵臓移植または膵島細胞移植)ことがない限り、T1Dは致死的である。

【0074】

T1Dは食事の管理および血糖レベルの綿密なモニタリングと共に典型的には注射またはインスリンポンプを介するインスリン補充療法によって治療される。現在のところ、インスリン療法は一生にわたって続けられなくてはならない。不運なことに、インスリン療法には短期的な欠点と長期的な欠点の両方が存在する。インスリン単独療法についての主な短期的問題は、インスリンの末梢注射によって得られる毎日のグルコースプロファイルの不安定性である。最適に管理された患者でさえも毎日の高血糖の急激な上昇と時折の低血糖の下落があり、それは筋肉および脂肪などの遠位標的のインスリン要求をはるかに超えることがなければα細胞および肝細胞などの近位標的の高いインスリン要求を満足させることができないという末梢に注射されたインスリンの多大な解剖学的欠点に起因する可能性がある。正常な膵島においてα細胞に流れる内在性インスリンの膵島内濃度は末梢注射によって生じるレベルの20倍よりも高いと推定されており、肝臓に流れる内在性インスリンの濃度は4倍から5倍高いと推定されている。このことは、末梢血漿中の高濃度の外因性インスリンですらこれらの2つの近位インスリン標的に流れる内在性グルコース産生を制御する内在性インスリンの生理的レベルに近づくことができないことを意味している。生涯にわたるインスリン単独療法の主な長期的問題は、1型糖尿病のよく特徴づけられた一要素であるインスリン抵抗性、脂肪毒性の誘導および高脂血症の発生と関連付けられている重篤で慢性的な医原性高インスリン血症、低血糖症の発生率と重症度の上昇、およびインスリンの脂質合成作用に起因する、冠動脈疾患などの心血管障害および脳卒中を

10

20

30

40

50

引き起こすそのアテローム硬化性合併症である。T1Dの人はインスリン注射または注入によって生き永らえることができるが、それらはその疾患を治すこともなければ、その疾患の重篤な副次的影響の可能性を必ずしも抑止することもない。

【0075】

ある特定の極端な事例では、膵臓移植または膵島細胞移植が適正なグルコース制御の回復に役立ち、一時的な治療として機能する場合があります。膵臓移植は腎臓移植も必要な場合に推奨されることが一般的である。新しい腎臓を導入することはどのみち免疫抑制剤の服用を必要とし、これによってあらゆる追加の免疫抑制治療を行うことなく糖尿病の患者に新しい機能する膵臓を導入することができるのがこの理由である。膵島細胞移植では患者の肝臓に膵島細胞が注入され、そこで膵島細胞が定着し、インスリンの産生を開始する。肝臓は膵臓よりも利用しやすく、膵島細胞はその環境でインスリンを十分に産生するようなので肝臓は最も合理的な選択肢であると期待されている。しかしながら、それらの新しい細胞はちょうど他のあらゆる外来性組織の導入と同じように患者の体によって扱われる。それらの細胞は細菌の感染または皮膚移植片であるかのように免疫系によって攻撃される。したがって、患者は免疫系の活性を低下させる免疫抑制剤を伴う治療を受ける必要もある。

10

【0076】

マウスにおける実験的化学誘導性糖尿病の受け入れられているモデルは低用量のストレプトゾトシン(LDSTまたはSTZ)の反復注射による糖尿病の誘導である(Likeら著、Science誌、第193巻:415~417頁、1976年;O'Brienら著、J. Pathol.誌、第178巻:176~18頁、1996年)。ストレプトゾトシンは直接的なβ細胞への細胞毒性ならびにβ細胞に対する細胞介在性自己免疫反応の開始によって糖尿病を引き起こす(Paikら著、Proc Natl Acad Sci USA誌、第77巻:6129~6133頁、1980年)。LDST処理マウスに由来する活性化脾臓細胞の養子移入によって未処理の健康なマウスにおいて糖尿病が誘導されることが開示されている(同文献)。化学誘導性糖尿病の別の受け入れられているモデルはアロキサンの反復注射による糖尿病の誘導である(S. Lenzén著、Diabetologia誌、第51巻(第2号):216~226頁、2008年)。自己免疫性T1Dの追加の受け入れられており、且つ、広く使用されているモデルは非肥満糖尿病(NOD)マウスであり、そのマウスはヒトT1Dと同様に様々な期間の膵島炎の後に突然に糖尿病を発症する。NODマウスは4~5週齢より膵島炎を示し、様々な期間の慢性炎症の後、約10~20週間後に糖尿病が発症し、大半のメスが30週齢までに糖尿病になる(Delovitchら著、Immunity誌、第7巻:727~738頁、1997年;Kikutaniら著、Adv Immunol.誌、第51巻:285~322頁、1992年)。

20

30

【0077】

グルカゴン受容体および抗原結合性拮抗タンパク質

グルカゴンは、プロホルモンとプロニューロペプチドの細胞内成熟に關与する神経内分泌特異的プロテアーゼであるプロホルモン転換酵素2(PC2)の細胞特異的発現によって膵臓α細胞においてそのプレプロ型をプロセッシングして作られる29アミノ酸ホルモンである(Furutaら著、J. Biol. Chem.誌、第276巻:27197~27202頁(2001年))。生体内ではグルカゴンはインスリン作用に対する主要な逆調節性ホルモンである。空腹時にグルコースレベルの低下に応じてグルカゴン分泌が増加する。増加したグルカゴン分泌により、肝臓のグリコーゲン分解と糖新生の促進によるグルコース産生が刺激される(DunningおよびGerich著、Endocrine Reviews誌、第28巻:253~283頁(2007年))。したがって、グルカゴンは動物における正常なグルコースレベルの維持においてインスリンの効果を相殺する。

40

【0078】

グルカゴンの生物学的効果には特異的な細胞表面受容体であるグルカゴン受容体への結

50

合とその後の活性化が介在する。グルカゴン受容体（G C G R）はGタンパク質共役受容体セクレチンサブファミリー（ファミリーB）のメンバーである。ヒトG C G Rは477アミノ酸配列GPCRであり、G C G Rのアミノ酸配列は種を越えてよく保存されている（Mayoら著、Pharmacological Rev.誌、第55巻：167～194頁、（2003年））。グルカゴン受容体は主に肝臓で発現し、それは肝臓では肝臓でのグルコース産生を調節し、腎臓および膵島β細胞では糖新生におけるその役割を反映する。肝臓におけるグルカゴン受容体の活性化によりアデニルシクラーゼの活性およびホスホイノシトール代謝回転が刺激され、それが引き続いてホスホエノールビルビン酸カルボキシキナーゼ（PEPCK）、フルクトース-1,6-ビスホスファターゼ（FBPase-1）、およびグルコース-6-ホスファターゼ（G-6-Pase）を含む糖新生酵素の発現増加を引き起こす。加えて、グルカゴンシグナル伝達によってグリコーゲンホスホリラーゼが活性化され、グリコーゲンシンターゼが抑制される。高めの基底グルカゴンレベルと食後のグルカゴン分泌の抑制欠如がヒトにおいて糖尿病状態に寄与することが研究から示されている（Mullerら著、N Eng J Med誌、第283巻：109～115頁（1970年））。したがって、G C G Rアンタゴニストを使用してグルカゴンの産生または機能を標的とすることによって血糖を制御し、低下させる方法が探索されている。

【0079】

様々な実施形態において、本開示の抗原結合性拮抗タンパク質は、細胞上に発現される膜結合型グルカゴン受容体に結合し、グルカゴン受容体を介するグルカゴンシグナル伝達を阻害または遮断するように選択され得る。様々な実施形態において、本開示の抗原結合性拮抗タンパク質はヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する。様々な実施形態において、ヒトグルカゴン受容体に結合する本抗原結合性拮抗タンパク質は他の種のグルカゴン受容体に結合しても良い。幾つかの種のグルカゴン受容体のポリヌクレオチド配列とポリペプチド配列（例えば、マウスグルカゴン受容体（受託番号AAH57988）またはラットグルカゴン受容体（NM 172092））が知られている（例えば、ヒト、ラット、マウスおよびカニクイザルのグルカゴン受容体のポリヌクレオチド配列とポリペプチド配列についてのその具体的な教示のために参照によりその全体が本明細書に援用される米国特許第7947809号明細書を参照されたい）。本開示の様々な実施形態において、本抗原結合性拮抗タンパク質は配列番号1に示されるアミノ酸配列を有するヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する。

ヒト（Homo sapiens）グルカゴン受容体アミノ酸配列
（受託番号AAI04855）

M P P C Q P Q R P L L L L L L L A C Q P Q V P S A Q V M D F L F E K W K L Y G
D Q C H H N L S L L P P P T E L V C N R T F D K Y S C W P D T P A N T T A N I S
C P W Y L P W H H K V Q H R F V F K R C G P D G Q W V R G P R G Q P W R D A S Q
C Q M D G E E I E V Q K E V A K M Y S S F Q V M Y T V G Y S L S L G A L L L A L
A I L G G L S K L H C T R N A I H A N L F A S F V L K A S S V L V I D G L L R T
R Y S Q K I G D D L S V S T W L S D G A V A G C R V A A V F M Q Y G I V A N Y C
W L L V E G L Y L H N L L G L A T L P E R S F F S L Y L G I G W G A P M L F V V
P W A V V K C L F E N V Q C W T S N D N M G F W W I L R F P V F L A I L I N F F
I F V R I V Q L L V A K L R A R Q M H H T D Y K F R L A K S T L T L I P L L G V
H E V V F A F V T D E H A Q G T L R S A K L F F D L F L S S F Q G L L V A V L Y
C F L N K E V Q S E L R R R W H R W R L G K V L W E E R N T S N H R A S S S P G
H G P P S K E L Q F G R G G G S Q D S S A E T P L A G G L P R L A E S P F（配列
番号1）

様々な実施形態において、それら引用された参照文献に記載されるグルカゴン受容体に対して少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、ま

たは少なくとも99%の(当技術分野において知られており、且つ、本明細書に記載される方法を用いて計算される)同一性を有するグルカゴン受容体に特異的に結合する本開示の抗原結合性拮抗タンパク質も本開示に含まれる。

【0080】

ヒトグルカゴン受容体などの抗原に結合する抗体の作製方法が当業者に知られている。例えば、標的抗原ポリペプチドに特異的に結合するモノクローナル抗体を作製するための方法は、検出可能な免疫応答を刺激するために有効である量の、その標的抗原ポリペプチドを含む免疫原性組成物をマウスに投与すること、そのマウスから抗体産生細胞(例えば、脾臓由来細胞)を入手し、それらの抗体産生細胞を骨髓腫細胞と融合して抗体産生性ハイブリドーマを得ること、およびそれらの抗体産生性ハイブリドーマを検査してその標的抗原ポリペプチドに特異的に結合するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを特定することを含み得る。一旦ハイブリドーマが獲得されると、細胞培養物の中で、所望によりハイブリドーマ由来細胞が標的抗原ポリペプチドに特異的に結合するモノクローナル抗体を産生する培養条件下でそのハイブリドーマを増殖させることができる。そのモノクローナル抗体はその細胞培養物から精製され得る。そこで、特に望ましい抗体を特定するために多種多様な技術が抗原/抗体相互作用の試験に利用可能である。

10

【0081】

例えば、ライブラリーから組換え抗体を選択する方法、または全レパートリーのヒト抗体を産生することが可能な遺伝子導入動物(例えば、マウス)の免疫に依存する方法をはじめとした、必要な特異性を有する抗体を作製または単離する他の適切な方法を使用することができる。例えば、Jakobovitsら著、Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)誌、第90巻:2551~2555頁、1993年;Jakobovitsら著、Nature誌、第362巻:255~258頁、1993年;Lomborgら、米国特許第5545806号明細書、およびSuraniら、米国特許第5545807号明細書を参照されたい。

20

【0082】

種々の方法で抗体を改変することができる。それらの抗体は単鎖抗体(小型モジュール免疫薬剤、すなわちSMIP(商標)を含む)、FabおよびF(ab')₂断片等として作製され得る。抗体はヒト化され得る、キメラ化され得る、脱免疫化され得る、または完全ヒト型であり得る。多数の刊行物が多種多様な抗体とそのような抗体の作製方法について説明している。例えば、米国特許第6355245号明細書、第6180370号明細書、第5693762号明細書、第6407213号明細書、第6548640号明細書、第5565332号明細書、第5225539号明細書、第6103889号明細書、および第5260203号明細書を参照されたい。

30

【0083】

キメラ抗体は当技術分野において知られている組換えDNA技術によって作製され得る。例えば、マウス(または他の種)モノクローナル抗体分子のFc定常領域をコードしている遺伝子を制限酵素で消化してマウスFcをコードする領域を取り外し、そしてヒトFc定常領域をコードしている遺伝子の同等の部分置換する(Robinsonら、国際特許出願公開PCT/US86/02269号明細書;Akiraら、欧州特許出願公開第184187号明細書;Taniguchi, M., 欧州特許出願公開第171496号明細書;Morrisonら、欧州特許出願公開第173494号明細書;Neubergerら、国際出願公開第86/01533号パンフレット、Cabilllyら、米国特許第4816567号明細書;Cabilllyら、欧州特許出願公開第125023号明細書;Betterら著、Science誌、第240巻:1041~1043頁、1988年;Liuら著、Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)誌、第84巻:3439~3443頁、1987年;Liuら著、J. Immunol.誌、第139巻:3521~3526頁、1987年;Sunら著、Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)誌、第84巻:214~218頁、1987年;Nishimuraら著、Canc. Res.誌、第47巻:999~1005頁、1987

40

50

年；Woodら著、Nature誌、第314巻：446～449頁、1985年、およびShawら著、J. Natl. Cancer Inst.誌、第80巻：1553～1559頁、1988年を参照されたい）。

【0084】

抗体をヒト化するための方法が当技術分野において説明されている。幾つかの実施形態において、ヒト化抗体は非ヒトCDRに加えてヒトではない起源から導入された1個以上のアミノ酸残基を有する。ヒト化は基本的にWinterと共同研究者の方法に従い、超可変領域配列をヒト抗体の対応配列に対して置換することにより実施され得る（Jonesら著、Nature誌、第321巻：522～525頁、1986年；Riechmannら著、Nature誌、第332巻：323～327頁、1988年；Verhoevenら著、Science誌、第239巻：1534～1536頁、1988年）。したがって、そのような「ヒト化」抗体は、完全なヒト可変領域よりもかなり小さな領域が非ヒト種に由来する対応配列によって置換されているキメラ抗体である（米国特許第4816567号明細書）。実際にはヒト化抗体は、数個の超可変領域残基と可能であれば数個のフレームワーク領域残基がげっ歯類抗体中の類似の部位の残基によって置換されているヒト抗体であることが典型的である。

10

【0085】

Queenらの米国特許第5693761号は抗体のヒト化についてのWinterらの方法に対する改良点を開示しており、CDRが折り畳まれてマウス抗体中に見出される結合可能構造になることを立体構造的または他の化学的不適合性のために妨げるそのヒト化フレームワーク中の構造的モチーフ内の問題に結合能力喪失の原因があるとする前提に基づいている。この問題に対処するため、Queenはヒト化されるマウス抗体のフレームワーク配列に対して直鎖ペプチド配列の状態非常に相動的なヒトフレームワーク配列を使用することを教示している。したがって、Queenの方法は種間でフレームワーク配列を比較することに焦点を当てている。典型的には、全ての利用可能なヒト可変領域配列を特定のマウス配列と比較し、対応するフレームワーク残基間のパーセンテージ同一性を算出する。それらのフレームワーク配列をヒト化プロジェクトに提供するために最も高いパーセンテージを有するヒト可変領域を選択する。QueenはCDRを結合可能構造の中に支持するために重要なマウスフレームワーク由来のある特定のアミノ酸残基をヒト化フレームワークの中に保持することが重要であることも教示している。潜在的な重要度は分子モデルから評価される。保持される候補残基は典型的には直鎖配列の状態CDRに隣接する残基、またはどのCDR残基からでも物理的にその6以内にある残基である。

20

30

【0086】

他のアプローチでは、特定のフレームワークアミノ酸残基の重要性は、Riechmannら著、1988年によって記載されるように低結合能力ヒト化コンストラクトが一旦得られると個々の残基をマウス配列のものに戻し、抗原結合をアッセイすることによって実験的に決定される。フレームワーク配列中の重要なアミノ酸を特定するための別の例となるアプローチはCarterらの米国特許第5821337号およびAdairらの米国特許第5859205号によって開示されている。これらの参考文献は、フレームワーク内の特異的なKabab残基位置であって、ヒト化抗体中では結合能力を維持するために対応するマウスのアミノ酸による置換を必要とし得る前記残基位置を開示している。

40

【0087】

抗体をヒト化する「フレームワークシャッフリング」と呼ばれる別の方法は、個々のヒト生殖系列フレームワークをまとめたものにインフレームで融合された非ヒトCDR可変領域を含むコンビナトリアルライブラリーの作製に依存する（Dall'Aquilaら著、Methods誌、第36巻：43頁、2005年）。次に良好な結合を保持するヒト化抗体をコードするクローンを特定するためにそれらのライブラリーがスクリーニングされる。

【0088】

ヒト化抗体の作製の際に使用される軽鎖と重鎖の両方のヒト可変領域の選択が抗原性を

50

低下させるために非常に重要である。いわゆる「ベストフィット」法によると、げっ歯類抗体の可変領域の配列が公知のヒト可変ドメイン配列からなる全ライブラリーに対してスクリーニングされる。そして、そのげっ歯類抗体の可変領域の配列に最も近いヒト配列がヒト化抗体用のヒトフレームワーク領域（フレームワーク領域）として受け入れられる（Simsら著、J. Immunol. 誌、第151巻：2296頁、1993年；Chothiaら著、J. Mol. Biol. 誌、第196巻：901頁、1987年）。別の方法は、特定のサブグループの軽鎖可変領域または重鎖可変領域を有する全ヒト抗体のコンセンサス配列に由来する特定のフレームワーク領域を使用する。同じフレームワークを幾つかの異なるヒト化抗体に使用することができる（Carterら著、Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 誌、第89巻：4285頁、1992年；Presteraら著、J. Immunol. 誌、第151巻：2623頁、1993年）。

【0089】

ヒト可変領域の中に置換される非ヒト残基の選択は様々な因子によって影響を受け得る。これらの因子には、例えば、特定の位置にあるアミノ酸の希少性、CDRまたは抗原のどちらかとの相互作用の確率、および軽鎖可変ドメイン接触面と重鎖可変ドメイン接触面との間の接触面に参加する確率が含まれる（例えば、米国特許第5693761号明細書、第6632927号明細書、および第6639055号明細書を参照されたい）。これらの因子を分析するための1つの方法は非ヒト配列とヒト化配列の三次元モデルの使用を介したものである。三次元免疫グロブリンモデルは一般的に利用可能であり、当業者によく知られている。選択された候補免疫グロブリン配列のありそうな三次元立体配座構造を例示および提示するコンピュータプログラムが利用可能である。これらの提示物の調査により、候補免疫グロブリン配列の機能におけるそれらの残基のあり得る役割についての分析、例えば、候補免疫グロブリンの抗原への結合能力に影響を与える残基の分析が可能になる。標的抗原への増加した親和性などの所望の抗体特性を達成するために、このようにして非ヒト残基を選択し、ヒト可変領域残基に置換することができる。

【0090】

完全ヒト抗体を作製するための方法が当技術分野において説明されている。例として、抗GCGR抗体またはその抗原結合性抗体断片を作製するための方法は、ファージ上でヒト抗体のライブラリーを合成するステップ、GCGRまたはその抗体結合部分を用いてライブラリーをスクリーニングするステップ、GCGRに結合するファージを単離するステップ、およびそのファージから抗体を獲得するステップを含む。別の例として、ファージディスプレイ技術に使用される抗体ライブラリーを調製するための1つの方法は、ヒト免疫グロブリン遺伝子座を備える非ヒト動物をGCGRまたはその抗原性部分で免疫して免疫応答を生じさせるステップ、その免疫された動物から抗体産生細胞を取り出すステップ、それらの取り出された細胞から本開示の抗体の重鎖と軽鎖をコードするRNAを単離するステップ、そのRNAを逆転写してcDNAを作製するステップ、プライマーを使用してcDNAを増幅するステップ、およびファージディスプレイベクターにそのcDNAを挿入して抗体をファージ上に発現させるステップを含む。本開示の組換え抗GCGR抗体はこのようにして獲得され得る。

【0091】

また、例として、本開示の組換えヒト抗GCGR抗体は、組換えコンビナトリアル抗体ライブラリーをスクリーニングすることによっても単離され得る。そのライブラリーは、B細胞から単離されたmRNAより調製されたヒトV_L cDNAとV_H cDNAを使用して作製されたscFvファージディスプレイライブラリーであることが好ましい。そのようなライブラリーを調製し、そしてスクリーニングするための方法が当技術分野において知られている。ファージディスプレイライブラリーを作製するためのキットが市販されている（例えば、Pharmaciaリコンビナント・アンティボディ・システム、カタログ番号27-9400-01；およびStratagene Surfactant（商標）ファージディスプレイキット、カタログ番号240612）。抗体ディスプレイライブラリーの作製およびスクリーニングにおいて使用され得る他の方法および試薬も存在する

(例えば、全ての参照により本明細書に援用される米国特許第5223409号明細書、PCT国際公開第92/18619号パンフレット、第91/17271号パンフレット、第92/20791号パンフレット、第92/15679号パンフレット、第93/01288号パンフレット、第92/01047号パンフレット、第92/09690号パンフレット、Fuchsら著、Bio/Technology誌、第9巻：1370～1372頁(1991年)；Hayら著、Hum. Antibod. Hybridomas誌、第3巻：81～85頁、1992年；Huseら著、Science誌、第246巻：1275～1281頁、1989；McCaffertyら著、Nature誌、第348巻：552～554頁、1990年；Griffithsら著、EMBO J.誌、12巻：725～734頁、1993年；Hawkinsら著、J. Mol. Biol.誌、第226巻：889～896頁、1992年；Clacksonら著、Nature誌、第352巻：624～628頁、1991年；Gramら著、Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S. A.)誌、第89巻：3576～3580頁、1992年；Garradら著、Bio/Technology誌、第9巻：1373～1377頁、1991年；Hoogenboomら著、Nuc. Acid Res.誌、第19巻：4133～4137頁、1991年；およびBarbasら著、Proc. Natl. Acad. Sci. (U. S. A.)誌、第88巻：7978～7982頁、1991年)を参照されたい)。

【0092】

ヒト抗体は、ヒト免疫グロブリン重鎖遺伝子座および軽鎖遺伝子座の幾つか、または全てをゲノム内に含む非ヒト遺伝子導入動物、例えばXenomouse(商標)動物(Abgenix社/Amgene社、フリーモント、カリフォルニア州)をヒトIgE抗原で免疫することによっても作製される。Xenomouse(商標)マウスは、ヒト免疫グロブリン重鎖遺伝子座と軽鎖遺伝子座の大きな断片を含み、且つ、マウス抗体の産生が欠損している遺伝子改変マウス株である。例えば、Greenら著、Nature Genetics誌、第7巻：13～21頁、1994年および米国特許第5916771号明細書、第5939598号明細書、第5985615号明細書、第5998209号明細書、第6075181号明細書、6091001号明細書、第6114598号明細書、第6130364号明細書、第6162963号明細書、および第6150584号明細書を参照されたい。Xenomouse(商標)マウスは成体様ヒトレパートリーの完全ヒト抗体を産生し、抗原特異的ヒト抗体を生成する。幾つかの実施形態において、Xenomouse(商標)マウスは酵母人工染色体(YAC)中のヒト重鎖遺伝子座とカップ軽鎖遺伝子座のメガベースサイズの生殖系列構成断片の導入を介してヒト抗体V遺伝子レパートリーの約80%を含む。他の実施形態において、Xenomouse(商標)マウスはヒトラムダ軽鎖遺伝子座のほぼ全てをさらに含む。Mendezら著、Nature Genetics誌、第15巻：146～156頁、1997年；GreenおよびJakobovits著、J. Exp. Med.誌、第188巻：483～495頁、1998年；および国際公開第98/24893号パンフレットを参照されたい。

【0093】

様々な実施形態において、本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体またはその抗原結合断片、組換え抗体、ディアボディ、キメラ化もしくはキメラ抗体またはその抗原結合断片、ヒト化抗体またはその抗原結合断片、完全ヒト抗体またはその抗原結合断片、CDR移植抗体またはその抗原結合断片、単鎖抗体、Fv、Fd、Fab、Fab'、またはF(ab')₂、および合成もしくは半合成抗体である抗体またはその抗原結合性抗体断片を利用している。

【0094】

様々な実施形態において、本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は、例えば、少なくとも約 1×10^{-7} M、少なくとも約 1×10^{-8} M、少なくとも約 1×10^{-9} M、少なくとも約 1×10^{-10} M、少なくとも約 1×10^{-11} M、または少なくとも約 1×10^{-12} Mの解離定数(K_D)で免疫チェックポイントタンパク質抗原に結

10

20

30

40

50

合する抗体または抗原結合断片を利用している。様々な実施形態において、本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は、例えば、少なくとも約 1×10^{-7} M から少なくとも約 1×10^{-8} M、少なくとも約 1×10^{-8} M から少なくとも約 1×10^{-9} M、少なくとも約 1×10^{-9} M から少なくとも約 1×10^{-10} M、少なくとも約 1×10^{-10} M から少なくとも約 1×10^{-11} M、または少なくとも約 1×10^{-11} M から少なくとも約 1×10^{-12} M の範囲の解離定数 (K_D) で免疫チェックポイントタンパク質抗原に結合する抗体または抗原結合断片を利用している。

【0095】

グルカゴン受容体に対する抗体は、例えば、米国特許第 5770445 号明細書および第 7947809 号明細書、欧州特許出願公開第 2074149 (A2) 号明細書、欧州特許第 0658200 (B1) 号明細書、米国特許出願公開第 2009/0041784 号明細書、第 2009/0252727 号明細書、第 2013/0344538 号明細書および第 2014/0335091 号明細書、および PCT 出願国際公開第 2008/036341 号パンフレットに記載されている。本発明の様々な実施形態において、前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は、例えば、様々な抗 GCGR 抗体または抗原結合断片のポリヌクレオチド配列とポリペプチド配列についてのその具体的な教示のために各々参照によりその全体が本明細書に援用される米国特許第 7947809 号明細書および第 8158759 号明細書に明記されているポリヌクレオチド配列とポリペプチド配列を備える抗 GCGR (「アンタゴニスト性」) 抗体または抗原結合断片である。

【0096】

本開示の様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号 2 に示される重鎖可変領域配列を備える抗体のものと同等以上の抗原結合親和性を有する抗 GCGR 抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号 2 に示される重鎖可変領域配列を備える抗体と同じエピトープに結合する抗 GCGR 抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号 2 に示される重鎖可変領域配列を備える抗体と競合する抗 GCGR 抗体である。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号 2 に示される重鎖可変領域配列の少なくとも 1 つ (例えば、2 つ、または 3 つの) CDR を含む抗 GCGR 抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は配列番号 2 に示される重鎖可変領域配列を備える抗 GCGR 抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は配列番号 2 に示される重鎖可変領域配列、すなわち

Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S C A A S G F T F S S Y G M H W V R Q
A P G K G L E W V A V M W Y D G S N K D Y V D S V K G R F T I S R D N S K N T L
Y L Q M N R L R A E D T A V Y Y C A R E K D H Y D I L T G Y N Y Y Y G L D V W G
Q G T T V T V S S (配列番号 2)

を含む抗 GCGR 抗体であり得る。

【0097】

本開示の様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号 3 に示される軽鎖可変領域配列を備える抗体のものと同等以上の抗原結合親和性を有する抗 GCGR 抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号 3 に示される軽鎖可変領域配列を備える抗体と同じエピトープに結合する抗 GCGR 抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号 3 に示される軽鎖可変領域配列を備える抗体と競合する抗 GCGR 抗体である。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号 3 に示される軽鎖可変領域配列の少なくとも 1 つ (例えば、2 つ、または 3 つの) CDR を含む抗 GCGR 抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は配列番号 3 に示される軽鎖可変領域配列を備える抗 GCGR 抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は配列番号 3 に示される軽鎖可変領域配列、すなわち

D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q G I R N D L G W Y Q Q K
P G K A P K R L I Y A A S S L Q S G V P S R F S G S G S G T E F T L T I S S V Q
P E D F V T Y Y C L Q H N S N P L T F G G G T K V E I K (配列番号 3)

を含む抗 GCGR 抗体であり得る。

【0098】

様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号2または3の配列と、例えば、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の観察された相同性を共有するアミノ酸配列を含む。

【0099】

本開示の様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号4に示される重鎖可変領域配列を備える抗体のものと同等以上の抗原結合親和性を有する抗GCGR抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号4に示される重鎖可変領域配列を備える抗体と同じエピトープに結合する抗GCGR抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号4に示される重鎖可変領域配列を備える抗体と競合する抗GCGR抗体である。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号4に示される重鎖可変領域配列の少なくとも1つ（例えば、2つ、または3つの）CDRを含む抗GCGR抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は配列番号4に示される重鎖可変領域配列を備える抗GCGR抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は配列番号4に示される重鎖可変領域配列、すなわち

Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S C A A S G F T F S S Y G M H W V R Q
A P G K G L E W V A V M W Y D G S N K D Y V D S V K G R F T I S R D N S K N T L
Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R E K D H Y D I L T G Y N Y Y Y G L D V W G
Q G T T V T V S S（配列番号4）

を含む抗GCGR抗体であり得る。

【0100】

本開示の様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号5に示される軽鎖可変領域配列を備える抗体のものと同等以上の抗原結合親和性を有する抗GCGR抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号5に示される軽鎖可変領域配列を備える抗体と同じエピトープに結合する抗GCGR抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号5に示される軽鎖可変領域配列を備える抗体と競合する抗GCGR抗体である。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号5に示される軽鎖可変領域配列の少なくとも1つ（例えば、2つ、または3つの）CDRを含む抗GCGR抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は配列番号5に示される軽鎖可変領域配列を備える抗GCGR抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は配列番号5に示される軽鎖可変領域配列、すなわち

D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q G I R N D L G W Y Q Q K
P G K A P K R L I Y A A S S L Q S G V P S R F S G S G S G T E F T L T I S S L Q
P E D F V T Y Y C L Q H N S N P L T F G G G T K V E I K（配列番号5）

を含む抗GCGR抗体であり得る。

【0101】

様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号4または5の配列と、例えば、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の観察された相同性を共有するアミノ酸配列を含む。

【0102】

本開示の様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号6に示される重鎖可変領域配列を備える抗体のものと同等以上の抗原結合親和性を有する抗GCGR抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号6に示される重鎖可変領域配列を備える抗体と同じエピトープに結合する抗GCGR抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号6に示される重鎖可変領域配列を備える抗体と競合する抗GCGR抗体である。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号6に示される重鎖可変領域

配列の少なくとも1つ（例えば、2つ、または3つの）CDRを含む抗GCGR抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は配列番号6に示される重鎖可変領域配列を備える抗GCGR抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は配列番号6に示される重鎖可変領域配列、すなわち

Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S C A A S G F T F S S Y G M H W V R Q
A P G K G L E W V A V M W Y D G S N K D Y V D S V K G R F T I S R D N S K N T L
Y L Q M N R L R A E D T A V Y Y C A R E K D H Y D I L T G Y N Y Y Y G L D V W G
Q G T T V T V S S（配列番号6）

を含む抗GCGR抗体であり得る。

【0103】

本開示の様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号7に示される軽鎖可変領域配列を備える抗体のものと同等以上の抗原結合親和性を有する抗GCGR抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号7に示される軽鎖可変領域配列を備える抗体と同じエピトープに結合する抗GCGR抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号7に示される軽鎖可変領域配列を備える抗体と競合する抗GCGR抗体である。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号7に示される軽鎖可変領域配列の少なくとも1つ（例えば、2つ、または3つの）CDRを含む抗GCGR抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は配列番号7に示される軽鎖可変領域配列を備える抗GCGR抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は配列番号7に示される軽鎖可変領域配列、すなわち

D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q G I R N D L G W Y Q Q K
P G K A P K R L I Y A A S S L E S G V P S R F S G S G S G T E F T L T I S S V Q
P E D F V T Y Y C L Q H N S N P L T F G G G T K V E I K（配列番号7）

を含む抗GCGR抗体であり得る。

【0104】

様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号6または7の配列と、例えば、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の観察された相同性を共有するアミノ酸配列を含む。

【0105】

本開示の様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号8に示される重鎖配列を備えるキメラ抗体のものと同等以上の抗原結合親和性を有する抗GCGR抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号8に示される重鎖配列を備える抗体と同じエピトープに結合する抗GCGR抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号8に示される重鎖配列を備える抗体と競合する抗GCGR抗体である。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号8に示される重鎖配列の少なくとも1つ（例えば、2つ、または3つの）CDRを含む抗GCGR抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は配列番号8に示される重鎖配列を備える抗GCGR抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号8に示される重鎖配列、すなわち

M E F G L S W V F L V A L L R G V Q C Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L
S C A A S G F T F S S Y G M H W V R Q A P G K G L E W V A V M W Y D G S N K D Y
V D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N R L R A E D T A V Y Y C A R E K
D H Y D I L T G Y N Y Y Y G L D V W G Q G T T V T V S S A K T T P P S V Y P L A
P G S A A Q T N S M V T L G C L V K G Y F P E P V T V T W N S G S L S S G V H T
F P A V L Q S D L Y T L S S S V T V P S S T W P S E T V T C N V A H P A S S T K
V D K K I V P R D C G C K P C I C T V P E V S S V F I F P P K P K D V L T I T L
T P K V T C V V V D I S K D D P E V Q F S W F V D D V E V H T A Q T Q P R E E Q
F N S T F R S V S E L P I M H Q D W L N G K E F K C R V N S A A F P A P I E K T
I S K T K G R P K A P Q V Y T I P P P K E Q M A K D K V S L T C M I T D F F P E

10

20

30

40

50

D I T V E W Q W N G Q P A E N Y K N T Q P I M D T D G S Y F V Y S K L N V Q K S
N W E A G N T F T C S V L H E G L H N H H T E K S L S H S P G K (配列番号 8)
を含む抗 G C G R 抗体であり得る。

【 0 1 0 6 】

本開示の様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号 9 に示される軽鎖配列を備えるキメラ抗体のものと同等以上の抗原結合親和性を有する抗 G C G R 抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号 9 に示される軽鎖配列を備える抗体と同じエピトープに結合する抗 G C G R 抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号 9 に示される軽鎖配列を備える抗体と競合する抗 G C G R 抗体である。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号 9 に示される軽鎖配列の少なくとも 1 つ (例えば、2 つ、または 3 つの) C D R を含む抗 G C G R 抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は配列番号 9 に示される軽鎖配列を備える抗 G C G R 抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は配列番号 9 に示される軽鎖配列、すなわち

M D M R V P A Q L L G L L L L W F P G A R C D I Q M T Q S P S S L S A S V G D
R V T I T C R A S Q G I R N D L G W Y Q Q K P G K A P K R L I Y A A S S L E S G
V P S R F S G S G S G T E F T L T I S S V Q P E D F V T Y Y C L Q H N S N P L T
F G G G T K V E I K R A D A A P T V S I F P P S S E Q L T S G G A S V V C F L N
N F Y P K D I N V K W K I D G S E R Q N G V L N S W T D Q D S K D S T Y S M S S
T L T L T K D E Y E R H N S Y T C E A T H K T S T S P I V K S F N R N E C (配列
番号 9)

を含む抗 G C G R 抗体であり得る。

【 0 1 0 7 】

様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号 8 または 9 の配列と、例えば、少なくとも 7 0 %、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の観察された相同性を共有するアミノ酸配列を含む。

【 0 1 0 8 】

本開示の様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号 1 0、配列番号 1 1、配列番号 1 2、配列番号 1 3、配列番号 1 4、配列番号 1 5、配列番号 1 6、配列番号 1 7、配列番号 1 8、配列番号 1 9、配列番号 2 0、配列番号 2 1、配列番号 2 2、配列番号 2 3、配列番号 2 4、配列番号 2 5、配列番号 2 6、配列番号 2 7、および配列番号 2 8 から選択される重鎖可変領域配列と配列番号 2 9、配列番号 3 0、配列番号 3 1、配列番号 3 2、配列番号 3 3、配列番号 3 4、配列番号 3 5、配列番号 3 6、配列番号 3 7、配列番号 3 8、配列番号 3 9、配列番号 4 0、配列番号 4 1、配列番号 4 2、配列番号 4 3、配列番号 4 4、配列番号 4 5、配列番号 4 6、および配列番号 4 7 から選択される軽鎖可変領域配列を備える抗 G C G R 抗体であり得る。様々な実施形態において、前記抗体は、配列番号 1 0 ~ 2 8 または配列番号 2 9 ~ 4 7 の配列と、例えば、少なくとも 7 0 %、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の観察された相同性を共有するアミノ酸配列を含む。

抗GCGR抗体の例

HCVR	LCVR
配列番号 2	配列番号 3
配列番号 4	配列番号 5
配列番号 6	配列番号 7
配列番号 10	配列番号 29
配列番号 11	配列番号 30
配列番号 12	配列番号 31
配列番号 13	配列番号 32
配列番号 14	配列番号 33
配列番号 15	配列番号 34
配列番号 16	配列番号 35
配列番号 17	配列番号 36
配列番号 18	配列番号 37
配列番号 19	配列番号 38
配列番号 20	配列番号 39
配列番号 21	配列番号 40
配列番号 22	配列番号 41
配列番号 23	配列番号 42
配列番号 24	配列番号 43
配列番号 25	配列番号 44
配列番号 26	配列番号 45
配列番号 27	配列番号 46
配列番号 28	配列番号 47

10

20

30

40

50

【0109】

本開示の単離抗GCGR抗体、本開示の抗体断片、または本開示の抗体誘導体は当技術分野において知られているあらゆる定常領域を含み得る。その軽鎖定常領域は、例えば、カッパまたはラムダタイプの軽鎖定常領域、例えばヒトカッパまたはラムダタイプの軽鎖定常領域であり得る。その重鎖定常領域は、例えば、アルファ、デルタ、イプシロン、ガンマ、またはミュータイプの重鎖定常領域、例えば、ヒトアルファ、デルタ、イプシロン、ガンマ、またはミュータイプの重鎖定常領域であり得る。様々な実施形態において、前記軽鎖定常領域または重鎖定常領域は天然定常領域の断片、誘導体、変異体、または改変タンパク質である。

【0110】

目的の抗体から異なるサブクラスまたはアイソタイプの抗体を誘導するための技術、すなわち、サブクラススイッチングが知られている。したがって、IgG抗体が例えばIgM抗体に由来することも、その反対もあり得る。そのような技術により、所与の抗体（親抗体）の抗原結合特性を持つが、親抗体のものと異なる抗体アイソタイプまたはサブクラスに関連する生物学的特性も持つ新しい抗体の調製が可能になる。組換えDNA技術を用いても良い。特定の抗体ポリペプチドをコードするクローン化DNA、例えば、所望のアイソタイプの抗体の定常ドメインをコードするDNAをそのような技法に用いても良い。Lanittora著、Methods Mol. Biol. 誌、第178巻：303～16頁（2002年）も参照されたい。

【0111】

様々な実施形態において、本開示の単離抗原結合タンパク質は配列番号48に示される

カップパ軽鎖定常領域またはその断片を含む。様々な実施形態において、本開示の単離抗原結合タンパク質は配列番号 49 に示されるラムダ軽鎖定常領域またはその断片を含む。様々な実施形態において、本開示の単離抗原結合タンパク質は配列番号 50 に示されている IgG2 重鎖定常領域またはその断片を含む。

【0112】

様々な実施形態において、本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は配列番号 51 に示される重鎖配列を備え、且つ、番号 52 に示される軽鎖配列を備える。

【0113】

本開示の様々な実施形態において、前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質はヘミボディである。「ヘミボディ」は、完全な重鎖、完全な軽鎖、およびその完全な重鎖の Fc 領域と対合した 2 つ目の重鎖 Fc 領域を含む免疫学的に機能的な免疫グロブリン構築物である。その重鎖 Fc 領域とその第 2 重鎖 Fc 領域を連結するためにリンカーを用いることができるが、リンカーが必要なわけでもない。様々な実施形態において、前記ヘミボディは (i) 完全軽鎖と (ii) Fc 領域 (例えば、IgG2 Fc 領域) に融合した重鎖を含む一価抗原結合タンパク質である。ヘミボディを調製するための方法は、例えば、そのようなヘミボディの調製を教示する目的で本明細書における参照によりその全体が本明細書に援用される米国特許出願公開第 2012/0195879 号明細書に記載されている。

10

【0114】

医薬組成物

20

別の態様では本開示は 1 種類以上の薬学的に許容可能な担体と共に本明細書に記載される単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質を含む医薬組成物を提供する。本明細書に記載されるそれらの医薬組成物および使用方法は、下で詳細に説明されるように他の活性薬剤との併用 (共投与) 実施形態も包含する。

【0115】

概して、本開示の前記アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は 1 種類以上の薬学的に許容可能な担体と合同した製剤として投与されるのに適している。「担体」という用語は、本開示の化合物以外のあらゆる成分を記述するために本明細書において使用される。担体の選択は特定の投与モード、溶解性と安定性に対する担体の効果、および剤形の性質などの因子に大いに依存することになる。本明細書において使用される場合、「薬学的に許容可能な担体」には生理学的に適合するありとあらゆる溶媒、分散媒、被覆材、抗菌剤と抗真菌剤、等張化剤、および吸収遅延化剤などが含まれる。薬学的に許容可能な担体の幾つかの例は水、生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水、ブドウ糖、グリセロール、エタノールなど、ならびにそれらの組合せである。多くの事例において、前記組成物はその組成物の中に等張化剤、例えば糖類、マンニトール、ソルビトールなどのポリアルコール類、または塩化ナトリウムを含む。薬学的に許容可能な物質の追加例は湿潤剤、または湿潤もしくは乳化剤、保存剤、もしくは緩衝剤などの少量の補助物質であり、それらは前記抗体の有効期間または有効性を向上させる。本開示の医薬組成物およびそれらの調製方法は容易に当業者に明らかになる。そのような組成物およびそれらの調製方法は、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences、第 19 版、(マック・パブリッシング社、1995 年) 内に見出すことができる。概して、前記医薬組成物は、無菌であり、実質的に等張であり、且つ、米国食品医薬品局の全ての GMP 規制を全面順守したものであるとして製剤される。

30

40

【0116】

本開示の医薬組成物は典型的には非経口投与に適切である。本明細書において使用される場合、医薬組成物の「非経口投与」には患者組織の物理的裂傷形成とその組織のその裂傷を介した医薬組成物の投与を特徴とし、したがって一般的には血流、筋肉、または内臓へ直接的に投与することになるあらゆる投与経路が含まれる。したがって、非経口投与には医薬組成物の注射によるその組成物の投与、外科的切開を介したその組成物の塗布によるその組成物の投与、組織貫通性非外科的創傷を介したその組成物の塗布によるその組成

50

物の投与などが含まれるがこれらに限定されない。具体的に、非経口投与は皮下注射または注入、腹膜内注射または注入、筋肉内注射または注入、胸骨内注射または注入、静脈内注射または注入、動脈内注射または注入、髄腔内注射または注入、脳室内注射または注入、尿道内注射または注入、頭蓋内注射または注入、滑膜内注射または注入、または腎臓透析注入技術を含むと考えられているがこれらに限定されない。

【0117】

非経口投与に適切な医薬組成物製剤は典型的には無菌水または無菌等張生理食塩水などの薬学的に許容可能な担体と混合されて有効成分を含むことが一般的である。そのような製剤はポーラス投与または連続投与に適切な形態で調製、包装、または販売されて良い。注射可能製剤は、保存剤を含むアンプルまたは複数回投与用容器などの単位剤形の状態で調製、包装、または販売されて良い。非経口投与用製剤には懸濁剤、水剤、油性ベヒクルまたは水性ベヒクル中の乳剤、ペースト剤などが含まれるがこれらに限定されない。そのような製剤は、懸濁化剤、安定化剤または分散化剤を含むがこれらに限定されない1種類以上の追加の成分をさらに含んで良い。非経口投与用製剤の1つの実施形態において、前記有効成分は、再構成された組成物の非経口投与前に適切なベヒクル（例えば無菌発熱性物質非含有水）と共に再構成されるように乾燥形状（すなわち、粉末形状または顆粒形状）で提供される。非経口製剤には塩、炭水化物および緩衝剤（好ましくは3から9までのpH）などの担体を含み得る水剤も含まれるが、幾つかの用途について非経口製剤は無菌非水性溶液として、または無菌発熱性物質非含有水などの適切なベヒクルと併せて使用される乾燥体としてより適切に製剤され得る。例となる非経口投与剤形には無菌水溶液、例えばプロピレングリコール水溶液またはブドウ糖水溶液中の水剤または懸濁剤が含まれる。そのような剤形は所望により適切に緩衝化され得る。有用な他の非経口投与可能製剤には有効成分を微晶質形状またはリポソーム調製物形状で含むものが含まれる。非経口投与用製剤は即時放出および/または調節放出されるように製剤され得る。放出調節剤には遅延放出、持続性放出、パルス放出、制御放出、標的放出、およびプログラム放出が含まれる。

【0118】

例えば、1つの態様では無菌注射溶液は、必要に応じて上に列記した成分のうちの1つ、またはそれらの成分の組合せを含む適切な溶媒の中に必要な量の前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質を包含し、その後それをフィルター滅菌することで調製され得る。概して、分散剤は、基礎分散媒と上で列挙した成分の中の必要とされる他の成分を含む無菌ベヒクルの中に前記活性化化合物を包含することにより調製される。無菌注射溶液の調製用の無菌粉剤の場合では、以前に無菌濾過されたその溶液から真空乾燥および凍結乾燥などの調製方法によって追加のあらゆる所望の成分と前記有効成分からなる粉末が産生される。溶液の適正な流動性は、例えば、レシチンなどの被覆材の使用によって、分散剤の場合は要求される粒径の維持によって、および界面活性剤の使用によって維持され得る。注射可能組成物の長期吸収は吸収を遅らせる薬剤、例えばモノステアリン酸塩およびゼラチンを前記組成物の中に含むことによって可能になる。様々な実施形態において、それら注射可能組成物は市販の使い捨て注射用器具を使用して投与される。

【0119】

本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質を鼻腔内経路で投与することができ、または吸入により、典型的には乾燥粉剤吸入器からの（単独での、混合物としての、または、例えば、適切な薬学的に許容可能な担体と混合された混合成分粒子としての）乾燥粉剤の形状での吸入により投与することができ、適切な噴射剤の使用を含む、または含まない加圧容器、ポンプ、スプレー、噴霧器（好ましくは細かい霧を作製するために電気流体力学を使用する噴霧器）、またはネブライザからのエアロゾルスプレーとして投与することができ、または点鼻薬として投与することができる。

【0120】

概して、その加圧容器、ポンプ、スプレー、噴霧器、またはネブライザは、本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の溶液または懸濁液であって、例えば、前記活性

薬剤の分散、溶解、またはその放出の長期化にとって適切な薬剤である噴射剤を溶媒として含む前記溶液または懸濁液を含有する

【0121】

乾燥粉剤製剤または懸濁剤製剤の使用前に前記医薬製品は概して吸入による送達に適切なサイズ（典型的には5マイクロン未満）にまで微粉にされる。これはスパイラルジェットミリング、流動床ジェットミリング、ナノ粒子を形成するための超臨界流体プロセッシング、高圧ホモジナイゼーション、またはスプレー乾燥などのあらゆる適切な粉碎方法によって達成され得る。

【0122】

吸入器または散布器の中に使用するためのカプセル、プリスターおよびカートリッジは、本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質、適切な粉末基材、および性能調節剤からなる粉末混合物を含むように製剤され得る。

10

【0123】

メントールおよびレボメントールなどの適切な着香料、またはサッカリンもしくはサッカリナトリウムなどの甘味料を吸入/鼻腔内投与用の本開示の製剤に添加して良い。

【0124】

吸入/鼻腔内投与用の製剤は即時放出および/または調節放出されるように製剤され得る。放出調節剤には遅延放出、持続性放出、パルス放出、制御放出、標的放出、およびプログラム放出が含まれる。

【0125】

乾燥粉剤吸入器およびエアロゾル剤の事例では投薬単位は計量された量を送達する弁によって決定される。本開示に準拠する単位は、計量された用量または「一吹き」の本開示の抗体を投与するように用意されていることが典型的である。全体的な1日用量は単回投与で投与されることが典型的であり、より一般的には一日を通して複数に分割された用量として投与される。

20

【0126】

本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は経口投与用に製剤されても良い。経口投与はその化合物が胃腸管に入ることになる飲み込み、および/またはその化合物が口から直接的に血流に入るバツカル投与、舌投与、または舌下投与を含み得る。経口投与に適切な製剤には、錠剤、多粒子またはナノ粒子を含む軟質カプセル剤または硬質カプセル剤、液剤、または粉剤、ロゼンジ剤（液体充填型を含む）、チューイング剤、ゲル剤、急速分散剤形、フィルム剤、膣坐剤、スプレー剤、およびバツカル/粘膜付着パッチなどの固形系、半固形系、および液体系が含まれる。

30

【0127】

経口用の医薬組成物は医薬組成物の製造についての技術分野に知られているあらゆる方法に従って調製されて良く、薬学的に洗練されており、且つ、口当たりが良い調製物を提供するためにそのような組成物は甘味剤からなる群より選択される1種類以上の薬剤を含んで良い。例えば、経口送達用錠剤を調製するために前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質が少なくとも1種類の医薬担体と混合され、そしてその固形製剤が胃腸管への送達用に公知の方法に従って圧縮されて錠剤に成形される。その錠剤組成物は添加物、例えばサッカリド担体またはセルロース担体、デンプンペーストまたはメチルセルロースなどの結合剤、充填剤、崩壊剤、または医薬調製物の製造に通常は使用されることが典型的である他の添加物と共に製剤されることが典型的である。経口送達用カプセル剤を調製するためにDHEAが少なくとも1種類の医薬担体と混合され、そしてその固形製剤が胃腸管への送達に適切なカプセル容器の中に入れられる。単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質を含む組成物は、参照により本明細書に援用されるRemington's Pharmaceutical Sciences、第18版、1990年（マック・パブリッシング社、イーストン、ペンシルバニア州18042）の第89章に概ね記載されているように調製され得る。

40

【0128】

50

様々な実施形態において、前記医薬組成物は、錠剤の製造にとって適切である無毒の薬学的に許容可能な担体と混合して単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質を含む経口送達用錠剤として製剤される。これらの担体は炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム、ラクトース、リン酸カルシウムまたはリン酸ナトリウムなどの不活性希釈剤、顆粒化剤および崩壊剤、例えばトウモロコシデンプン、ゼラチンまたはアカシアガム、および滑沢剤、例えばステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、またはタルクであり得る。それらの錠剤は被覆されていなくても良く、または胃腸路における崩壊と吸収を遅らせることによってより長い期間にわたって持続性作用を提供するために公知の技術で被覆されても良い。例えば、モノステアリン酸グリセリルもしくはジノステアリン酸グリセリル単独またはワックスとそれらなどの時間遅延物質を用いて良い。

10

【0129】

様々な実施形態において、前記医薬組成物は、前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質が不活性固形希釈剤、例えば炭酸カルシウム、リン酸カルシウム、またはカオリンと混合している硬質ゼラチンカプセル剤として、または前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質が水性媒体または油性媒体、例えばラッカセイ油、ピーナッツ油、液体パラフィン、またはオリーブ油と混合している軟質ゼラチンカプセル剤として製剤される。

【0130】

液体製剤には懸濁剤、水剤、シロップ剤、およびエリキシル剤が含まれる。そのような製剤は（例えば、ゼラチンまたはヒドロキシプロピルメチルセルロースから作製された）軟質カプセル剤または硬質カプセル剤の中で充填剤として使用されて良く、典型的には担体、例えば水、エタノール、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、メチルセルロース、または適切な油と1種類以上の乳化剤および/または懸濁化剤を含む。液体製剤は例えばサシェの固形物の再構成によっても調製され得る。

20

【0131】

当技術分野において受け入れられているペプチド、タンパク質または抗体のあらゆる投与方法が本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質を投与するために適切に用いられ得る。

【0132】

治療方法

本開示の1つの態様では過剰レベルのグルカゴンおよび/または血糖を特徴とする障害または病気と診断された患者を治療するための方法であって、ヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を前記患者に投与することを含む前記方法が提供される。本明細書において使用される場合、「患者」という用語はヒトを含む哺乳類動物を指し、「患者」という用語と互換的に使用される。「治療」という用語は障害の少なくとも1つの症状または他の態様の緩和または予防、または疾患重症度の軽減化などを包含する。アンタゴニスト性抗原結合タンパク質、具体的には本開示に従うヒト抗体は実現可能な治療薬を構成するために完治を達成する必要は無く、または疾患の全ての症状または兆候を根絶する必要は無い。関連の分野において理解されているように、治療薬として使用される薬品は所与の疾患状態の重症度を軽減化し得るが、有用な治療薬として見なされるためにその疾患の全ての兆候を消失させる必要は無い。同様に、予防的に行われる治療は実現可能な予防薬を構成するために病気の発症の予防において完全に有効である必要は無い。疾患の影響を（例えば、その症状の数または重症度を減少させることにより、または別の治療の有効性を増強することにより、または別の有益な効果をもたらすことにより）単純に軽減化すること、または患者において疾患が発生または悪化する可能性を低下させることで充分である。本開示の1つの実施形態は、その特定の障害の重症度を反映する指標の基線よりも上の持続的な改善を誘導するのに十分な量および期間でヒト抗体などの単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質を患者に投与することを含む方法に関する。

30

40

【0133】

したがって、1つの態様では本開示は1型糖尿病（T1D）と診断された患者を治療す

50

るための方法であって、前記患者にインスリン補充を行うことなくヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与することを含む前記方法に関する。様々な実施形態において、その単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は、完全ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、抗原結合性抗体断片、F a b、F a b'、F a b₂、F a b'₂、I g G、I g M、I g A、I g E、s c F v、d s F v、d A b、ナノボディ、ユニボディ、またはディアボディから選択される抗体を含む。様々な実施形態において、その抗体は完全ヒトモノクローナル抗体である。

【0134】

様々な実施形態において、前記患者は自己免疫型T1Dを患っていて良い。様々な実施形態において、前記患者は化学誘導性T1Dを患っていて良い。様々な実施形態において、前記患者は様々な医学的状态下で医薬または外科手術によって機能不全になった膵臓、または膵臓の除去のために生じたT1Dを患っていて良い。様々な実施形態において、前記患者は次の発見、すなわち(a)低インスリン血症と併せた高血糖症、(b)膵臓β細胞の喪失の証拠と併せた高血糖症、(c)インスリンに対する正常な血糖応答と併せた高血糖症、(d)ケトアシドーシスと併せた高血糖症、(e)インスリン依存性と併せた高血糖症、または(f)高グルカゴン血症と併せた高血糖症の内の1つ以上の発見に基づいてT1Dであると診断されている。様々な実施形態において、「生理学的に不適当な量」が1型糖尿病の表現型を減弱化、阻止、抑制、低減、または軽減するには不十分である量として本明細書において規定される場合、前記患者は「生理学的に不適当な量」のインスリンを有し得る、または示し得る。したがって、そのような患者は非糖尿病患者から、および/または例えばインスリン抵抗性およびインスリン非感受性を特徴とする2型糖尿病の臨床症状を有する、または示す患者から区別される。

【0135】

別の態様では本開示はT1Dに関連する1つ以上の症状を軽減、抑制、減弱化、または阻止するための方法であって、T1Dと診断された患者にインスリン補充を行うことなくヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与することを含む前記方法を含む。様々な実施形態において、それらの1つ以上の症状は、過剰糖新生、過剰グリコーゲン分解、高血糖症、高グルカゴン血症、ケトン症、糖尿病性ケトアシドーシス、高トリグリセリド血症、血漿中遊離脂肪酸濃度上昇、体重減少、異化作用不全症候群、末期疾患、高血圧症、糖尿病性腎症、腎機能不全、腎不全、過食症、筋肉消耗、糖尿病性神経障害、糖尿病性網膜症、または糖尿病性昏睡、過剰HbA1cレベル、多飲症(口渇感増長)、口内乾燥症(ドライマウス)、過食症(空腹感増長)、疲労、多尿症(頻尿)、または腎臓透析から選択される。様々な実施形態において、その単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は、完全ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、抗原結合性抗体断片、F a b、F a b'、F a b₂、F a b'₂、I g G、I g M、I g A、I g E、s c F v、d s F v、d A b、ナノボディ、ユニボディ、またはディアボディから選択される抗体を含む。様々な実施形態において、その抗体は完全ヒトモノクローナル抗体である。

【0136】

別の態様では本開示はT1Dの発症リスクがある患者(例えば、平均よりも高いT1Dの発症リスクを有する患者)または初発のT1Dを有し、且つ、低残留性インスリン産生を有する患者を治療するための方法を提供する。これらの治療方法は、(a)T1Dの発症リスクがある(例えば、上昇したリスクがある)患者を特定すること、および(b)前記患者にインスリン補充を行うことなくヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与することによって実行され得る。T1Dの発症リスクがあると特定されたその患者は、例えば、臨床的に明らかな耐糖能障害があるか、またはそれが無いT1Dの家族歴を有していること、または耐糖能障害、および膵臓β細胞の喪失もしくは機能不全の証拠があることに基づいて診断された患者であり得る。様々な実施形態において、その単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は、完

全ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、抗原結合性抗体断片、F a b、F a b'、F a b₂、F a b'₂、I g G、I g M、I g A、I g E、s c F v、d s F v、d A b、ナノボディ、ユニボディ、またはディアボディから選択される抗体を含む。様々な実施形態において、その抗体は完全ヒトモノクローナル抗体である。

【0137】

別の態様では本開示は1型糖尿病(T1D)と診断された患者において高血糖症を元に戻すための方法であって、T1Dと診断された患者にインスリン補充を行うことなくヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与することを含む前記方法を含む。様々な実施形態において、その単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は、完全ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、抗原結合性抗体断片、F a b、F a b'、F a b₂、F a b'₂、I g G、I g M、I g A、I g E、s c F v、d s F v、d A b、ナノボディ、ユニボディ、またはディアボディから選択される抗体を含む。様々な実施形態において、その抗体は完全ヒトモノクローナル抗体である。

10

【0138】

別の態様では本開示は1型糖尿病(T1D)と診断された患者において膵島β細胞のインスリン分泌機能を増強するための方法であって、T1Dと診断された患者にインスリン補充を行うことなくヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与することを含む前記方法を含む。様々な実施形態において、その単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は、完全ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、抗原結合性抗体断片、F a b、F a b'、F a b₂、F a b'₂、I g G、I g M、I g A、I g E、s c F v、d s F v、d A b、ナノボディ、ユニボディ、またはディアボディから選択される抗体を含む。様々な実施形態において、その抗体は完全ヒトモノクローナル抗体である。

20

【0139】

ヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質、具体的には本開示の完全ヒト抗体は一定の期間にわたって定期的な間隔で例えば1回、または1回よりも多く投与されて良い。様々な実施形態において、完全ヒト抗体は一定の期間にわたって少なくとも1カ月以上につき一回、例えば1カ月につき一回、2か月につき一回、または3か月につき一回、または不確定の頻度でも投与される。慢性の病気の治療については長期治療が非常に有効であることが一般的である。しかしながら、急性の病気の治療についてはより短い期間の投与、例えば、1～6週間までの投与で充分であり得る。概して、前記完全ヒト抗体は、患者が選択された指標または選択された複数の指標について基線よりも上の医学的に適切な程度の改善を示すまで投与される。

30

【0140】

本明細書において提供される治療計画の一例は、血糖レベルが関与する病気を治療するために適切な投与量で単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質を週に一度、または2週間に一度皮下注射することを含む。単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の週に一度、2週間に一度、または月に一度の投与は所望の結果が達成されるまで、例えば、患者の症状が治まるまで継続されることになる。治療は必要に応じて再開されて良く、あるいは維持用量が投与されて良い。

40

【0141】

患者の血糖レベルは、あるとすれば幾らかでもそれらのレベルの変化を検出するためにヒト抗体などの単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前、治療中、および/または治療後にモニターされて良い。幾つかの障害について、血糖上昇の発生率は疾患ステージなどの因子に従って変化し得る。グルコースレベルを測定するために公知の技術が用いられて良い。グルカゴンレベルも公知の技術、例えばE L I S Aを用いて患者の血液の中で測定されて良い。

【0142】

50

治療的に有効な用量は、 IC_{50} を決定することによって細胞培養アッセイから最初に推定され得る。その後、用量は、細胞培養において決定される IC_{50} を含む循環血漿中濃度範囲を達成するために動物モデルにおいて定式化され得る。そのような情報はヒトにおける有用な用量をより精密に決定するために使用され得る。血漿中のレベルは、例えば、HPLCまたはその治療薬に特異的な抗イディオタイプ抗体を使用する免疫アッセイによって測定され得る。患者の病気を診る個々の医師によって正確な組成物、投与経路、および投与量が選択され得る。

【0143】

投与計画を調節して最適な所望の応答（例えば、治療的応答または予防的応答）をもたらすことができる。例えば、単回ボースを投与することができ、一定の期間にわたって数回に分割された用量（複数回用量または反復用量または維持用量）を投与することができ、そして急迫した治療状況によって示されるように比例的にその用量を減少または増加することができる。投与を簡単にし、且つ、投与量を均一にするために投薬単位剤形で非経口組成物を製剤することが特に有利である。本明細書において使用される投薬単位剤形は治療を受ける哺乳類対象への統一的な投与量として適切な物理的に別々の単位を指し、各単位は必要とされる医薬担体と共に所望の治療効果をもたらすように計算された所定の量の活性化化合物を含む。本開示の投薬単位剤形の仕様は主に前記抗体に独特の特性、および達成されるべき特定の治療効果または予防効果によって決定づけられる。

【0144】

したがって、当業者は本明細書において提供される開示に基づいて治療技術分野においてよく知られている方法に準拠して用量と投与計画が調節されることを理解することになる。すなわち、最大忍容用量を容易に確定することができ、検出可能な治療利益を患者に提供するための各薬剤を投与する時間的要求事項を決定できるように検出可能な治療利益をその患者に対して提供する有効量を決定することもできる。したがって、ある特定の用量と投与計画が本明細書において例示されるが、これらの例は本開示の実施に際して患者に提供され得る用量と投与計画を決して限定しない。

【0145】

投与量の値は緩和されるべき病気の種類と重症度によって変化する場合があり得、それらは単回用量または複数回用量を含み得ることが特筆されるべきである。どの特定の患者についても具体的な投与計画は、その個人の要求と前記組成物の投与を行い、またはその投与を指揮する人物の専門的な判断に応じて時間と共に調節されるべきであること、および本明細書において明記される投与量範囲はただの例示であり、本請求の構成要素の範囲または実施を制限することを意図したものではないことがさらに理解されるべきである。さらに、本開示の組成物を用いる投与計画は疾患の種類、患者の年齢、体重、性別、医療状態、病気の重症度、投与経路、および使用される特定の抗体をはじめとする様々な因子に基づいて良い。したがって、投与計画は大幅に変化する場合があり得るが、それは標準的方法を用いて日常的に決定され得る。例えば、用量は薬物動態パラメーターまたは薬力学パラメーターに基づいて調節されて良く、それらのパラメーターは毒性効果および/または検査室値などの臨床効果を含み得る。したがって、本開示は当業者によって決定される患者内用量増加を包含する。適切な投与量および投与計画の決定は関連の技術分野においてよく知られており、本明細書において開示される教示が一旦提供されるとそのような決定が包含されることが当業者によって理解されることになる。

【0146】

本開示の医薬組成物の毒性および治療指数は、例えば LD_{50} （集団の50%にとって致死的である用量）および ED_{50} （集団の50%において治療上有効である用量）のための細胞培養物または実験動物における標準的薬学的手法によって決定され得る。有毒な用量と治療的に有効な用量との間の用量の比率が治療指数であり、それは比率 LD_{50}/ED_{50} として表され得る。大きい治療指数を示す組成物が一般的に好ましい。

【0147】

様々な実施形態において、前記医薬組成物の単回投与または複数回投与が、患者が必要

とし、且つ、患者によって認容される投与量および投与頻度に応じて行われる。あらゆる事象において、前記組成物は患者を効果的に治療するために本明細書において開示される単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質のうちの少なくとも1つを十分な量で提供するべきである。その投与量を一度投与することができるが、治療成果が達成されるまでか、または副作用のために治療の中断が許されるまでのどちらかで、その投与量を定期的に適用してよい。

【0148】

前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質医薬組成物の投与の投与頻度はその治療の性質と治療されている特定の疾患に依存する。患者は所望の治療成果が達成されるまで一週間毎、二週間毎、または一月毎などの定期的な間隔で治療され得る。例となる投与頻度には休薬期間無しで週に一回；週に一回、隔週；2週間に一回；3週間に一回；2週間にわたって休薬期間無しで毎週、その後で毎月；3週間にわたって休薬期間無しで毎週、その後で毎月；毎月；一月おきに一回；3か月に一回；4か月に一回；5か月に一回；6か月に一回；7か月に一回；8か月に一回；9か月に一回；10か月に一回；11か月に一回；または毎年が含まれるがこれらに限定されない。

10

【0149】

ヒト患者への投与について、本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の毎月の総用量は、当然投与モードに応じて患者当たり0.5～1200mg、患者当たり0.5～1100mg、患者当たり0.5～1000mg、患者当たり0.5～900mg、患者当たり0.5～800mg、患者当たり0.5～700mg、患者当たり0.5～600mg、患者当たり0.5～500mg、患者当たり0.5～400mg、患者当たり0.5～300mg、患者当たり0.5～200mg、患者当たり0.5～100mg、患者当たり0.5～50mg、患者当たり1～1200mg、患者当たり1～1100mg、患者当たり1～1000mg、患者当たり1～900mg、患者当たり1～800mg、患者当たり1～700mg、患者当たり1～600mg、患者当たり1～500mg、患者当たり1～400mg、患者当たり1～300mg、患者当たり1～200mg、患者当たり1～100mg、または患者当たり1～50mgの範囲内にあり得る。例えば、毎月の静脈内用量は患者当たり約1～1000mgを必要とし得る。様々な実施形態において、本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は患者当たり約1～500mgの毎月の静脈内用量で投与され得る。様々な実施形態において、本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は患者当たり約1～400mgの毎月の静脈内用量で投与され得る。様々な実施形態において、本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は患者当たり約1～300mgの毎月の静脈内用量で投与され得る。様々な実施形態において、本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は患者当たり約1～200mgの毎月の静脈内用量で投与され得る。様々な実施形態において、本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は患者当たり約1～150mgの毎月の静脈内用量で投与され得る。様々な実施形態において、本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は患者当たり約1～100mgの毎月の静脈内用量で投与され得る。様々な実施形態において、本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は患者当たり約1～50mgの毎月の静脈内用量で投与され得る。その毎月の総用量は単回用量または分割用量で投与されてよく、医師の裁量で本明細書において示された典型的な範囲から外れてよい。

20

30

40

【0150】

本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量または予防有効量についての例となる非限定的な毎週または二週間毎の投与範囲は、体重に対して0.001～100mg/kg、0.001～90mg/kg、0.001～80mg/kg、0.001～70mg/kg、0.001～60mg/kg、0.001～50mg/kg、0.001～40mg/kg、0.001～30mg/kg、0.001～20mg/kg、0.001～10mg/kg、0.001～5mg/kg、0.001～4mg/kg、0.001～3mg/kg、0.001～2mg/kg、0.001～1mg/kg、0.010～50mg/kg、0.010～40mg/kg、0.010～30mg/kg

50

g、0.010～20mg/kg、0.010～10mg/kg、0.010～5mg/kg、0.010～4mg/kg、0.010～3mg/kg、0.010～2mg/kg、0.010～1mg/kg、0.1～50mg/kg、0.1～40mg/kg、0.1～30mg/kg、0.1～20mg/kg、0.1～10mg/kg、0.1～5mg/kg、0.1～4mg/kg、0.1～3mg/kg、0.1～2mg/kg、0.1～1mg/kg、1～50mg/kg、1～40mg/kg、1～30mg/kg、1～25mg/kg、1～20mg/kg、1～15mg/kg、1～10mg/kg、1～7.5mg/kg、1～5mg/kg、1～4mg/kg、1～3mg/kg、1～2mg/kgであり得、または体重に対して1mg/kgであり得る。投与量の値は緩和されるべき病気の種類と重症度によって変化する場合があり得ることが特筆されるべきである。どの特定の患者についても具体的な投与計画は、その個人の要求と前記組成物の投与を行い、またはその投与を指揮する人物の専門的な判断に応じて時間と共に調節されるべきであること、および本明細書において明記される投与量範囲はただの例示であり、本請求の構成要素の範囲または実施を制限することを意図したものではないことがさらに理解されるべきである。

10

【0151】

様々な実施形態において、投与された総用量は、例えば、約1～1000μg/ml、約1～750μg/ml、約1～500μg/ml、約1～250μg/ml、約10～1000μg/ml、約10～750μg/ml、約10～500μg/ml、約10～250μg/ml、約20～1000μg/ml、約20～750μg/ml、約20～500μg/ml、約20～250μg/ml、約30～1000μg/ml、約30～750μg/ml、約30～500μg/ml、約30～250μg/mlの範囲内の血漿中抗体濃度を達成する。

20

【0152】

様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は、単剤療法またはインスリン補充と併用のどちらかで体重に対して0.01mg/kgになる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して0.025mg/kgになる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して0.05mg/kgになる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して0.075mg/kgになる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して0.1mg/kgになる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して0.25mg/kgになる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して0.5mg/kgになる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して0.75mg/kgになる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して1mg/kgになる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して1.5mg/kgになる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して2mg/kgになる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して2.5mg/kgになる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して3mg/kgになる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離ア

30

40

50

ンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して 3 . 5 m g / k g になる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して 4 m g / k g になる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して 4 . 5 m g / k g になる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して 5 m g / k g になる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して 5 . 5 m g / k g になる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して 6 m g / k g になる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して 6 . 5 m g / k g になる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して 7 m g / k g になる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して 7 . 5 m g / k g になる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して 8 m g / k g になる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して 8 . 5 m g / k g になる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して 9 m g / k g になる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して 9 . 5 m g / k g になる。様々な実施形態において、治療有効量の本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質に適した毎週または二週間毎の用量は体重に対して 1 0 m g / k g になる。

【 0 1 5 3 】

インスリン補充

T 1 D では膵臓がもはやインスリンを産生しないので、T 1 D の患者はその膵臓のインスリン産生不能を補うためにインスリン注射を受けるか、またはインスリンポンプを使用する必要がある。T D 1 向けのインスリンの正常な 1 日投与量は一日当たり 9 0 ~ 1 2 0 単位、または一日当たり 6 0 ~ 9 0 単位、または一日当たり 3 0 ~ 6 0 単位である。様々な実施形態において、本開示の方法はインスリン補充を企図しているが、より低いレベル、例えばインスリンの正常な 1 日投与量の 9 0 % より下の約 8 0 % と 9 0 % の間、8 0 % より下の約 7 0 % と 8 0 % の間、7 0 % より下の約 6 0 % と 7 0 % の間、6 0 % より下の約 5 0 % と 6 0 % の間、5 0 % より下の約 4 0 % と 5 0 % の間、4 0 % より下の約 3 0 % と 4 0 % の間、3 0 % より下の約 2 0 % と 3 0 % の間、2 0 % より下の約 1 0 % と 2 0 % の間、約 1 0 ~ 1 5 % の間、約 5 ~ 1 0 % の間、および 4 % 、 3 . 5 % 、 3 % 、 2 . 5 % 、 2 % 、 1 . 5 % 、 1 % 、 0 . 5 % 、 0 . 4 % 、 0 . 3 % 、 0 . 2 % 、または 0 . 1 % を含む 0 % と 5 % の間であるレベルでのインスリン補充を企図している。本開示の方法によって所与の患者はヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の開始後にインスリン投与量を漸進的に緩やかに減少させて良く、幾つかの例ではもはやインスリン補充を必要としなくて良くなると考えられている。

【 0 1 5 4 】

様々な実施形態において、前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質と共投与されるインスリンは、例えば、即効性（リスプロ [ヒューマログ（登録商標）] 、アスパルト [ノボログ（登録商標）] 、グルリジン [アピドラ（登録商標）] ）、短期作用性（レギュラー）、中間時間作用性（N P H ）、および長期作用性（グラルギン [ランタス（登録商標）] 、デテミル [レベミル（登録商標）] ）から選択される。インスリン作用（それ

がピークを迎える時、またはそれが最も強い時、およびどれくらいそれが継続するか)は人それぞれ異なって良い。

【0155】

注射によるインスリン補充を用いる典型的な「単剤療法」向けの投与計画、投与スケジュール、注射方法、および他の全般的指針はよく知られており、且つ、当業者によって理解されており、各患者向けに特異的に調整される。個々の患者の目下の臨床状況に応じてインスリン療法は単回注射法、2回注射法、または頻回注射法を含み得る。様々な実施形態において、本開示の方法は、例えば、朝食の20～30分前に受ける1日当たり体重に対して0.5～1.0単位/kgの単回注射を含む。様々な実施形態において、本開示の方法は1回の注射が朝食の前にあり、残りの注射が夕食の20～30分前にある2回注射法を含む。様々な実施形態において、本開示の方法は「ボラスインスリン」を投与するために1回の注射を主要なそれぞれの食事(朝食、昼食および夕食)の20～30分前に受け、且つ、「基底インスリン」のために中間時間作用性インスリンを一日に一回または二回投与する頻回注射法を含む。通常、ボラスインスリンは総用量の60%を構成し、基底インスリンは残りの40%を構成する。これらのインスリン単独療法計画の各々は幾らか有効であるが、それらの全体的な有効性を限定する欠点を有していることが当業者によって理解されている。

10

【0156】

産生された内在性インスリンのレベルは(コネクティング・ペプチドの)C-ペプチドと呼ばれるタンパク質のレベルによって反映される。インスリンの産生過程において、体は最初にプロインスリンを産生し、その後でそれがインスリンとC-ペプチドに切断される。したがって、2型糖尿病の患者から1型糖尿病の患者を区別しようとするとき、医師はC-ペプチドを評価することができる。1型糖尿病に見られるように、低インスリン血症は循環血液中のC-ペプチドのレベル低下によって反映される。

20

【0157】

併用療法

本明細書において使用される場合、「共投与」、「共投与された」および「との併用で」という用語は本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質および1つ以上の他の治療薬に関して次のこと、すなわち、治療を必要とする患者への本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質と治療薬のそのような組合せの同時投与であって、そのような成分を実質的に同時に前記患者へ放出する単一の剤形に前記成分が一緒に製剤されるときの前記同時投与；治療を必要とする患者への本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質と治療薬のそのような組合せの実質的な同時投与であって、前記患者によって実質的に同時に取り込まれるとそのような成分を実質的に同時に前記患者へ放出する別々の剤形に前記成分が相互に離間して製剤されるときの前記実質的な同時投与；治療を必要とする患者への本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質と治療薬のそのような組合せの連続投与であって、各投与の間にかかなりの時間間隔をあけて前記患者によって連続的に取り込まれるとそのような成分を実質的に異なる時間で前記患者へ放出する別々の剤形に前記成分が相互に離間して製剤されるときの前記連続投与；および治療を必要とする患者への本開示の単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質と治療薬のそのような組合せの連続投与であって、各部分が同じ経路または異なる経路のどちらで投与されても良い場合にそのような成分が制御放出されると前記成分を同時および/または異なる時間で前記患者へ同時に、連続的に、および/または重複的に放出する単一の剤形に前記成分が一緒に製剤されるときの前記連続投与を意味するものとし、且つ、そのような投与を指し、且つ、そのような投与を含む。

30

40

【0158】

別の態様では本開示は1型糖尿病(T1D)と診断された患者を治療するための方法であって、前記患者に(a)ヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与すること、および(b)インスリン補充を行うことを含む前記方法に関する。様々な実施形態において、その単離アンタゴニスト性抗原

50

結合タンパク質は、完全ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、抗原結合性抗体断片、F a b、F a b'、F a b₂、F a b'₂、I g G、I g M、I g A、I g E、s c F v、d s F v、d A b、ナノボディ、ユニボディ、またはディアボディから選択される抗体を含む。様々な実施形態において、その抗体は完全ヒトモノクローナル抗体である。様々な実施形態において、そのインスリン補充は、インスリンの正常な1日投与量の約70%~90%の間、約50%~70%の間、約30%~50%の間、約15%~30%の間、約10~15%の間、約5~10%の間、および4%、3.5%、3%、2.5%、2%、1.5%、1%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%、または0.1%を含む0%と5%の間であり得るインスリン用量を投与することを含む。

10

【0159】

様々な実施形態において、前記患者は自己免疫型T1Dを患っていて良い。様々な実施形態において、前記患者は化学誘導性T1Dを患っていて良い。様々な実施形態において、前記患者は様々な医学的状態下で医薬または外科手術によって機能不全になった膵臓、または膵臓の除去のために生じたT1Dを患っていて良い。様々な実施形態において、前記患者は次の発見、すなわち(a)低インスリン血症と併せた高血糖症、(b)膵臓β細胞の喪失の証拠と併せた高血糖症、(c)インスリンに対する正常な血糖応答と併せた高血糖症、(d)ケトアシドーシスと併せた高血糖症、(e)インスリン依存性と併せた高血糖症、または(f)高グルカゴン血症と併せた高血糖症の内の1つ以上の発見に基づいてT1Dであると診断されている。様々な実施形態において、「生理学的に不適当な量」が1型糖尿病の表現型を減弱化、阻止、抑制、低減、または軽減するには不十分である量として本明細書において規定される場合、前記患者は「生理学的に不適当な量」のインスリンを有し得る、または示し得る。したがって、そのような患者は非糖尿病患者から、および/または例えばインスリン抵抗性およびインスリン非感受性を特徴とする2型糖尿病の臨床症状を有する、または示す患者から区別される。

20

【0160】

別の態様では本開示はT1Dに関連する1つ以上の症状を軽減、抑制、減弱化、または阻止するための方法であって、T1Dと診断された患者に(a)ヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与すること、および(b)インスリン補充を行うことを含む前記方法を含む。様々な実施形態において、それらの1つ以上の症状は、過剰糖新生、過剰グリコーゲン分解、高血糖症、高グルカゴン血症、ケトン症、糖尿病性ケトアシドーシス、高トリグリセリド血症、血漿中遊離脂肪酸濃度上昇、体重減少、異化作用不全症候群、末期疾患、高血圧症、糖尿病性腎症、腎機能不全、腎不全、過食症、筋肉消耗、糖尿病性神経障害、糖尿病性網膜症、または糖尿病性昏睡、過剰HbA1cレベル、多飲症(口渇感増長)、口内乾燥症(ドライマウス)、過食症(空腹感増長)、多尿症(頻尿)、または疲労から選択される。様々な実施形態において、その単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は、完全ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、抗原結合性抗体断片、F a b、F a b'、F a b₂、F a b'₂、I g G、I g M、I g A、I g E、s c F v、d s F v、d A b、ナノボディ、ユニボディ、またはディアボディから選択される抗体を含む。様々な実施形態において、その抗体は完全ヒトモノクローナル抗体である。様々な実施形態において、そのインスリン補充は、インスリンの正常な1日投与量の約70%~90%の間、約50%~70%の間、約30%~50%の間、約15%~30%の間、約10~15%の間、約5~10%の間、および4%、3.5%、3%、2.5%、2%、1.5%、1%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%、または0.1%を含む0%と5%の間であり得るインスリン用量を投与することを含む。

30

40

【0161】

別の態様では本開示は、T1Dの発症リスクがある患者(例えば、平均よりも高いT1Dの発症リスクを有する患者)または初発のT1Dを有し、且つ、低残留性インスリン産生を有する患者を治療するための方法であって、前記患者に(a)ヒトグルカゴン受容体

50

に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与すること、および(b)インスリン補充を行うことを含む前記方法を提供する。T1Dの発症リスクがあると特定されたその患者は、例えば、臨床的に明らかな耐糖能障害があるか、またはそれが無いT1Dの家族歴を有していること、または耐糖能障害、および膵臓β細胞の喪失もしくは機能不全の証拠があることに基づいて診断された患者であり得る。様々な実施形態において、その単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質は、完全ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、抗原結合性抗体断片、Fab、Fab'、Fab₂、Fab'₂、IgG、IgM、IgA、IgE、scFv、dsFv、dAb、ナノボディ、ユニボディ、またはディアボディから選択される抗体を含む。様々な実施形態において、その抗体は完全ヒトモノクローナル抗体である。様々な実施形態において、そのインスリン補充は、インスリンの正常な1日投与量の約70%~90%の間、約50%~70%の間、約30%~50%の間、約15%~30%の間、約10~15%の間、約5~10%の間、および4%、3.5%、3%、2.5%、2%、1.5%、1%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%、または0.1%を含む0%と5%の間であり得るインスリン用量を投与することを含む。

【0162】

様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30~200単位の間になり、治療後に70%まで徐々に減少する。様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30~200単位の間になり、治療後に60%まで徐々に減少する。様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30~200単位の間になり、治療後に50%まで徐々に減少する。様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30~200単位の間になり、治療後に40%まで徐々に減少する。様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30~200単位の間になり、治療後に30%まで徐々に減少する。様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30~200単位の間になり、治療後に20%まで徐々に減少する。様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30~200単位の間になり、治療後に15%まで徐々に減少する。様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30~200単位の間になり、治療後に10%まで徐々に減少する。様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30~200単位の間になり、治療後に9%まで徐々に減少する。様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30~200単位の間になり、治療後に8%まで徐々に減少する。様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30~200単位の間になり、治療後に7%まで徐々に減少する。様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30~200単位の間になり、治療後に6%まで徐々に減少する。様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30~200単位の間になり、治療後に5%まで徐々に減少する。様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30~200単位の間になり、治療後に4%まで徐々に減少する。様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30~200単位の間になり、治療後に3%まで徐々に減少する。様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30~200単位の間になり、治療後に2%まで徐々に減少する。様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30~200単位の間になり、治療後に1%まで徐々に減少する。様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30~200単位の間になり、治療後に0.5%まで徐々に減少する。様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30~200単位の間になり、治療後に0.4%まで徐々に減少する。様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30~200単位の間になり、治療後に0.3%まで徐々に減少する。様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30~200単位の間になり、治療後に0.2%まで徐々に減少する。様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30~200単位の間になり、治療後に0.1%まで徐々に減少する。様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30~200単位の間になり、治療後に0%まで徐々に減少する。

10

20

30

40

50

0 ~ 200 単位の間になり、治療後に3%まで徐々に減少する。様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30 ~ 200 単位の間になり、治療後に2%まで徐々に減少する。様々な実施形態において、患者のインスリンの1日投与量は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質による治療の前に一日当たり約30 ~ 200 単位の間になり、治療後に1%まで徐々に減少する。

【0163】

様々な実施形態において、インスリンの前記投与は食事の前に行われ得る。様々な実施形態において、そのインスリンは食事の12時間よりも前、11時間よりも前、10時間よりも前、9時間よりも前、8時間よりも前、7時間よりも前、6時間よりも前、5時間よりも前、4時間よりも前、3時間よりも前、2時間よりも前、1時間よりも前、50分よりも前、40分よりも前、30分よりも前、20分よりも前、10分よりも前、5分よりも前、または1分よりも前に投与され得る。様々な実施形態において、そのインスリンは食事よりも12時間未満、11時間未満、10時間未満、9時間未満、8時間未満、7時間未満、6時間未満、5時間未満、4時間未満、3時間未満、2時間未満、1時間未満、50分未満、40分未満、30分未満、20分未満、10分未満、5分未満、または1分未満の前に投与され得る。様々な実施形態において、そのインスリンは食事よりも約1分 ~ 約10分の間、約5分 ~ 約30分の間、約20分 ~ 約60分の間、約1時間 ~ 約3時間の間、約2時間 ~ 約10時間の間、または約5時間 ~ 約12時間の間の前に投与され得る。

10

20

【0164】

様々な実施形態において、インスリンの前記投与は食事の後に行われ得る。様々な実施形態において、そのインスリンは食事の12時間よりも後、11時間よりも後、10時間よりも後、9時間よりも後、8時間よりも後、7時間よりも後、6時間よりも後、5時間よりも後、4時間よりも後、3時間よりも後、2時間よりも後、1時間よりも後、50分よりも後、40分よりも後、30分よりも後、20分よりも後、10分よりも後、5分よりも後、または1分よりも後に投与され得る。様々な実施形態において、そのインスリンは食事から12時間未満、11時間未満、10時間未満、9時間未満、8時間未満、7時間未満、6時間未満、5時間未満、4時間未満、3時間未満、2時間未満、1時間未満、50分未満、40分未満、30分未満、20分未満、10分未満、5分未満、または1分未満の後に投与され得る。様々な実施形態において、そのインスリンは食事よりも12時間未満、11時間未満、10時間未満、9時間未満、8時間未満、7時間未満、6時間未満、5時間未満、4時間未満、3時間未満、2時間未満、1時間未満、50分未満、40分未満、30分未満、20分未満、10分未満、5分未満、または1分未満の前に投与され得る。様々な実施形態において、そのインスリンは食事から約1分 ~ 約10分の間、約5分 ~ 約30分の間、約20分 ~ 約60分の間、約1時間 ~ 約3時間の間、約2時間 ~ 約10時間の間、または約5時間 ~ 約12時間の間の後に投与され得る。

30

【0165】

別の態様では本開示は、T1Dと診断された患者を治療するための方法であって、(a) ヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量、および(b) インスリンではない血糖降下薬を前記患者に投与することを含む前記方法を含む。様々な実施形態において、その血糖降下薬はビッグアニド類、スルホニル尿素類、メグリチニド類、チアゾリジンジオン(TZD)類、 α -グルコシダーゼ阻害剤、DPP-4阻害剤、胆汁酸捕捉剤、ドーパミン-2アゴニスト、SGLT2阻害剤(例えば、カナグリフロジン、ダバグリフロジン、およびエンバグリフロジン)、GLP-1アゴニスト、GLP-1Rアゴニスト、およびアミリン模倣物から選択される。

40

【0166】

別の態様では本開示は、T1Dと診断された患者を治療するための方法であって、(a) ヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量、および(b) 抗肥満薬を前記患者に投与することを含む前記方法を含む。様

50

々な実施形態において、その抗肥満薬は腸管選択的MTP阻害剤、CCKaアゴニスト、5HT_{2c}アゴニスト、MCR4アゴニスト、リパーゼ阻害剤、オピオイドアンタゴニスト、オレオイル-エストロン、オビネピチド、プラムリンチド(SYMLIN(登録商標))、テソフェンシン、レプチン、プロモクリプチン、オルリスタット、AOD-9604、およびシブトラミンから選択される。

【0167】

様々な実施形態において、前記併用療法は同じ医薬組成物または別々の医薬組成物のどちらかの中にある前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質組成物と前記第2薬剤組成物を同時に投与することを含む。様々な実施形態において、単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質組成物と前記第2薬剤組成物は連続的に投与される、すなわち、前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質組成物は前記第2薬剤組成物の投与の前または後のどちらかに投与される。

10

【0168】

様々な実施形態において、前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質組成物と前記第2薬剤組成物の投与は同時である、すなわち、前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質組成物と前記第2薬剤組成物の投与期間が相互に重なり合う。

【0169】

様々な実施形態において、前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質組成物と前記第2薬剤組成物の投与は同時ではない。例えば、様々な実施形態において、前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質組成物の投与は前記第2薬剤組成物が投与される前に終了する。様々な実施形態において、前記第2薬剤組成物の投与は前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質組成物が投与される前に終了する。

20

【0170】

本発明を説明してきたが、次の実施例は例示として提供され、限定として提供されるわけではない。

【実施例1】

【0171】

3mg/kgの抗GCGR抗体の単回注射によって12週齢のオスob/ob処理マウスにおいて8日間にわたって血糖レベルを効果的に低下させることが可能であることが前に示された(米国特許第7947809号明細書を参照されたい)。本実施例ではキメラ抗GCGR抗体(本明細書においてREMD2.59Cと呼ぶ)のインビボ活性をストレプトゾトシン(STZ)誘導T1Dマウス試験において評価する。REMD2.59Cは配列番号8に示されている重鎖配列と配列番号9に示されている軽鎖配列を備える。

30

【0172】

健康なBalb/cマウス(オス、8~10週齢、20~22g)を一晩にわたって絶食させた。STZ注射(60mg/kg/日)を1日目から5日目まで5日間にわたって連続的に全ての動物に対して実施した。14日間の(最後のSTZの投与後の)安定化期間の後にその動物の体重と空腹時血糖値に基づき、コンピューター生成ランダム化法を用いてマウスを無作為にそれぞれの群に割り当てた。その後、それらのマウスにベヒクル、0.3mg/kg(低用量)、1.5mg/kg(中用量)、または7.5mg/kg(高用量)のREMD2.59C抗体のいずれかを皮下注射によって毎週投与した。ベヒクルは10mM酢酸ナトリウム、5%ソルビトール、および0.004%ポリソルベート20を含んだ。1.8mLのREMD2.59Cストック溶液(2.37mg/mL)を3.887mLのベヒクル(pH5.2)に混合することにより検査試料を調製した。溶液の終濃度は0.75mg/mLであった。この製剤は高用量処置群(7.5mg/kg)用であった。中用量製剤と低用量製剤はベヒクルを使用した高用量製剤の5倍希釈または25倍希釈により作製された。それらの試験群および群当たりの動物の数が表1に示されている。

40

表1

群	処置	用量 (mg/kg)	経路	動物数
第1群	ベヒクル	-	皮下	10
第2群	REMD2.59C	0.3	皮下	10
第3群	REMD2.59C	1.5	皮下	10
第4群	REMD2.59C	7.5	皮下	10

10

【0173】

12週間の試験期間にわたって、例えば、(i)体重(週に一回)、(ii)週毎の摂食量(食物摂取/食物排出)、(iii)グルコース定量(検査前に6時間にわたってマウスを絶食させ、アキュチェックアピバシステム(登録商標)を使用して尾静脈を介して空腹時血糖レベルを測定する)、(iv)ヘモグロビンA1c(HbA1c)定量(安楽死前に心臓穿刺を介して抗凝血剤を含むチューブに血液試料を採取し、TOSHIBA TBA-40FR自動化生化学分析機を使用することでHbA1cを測定する)、(v)インスリン定量、(vi)C-ペプチド定量、(vii)GLP-1定量、(viii)グルカゴン定量、(iv)アセト酢酸(AcAc)定量、および(x)β-ヒドロキシ酪酸(BOH)定量をはじめとする様々なパラメーターを測定する。項目(v)~(x)について、投与前および試験終了時に抗凝血剤を全く含まないチューブに血液試料を採取し、直ちに遠心分離し、そしてELISA法による評価のために血清を別の試験管に移す。

20

【0174】

体重

試験期間にわたって全ての動物の体重を毎週測定した。

【0175】

結果が図1および表2に示されており、中用量と高用量のREMD2.59Cで処置された動物は初期の体重減少を示し、各用量はわずかに異なるパターンを示した。

30

表2

群	体重(グラム)				
	1週間前	第0週	第1週	第2週	第3週
ベヒクル	19.5 ± 1.9	20.2 ± 2.0	21.1 ± 2.4	21.3 ± 2.6	22.1 ± 2.5
REMD2.59C 低用量	19.7 ± 1.2	20.2 ± 1.7	21.0 ± 1.7	21.4 ± 1.9	21.9 ± 2.1
REMD2.59C 中用量	19.7 ± 1.3	20.1 ± 1.5	20.4 ± 1.7	20.8 ± 2.2	21.2 ± 2.1
REMD2.59C 高用量	19.3 ± 1.0	20.3 ± 1.1	19.1 ± 1.1 *	19.4 ± 1.1	19.8 ± 1.2 *
	第4週	第5週	第6週	第7週	第8週
ベヒクル	22.5 ± 2.7	22.1 ± 2.7	22.5 ± 2.5	22.3 ± 2.5	22.4 ± 2.7
REMD2.59C 低用量	21.9 ± 2.4	22.1 ± 2.4	22.3 ± 2.5	22.5 ± 2.6	22.3 ± 2.4
REMD2.59C 中用量	21.3 ± 2.3	21.1 ± 2.5	21.0 ± 2.0	20.6 ± 1.9	20.6 ± 1.8
REMD2.59C 高用量	20.1 ± 1.0	20.0 ± 1.3	20.3 ± 1.5	20.2 ± 1.4	20.4 ± 1.5
	第9週	第10週	第11週	第12週	
ベヒクル	22.2 ± 2.4	22.0 ± 2.6	21.7 ± 2.5	21.9 ± 2.3	
REMD2.59C 低用量	22.4 ± 2.6	22.4 ± 2.7	22.2 ± 2.7	22.3 ± 2.6	
REMD2.59C 中用量	20.3 ± 1.8	20.2 ± 1.8	20.0 ± 1.7	19.8 ± 1.5	
REMD2.59C 高用量	20.4 ± 1.6	20.6 ± 1.7	20.7 ± 1.7	20.9 ± 1.6	

10

20

注記：ベヒクル群と比較して * p<0.05, ** p<0.01 (一元配置 ANOVA)

【 0 1 7 6 】

摂食量

試験期間にわたって全ての試験群の全ての動物について摂食量（食物摂取 / 食物排出）を毎週記録した。

【 0 1 7 7 】

図 2 および表 3 および 4 に示されているように、REMD2.59C 処置動物では摂食量が用量依存的に少なくなり、摂食量当たりの体重の平均値の増加によって反映された（表 4 の右の列）。

30

表3

群	摂取量 (g/日)				
	1週間前	第0週	第1週	第2週	第3週
ベヒクル	4.6±1.0	4.4±1.1	5.1±0.6	5.2±0.7	5.2±0.7
REMD2.59C 低用量	4.4±1.0	4.2±0.9	5.2±0.6	5.4±0.4	5.2±0.4
REMD2.59C 中用量	4.3±0.7	4.5±0.6	4.0±0.5 **	4.5±0.6 *	4.1±0.8 **
REMD2.59C 高用量	3.7±0.5	4.1±0.5	3.2±0.5 **	3.5±0.4 **	3.1±0.2 **
	第4週	第5週	第6週	第7週	第8週
ベヒクル	5.2±0.8	5.2±0.5	5.4±1.0	5.3±0.8	5.4±0.8
REMD2.59C 低用量	5.2±0.6	5.3±0.8	5.6±1.0	5.5±0.9	5.2±1.0
REMD2.59C 中用量	4.5±0.5 *	4.2±0.9 **	4.6±0.7	4.2±0.7 **	4.5±1.0
REMD2.59C 高用量	3.2±0.2 **	2.9±0.2 **	3.0±0.2 **	2.8±0.3 **	3.1±0.4 **
	第9週	第10週	第11週	第12週	
ベヒクル	5.4±0.9	5.4±0.8	5.4±0.9	5.6±0.6	
REMD2.59C 低用量	5.3±0.7	5.3±0.7	5.3±0.9	5.6±1.0	
REMD2.59C 中用量	4.4±0.7 **	4.3±0.6 **	4.3±0.8 *	4.1±0.7 **	
REMD2.59C 高用量	2.8±0.3 **	2.9±0.3 **	3.2±0.5 **	2.8±0.3 **	

注記：ベヒクル群と比較して * p<0.05, ** p<0.01 (一元配置 ANOVA)

表4

群	処置時の 平均摂食量 (g)	処置時の平均体重 (g)	摂食量当たりの 体重の平均
ベヒクル	5.3	21.9	4.1
REMD2.59C 低用量	5.4	21.9	4.1
REMD2.59C 中用量	4.3	20.6	4.8
REMD2.59C 高用量	3.1	20.2	6.6

【 0 1 7 8 】

血糖

午前 9 時から午後 3 時まで血糖検査前の 6 時間にわたってマウスを絶食させ、アキュチエックアビシステムを使用して週毎に尾静脈を介して空腹時血糖レベルを測定した。

【 0 1 7 9 】

図 3 および下の表 5 に示されているように、6 mmol/L (または 108 mg/dl) より下の正常なレベルと対照的に 17.3 ~ 22.9 mmol/L の範囲 (または 311 ~ 412 mg/dl の範囲) に達した空腹時血糖レベルの上昇によってそれらのマウスにおける T1D が確認される。

表5

群	空腹時血糖レベル (mmol/L)				
	第0週	第1週	第2週	第3週	第4週
ベヒクル	17.3 ± 5.2	20.8 ± 4.3	22.9 ± 2.5	25.7 ± 3.3	25.6 ± 3.5
REMD2.59C 低用量	17.3 ± 5.5	18.7 ± 5.9	21.3 ± 6.4	23.9 ± 7.7	24.5 ± 7.8
REMD2.59C 中用量	17.3 ± 5.5	17.1 ± 6.0	18.5 ± 4.7	20.0 ± 5.8 *	20.0 ± 5.6
REMD2.59C 高用量	17.4 ± 5.4	4.9 ± 1.0 **	5.7 ± 0.7 **	6.2 ± 0.9 **	6.4 ± 1.0 **
	第5週	第6週	第7週	第8週	第9週
ベヒクル	26.6 ± 2.5	26.6 ± 2.6	27.5 ± 2.6	28.2 ± 3.9	28.7 ± 3.4
REMD2.59C 低用量	24.9 ± 6.2	24.3 ± 6.7	24.3 ± 7.3	24.8 ± 7.0	25.9 ± 7.0
REMD2.59C 中用量	21.2 ± 5.5 *	21.0 ± 5.5 *	20.7 ± 6.1 *	20.6 ± 6.7 **	20.8 ± 7.0 **
REMD2.59C 高用量	5.7 ± 0.9 **	5.6 ± 1.0 **	6.0 ± 0.8 **	5.7 ± 1.1 **	5.8 ± 1.2 **
	第10週	第11週	第12週		
ベヒクル	28.7 ± 3.5	29.1 ± 2.7	30.1 ± 2.3		
REMD2.59C 低用量	25.6 ± 7.0	25.6 ± 5.5	26.5 ± 4.9		
REMD2.59C 中用量	21.2 ± 6.2 **	21.3 ± 6.5 **	21.9 ± 6.0 **		
REMD2.59C 高用量	5.4 ± 1.0 **	6.2 ± 1.0 **	5.5 ± 1.2 **		

注記：ベヒクル群と比較して * p<0.05, ** p<0.01 (一元配置 ANOVA)

前記試験は R E M D 2 . 5 9 C が空腹時血糖レベルの低下に対して顕著な効果を用量依存的に有すること、および高用量の R E M D 2 . 5 9 C による処置によってインスリン無しで早くも第 1 週で血中濃度が正常に戻り、且つ、12 週間にわたって正常なレベルが維持されることが可能であったことを示している。

【 0 1 8 0 】

血液生化学

予定された試験終了の前に心臓穿刺を介して抗凝血剤を含むチューブと含まないチューブに血液試料を採取した。抗凝血剤を含まない試験管内のそれらの試料をすぐに 4、8000 rpm で 15 分間にわたって遠心分離し、そして血清を別の試料管に移した。T O S H I B A T B A - 4 0 F R 自動化生化学分析機を使用することで H b A 1 c、アルブミン (A L B) および全タンパク質 (T P) を測定した。全ての試験群の血液化学のパラメーターが表 6 および図 4 および 5 に示されている。

表6

群	HbA1c (g/L)	ALB (g/L)	TP (g/L)
ベヒクル	11.2 ± 1.1	26.6 ± 1.3	45.8 ± 3.3
REMD2.59C 低用量	11.0 ± 1.6	26.4 ± 2.9	46.9 ± 7.2
REMD2.59C 中用量	9.1 ± 1.7 **	27.2 ± 2.5	47.6 ± 5.4
REMD2.59C 高用量	3.8 ± 1.0 **	30.5 ± 2.8 **	50.5 ± 4.7

注記：ベヒクル群と比較して ** p<0.01 (一元配置 ANOVA)

高用量のREMD2.59Cで処置された糖尿病マウスではHbA1cレベルは処置から12週間後の時点で正常であり(4 ± 1%)、一方でベヒクル処置された糖尿病管理マウスのHbA1cは平均で11 ± 1%であった(図4)。この試験は外因性インスリン療法が無くてもSTZ誘導T1DマウスにおいてREMD2.59CがHbA1cレベルの低下および正常化に対して顕著な効果を用量依存的に有することを示している。このことは6%より低いHbA1cレベルがT1D患者において稀であるという点で有意である。高用量REMD2.59C処置糖尿病マウスにおけるアルブミンの顕著な増加と全タンパク質レベルの上昇傾向という追加の発見はタンパク質同化の改善および/またはタンパク質異化の低下を示唆している(表6)。このことはグルカゴン作用を阻止する薬剤がヒトにおいてT1Dを効果的に治療し得ることを示唆している。

【0181】

REMD2.59Cの安全性と効力を評価するために様々な追加の手法およびパラメータを検査した。

【0182】

血清インスリン/C-ペプチド/GLP-1/AcAc/BOH/グルカゴン定量

C-ペプチド、GLP-1、AcAc、BOH、インスリンおよびグルカゴンの血清レベルの分析にも全血試料を使用し、処置から12週間後の時点でそれらのレベルの各々をELISA法により測定した。データが図6～8に示されている

【0183】

全般的に、REMD2.59Cはその時点で検査された条件ではC-ペプチドレベル、GLP-1レベル、ケトン体(AcAc、BOH)レベルおよびインスリンレベルに対して統計学的に有意な効果を有しない。REMD2.59C処置動物では血清グルカゴンレベルの上昇が用量依存的に存在した。高用量REMD2.59C処置動物では血清グルカゴンが有意により高い(図7を参照されたい)。

【0184】

巨視的測定と分析

死体の解剖に続いて全ての試験動物の膵臓を固定し、処理し、そして将来の組織学的HE染色のためにパラフィンブロックステージにした。抗インスリン抗体と抗グルカゴン抗体を用いるIHCを膵臓組織試料に対して実施した。

【実施例2】

【0185】

本実施例では実施例1に記載されるように調製された膵臓組織試料に組織学的HE染色と抗インスリン抗体および抗グルカゴン抗体を用いる免疫組織化学を行った。

【0186】

試料リストが表7に示されている。

表7

群	ベヒクル	REMD 2.59C (0.3 mg/kg)	REMD 2.59C (1.5 mg/kg)	REMD 2.59C (7.5 mg/kg)
ID	V30	L3	M19	H4
	V33	L11	M29	H18
	V34	L13	M36	H21
	V40	L38	M41	H22
	V43	L48	M46	H23

10

【0187】

組織学的HE染色の結果が図9に示されている。

【0188】

3 μmの厚みの組織切片をIHC用に調製した。A b c a m（登録商標）間接抗原抗体標識方法と製造業者の指示による染色プロトコルを用い、且つ、次の試薬、すなわち、（a）一次抗体：抗グルカゴン抗体＝ウサギポリクローナル抗体（A b c a m、カタログ番号a b 1 8 4 6 1）および抗インスリン抗体＝モルモットポリクローナル抗体（A b c a m、カタログ番号a b 7 8 4 2）、（b）二次抗体：ビオチン化ヤギ抗ウサギIgG-H & L（A b c a m、カタログ番号a b 9 7 0 4 9）およびビオチン化ヤギ抗モルモットIgG-H & L（A b c a m、カタログ番号a b 6 9 0 7）、（c）検出試薬＝A B C - H R Pキット（ベクター・ラボラトリーズ、カタログ番号p k - 4 0 0 0）およびA B C - A Pキット（ベクター・ラボラトリーズ、カタログ番号a k - 5 0 0 0）、（e）D A Bペルオキシダーゼ基質キット（ベクター・ラボラトリーズ、カタログ番号s k - 4 1 0 0）、および（e）レッド・アルカリホスファターゼ・基質キットI I I（ベクター・ラボラトリーズ、カタログ番号s k - 5 1 0 0）を使用してIHCを実施した。

20

【0189】

抗グルカゴン抗体特異的膵臓アルファ（α）細胞をA B C - H R P方法によって染色した。そして、D A B基質（3, 3 - ジアミノベンジジン）染色によって濃褐色（矢印）として陽性細胞を視覚化した。抗インスリン抗体特異的膵臓ベータ（β）細胞をA B C - A Pキットで染色した。アルカリホスファターゼ基質を用いて赤色（矢印）に見られるように陽性標識細胞を視覚化した。膵島におけるグルカゴンとインスリンの二重染色が図10に示されており、その図は膵島β細胞からのインスリン分泌の回復を示している。

30

【0190】

定量および統計分析

追加の分析のために試験動物の半分の膵臓切片に由来する全ての染色画像を40倍の倍率でキャプチャーし、膵臓組織内の全ての膵島を200倍の倍率でキャプチャーした。膵島と膵臓組織全体の面積の合計をそれぞれ計測することによって定量的標識を実施した。そのデータを膵臓組織当たりの膵島の面積の合計として表した。膵臓組織内の膵島を200倍の倍率でキャプチャーし、全ての膵島内の陽性標識細胞を評価した。境界が明確な膵島の面積を測定し、且つ、これらの領域内の各マーカーについての個々の染色細胞の面積を計測することで定量的陽性標識を実施した。そのデータを膵島の面積の総和で除算しているインスリンまたはグルカゴンについての陽性細胞の面積として表した。

40

α細胞またはβ細胞のパーセンテージ＝グルカゴンまたはインスリンの陽性細胞の面積 / 全膵島の面積 × 100%

それらの群の間で一元分散分析（ANOVA）検定（SPSS 17.0）を適用した。p < 0.05を有意であるとした。

【0191】

50

前記動物膵臓組織における膵島のパーセンテージが図 1 1 A ~ C に示されている。膵島の数、膵島におけるインスリン面積、グルカゴン面積、およびインスリンとグルカゴンの陽性細胞のパーセンテージが表 8 および図 1 2 A ~ B に示されている。

表 8

群	膵島の数	インスリン面積 (ピクセル,200X)	グルカゴン面積 (ピクセル,200X)	β-細胞 (インスリン 陽性) (%)	α-細胞 (グルカゴン 陽性) (%)
ベヒクル	14 ± 5	8612 ± 3863	54789 ± 27579	5.97 ± 5.50	40.38 ± 6.56
REMD 2.59C (0.3 mg/kg)	16 ± 6	5415 ± 4827	63111 ± 44640	2.58 ± 1.81	31.63 ± 12.43
REMD 2.59C (1.5 mg/kg)	31 ± 9**	22652 ± 32174	177611 ± 104090	5.93 ± 8.22	44.94 ± 8.96
REMD 2.59C (7.5 mg/kg)	50 ± 14**	73114 ± 31540*	660592 ± 408850	8.33 ± 5.71	50.96 ± 5.82

検査化合物 R E M D 2 . 5 9 C (7 . 5 m g / k g) は S T Z 誘導性 1 型糖尿病のマウスに由来する膵臓組織切片上の β 細胞の数の増加に対して有意な効果を有する。加えて、そのデータはこれらの細胞の全てがインスリンの産生と分泌のために機能的でもあることを示している。R E M D 2 . 5 9 C は α 細胞におけるグルカゴン染色の副次的増強も誘導した。これらの観察結果は抗インスリン抗体および抗グルカゴン抗体を用いる I H C 二重標識と顕微鏡画像定量分析により確認された。その組織学定量データはベヒクル対照群との比較において膵島の面積とパーセンテージ膵島面積が高用量 (7 . 5 m g / k g) の R E M D 2 . 5 9 C で処置されたマウスの膵臓切片において有意に増加することを示した。顕著なことに、α 細胞の数は β 細胞よりも多いようであり、そのことは E L I S A 法により分析された血清グルカゴンのレベルについてのデータと相関し、R E M D 2 . 5 9 C によってグルカゴン受容体の効果的な遮断が起きている中で処置動物に対して臨床的な害が無いはずであるグルカゴン分泌の副次的増加を示している。

【 0 1 9 2 】

実施例 1 および 2 のデータはインスリン無しで S T Z 誘導 T 1 D マウスにおいて化合物 R E M D 2 . 5 9 C によって体重減少を達成することができ、血糖レベルを低下させることができ、血液 H b 1 A c を減少させることができ、且つ、膵臓内分泌細胞の機能を回復させることができることを示している。

【 実施例 3 】

【 0 1 9 3 】

本実施例では配列番号 2 の重鎖可変領域をコードするアミノ酸配列と配列番号 3 の軽鎖可変領域をコードするアミノ酸配列を備える完全ヒト抗 G C G R 抗体 (本明細書において R E M D - 4 7 7 と呼ぶ) をアロキサン誘導糖尿病マウス試験において評価した。

【 0 1 9 4 】

アロキサン誘導糖尿病マウスに緩衝液 (対照、 n = 5) または 5 m g / k g の R E M D - 4 7 7 モノクローナル抗体を含む緩衝液 (n = 6) を皮下注射し、8 日間にわたって血糖濃度を毎日モニターした。R E M D - 4 7 7 で処置されたマウスでは毎日の血糖測定値が平均で 8 5 ± 5 m g / d l であり、8 日間にわたって正常血糖のままであり続けた (図 1 3) 。その時点で肝臓を収集した。対照的に、ベヒクル (緩衝液) 処置マウスは試験期

間にわたって高血糖（血糖 $> 500 \text{ mg/dl}$ ）のままであり続けた。

【0195】

このデータはヒト抗GCGR抗体であるREM D - 477も血糖を 100 mg/dl よりも下に低下させ、維持することができることを示している。

【実施例4】

【0196】

本実施例ではアロキサン誘導糖尿病マウスにおける高血糖症を元に戻すREM D - 477の能力を評価した。グルカゴンシグナルのトランスデューサーであるcAMP応答配列結合タンパク質（CREB）および糖新生性グルカゴン標的であるホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ（PEPCK）は肝臓におけるグルカゴン作用の重要なマーカーである。CREBのリン酸化およびPEPCKの発現をアロキサン誘導糖尿病マウスと非糖尿病マウスにおいて測定した。REM D - 477の治療を受けたマウスまたは受けていないマウスの肝臓組織から調製された全タンパク質抽出物をSDS-PAGEによって分離し、ニトロセルロース膜（Bio-Rad ラボラトリーズ、ハーキュリーズ、カリフォルニア州、米国）に転写した。0.1% ツイーンおよび5% 乾燥脱脂粉乳を含む $1 \times \text{TBS}$ （TBS-T-MLK）の中でそのプロットされた膜を穏やかに定速で撹拌しながら1時間にわたって室温でブロックした。新しく調製したTBS-T-MLK中の抗ホスホCREB一次抗体、抗CREB一次抗体、または抗PEPCK一次抗体（セル・シグナリング・テクノロジー、ビバリー、マサチューセッツ州、米国）、または抗 γ -チューブリン二次抗体（Sigma、セントルイス、ミズーリ州）との4で一晩にわたる撹拌を含むインキュベーションの後にその膜をTBS-T緩衝液で2回洗浄した。

10

20

【0197】

非糖尿病性肝臓と比較してアロキサン誘導糖尿病マウスの肝臓ではリン酸化CREBの3.5倍の増加とPEPCK発現の2.5倍の増加があった（図14A~B）。これらの差異にグルカゴンが介在しているか評価するため、 5 mg/kg のREM D - 477を用いてアロキサン誘導糖尿病マウスを処置した。REM D - 477処置肝臓では、リン酸化CREBタンパク質が非糖尿病性レベルまで減少し、PEPCKタンパク質発現が非糖尿病マウスのその発現の下まで減少した（図15A~B）。このデータはT1Dマウスにおける肝臓糖新生の活性化はそれらのマウスの高グルカゴン血症の結果であることを示している。これはT1Dについての新しく重要な発見である。そして、より重要なことに、そのデータはREM D - 477によってもアロキサン誘導糖尿病マウスにおいて高血糖症を元に戻すことができることを示している。

30

【実施例5】

【0198】

本実施例ではREM D 2.59Cのインビボ活性をストレプトゾトシン（STZ）誘導T1Dマウス試験において配列番号28の重鎖可変領域をコードするアミノ酸配列と配列番号47の軽鎖可変領域をコードするアミノ酸配列を備える完全ヒト抗GCGR抗体（本明細書においてREM D 2.10と呼ぶ）の活性、およびGCGRに結合するが、拮抗性ではない完全ヒトGCGR抗体（本明細書においてと呼ぶREM D 2.45）の活性と比較する。

40

【0199】

C57BL/6マウス（バイタル・リバー・ラボラトリー・アニマル・テクノロジー社）（オス、8~10週齢、 $20 \sim 22 \text{ g}$ ）を一晩にわたって絶食させた。単回STZ注射（ 175 mg/kg ）を全ての動物に対して実施した。10日間の（STZの投与後の）安定化期間の後にその動物の体重と空腹時血糖値に基づき、コンピューター生成ランダム化法を用いてマウスを無作為にそれぞれの群（10匹/群）に割り当てた。その後、それらのマウスにベヒクルまたは 7.5 mg/kg のREM D 2.59C抗体、REM D 2.10抗体、またはREM D 2.45抗体のいずれかを皮下注射によって毎週投与した。ベヒクルは10mM酢酸ナトリウム、5%ソルビトール、および0.004%ポリソルベート20を含んだ。検査試料用の溶液の終濃度は 0.75 mg/mL であった。処置期間は

50

13日であった。

【0200】

血糖定量

試験期間にわたって血糖定量を行った。午前9時から午後3時まで血糖検査前の6時間にわたってマウスを絶食させ、アキュチェックアピバシステムを使用して週毎に尾静脈を介して空腹時血糖レベルを測定した。

【0201】

図16および下の表9に示されているように、 6 mmol/L （または 108 mg/dl ）より下の正常なレベルと対照的に $17.3 \sim 22.9\text{ mmol/L}$ の範囲（または $311 \sim 412\text{ mg/dl}$ の範囲）に達した空腹時血糖レベルの上昇によってそれらのマウスにおけるT1Dが確認される。

10

表9

群	空腹時血糖 (mmol/l)		
	10日目(処置日)	17日目	22日目
ベヒクル	17.3 ± 4.0	22.8 ± 5.0	25.3 ± 4.0
REMD2.59C	17.3 ± 4.1	$7.6 \pm 4.8^{**}$	$5.5 \pm 2.2^{**}$
REMD2.45	17.4 ± 4.3	22.8 ± 5.2	25.4 ± 5.1
REMD2.10	17.5 ± 4.3	9.9 ± 5.0	$8.3 \pm 4.7^{**}$

20

注記：ベヒクル群と比較して $^{**}p < 0.01$ (一元配置 ANOVA)

前記試験はREMD2.59Cのように完全ヒトREMD2.10抗体が空腹時血糖レベルの低下に対して顕著な効果を有し、且つ、インスリン無しで2週間以内に血中濃度が正常に近いレベルまで戻ることが可能であることを示している。前記試験は（拮抗性GCGR抗体ではない）REMD2.45抗体が空腹時血糖レベルの低下に対して効果を有しないことも示している。

30

【実施例6】

【0202】

本実施例は、T1Dと診断されたことがある患者を治療するための本明細書に記載される方法の1つの例となる使用法について説明する。年齢が18～60歳であり、且つ、その時点でインスリン補充療法を受けている20人のT1D患者（男性および女性）が5日間の単回投与試験に参加するために特定される。処置群にはプラセボ群と体重に対して 1 mg/kg のREMD-477で処置される群が含まれる。この試験はREMD-477の単回皮下注射後の基線期間から処置後期間までの24時間のインスリン要求性の変化を評価および比較する。REMD-477による処置は、同標的的正常グルコースレベルを維持しつつ、プラセボ対照群と比較して24時間のインスリン投与要求性を著しく低下させると予期される。

40

【実施例7】

【0203】

本実施例は、T1Dと診断されたことがある患者を治療するための本明細書に記載される方法の追加の例となる使用法について説明する。インスリン単独療法の長期化に伴う合併症を著しく緩和し、患者の長期の予後および健康状態の改善に役立つことになるインスリン補充の必要性の排除、あるいは、インスリンの正常な1日投与量よりもかなり少ない投与法でのインスリン補充の提供によって、より低いグルコースレベルおよび低下したH

50

b A 1 c レベルにより判定されるより良好な糖尿病管理を達成することが臨床目標である。

【 0 2 0 4 】

T 1 D と診断された個体、または T 1 D を発症する高いリスクがあると判断された個体を特定し、無作為に処置群に割り当てる。処置群にはプラセボ群と様々な投与量の R E M D - 4 7 7 およびインスリン補充で処置される処置群が含まれる。非プラセボ処置群の例には、例えば、適当たり 0 . 0 1 m g / k g 、 0 . 0 2 5 m g / k g 、 0 . 0 5 m g / k g 、 0 . 0 7 5 m g / k g 、 0 . 1 m g / k g 、 0 . 2 5 m g / k g 、 0 . 5 m g / k g 、 0 . 7 5 m g / k g 、 1 . 0 m g / k g 、 1 . 5 m g / k g 、 2 . 0 m g / k g 、 2 . 5 m g / k g 、 5 m g / k g 、 7 . 5 m g / k g 、または 1 0 m g / k g のいずれかの R E M D - 4 7 7 の注射を受ける患者、および二週間に 0 . 0 1 m g / k g 、 0 . 0 2 5 m g / k g 、 0 . 0 5 m g / k g 、 0 . 0 7 5 m g / k g 、 0 . 1 m g / k g 、 0 . 2 5 m g / k g 、 0 . 5 m g / k g 、 0 . 7 5 m g / k g 、 1 . 0 m g / k g 、 1 . 5 m g / k g 、 2 . 0 m g / k g 、 2 . 5 m g / k g 、 5 m g / k g 、 7 . 5 m g / k g 、または 1 0 m g / k g のいずれかの R E M D - 4 7 7 の注射を受ける患者が含まれることになる。様々な処置群において、患者は一日当たり 9 0 ~ 1 2 0 単位、一日当たり 6 0 ~ 9 0 単位、一日当たり 3 0 ~ 6 0 単位、または一日当たり 1 5 ~ 3 0 単位、または一日当たり 1 0 ~ 1 5 単位、または一日当たり 5 ~ 1 0 単位、または一日当たり 1 ~ 5 単位のインスリン注射（単回注射または反復注射）も受けることになる。

10

【 0 2 0 5 】

本明細書において開示および請求された物品および方法の全てが本開示を踏まえて過度の実験を行うことなく作製および実行され得る。好ましい実施形態の点から本開示の物品および方法を説明してきたが、本開示の主旨と範囲から逸脱することなくそれらの物品および方法に対して変更を加えてよいことが当業者に明らかになる。当業者にとって明らかである全てのそのような変更および均等物は、現存するものであれ、後に開発されるものであれ、添付されている特許請求の範囲によって規定される本開示の主旨と範囲の内にあると見なされる。本明細書において言及された全ての特許、特許出願、および刊行物は本開示が関係する分野の当業者のレベルを表している。全ての特許、特許出願、および刊行物は全ての目的のために、且つ、ありとあらゆる目的のために参照によりその全体が援用されると各々個々の刊行物が具体的および個別に示された場合と同じ程度で参照によりそれらの全体が本明細書に援用される。適切なことに本明細書において例示的に記載される本開示は本明細書において具体的に開示されていないどの要素が存在しない状態でも実施され得る。したがって、例えば、本明細書中の各例において、「含む」、「から基本的になる」、「および「からなる」という用語のいずれかをその他の 2 つの用語のうちのいずれかで置き換えることができる。使用されてきた用語および表現は説明的であって、限定的ではない用語として使用されており、そのような用語および表現の使用には提示および記載された特徴またはそれらの特徴の一部のあらゆる同等の特徴を排除する意図が無く、請求されている本開示の範囲内で様々な改変が可能であることが理解される。したがって、本開示は好ましい実施形態と選択的な特徴によって具体的に開示されているが、当業者は本明細書において開示された考えの改変および変更を区分し直してよいこと、およびそのような改変と変更は添付されている特許請求の範囲によって規定される本開示の範囲の内にあると考えられることが理解されるべきである。

20

30

40

【 0 2 0 6 】

配列表

添付されている配列表に挙げられているアミノ酸配列は米国特許法施行規則第 1 . 8 2 2 条において規定されるアミノ酸の標準的 3 文字コードを使用して示されている。

【 0 2 0 7 】

配列番号 1 はヒトグルカゴン受容体 (G C G R) 分子のアミノ酸配列である (受託番号 A A I 0 4 8 5 5) 。

【 0 2 0 8 】

50

配列番号 2 は完全ヒト抗 G C G R 抗体の重鎖可変領域をコードするアミノ酸配列である。
配列番号 3 は完全ヒト抗 G C G R 抗体の軽鎖可変領域をコードするアミノ酸配列である。

【 0 2 0 9 】

配列番号 4 は完全ヒト抗 G C G R 抗体の重鎖可変領域をコードするアミノ酸配列である。
配列番号 5 は完全ヒト抗 G C G R 抗体の軽鎖可変領域をコードするアミノ酸配列である。

【 0 2 1 0 】

配列番号 6 は完全ヒト抗 G C G R 抗体の重鎖可変領域をコードするアミノ酸配列である。
配列番号 7 は完全ヒト抗 G C G R 抗体の軽鎖可変領域をコードするアミノ酸配列である。

【 0 2 1 1 】

配列番号 8 はキメラ抗 G C G R 抗体の重鎖をコードするアミノ酸配列である。配列番号 9 はキメラ抗 G C G R 抗体の軽鎖をコードするアミノ酸配列である。

【 0 2 1 2 】

配列番号 1 0 ~ 2 8 は様々な完全ヒト抗 G C G R 抗体の重鎖可変領域をコードするアミノ酸配列である。

【 0 2 1 3 】

配列番号 2 9 ~ 4 7 は様々な完全ヒト抗 G C G R 抗体の軽鎖可変領域をコードするアミノ酸配列である。

【 0 2 1 4 】

配列番号 4 8 はカップ軽鎖定常領域をコードするアミノ酸配列である。配列番号 4 9 はラムダ軽鎖定常領域をコードするアミノ酸配列である。

【 0 2 1 5 】

配列番号 5 0 は I g G 2 重鎖定常領域をコードするアミノ酸配列である。

【 0 2 1 6 】

配列番号 5 1 はヒト抗 G C G R 抗体 (R E M D - 4 7 7) の重鎖をコードするアミノ酸配列である。配列番号 5 2 はヒト抗 G C G R 抗体 (R E M D - 4 7 7) の軽鎖をコードするアミノ酸配列である。

[配列表]

配列番号 1 - ヒトグルカゴン受容体 (G C G R) 分子のアミノ酸配列

M P P C Q P Q R P L L L L L L L A C Q P Q V P S A Q V M D F L F E K W K L Y G
D Q C H H N L S L L P P P T E L V C N R T F D K Y S C W P D T P A N T T A N I S
C P W Y L P W H H K V Q H R F V F K R C G P D G Q W V R G P R G Q P W R D A S Q
C Q M D G E E I E V Q K E V A K M Y S S F Q V M Y T V G Y S L S L G A L L L A L
A I L G G L S K L H C T R N A I H A N L F A S F V L K A S S V L V I D G L L R T
R Y S Q K I G D D L S V S T W L S D G A V A G C R V A A V F M Q Y G I V A N Y C
W L L V E G L Y L H N L L G L A T L P E R S F F S L Y L G I G W G A P M L F V V
P W A V V K C L F E N V Q C W T S N D N M G F W W I L R F P V F L A I L I N F F
I F V R I V Q L L V A K L R A R Q M H H T D Y K F R L A K S T L T L I P L L G V
H E V V F A F V T D E H A Q G T L R S A K L F F D L F L S S F Q G L L V A V L Y
C F L N K E V Q S E L R R R W H R W R L G K V L W E E R N T S N H R A S S S P G
H G P P S K E L Q F G R G G G S Q D S S A E T P L A G G L P R L A E S P F

配列番号 2 - G C G R に結合するヒト抗体の H C V R のアミノ酸配列

Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S C A A S G F T F S S Y G M H W V R Q A
P G K G L E W V A V M W Y D G S N K D Y V D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y
L Q M N R L R A E D T A V Y Y C A R E K D H Y D I L T G Y N Y Y Y G L D V W G Q
G T T V T V S S

配列番号 3 - G C G R に結合するヒト抗体の L C V R のアミノ酸配列

D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q G I R N D L G W Y Q Q K P

G K A P K R L I Y A A S S L Q S G V P S R F S G S G S G T E F T L T I S S V Q P
E D F V T Y Y C L Q H N S N P L T F G G G T K V E I K

配列番号 4 - G C G R に結合するヒト抗体の H C V R のアミノ酸配列

Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S C A A S G F T F S S Y G M H W V R Q A
P G K G L E W V A V M W Y D G S N K D Y V D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y
L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R E K D H Y D I L T G Y N Y Y Y G L D V W G Q
G T T V T V S S

配列番号 5 - G C G R に結合するヒト抗体の L C V R のアミノ酸配列

D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q G I R N D L G W Y Q Q K P
G K A P K R L I Y A A S S L Q S G V P S R F S G S G S G T E F T L T I S S L Q P
E D F V T Y Y C L Q H N S N P L T F G G G T K V E I K

10

配列番号 6 - G C G R に結合するヒト抗体の H C V R のアミノ酸配列

Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S C A A S G F T F S S Y G M H W V R Q A
P G K G L E W V A V M W Y D G S N K D Y V D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y
L Q M N R L R A E D T A V Y Y C A R E K D H Y D I L T G Y N Y Y Y G L D V W G Q
G T T V T V S S

配列番号 7 - G C G R に結合するヒト抗体の L C V R のアミノ酸配列

D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q G I R N D L G W Y Q Q K P
G K A P K R L I Y A A S S L E S G V P S R F S G S G S G T E F T L T I S S V Q P
E D F V T Y Y C L Q H N S N P L T F G G G T K V E I K

20

配列番号 8 - G C G R に結合するキメラ抗体の重鎖のアミノ酸配列

M E F G L S W V F L V A L L R G V Q C Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S
C A A S G F T F S S Y G M H W V R Q A P G K G L E W V A V M W Y D G S N K D Y V
D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N R L R A E D T A V Y Y C A R E K D
H Y D I L T G Y N Y Y Y G L D V W G Q G T T V T V S S A K T T P P S V Y P L A P
G S A A Q T N S M V T L G C L V K G Y F P E P V T V T W N S G S L S S G V H T F
P A V L Q S D L Y T L S S S V T V P S S T W P S E T V T C N V A H P A S S T K V
D K K I V P R D C G C K P C I C T V P E V S S V F I F P P K P K D V L T I T L T
P K V T C V V V D I S K D D P E V Q F S W F V D D V E V H T A Q T Q P R E E Q F
N S T F R S V S E L P I M H Q D W L N G K E F K C R V N S A A F P A P I E K T I
S K T K G R P K A P Q V Y T I P P P K E Q M A K D K V S L T C M I T D F F P E D
I T V E W Q W N G Q P A E N Y K N T Q P I M D T D G S Y F V Y S K L N V Q K S N
W E A G N T F T C S V L H E G L H N H H T E K S L S H S P G K

30

配列番号 9 - G C G R に結合するキメラ抗体の軽鎖のアミノ酸配列

M D M R V P A Q L L G L L L L W F P G A R C D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R
V T I T C R A S Q G I R N D L G W Y Q Q K P G K A P K R L I Y A A S S L E S G V
P S R F S G S G S G T E F T L T I S S V Q P E D F V T Y Y C L Q H N S N P L T F
G G G T K V E I K R A D A A P T V S I F P P S S E Q L T S G G A S V V C F L N N
F Y P K D I N V K W K I D G S E R Q N G V L N S W T D Q D S K D S T Y S M S S T
L T L T K D E Y E R H N S Y T C E A T H K T S T S P I V K S F N R N E C

40

配列番号 10 - G C G R に結合するヒト抗体の H C V R のアミノ酸配列

Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S C A A S G F T F S N Y G M H W V R Q A
P G K G L E W V A V I L S D G R N K Y Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y
L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R D D Y E I L T G Y G Y Y G M D V W G Q G T T
V T V S S

配列番号 11 - G C G R に結合するヒト抗体の H C V R のアミノ酸配列

Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S C A A S G F T F S S Y G M H W V R Q A
P G K G L E W V A V I L N D G R N K Y Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y
L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R D D Y E I L T G Y G Y Y G M D V W G Q G T T
V T V S S

50

配列番号 12 - G C G R に結合するヒト抗体の H C V R のアミノ酸配列

Q V Q L Q Q S G P G L V K P S Q T L S L T C A I S G D S V S S N G A A W N W I R
Q S P S R G L E W L G R T Y Y R S K W Y Y D Y A G S V K S R I N I N P D T S K N
Q F S L Q V N S V T P E D T A V Y Y C T R D R S S G W N E G Y Y Y Y G M D V W G
Q G T T V T V S S

配列番号 13 - G C G R に結合するヒト抗体の H C V R のアミノ酸配列

Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S C A A S G F T F S S Y D I H W V R Q A
P G K G L E W V A V L S S D G N N K Y C A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y
L Q M N S L R T E D T A V Y Y C A R E E V Y Y D I L T G Y Y D Y Y G M D V W G Q
G T T V T V S S

配列番号 14 - G C G R に結合するヒト抗体の H C V R のアミノ酸配列

Q V Q L Q E S G P G L V K P S E T L S L T C T V S G G S I S T Y F W T W I R Q F
P G K G L E W I G Y I F Y S G S T N Y N P S L K S R V T I S V D T S K N Q F S L
K L S S V T A A D T A V Y Y C A R E G Y Y D I L T G E D Y S Y G M D V W G Q G T
T V T V S S

配列番号 15 - G C G R に結合するヒト抗体の H C V R のアミノ酸配列

Q V Q L Q Q S G P G L V K P S Q I L S L T C A I S G D R V S S N G A A W N W I R
Q S P S R G L E W L G R T Y Y R S K W Y Y D Y A G S V K S R I N I N P D T S K N
Q F S L Q V N S V T P E D T A V Y Y C A R D R S S G W N E G Y Y Y Y G M D V W G
Q G T T V T V S S

配列番号 16 - G C G R に結合するヒト抗体の H C V R のアミノ酸配列

Q V Q L Q E S G P G L V K P S E T L S L T C T V S G G S I S T Y F W T W I R Q F
P G E G L E W I G Y I F Y S G N T N Y N P S L T S R V T I S V D T S K N Q F S L
K L S S V T A A D T A V Y Y C A R E G Y Y D I L T G E D Y S Y G I D V W G Q G T
T V T V S S

配列番号 17 - G C G R に結合するヒト抗体の H C V R のアミノ酸配列

Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S C A A S G F I F S S Y G M H W V R Q A
P G K G L E W V A V I S N D G S N K Y Y A D F V K G R F T I S R D N S K N T L Y
L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R E D Y D I L T G N G V Y G M D V W G Q G T T
V T V S S

配列番号 18 - G C G R に結合するヒト抗体の H C V R のアミノ酸配列

E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S S Y T M N W V R Q A
P G K G L E W V S Y I S G S S S L I Y Y A D S V K G R F T I S R D N A K N S L Y
L H M N S L R D E D T A V Y Y C A R A R Y N W N D Y Y G M D V W G Q G T T V T V
S S

配列番号 19 - G C G R に結合するヒト抗体の H C V R のアミノ酸配列

Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S C A A S G F A F S S Y G I H W V R Q A
P G K G L E W V A G I W Y D G S N K Y Y A D S V K G R F T V S R D N S K N T L Y
L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R L F D A F D I W G Q G T M V T V S S

配列番号 20 - G C G R に結合するヒト抗体の H C V R のアミノ酸配列

E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F I F S S Y T M N W V R Q A
P G K G L E W V S Y I S S S S S L I Y Y A D S V K G R F T I S R D N A K N S L Y
L Q M N S L R D E D T A V Y Y C A R S D Y Y G S G S Y Y K G N Y Y G M D V W G Q
G T T V T V S S

配列番号 21 - G C G R に結合するヒト抗体の H C V R のアミノ酸配列

Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S C A A S G F T F S S Y G M H W V R Q A
P G K G L E W V T I I W S D G I N K Y Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L N
L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R E R G L Y D I L T G Y Y D Y Y G I D V W G Q
G T T V T V S S

配列番号 22 - G C G R に結合するヒト抗体の H C V R のアミノ酸配列

Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S C A A S G F T F S S Y G M H W V R Q A
P G K G L E W V T I I W S D G I N K Y Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L N
L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R E R G L Y D I L T G Y Y D Y Y G I D V W G Q
G T T V T V S S

配列番号 23 - G C G R に結合するヒト抗体の H C V R のアミノ酸配列

E V Q L V E S G G G L V K P G G S L R L S C A A S G I T F R S Y S M N W V R Q A
P G K G L E W V S A I S S S S S Y I Y Y A D S V K G R F T I S R D N A K N S V Y
L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R G R Y G M D V W G Q G T T V T V S S

配列番号 24 - G C G R に結合するヒト抗体の H C V R のアミノ酸配列

Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S C A A S G S T F R S Y D M H W V R Q A
P G K G L E W V A V I S Y D G S N K Y Y G D S V K G R L T I S R D N S K N T L Y
L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R D Q Y D I L T G Y S S D A F D I W G Q G T M
V T V S S

10

配列番号 25 - G C G R に結合するヒト抗体の H C V R のアミノ酸配列

Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S C A A S G F T F S R Y G M H W V R Q A
P G K G L E W V A V I W Y D G S H K Y Y E D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y
L Q M N S L R A D D T G V Y Y C A R V G Y G S G W Y E Y Y Y H Y G M D V W G Q G
T T V T V S S

配列番号 26 - G C G R に結合するヒト抗体の H C V R のアミノ酸配列

Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S C A A S G F T F S S Y G M H W V R Q A
P G K G L E W V A V M W Y D G S N K D Y V D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y
L Q M N R L R A E D T A V Y Y C A R E K D H Y D I L T G Y N Y Y Y G L D V W G Q
G T T V T V S S

20

配列番号 27 - G C G R に結合するヒト抗体の H C V R のアミノ酸配列

Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S C A A S G F T F S S Y G M H W V R Q A
P G K G L E W V A V M W Y D G S N K D Y V D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y
L Q M N R L R A E D T A V Y Y C A R E K D H Y D I L T G Y N Y Y Y G L D V W G Q
G T T V T V S S

配列番号 28 - G C G R に結合するヒト抗体の H C V R のアミノ酸配列

Q V Q L V E S G G G V V Q P G R S L R L S C A A S G I T F S S Y G M H W V R Q A
P G K G L E W V A S I W Y D G S N K Y Y V D S V K G R F T I F R D N S K K T L Y
L Q M N R L R A E D T A V Y Y C A R L G G G F D Y W G Q G T L V T V S S

30

配列番号 29 - G C G R に結合するヒト抗体の L C V R のアミノ酸配列

D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q D I S N Y L A W F Q K K P
G K A P K S L I Y V V S S L Q S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I N N L Q P
E D F A T Y Y C Q Q Y N H Y P L T F G G G T R V E I K R

配列番号 30 - G C G R に結合するヒト抗体の L C V R のアミノ酸配列

D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q D I S N Y L A W F Q Q R P
G K A P K S L I Y V V S S L Q S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S N L Q P
E D F A T Y F C Q Q Y N H Y P L T F G G G T K V E I K R

40

配列番号 31 - G C G R に結合するヒト抗体の L C V R のアミノ酸配列

D I Q M T Q F P S S L S A S I G D R V T I T C Q A S Q D I S N F L N W F Q Q K P
G K A P K L L I Y D A S D L E T G V P S R F S G S G A G T D F T F T I S S L Q P
E D I A T Y F C Q Q Y D D L P L T F G G G T R V D I K R

配列番号 32 - G C G R に結合するヒト抗体の L C V R のアミノ酸配列

D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q G I R N D L G W Y Q Q K P
G K A P K R L I Y A A S S L Q S G V P S R F S G S G S G T E F T L T I S S L Q P
E D F A T Y Y C L Q H N S N P L T F G G G T K V E I K R

配列番号 33 - G C G R に結合するヒト抗体の L C V R のアミノ酸配列

Q N V L T Q S P G T L S L S P G E R V T L S C R A S Q S V S S S Y L A W Y Q Q K

50

P G Q A P R L L I F G V S S R A T G I P D R F S G S G S G T D F S L T I S R L E
P E D F A V Y Y C Q Q Y G N S P F T F G P G T K V D I K R

配列番号 34 - G C G R に結合するヒト抗体の L C V R のアミノ酸配列

D I Q M T Q F P S S L S A S I G D R V T I T C Q A S Q D I S N F L N W F Q Q K P
G K A P K L L I Y D A S D L E T G V P S R F S G S G A G T D F T F T I S S L Q P
E D V A T Y F C Q Q Y D N L P L T F G G G T K V D I K R

配列番号 35 - G C G R に結合するヒト抗体の L C V R のアミノ酸配列

E N V L T Q S P G T L S L S P G E R A T L S C R A S Q S V T S S Y L A W Y Q Q K
P G Q A P R L L I F G V S S R A T G I P D R F S G S G S G T D F S L T I S R L E
P E D F A V Y Y C Q Q Y G N S P F T F G P G T K V D I K R

配列番号 36 - G C G R に結合するヒト抗体の L C V R のアミノ酸配列

D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q G I D M Y L A W F Q Q K P
G K A P K S L I Y A A S S L Q S G V P S K F S G S G F G T D F T L T I S S L Q P
E D F A T Y Y C Q Q Y N I F P F T F G P G T K V D V K R

配列番号 37 - G C G R に結合するヒト抗体の L C V R のアミノ酸配列

D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q G I R N D L G W Y Q Q K P
G K A P K R L I Y A A S S L E S G V P S R F S G S G S G T E F T L T I S S L Q P
E D F A T Y Y C L Q H N S Y P W T F G Q G T K V E I K R

配列番号 38 - G C G R に結合するヒト抗体の L C V R のアミノ酸配列

K I V M T Q T P L A L P V I P G E P A S I S C R S S Q S L V D S D D G D T Y L D
W Y L Q K P G Q S P Q V L I H R L S Y R A S G V P D R F S G S G S G T D F T L K
I S R V E A E D V G I Y Y C M H R I E F P F T F G G G T K V E I K R

配列番号 39 - G C G R に結合するヒト抗体の L C V R のアミノ酸配列

D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q G I R N D L G W Y Q Q R P
G K A P K R L I Y A A S S L Q T G V P S R F S G S G S G T E F T L T I S S L Q P
E D F A T Y Y C L Q H N S Y P W T F G Q G T K V E I K R

配列番号 40 - G C G R に結合するヒト抗体の L C V R のアミノ酸配列

G I V L T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W
Y L Q K P G Q S P Q L L I Y L G S N R A S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I
S R V E A E D V G V Y Y C M E A L Q T M C S F G Q G T K L E I K R

配列番号 41 - G C G R に結合するヒト抗体の L C V R のアミノ酸配列

G I V L T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W
Y L Q K P G Q S P Q L L I Y L G S N R A S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I
S R V E A E D V G V Y Y C M E A L Q T M S S F G Q G T K L E I K R

配列番号 42 - G C G R に結合するヒト抗体の L C V R のアミノ酸配列

D I V M T Q T P L F L P V T P G E P A S I S C R S S Q T L L D S D D G N T Y L D
W Y L Q K P G Q S P Q R L I Y T L S Y R A S G V P D R F S G S G S G T D F T L K
I S R V E A E D V G I Y Y C M Q H I E F P S T F G Q G T R L E I K R

配列番号 43 - G C G R に結合するヒト抗体の L C V R のアミノ酸配列

S Y E L T Q P P S V S V S P G Q T A S I T C S G D K L G D K Y A S W Y Q Q K P G
Q S P V L V I Y Q S T K R P S G I P E R F S G S N S G N T A T L T I S G T Q A M
D E A D Y Y C Q A W D S S T V V F G G G T K L T V L G

配列番号 44 - G C G R に結合するヒト抗体の L C V R のアミノ酸配列

N I V M T Q T P L S L S V T P G Q P A S I S C K S S Q S L L H S D G K N Y L F W
Y L Q K P G Q S P Q L L I Y E V S Y R F S G V P D R F S G S G S G T D F S L K I
S R V E A E D V G V Y Y C M Q N I Q P P L T F G Q G T R L E I K R

配列番号 45 - G C G R に結合するヒト抗体の L C V R のアミノ酸配列

D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q G I R N D L G W Y Q Q K P
G K A P K R L I Y A A S S L Q S G V P S R F S G S G S G T E F T L T I S S V Q P
E D F V T Y Y C L Q H N S N P L T F G G G T K V E I K R

10

20

30

40

50

配列番号46 - GCGRに結合するヒト抗体のLCVRのアミノ酸配列

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIRNDLGWYQQKP
GKAPKRLIYAASSLES GVP SRFS GSGSGTEFTLTISSVQP
EDFVTYYCLQHNSNPLTFGGG GTKVEIKR

配列番号47 - GCGRに結合するヒト抗体のLCVRのアミノ酸配列

DIVLTQTPLSLPVTPEGEPASISCRSSQSLLDRDDGDTYLD
WYLQKPGQSPQLLIYTL SYRAS GVPDRFS GSGSGSGTDFSLK
ISRVEAEDVG VYYCMQRIEF PFTFGPGTKVDIKR

配列番号48 - カッパ軽鎖定常領域のアミノ酸配列

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ
WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYE
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

配列番号49 - ラムダ軽鎖定常領域のアミノ酸配列

GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTV
AWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWK
SHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

配列番号50 - IgG2重鎖定常領域のアミノ酸配列

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSLSSVVTVPSSNFGTQT
YTCNV D HKPSNTKVDK TVERKCCVECP PCPAPPVAGPSVF
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDG
VEVHNAKT KPREEQFNSTFRVVS VLT VVH QDWLNGKEYKC
KVS NKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSD
GSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK

20

配列番号51 - GCGRに結合するヒト抗体のHCのアミノ酸配列

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTTFSSYGMHWVRQA
PGKGLEWVAVMWYDGSNKDYVDSVKGRFTISRDN SKNTLY
LQMNRLRAEDTAVYYCAREKDHYDILTGYNYYYGLDVWGQ
GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSLSSVVTVP
SSNFGTQTYTCNV D HKPSNTKVDK TVERKCCVECP PCPAP
PVAGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
QFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTFRVVS VLT VVH QDW
LNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPP
SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
TPPMLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK

30

配列番号52 - GCGRに結合するヒト抗体のLCのアミノ酸配列

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIRNDLGWYQQKP
GKAPKRLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGSGTEFTLTISSVQP
EDFVTYYCLQHNSNPLTFGGG GTKVEIKRRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG
LSSPVTKSFNRGEC

40

【 図 1 】

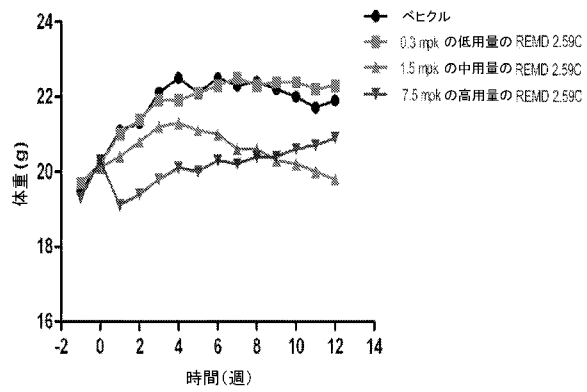


FIG. 1

【 図 2 】

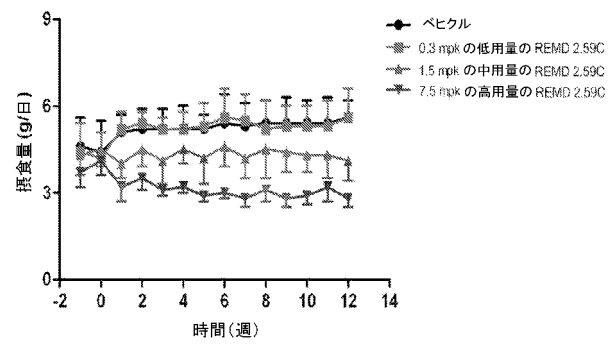


FIG. 2

【 図 3 】

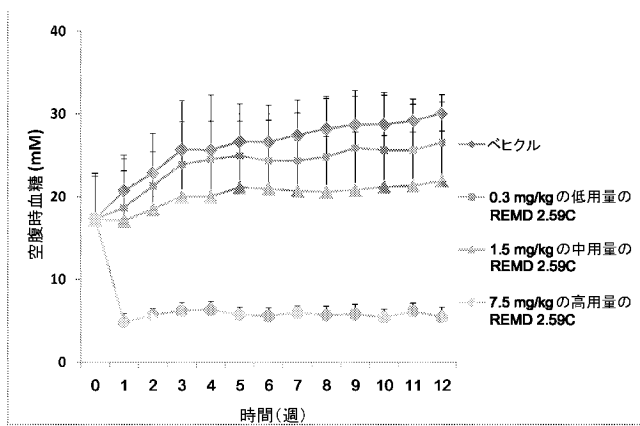


FIG. 3

【 図 4 】

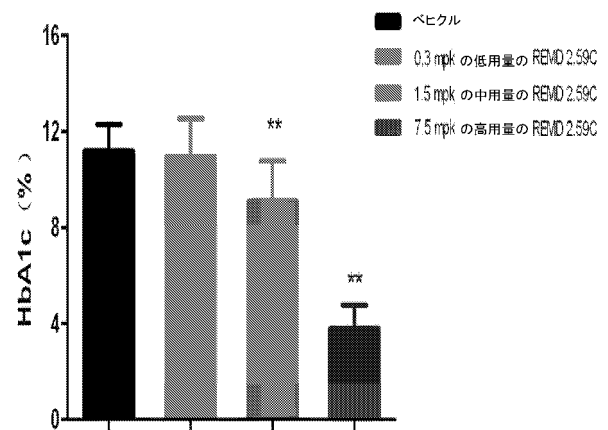


FIG. 4

【 図 5 】

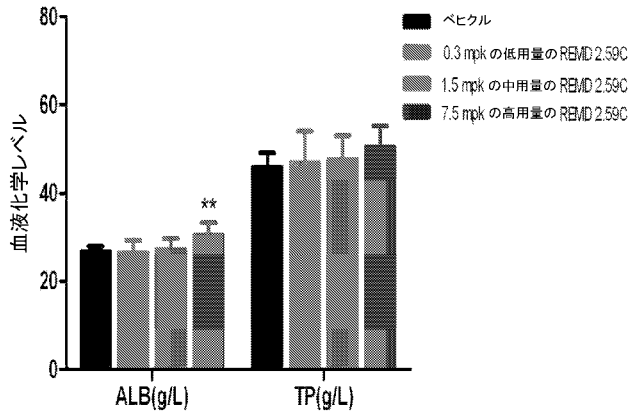


FIG. 5

【 図 6 】

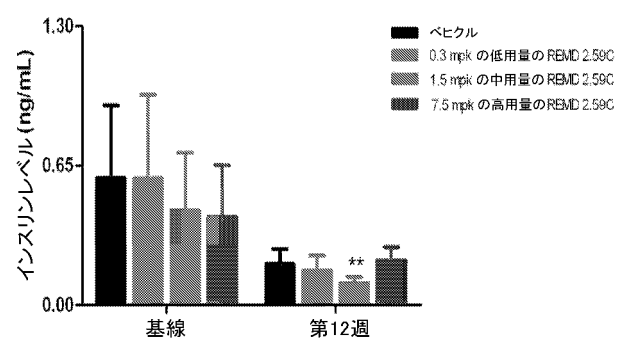


FIG. 6

【 図 7 】

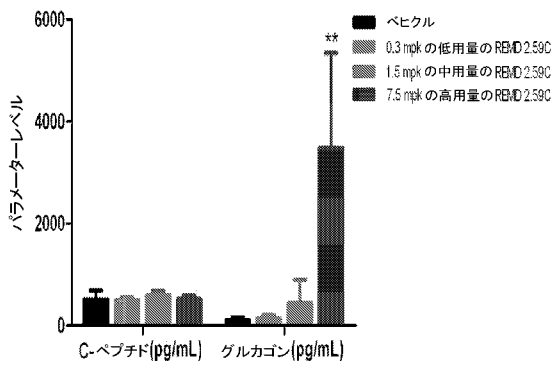


FIG. 7

【 図 8 】

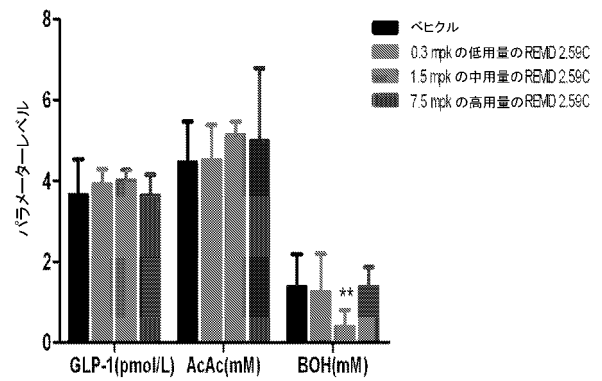


FIG. 8

【図 9】

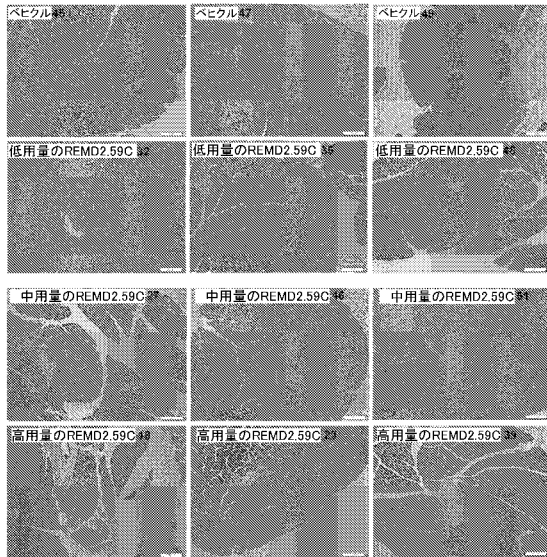


FIG. 9

【図 10】

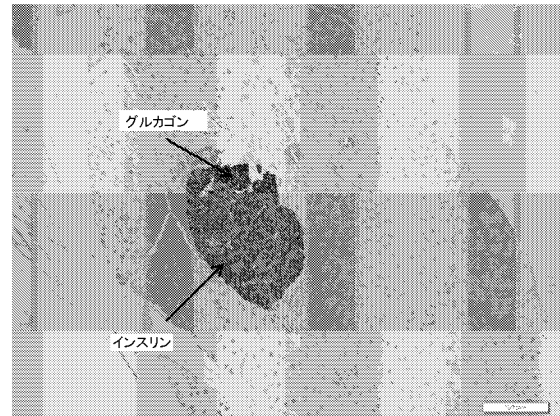
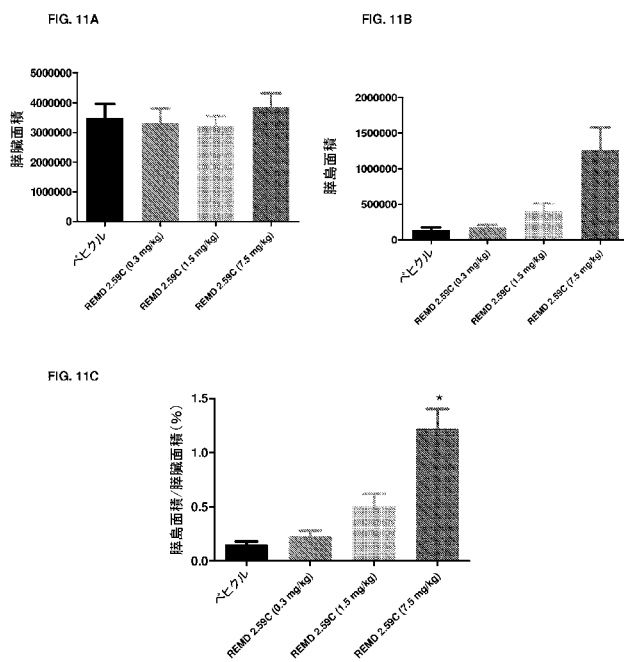
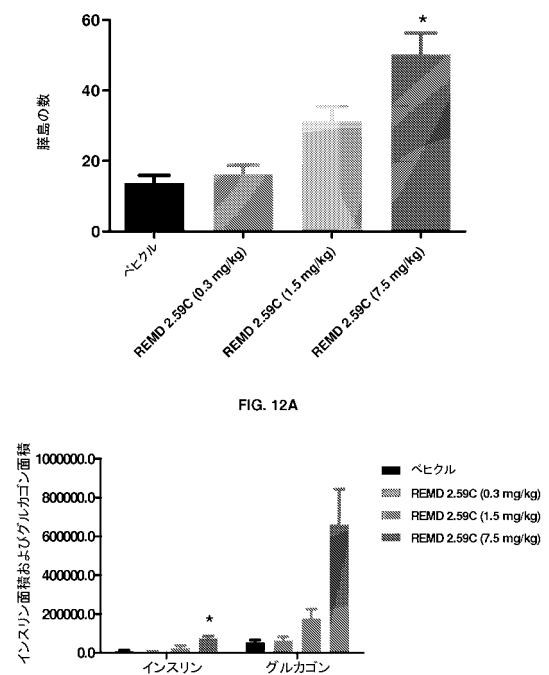


FIG. 10

【図 11】



【図 12】



【図 13】

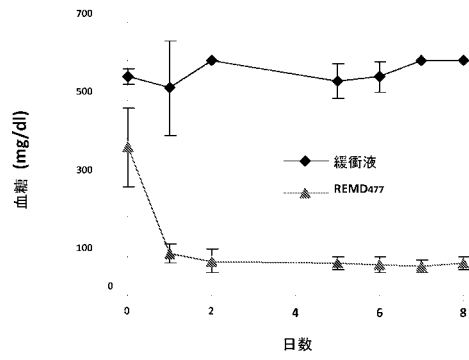


FIG. 13

【図 14】

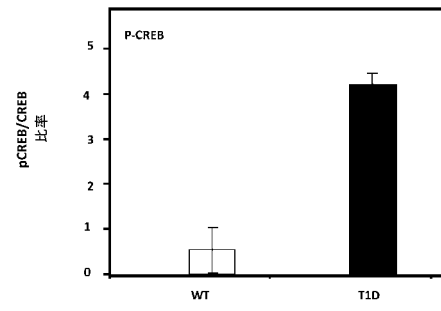


FIG. 14A

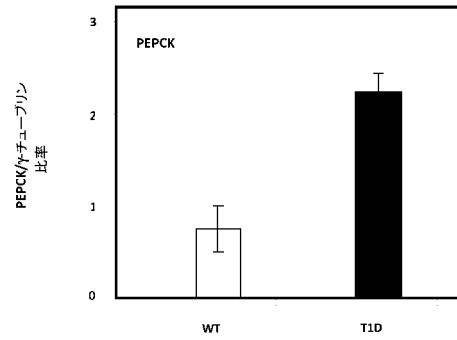


FIG. 14B

【図 15】

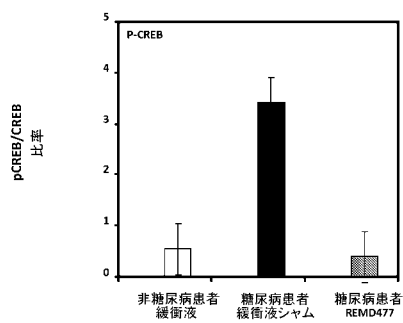


FIG. 15A

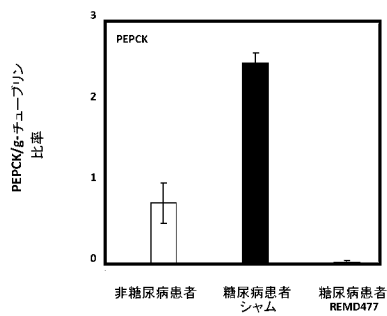


FIG. 15B

【図 16】

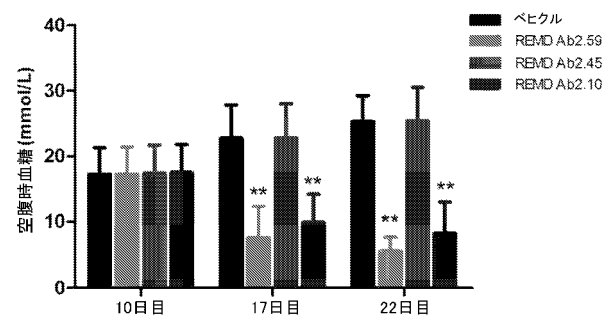


FIG. 16

【配列表】

2017522368000001.app

【手続補正書】

【提出日】平成29年2月7日(2017.2.7)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

1型糖尿病(T1D)と診断された患者を治療する方法であって、前記患者に(a)ヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与すること、および(b)インスリン補充を行うことを含む前記方法。

【請求項2】

T1Dに関連する1つ以上の症状を軽減、抑制、減弱化、または阻止する方法であって、T1Dと診断された患者に(a)ヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与すること、および(b)インスリン補充を行うことを含む前記方法。

【請求項3】

前記1つ以上の症状が、過剰糖新生、過剰グリコーゲン分解、高血糖症、高グルカゴン血症、ケトン症、糖尿病性ケトアシドーシス、高トリグリセリド血症、血漿中遊離脂肪酸濃度上昇、体重減少、異化作用不全症候群、末期疾患、高血圧症、糖尿病性腎症、腎機能不全、腎不全、過食症、筋肉消耗、糖尿病性神経障害、糖尿病性網膜症、または糖尿病性昏睡、過剰HbA1cレベル、多飲症(口渇感増長)、口内乾燥症(ドライマウス)、過食症(空腹感増長)、多尿症(頻尿)、および疲労からなる群より選択される、請求項2に記載の方法。

【請求項4】

T1Dの発症リスクがある患者を治療する方法であって、(a)T1Dの発症リスクがある患者を特定すること、および(b)前記患者に(i)ヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与すること、および(ii)インスリン補充を行うことを含む前記方法。

【請求項5】

T1Dの発症リスクがある前記患者が耐糖能障害および膵臓β細胞の喪失または機能不全の証拠を有するものとして特定される、請求項4に記載の方法。

【請求項6】

前記インスリン補充がインスリン補充の正常な1日投与量の90%~70%を含む、請求項1~5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項7】

前記インスリン補充がインスリン補充の正常な1日投与量の70%~50%を含む、請求項1~5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項8】

前記インスリン補充がインスリン補充の正常な1日投与量の50%~30%を含む、請求項1~5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項9】

前記インスリン補充がインスリン補充の正常な1日投与量の30%~15%を含む、請求項1~5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項10】

前記インスリン補充がインスリン補充の正常な1日投与量の15%~10%を含む、請求項1~5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

前記インスリン補充がインスリン補充の正常な 1 日投与量の 10%～5%を含む、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

前記インスリン補充がインスリン補充の正常な 1 日投与量の 5%～1%を含む、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

前記インスリン補充がインスリン補充の正常な 1 日投与量の 1%～0.1%を含む、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

1 型糖尿病 (T1D) と診断された患者を治療するための方法であって、前記患者にインスリン補充を行うことなくヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与することを含む前記方法。

【請求項 15】

T1D に関連する 1 つ以上の症状を軽減、抑制、減弱化、または阻止するための方法であって、T1D と診断された患者にインスリン補充を行うことなくヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与することを含む前記方法。

【請求項 16】

前記 1 つ以上の症状が、過剰糖新生、過剰グリコーゲン分解、高血糖症、高グルカゴン血症、ケトン症、糖尿病性ケトアシドーシス、高トリグリセリド血症、血漿中遊離脂肪酸濃度上昇、体重減少、異化作用不全症候群、末期疾患、高血圧症、糖尿病性腎症、腎機能不全、腎不全、過食症、筋肉消耗、糖尿病性神経障害、糖尿病性網膜症、または糖尿病性昏睡、過剰 HbA1c レベル、多飲症 (口渇感増長)、口内乾燥症 (ドライマウス)、過食症 (空腹感増長)、多尿症 (頻尿)、および疲労からなる群より選択される、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 17】

T1D の発症リスクがある患者を治療する方法であって、(a) T1D の発症リスクがある患者を特定すること、および (b) 前記患者にインスリン補充を行うことなくヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の治療有効量を投与することを含む前記方法。

【請求項 18】

T1D の発症リスクがある前記患者が耐糖能障害および膵臓 β 細胞の喪失または機能不全の証拠を有するものとして特定される、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質が、完全ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、抗原結合性抗体断片、Fab、Fab'、Fab₂、Fab'₂、IgG、IgM、IgA、IgE、scFv、dsFv、dAb、ナノボディ、ユニボディ、ディアボディ、およびヘミボディからなる群より選択される単離抗体を含む、請求項 1～18 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 20】

前記単離アンタゴニスト抗体または抗原結合性抗体断片が少なくとも約 1×10^{-7} M、少なくとも約 1×10^{-8} M、少なくとも約 1×10^{-9} M、少なくとも約 1×10^{-10} M、少なくとも約 1×10^{-11} M、または少なくとも約 1×10^{-12} M の解離定数 (K_D) でヒトグルカゴン受容体に特異的に結合する、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

前記単離アンタゴニスト抗体が完全ヒト抗体である、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 22】

前記完全ヒト抗体が配列番号 2 の重鎖可変領域をコードするアミノ酸配列と配列番号 3 の軽鎖可変領域をコードするアミノ酸配列を備えるヒト抗 GCGR 抗体を含む、請求項 1

9 に記載の方法。

【請求項 23】

前記完全ヒト抗体が配列番号 4 の重鎖可変領域をコードするアミノ酸配列と配列番号 5 の軽鎖可変領域をコードするアミノ酸配列を備えるヒト抗 G C G R 抗体を含む、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 24】

前記完全ヒト抗体が配列番号 6 の重鎖可変領域をコードするアミノ酸配列と配列番号 7 の軽鎖可変領域をコードするアミノ酸配列を備えるヒト抗 G C G R 抗体を含む、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 25】

前記完全ヒト抗体が配列番号 28 の重鎖可変領域をコードするアミノ酸配列と配列番号 47 の軽鎖可変領域をコードするアミノ酸配列を備えるヒト抗 G C G R 抗体を含む、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 26】

前記キメラ抗体が配列番号 8 の重鎖をコードするアミノ酸配列と配列番号 9 の軽鎖をコードするアミノ酸配列を備えるヒト抗 G C G R 抗体を含む、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 27】

前記完全ヒト抗体が配列番号 51 の重鎖をコードするアミノ酸配列および配列番号 52 の軽鎖をコードするアミノ酸配列を備えるヒト抗 G C G R 抗体を含む、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 28】

前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の前記治療有効量が一週間当たり体重に対して 0.001 ~ 100 mg / kg、0.001 ~ 90 mg / kg、0.001 ~ 80 mg / kg、0.001 ~ 70 mg / kg、0.001 ~ 60 mg / kg、0.001 ~ 50 mg / kg、0.001 ~ 40 mg / kg、0.001 ~ 30 mg / kg、0.001 ~ 20 mg / kg、0.001 ~ 10 mg / kg、0.001 ~ 5 mg / kg、0.001 ~ 4 mg / kg、0.001 ~ 3 mg / kg、0.001 ~ 2 mg / kg、0.001 ~ 1 mg / kg、0.010 ~ 50 mg / kg、0.010 ~ 40 mg / kg、0.010 ~ 30 mg / kg、0.010 ~ 20 mg / kg、0.010 ~ 10 mg / kg、0.010 ~ 5 mg / kg、0.010 ~ 4 mg / kg、0.010 ~ 3 mg / kg、0.010 ~ 2 mg / kg、0.010 ~ 1 mg / kg、0.1 ~ 50 mg / kg、0.1 ~ 40 mg / kg、0.1 ~ 30 mg / kg、0.1 ~ 20 mg / kg、0.1 ~ 10 mg / kg、0.1 ~ 5 mg / kg、0.1 ~ 4 mg / kg、0.1 ~ 3 mg / kg、0.1 ~ 2 mg / kg、0.1 ~ 1 mg / kg、0.5 ~ 50 mg / kg、0.5 ~ 40 mg / kg、0.5 ~ 30 mg / kg、0.5 ~ 20 mg / kg、0.5 ~ 10 mg / kg、0.5 ~ 5 mg / kg、0.5 ~ 4 mg / kg、0.5 ~ 3 mg / kg、0.5 ~ 2 mg / kg、0.5 ~ 1 mg / kg、1 ~ 50 mg / kg、1 ~ 40 mg / kg、1 ~ 30 mg / kg、1 ~ 20 mg / kg、1 ~ 10 mg / kg、1 ~ 5 mg / kg、1 ~ 4 mg / kg、1 ~ 3 mg / kg、1 ~ 2 mg / kg、および 0.1 mg / kg ~ 1 mg / kg からなる群より選択される、請求項 1 ~ 27 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 29】

前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の前記治療有効量が一週間当たり体重に対して 0.01 ~ 10 mg / kg である、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 30】

前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質の前記治療有効量が二週間当たり体重に対して 0.01 ~ 10 mg / kg である、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 31】

前記患者への全身投与用の医薬組成物を形成するために前記単離アンタゴニスト性抗原結合タンパク質が薬学的に許容可能な担体と混合される、請求項 1 ~ 30 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 2】

前記全身投与が静脈内注射または注入、筋肉内注射または注入、皮下注射または注入、腹膜内注射または注入、経皮注射または注入、動脈内注射または注入、胸骨内注射または注入、髄腔内注射または注入、脳室内注射または注入、尿道内注射または注入、頭蓋内注射または注入、滑膜内注射または注入から選択される、請求項 3 1 に記載の方法。

【 国 際 調 査 報 告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB2015/001394

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K 39/385(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; A61P 3/10(2006.01)i 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 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) CNABS,CPRSABS,SIPOABS,DWPI,CNTXT,WOTXT,EPTXT,USTXT,CNKI,GOOGLE SCHOLAR, Elsevier Science, PubMed: T1D,type 1 diabetes,ANTAGONISTIC ANTIGEN, glucagon receptor, insulin supplementation, anti-GCGR,SEQ ID NO:2-9,28,47,51,52		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 101983208 A (LILLY CO ELI) 02 March 2011 (2011-03-02) see claims 1-18	14-32
Y	CN 101983208 A (LILLY CO ELI) 02 March 2011 (2011-03-02) see claims 1-18	1-13
Y	CN 101511364 A (NYCOMED GMBH) 19 August 2009 (2009-08-19) see the description, page 12	1-13
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ 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 03 December 2015		Date of mailing of the international search report 25 December 2015
Name and mailing address of the ISA/CN STATE INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE OF THE P.R.CHINA 6, Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer ZHAO,Yanhao Telephone No. (86-10)62411043

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/IB2015/001394

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **1-32**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
[1] Although claims 1-32 are directed to methods of treatment of the human/animal body by therapy (PCT Rules 39.1 (iv)), the search has been carried out on the alleged uses in the manufacture of the pharmaceutical composition for the treatment of T1D and other related uses.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/IB2015/001394

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	101983208	A	02 March 2011	EP	2268670	A1	05 January 2011
				US	2009252727	A1	08 October 2009
				US	7968686	B2	28 June 2011
				KR	20100117130	A	02 November 2010
				JP	5438095	B2	12 March 2014
				JP	2011518125	A	23 June 2011
				MX	2010010517	A	20 December 2010
				EA	201071126	A1	29 April 2011
				US	2011212092	A1	01 September 2011
				KR	101235934	B1	21 February 2013
				AR	070844	A1	05 May 2010
				TW	201000126	A	01 January 2010
				AU	2009228866	A1	01 October 2009
				CA	2719761	A1	01 October 2009
				WO	2009120530	A1	01 October 2009
				PE	16742009	A1	04 November 2009
CN	101511364	A	19 August 2009	IL	196869	D0	18 November 2009
				MX	2009002282	A	20 March 2009
				EA	200900392	A1	30 June 2010
				KR	20090047546	A	12 May 2009
				US	2010179131	A1	15 July 2010
				EP	2213289	A1	04 August 2010
				ME	P8509	A	20 December 2011
				UA	100497	C2	10 January 2013
				NZ	574710	A	24 February 2012
				BR	PI0716134	A2	17 September 2013
				US	2012129817	A1	24 May 2012
				WO	2008028914	A1	13 March 2008
				EP	2063890	A1	03 June 2009
				AU	2007293885	A1	13 March 2008
				CA	2662084	A1	13 March 2008
				JP	2010502670	A	28 January 2010
				NO	20091260	A	26 March 2009
				CN	101511364	B	15 August 2012

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	3/06	(2006.01)	A 6 1 P	3/00		
A 6 1 P	1/14	(2006.01)	A 6 1 P	3/06		
A 6 1 P	9/12	(2006.01)	A 6 1 P	1/14		
A 6 1 P	13/12	(2006.01)	A 6 1 P	9/12		
A 6 1 P	3/04	(2006.01)	A 6 1 P	13/12		
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	3/04		
A 6 1 P	27/02	(2006.01)	A 6 1 P	25/00		
A 6 1 P	1/02	(2006.01)	A 6 1 P	27/02		
A 6 1 P	13/02	(2006.01)	A 6 1 P	1/02		
A 6 1 P	3/02	(2006.01)	A 6 1 P	13/02		
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	3/02		
C 0 7 K	16/26	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1	
			A 6 1 P	43/00	1 1 1	
			C 0 7 K	16/26	Z N A	

(81)指定国 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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, 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, TZ, UA, UG, US

(72)発明者 シ, ジム

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 1 3 6 2 , サウザンドオークス, コネージョキャニオンコート 2 7 4 6 , アpartment # 2 7

F ターム(参考) 4C084 AA02 BA44 DB34 MA02 MA66 NA05 NA14 ZA021 ZA331 ZA421
 ZA661 ZA671 ZA701 ZA811 ZC031 ZC211 ZC331 ZC351 ZC751
 4C085 AA13 AA14 AA16 BB33 BB35 BB36 BB37 BB41 BB43 BB50
 CC23 DD62 DD90 EE01 EE03 GG01 GG02 GG03 GG04
 4H045 AA30 BA10 BA41 CA40 DA75 EA20