

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】令和 3 年 7 月 26 日 (2021.7.26)

【公表番号】特表 2020-519291 (P2020-519291A)

【公表日】令和 2 年 7 月 2 日 (2020.7.2)

【年通号数】公開・登録公報 2020-026

【出願番号】特願 2019-562409 (P2019-562409)

【国際特許分類】

C 1 2 N 5/12 (2006.01)

C 0 7 K 14/47 (2006.01)

C 1 2 N 15/12 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 0 7 K 16/00 (2006.01)

C 1 2 N 15/63 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 P 21/02 (2006.01)

A 6 1 K 38/16 (2006.01)

A 6 1 K 47/68 (2017.01)

A 6 1 P 21/00 (2006.01)

A 6 1 P 21/06 (2006.01)

A 6 1 P 19/08 (2006.01)

A 6 1 P 9/00 (2006.01)

A 6 1 P 1/00 (2006.01)

A 6 1 P 1/04 (2006.01)

A 6 1 P 11/00 (2006.01)

A 6 1 P 13/10 (2006.01)

A 6 1 P 25/28 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 P 29/00 (2006.01)

A 6 1 P 25/18 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 5/12

C 0 7 K 14/47 Z N A

C 1 2 N 15/12

C 0 7 K 19/00

C 0 7 K 16/00

C 1 2 N 15/63 Z

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/10

C 1 2 P 21/02 C

A 6 1 K 38/16

A 6 1 K 47/68

A 6 1 P 21/00

A 6 1 P 21/06  
 A 6 1 P 19/08  
 A 6 1 P 9/00  
 A 6 1 P 1/00  
 A 6 1 P 1/04  
 A 6 1 P 11/00  
 A 6 1 P 13/10  
 A 6 1 P 25/28  
 A 6 1 K 39/395 Y  
 A 6 1 K 45/00  
 A 6 1 P 29/00  
 A 6 1 P 25/18

【手続補正書】

【提出日】令和3年5月10日(2021.5.10)

【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】

組み換えフォリスタチンポリペプチドであって、以下：

( i ) 配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、または配列番号 5 と少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸の配列であって、前記組み換えフォリスタチンタンパク質が、ヘパリン結合配列 ( H B S ) を有し、かつ前記 H B S 内の 1 つ以上のアミノ酸が、置換されたアミノ酸と比較してより少ない正電荷を有するアミノ酸で置換されている、アミノ酸の配列

( i i ) 配列番号 2、配列番号 4、または配列番号 5 と少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸の配列であって、C 6 6 S、C 6 6 A、G 7 4 N、K 7 5 E、K 7 5 N、K 7 6 A、K 7 6 D、K 7 6 S、K 7 6 E、C 7 7 S、C 7 7 T、R 7 8 E、R 7 8 N、N 8 0 T、K 8 1 A、K 8 1 D、K 8 2 A、K 8 2 D、K 8 1 E、K 8 2 T、K 8 2 E、K 8 4 E、P 8 5 T、R 8 6 N、V 8 8 E、および V 8 8 T またはそれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸変異のうちのいずれか 1 つを含む、アミノ酸の配列、または

( i i i ) 配列番号 1 2、配列番号 1 7 ~ 3 0、および配列番号 3 2 ~ 4 0 からなる群から選択されるアミノ酸の配列

を含む、組み換えフォリスタチンポリペプチド。

【請求項 2】

( i ) 前記 H B S 内の前記 1 つ以上のアミノ酸が、中性電荷を有するアミノ酸で置換されている、

( i i ) 前記 1 つ以上が少なくとも 1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 1 0 個のアミノ酸を含み、必要に応じて、前記 1 つ以上が 3 個のアミノ酸を含む、

( i i i ) 前記組み換えポリペプチドが、自然発生のフォリスタチンと比較して減少したヘパリン結合親和性を有し、例えば、前記 H B S 中の前記アミノ酸置換の数を増加させることが、ヘパリン結合親和性を漸進的に減少させ、必要に応じて、前記 H B S 内の前記アミノ酸置換の数が 2 個のアミノ酸または 3 個のアミノ酸である、

( i v ) 前記アミノ酸置換が、前記 H B S ドメインのアミノ酸残基 8 1 ~ 8 4 によって特定される B B X B モチーフ、および / もしくは前記 H B S ドメインのアミノ酸残基 7 5 ~ 7 8 によって特定される B B X B モチーフ内で行われ、必要に応じて、前記最初の 2 つの塩基性アミノ酸残基が、負電荷を有するかまたは中性のアミノ酸残基で置換され、必要

に応じて、前記最初の 2 つの塩基性アミノ酸残基が、負電荷を有するアミノ酸残基で置換されている、ならびに / または

( v ) 前記組み換えフォリスタチンタンパク質が B M P - 9 または B M P - 1 0 と結合しない、

請求項 1 ( i ) に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド。

【請求項 3】

前記組み換えフォリスタチンタンパク質が、配列番号 1 2 ~ 4 0 または配列番号 1 0 1 ~ 1 0 6 のうちのいずれか 1 つと少なくとも 8 0 % 同一である配列を有する、請求項 1 ( i ) に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド。

【請求項 4】

配列番号 2、配列番号 4、または配列番号 5 と少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸の配列を含み、

配列番号 2、配列番号 4、または配列番号 5 の 6 6 ~ 8 8 位に対応する前記アミノ酸が、配列番号 4 2 ~ 6 7 または配列番号 1 1 1 ~ 1 1 6 のうちのいずれか 1 つと同一であり、必要に応じて、配列番号 2、配列番号 4、または配列番号 5 の 6 6 ~ 8 8 位に対応する前記アミノ酸の配列が、配列番号 5 8 ~ 6 7 または配列番号 1 1 1 ~ 1 1 3 のうちのいずれか 1 つと同一であり、例えば、前記組み換えフォリスタチンポリペプチドが高グリコシル化変異体である、

請求項 1 ( i )、2 または 3 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド。

【請求項 5】

前記アミノ酸の配列が、

( i ) 配列番号 2、配列番号 4、または配列番号 5 と少なくとも 9 0 % 同一であるか、

( i i ) 配列番号 2、配列番号 4、または配列番号 5 と少なくとも 9 5 % 同一であるか、

( i i i ) 配列番号 2、配列番号 4、または配列番号 5 と少なくとも 9 8 % 同一であるか、または

( i v ) 配列番号 2、配列番号 4、または配列番号 5 と 1 0 0 % 同一である、

請求項 1 ( i i ) または 4 に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド。

【請求項 6】

( i ) 請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載のフォリスタチンポリペプチドおよび I g G F c ドメイン、

( i i ) フォリスタチンポリペプチドおよびヒト I g G F c ドメインであって、

前記組み換えフォリスタチンポリペプチドが、配列番号 2、配列番号 4、または配列番号 5 と少なくとも 8 0 % 同一であるアミノ酸の配列を含み、

配列番号 2、配列番号 4、または配列番号 5 の 6 6 ~ 8 8 位に対応する前記アミノ酸が、配列番号 4 1、4 2、4 3、または 5 8 と同一である、フォリスタチンポリペプチドおよびヒト I g G F c ドメイン、

( i i i ) フォリスタチンポリペプチドおよび I g G F c ドメインであって、

前記フォリスタチンポリペプチドが、配列番号 1 2、配列番号 1 3、および配列番号 1 5 ~ 配列番号 4 0 からなる群のうちのいずれか 1 つから選択されるアミノ酸の配列を含む、フォリスタチンポリペプチドおよび I g G F c ドメイン、または

( i v ) 配列番号 7 3 ~ 配列番号 1 0 0、配列番号 1 1 7、または配列番号 1 1 8 のうちのいずれか 1 つのアミノ酸の配列

を含む組み換えフォリスタチン融合タンパク質。

【請求項 7】

前記組み換えフォリスタチンポリペプチドが、

( i ) 配列番号 2、配列番号 4、または配列番号 5 と少なくとも 9 0 % 同一であるか、

( i i ) 配列番号 2、配列番号 4、または配列番号 5 と少なくとも 9 5 % 同一であるか、

( i i i ) 配列番号 2、配列番号 4、または配列番号 5 と少なくとも 9 8 % 同一であるか、または

( i v ) 配列番号 2、配列番号 4、または配列番号 5 と 1 0 0 % 同一である

アミノ酸の配列を含む、請求項 6 ( i i ) に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質。

【請求項 8】

( i ) 前記 I g G F c ドメインがアミノ酸置換を含み、

前記アミノ酸置換が、E U ナンバリングに従い、L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、H 4 3 3 K、N 4 3 4 F およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるか、

( i i ) 前記 I g G F c ドメインが配列番号 6 のアミノ酸の配列を含み、

前記アミノ酸の配列が、E U ナンバリングに従い、L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、H 4 3 3 K、N 4 3 4 F およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸置換を含むか、

( i i i ) 前記 I g G F c ドメインが、配列番号 7 ~ 配列番号 1 1 からなる群から選択されるアミノ酸の配列を含むか、

( i v ) 前記 I g G F c ドメインがヒト I g G F c ドメインであるか、または

( v ) 前記 I g G F c ドメインが I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 F c ドメインである、

請求項 6 ( i ) ~ ( i i i ) または 7 に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質。

【請求項 9】

( i ) 前記タンパク質が、1 ~ 1 0 0 p M の親和性解離定数 (  $K_D$  ) でミオスタチンに結合するか、

( i i ) 前記タンパク質が、1 ~ 1 0 0 p M の親和性解離定数 (  $K_D$  ) でアクチビン A に結合するか、

( i i i ) 前記タンパク質が、0 . 2 n M ~ 2 5 n M の範囲の骨形態形成タンパク質 - 9 ( B M P - 9 ) および / または骨形態形成タンパク質 - 1 0 ( B M P - 1 0 ) に結合しないか、

( i v ) 前記タンパク質が、0 . 1 ~ 2 5 n M 超の親和性解離定数 (  $K_D$  ) でヘパリンに結合するか、

( v ) 前記タンパク質が、2 5 ~ 4 0 0 n M の親和性解離定数 (  $K_D$  ) で F c R n 受容体に結合するか、

( v i ) タンパク質が 0 . 1 ~ 1 0 n M の  $IC_{50}$  でミオスタチンを阻害するか、

( v i i ) タンパク質が 0 . 1 ~ 1 0 n M の  $IC_{50}$  でアクチビン A を阻害するか、または

( v i i i ) 前記組み換えフォリスタチンタンパク質融合タンパク質が、野生型フォリスタチンと比較して増加した半減期を有する、

請求項 6 ( i ) ~ ( i v ) のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質。

【請求項 1 0】

請求項 6 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質および薬学的に許容可能な担体を含む医薬組成物。

【請求項 1 1】

( i ) 請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド、または

( i i ) 請求項 6 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド。

【請求項 1 2】

請求項 1 1 に記載のポリヌクレオチドを含む発現ベクター。

【請求項 1 3】

請求項 1 1 に記載のポリヌクレオチド、または請求項 1 2 に記載の発現ベクターを含む宿主細胞。

【請求項 1 4】

請求項 13 に記載の宿主細胞を培養することを含む、ミオスタチンに特異的に結合する組み換えフォリスタチン融合タンパク質を作製する方法。

【請求項 15】

請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチドまたは請求項 6 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質を産生するハイブリドーマ細胞。

【請求項 16】

デュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）を治療する方法において使用するための、請求項 6 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質を含む組成物または請求項 10 に記載の医薬組成物であって、

DMD の少なくとも 1 つの症状もしくは特徴の強度、重症度、または頻度が低減するか、またはそれらの開始を遅延させる、組成物または医薬組成物。

【請求項 17】

請求項 16 に記載の使用のための組成物または医薬組成物であって、

(i) 前記使用が、1 つ以上の追加的治療薬を対象者に投与することをさらに含み、必要に応じて、前記 1 つ以上の追加的治療薬が、抗 F l t - 1 抗体またはその断片、エダサロネキセント、パムレブルマブ、プレドニゾン、デフラザコート、RNA 調節治療薬、エクソスキッピング治療薬、および遺伝子治療からなる群から選択される、

(i i) 前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の有効量が非経口的に投与され、例えば、前記非経口的投与が、静脈内、皮内、髄腔内、吸入、経皮（局所的）、眼内、筋肉内、皮下、経粘膜投与、またはそれらの組み合わせからなる群から選択され、必要に応じて、

(a) 前記非経口的投与が静脈内投与であり、必要に応じて、前記静脈内投与が月に 1 回行われるか、もしくは

(b) 前記非経口的投与が皮下投与であり、必要に応じて、前記皮下投与が週に 1 回行われ、必要に応じて、組み換えフォリスタチン融合タンパク質の投与が、用量に比例しているか、もしくは用量直線である、

(i i i) 前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が、

(a) 静脈内投与で約 1 m g / k g ~ 5 0 m g / k g であり、必要に応じて、前記静脈内投与が月に 1 回行われ、

(I) 前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が、静脈内投与で約 8 m g / k g ~ 1 5 m g / k g であり、例えば、前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が少なくとも約 8 m g / k g であり、必要に応じて、前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が少なくとも約 1 0 m g / k g であるか、もしくは

(I I) 前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が少なくとも約 5 0 m g / k g である、もしくは

(b) 皮下投与で約 2 m g / k g ~ 1 0 0 m g / k g であり、必要に応じて、前記皮下投与が週に 1 回行われ、必要に応じて、前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が、皮下投与で約 3 m g / k g ~ 3 0 m g / k g であり、例えば、前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が、皮下投与で約 2 m g / k g ~ 5 m g / k g であり、例えば、前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が少なくとも約 2 m g / k g であり、必要に応じて、前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が少なくとも約 3 m g / k g であり、必要に応じて前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が、皮下投与で少なくとも約 3 0 m g / k g である、

(i v) 前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質が、表 1 から選択される 1 つ以上の骨格筋に送達される、

(v) 前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記投与が、対照に対して筋肉量の増加をもたらす、必要に応じて、

( a ) 前記筋肉が、表 1 から選択される 1 つ以上の骨格筋であり、例えば、前記筋肉が、横隔膜、三頭筋、ヒラメ筋、前脛骨筋、腓腹筋、長指伸筋、腹直筋、四頭筋、およびそれらの組み合わせからなる群から選択され、必要に応じて、前記筋肉が腓腹筋である、および / もしくは

( b ) 前記筋肉量の増加が、対照に対して少なくとも 10 %、20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、100 %、150 %、200 % または 500 % の増加である、

( v i ) 前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記投与により、筋肉再生、筋力の増加、柔軟性の増加、可動域の増加、スタミナの増加、易疲労性の低減、血流の増加、認知の改善、肺機能の改善、炎症の抑制、筋線維症の低減、筋壊死の低減、および / または体重の増加がもたらされる、ならびに / または

( v i i ) D M D の前記少なくとも 1 つの症状または特徴が、筋消耗、筋力低下、筋脆弱性、筋壊死、筋線維症、関節拘縮、骨格変形、心筋症、嚥下障害、腸・膀胱機能障害、筋虚血、認知機能障害、行動機能障害、社会化障害、脊柱側弯、および呼吸機能障害からなる群から選択される、  
使用のための組成物または医薬組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0249

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0249】

同等物および範囲

当業者であれば、本明細書に記載の本発明の特定の実施形態に対する多数の均等物を日常的なものを超えない実験を使用して認識し、または確認することができるであろう。本発明の範囲は、上記の説明に限定されることは意図されず、むしろ以下の請求項に記載される。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目 1)

配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4、または配列番号 5 と少なくとも 80 % 同一であるアミノ酸の配列を含む組み換えフォリスタチンポリペプチドであって、前記組み換えフォリスタチンタンパク質が、ヘパリン結合配列 ( H B S ) を有し、かつ前記 H B S 内の 1 つ以上のアミノ酸が、置換されたアミノ酸と比較してより少ない正電荷を有するアミノ酸で置換されている、組み換えフォリスタチンポリペプチド。

(項目 2)

前記 H B S 内の前記 1 つ以上のアミノ酸が、中性電荷を有するアミノ酸で置換されている、項目 1 に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド。

(項目 3)

前記 H B S 内の前記 1 つ以上のアミノ酸が、負電荷を有するアミノ酸で置換されている、項目 1 に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド。

(項目 4)

前記 1 つ以上が少なくとも 1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 個のアミノ酸を含む、項目 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド。

(項目 5)

前記 1 つ以上が 3 個のアミノ酸を含む、項目 4 に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド。

(項目 6)

前記組み換えポリペプチドが、自然発生のフォリスタチンと比較して減少したヘパリン結合親和性を有する、項目 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチンポリペ

プチド。

(項目 7)

前記 H B S 中の前記アミノ酸置換の数を増加させることが、ヘパリン結合親和性を漸進的に減少させる、項目 6 に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド。

(項目 8)

前記 H B S 内の前記アミノ酸置換の数が 2 個のアミノ酸である、項目 7 に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド。

(項目 9)

前記 H B S 内の前記アミノ酸置換の数が 3 個のアミノ酸である、項目 8 に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド。

(項目 10)

前記アミノ酸置換が、前記 H B S ドメインのアミノ酸残基 81 ~ 84 によって特定される B B X B モチーフ内で行われる、項目 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド。

(項目 11)

前記アミノ酸置換が、前記 H B S ドメインのアミノ酸残基 75 ~ 78 によって特定される B B X B モチーフ内で行われる、項目 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド。

(項目 12)

前記最初の 2 つの塩基性アミノ酸残基が、負電荷を有するかまたは中性のアミノ酸残基で置換されている、項目 10 または 11 に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド。

(項目 13)

前記最初の 2 つの塩基性アミノ酸残基が、負電荷を有するアミノ酸残基で置換されている、項目 12 に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド。

(項目 14)

前記組み換えフォリスタチンタンパク質が B M P - 9 または B M P - 10 と結合しない、項目 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド。

(項目 15)

前記組み換えフォリスタチンタンパク質が、配列番号 12 ~ 40 または配列番号 101 ~ 106 のうちのいずれか 1 つと少なくとも 80 % 同一である配列を有する、項目 1 に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド。

(項目 16)

配列番号 2、配列番号 4、または配列番号 5 と少なくとも 80 % 同一であるアミノ酸の配列を含み、

配列番号 2、配列番号 4、または配列番号 5 の 66 ~ 88 位に対応する前記アミノ酸が、配列番号 42 ~ 67 または配列番号 111 ~ 116 のうちのいずれか 1 つと同一である、項目 1 ~ 15 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド。

(項目 17)

配列番号 2、配列番号 4、または配列番号 5 の 66 ~ 88 位に対応するアミノ酸の配列が、配列番号 58 ~ 67 または配列番号 111 ~ 113 のうちのいずれか 1 つと同一である、項目 16 に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド。

(項目 18)

前記組み換えフォリスタチンポリペプチドが高グリコシル化変異体である、項目 17 に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド。

(項目 19)

配列番号 2、配列番号 4、または配列番号 5 と少なくとも 80 % 同一であるアミノ酸の配列を含み、

C 66 S、C 66 A、G 74 N、K 75 E、K 75 N、K 76 A、K 76 D、K 76 S、K 76 E、C 77 S、C 77 T、R 78 E、R 78 N、N 80 T、K 81 A、K 81 D、K 82 A、K 82 D、K 81 E、K 82 T、K 82 E、K 84 E、P 85 T、R 86 N

、V 8 8 E、およびV 8 8 Tまたはそれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸変異のうちのいずれか1つを含む、組み換えフォリスタチンポリペプチド。

(項目20)

前記アミノ酸の配列が、配列番号2、配列番号4、または配列番号5と少なくとも90%同一である、項目16または19に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド。

(項目21)

前記アミノ酸の配列が、配列番号2、配列番号4、または配列番号5と少なくとも95%同一である、項目16または19に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド。

(項目22)

前記アミノ酸の配列が、配列番号2、配列番号4、または配列番号5と少なくとも98%同一である、項目16または19に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド。

(項目23)

前記アミノ酸の配列が、配列番号2、配列番号4、または配列番号5と100%同一である、項目16または19に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチド。

(項目24)

配列番号12、配列番号17～30、および配列番号32～40からなる群から選択されるアミノ酸の配列を含む、組み換えフォリスタチンポリペプチド。

(項目25)

項目1～24のいずれか1項に記載のフォリスタチンポリペプチドおよびIgG Fcドメインを含む組み換えフォリスタチン融合タンパク質。

(項目26)

フォリスタチンポリペプチドおよびヒトIgG Fcドメインを含む組み換えフォリスタチン融合タンパク質であって、

前記組み換えフォリスタチンポリペプチドが、配列番号2、配列番号4、または配列番号5と少なくとも80%同一であるアミノ酸の配列を含み、

配列番号2、配列番号4、または配列番号5の66～88位に対応する前記アミノ酸が、配列番号41、42、43、または58と同一である、組み換えフォリスタチン融合タンパク質。

(項目27)

前記組み換えフォリスタチンポリペプチドが、配列番号2、配列番号4、または配列番号5と少なくとも90%同一であるアミノ酸の配列を含む、項目26に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質。

(項目28)

前記組み換えフォリスタチンポリペプチドが、配列番号2、配列番号4、または配列番号5と少なくとも95%同一であるアミノ酸の配列を含む、項目26に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質。

(項目29)

前記組み換えフォリスタチンポリペプチドが、配列番号2、配列番号4、または配列番号5と少なくとも98%同一であるアミノ酸の配列を含む、項目26に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質。

(項目30)

前記組み換えフォリスタチンポリペプチドが、配列番号2、配列番号4、または配列番号5と100%同一であるアミノ酸の配列を含む、項目26に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質。

(項目31)

フォリスタチンポリペプチドおよびIgG Fcドメインを含む組み換えフォリスタチン融合タンパク質であって、

前記フォリスタチンポリペプチドが、配列番号12、配列番号13、および配列番号15～配列番号40からなる群のうちのいずれか1つから選択されるアミノ酸の配列を含む、組み換えフォリスタチン融合タンパク質。



(項目 3 2)

前記 I g G F c ドメインがアミノ酸置換を含む、項目 2 5 ~ 3 1 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質であって、

前記アミノ酸置換が、E U ナンバリングに従い、L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、H 4 3 3 K、N 4 3 4 F およびそれらの組み合わせからなる群から選択される、組み換えフォリスタチン融合タンパク質。

(項目 3 3)

前記 I g G F c ドメインが配列番号 6 のアミノ酸の配列を含む、項目 2 5 ~ 3 1 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質であって、

前記アミノ酸の配列が、E U ナンバリングに従い、L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、H 4 3 3 K、N 4 3 4 F およびそれらの組み合わせからなる群から選択されるアミノ酸置換を含む、組み換えフォリスタチン融合タンパク質。

(項目 3 4)

前記 I g G F c ドメインが、配列番号 7 ~ 配列番号 1 1 からなる群から選択されるアミノ酸の配列を含む、項目 2 5 ~ 3 1 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質。

(項目 3 5)

前記 I g G F c ドメインがヒト I g G F c ドメインである、項目 2 5 ~ 3 1 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質。

(項目 3 6)

前記 I g G F c ドメインが I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 F c ドメインである、項目 2 5 ~ 3 1 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質。

(項目 3 7)

配列番号 7 3 ~ 配列番号 1 0 0、配列番号 1 1 7、または配列番号 1 1 8 のうちのいずれか 1 つのアミノ酸の配列を含む組み換えフォリスタチン融合タンパク質。

(項目 3 8)

前記タンパク質が、1 ~ 1 0 0 p M の親和性解離定数 ( $K_D$ ) でミオスタチンに結合する、項目 2 5 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質。

(項目 3 9)

前記タンパク質が、1 ~ 1 0 0 p M の親和性解離定数 ( $K_D$ ) でアクチビン A に結合する、項目 2 5 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質。

(項目 4 0)

前記タンパク質が、0 . 2 n M ~ 2 5 n M の範囲の骨形態形成タンパク質 - 9 ( B M P - 9 ) および / または骨形態形成タンパク質 - 1 0 ( B M P - 1 0 ) に結合しない、項目 2 5 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質。

(項目 4 1)

前記タンパク質が、0 . 1 ~ 2 5 n M 超の親和性解離定数 ( $K_D$ ) でヘパリンに結合する、項目 2 5 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質。

(項目 4 2)

前記タンパク質が、2 5 ~ 4 0 0 n M の親和性解離定数 ( $K_D$ ) で F c R n 受容体に結合する、項目 2 5 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質。

(項目 4 3)

タンパク質が 0 . 1 ~ 1 0 n M の  $IC_{50}$  でミオスタチンを阻害する、項目 2 5 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質。

(項目 4 4)

タンパク質が 0 . 1 ~ 1 0 n M の  $IC_{50}$  でアクチビン A を阻害する、項目 2 5 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質。

(項目 4 5)

前記組み換えフォリスタチンタンパク質融合タンパク質が、野生型フォリスタチンと比較して増加した半減期を有する、項目 2 5 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチンタンパク質融合タンパク質。

(項目 4 6)

項目 2 5 ~ 4 5 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質および薬学的に許容可能な担体を含む医薬組成物。

(項目 4 7)

項目 1 ~ 2 4 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド。

(項目 4 8)

項目 2 5 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチド。

(項目 4 9)

項目 4 7 または 4 8 に記載のポリヌクレオチドを含む発現ベクター。

(項目 5 0)

項目 4 7 もしくは 4 8 に記載のポリヌクレオチド、または項目 3 0 に記載の発現ベクターを含む宿主細胞。

(項目 5 1)

項目 5 0 に記載の宿主細胞を培養することを含む、ミオスタチンに特異的に結合する組み換えフォリスタチン融合タンパク質を作製する方法。

(項目 5 2)

項目 1 ~ 1 7 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチンポリペプチドまたは項目 2 5 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質を産生するハイブリドーマ細胞。

(項目 5 3)

デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) を治療する方法であって、  
DMD の少なくとも 1 つの症状もしくは特徴の強度、重症度、または頻度が低減するか、またはそれらの開始を遅延させるように、項目 2 5 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質または項目 3 8 に記載の医薬組成物の有効量を、DMD に罹患しているか、または DMD に感受性がある対象者に投与することを含む、方法。

(項目 5 4)

前記方法が、1 つ以上の追加的治療薬を対象者に投与することをさらに含む、項目 5 3 に記載の方法。

(項目 5 5)

前記 1 つ以上の追加的治療薬が、抗 F l t - 1 抗体またはその断片、エダサロネキセント、パムレブルマブ、プレドニゾン、デフラザコート、RNA 調節治療薬、エクソンスキッピング治療薬、および遺伝子治療からなる群から選択される、項目 5 4 に記載の方法。

(項目 5 6)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の有効量が非経口的に投与される、項目 5 3 ~ 5 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 5 7)

前記非経口的投与が、静脈内、皮内、髄腔内、吸入、経皮 (局所的)、眼内、筋肉内、皮下、経粘膜投与、またはそれらの組み合わせからなる群から選択される、項目 5 6 に記載の方法。

(項目 5 8)

前記非経口的投与が静脈内投与である、項目 5 7 に記載の方法。

(項目 5 9)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が、静脈内投与で約 1 m g / k g ~ 5 0 m g / k g である、項目 5 3 ~ 5 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 6 0)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が、静脈内投与で約 8 mg / kg ~ 15 mg / kg である、項目 59 に記載の方法。

(項目 61)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が少なくとも約 8 mg / kg である、項目 60 に記載の方法。

(項目 62)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が少なくとも約 10 mg / kg である、項目 61 に記載の方法。

(項目 63)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が少なくとも約 50 mg / kg である、項目 59 に記載の方法。

(項目 64)

前記静脈内投与が月に 1 回行われる、項目 58 ~ 63 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 65)

前記非経口的投与が皮下投与である、項目 57 に記載の方法。

(項目 66)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が、皮下投与で約 2 mg / kg ~ 100 mg / kg である、項目 53 ~ 58、または項目 65 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 67)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が、皮下投与で約 3 mg / kg ~ 30 mg / kg である、項目 66 に記載の方法。

(項目 68)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が、皮下投与で約 2 mg / kg ~ 5 mg / kg である、項目 67 に記載の方法。

(項目 69)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が少なくとも約 2 mg / kg である、項目 68 に記載の方法。

(項目 70)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が少なくとも約 3 mg / kg である、項目 69 に記載の方法。

(項目 71)

組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が少なくとも約 30 mg / kg である、項目 70 に記載の方法。

(項目 72)

前記皮下投与が週に 1 回行われる、項目 66 ~ 71 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 73)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の投与が、用量に比例している、項目 57 ~ 72 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 74)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の投与が、用量直線的である、項目 57 ~ 72 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 75)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質が、表 1 から選択される 1 つ以上の骨格筋に送達される、項目 53 ~ 74 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 76)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記投与が、対照に対して筋肉量の増加をもたらす、項目 53 ~ 75 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 77)

前記筋肉が、表 1 から選択される 1 つ以上の骨格筋である、項目 76 に記載の方法。

(項目 7 8)

前記筋肉が、横隔膜、三頭筋、ヒラメ筋、前脛骨筋、腓腹筋、長指伸筋、腹直筋、四頭筋、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される、項目 7 7 に記載の方法。

(項目 7 9)

前記筋肉が腓腹筋である、項目 7 8 に記載の方法。

(項目 8 0)

前記筋肉量の増加が、対照に対して少なくとも 1 0 %、2 0 %、3 0 %、4 0 %、5 0 %、6 0 %、7 0 %、8 0 %、9 0 %、1 0 0 %、1 5 0 %、2 0 0 %または 5 0 0 %の増加である、項目 7 6 ~ 7 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 8 1)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記投与により、筋肉再生、筋力の増加、柔軟性の増加、可動域の増加、スタミナの増加、易疲労性の低減、血流の増加、認知の改善、肺機能の改善、炎症の抑制、筋線維症の低減、筋壊死の低減、および / または体重の増加がもたらされる、項目 5 3 ~ 8 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 8 2)

DMDの前記少なくとも 1 つの症状または特徴が、筋消耗、筋力低下、筋脆弱性、筋壊死、筋線維症、関節拘縮、骨格変形、心筋症、嚥下障害、腸・膀胱機能障害、筋虚血、認知機能障害、行動機能障害、社会化障害、脊柱側弯、および呼吸機能障害からなる群から選択される、項目 5 3 ~ 8 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 8 3)

対象者内のミオスタチンおよび / またはアクチピンを阻害する方法であって、

項目 2 5 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載の組み換えフォリスタチン融合タンパク質の有効量を含む組成物を対象者に投与することを含む、方法。

(項目 8 4)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が、静脈内投与で約 1 m g / k g ~ 5 0 m g / k g である、項目 8 3 に記載の方法。

(項目 8 5)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が、静脈内投与で約 8 m g / k g ~ 1 5 m g / k g である、項目 8 4 に記載の方法。

(項目 8 6)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が少なくとも約 8 m g / k g である、項目 8 5 に記載の方法。

(項目 8 7)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が少なくとも約 1 0 m g / k g である、項目 8 6 に記載の方法。

(項目 8 8)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が少なくとも約 5 0 m g / k g である、項目 8 7 に記載の方法。

(項目 8 9)

前記静脈内投与が月に 1 回行われる、項目 8 4 ~ 8 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 9 0)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が、皮下投与で約 2 m g / k g ~ 1 0 0 m g / k g である、項目 8 3 に記載の方法。

(項目 9 1)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が、皮下投与で約 3 m g / k g ~ 3 0 m g / k g である、項目 9 0 に記載の方法。

(項目 9 2)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が、皮下投与で約 2 m g / k g ~ 5 m g / k g である、項目 9 0 に記載の方法。

(項目 9 3)

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が少なくとも約 2 m g / k g である、項目 9 2 に記載の方法。

(項目 9 4 )

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が少なくとも約 3 m g / k g である、項目 9 3 に記載の方法。

(項目 9 5 )

前記組み換えフォリスタチン融合タンパク質の前記有効量が、皮下投与で少なくとも約 3 0 m g / k g である、項目 9 1 に記載の方法。

(項目 9 6 )

前記皮下投与が週に 1 回行われる、項目 9 0 ~ 9 5 のいずれか 1 項に記載の方法。