



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116059320 A

(43) 申请公布日 2023.05.05

(21) 申请号 202211433687.9

(74) 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限公司

11219

(22) 申请日 2017.01.06

专利代理人 金海霞 刘慧

(30) 优先权数据

62/275,645 2016.01.06 US

(51) Int.Cl.

A61K 38/18 (2006.01)

(62) 分案原申请数据

A61K 47/60 (2017.01)

201780010078.3 2017.01.06

A61K 47/68 (2017.01)

(71) 申请人 哈佛学院校长同事会

A61P 3/04 (2006.01)

地址 美国马萨诸塞州

A61P 3/10 (2006.01)

申请人 布里格姆妇女医院有限公司

A61P 1/16 (2006.01)

(72) 发明人 奥尔内拉·巴朗东

C07K 14/495 (2006.01)

托马索·波焦利

C07K 1/107 (2006.01)

道格拉斯·A·梅尔顿

理查德·T·利

权利要求书1页 说明书8页

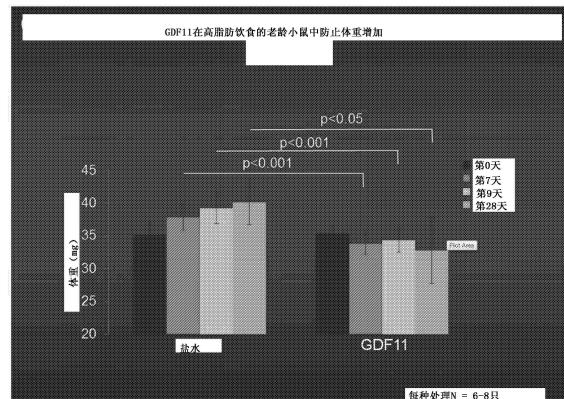
序列表 (电子公布) 附图8页

(54) 发明名称

使用GDF11的治疗防止体重增加、提高葡萄糖耐量并减轻脂肪肝

(57) 摘要

本发明涉及使用GDF11的治疗防止体重增加、提高葡萄糖耐量并减轻脂肪肝。本文中公开了预防和/或改善与衰老、疾病和肥胖相关的代谢疾病例如糖尿病和葡萄糖耐量受损的手段。还公开了与GDF11在给予高脂肪饮食的老龄小鼠中防止体重增加、提高葡萄糖耐量和减轻脂肪肝这一发现相关的组合物和方法。具体来说，本文中描述的方法和组合物涉及提高对象中的GDF11水平，由此在所述对象中治疗或预防肥胖的发生，减轻肥胖的代谢后果，并改善所述对象的代谢健康。



1. 一种增加GDF11多肽的组合物在制备用于在需要的对象中治疗葡萄糖不耐受的药物中的用途,其中所述组合物包含有效量的GDF11多肽或其功能片段。
2. 权利要求1的用途,其中所述GDF11多肽或其功能片段是重组制备的。
3. 权利要求1的用途,其中所述组合物在所述对象中刺激GDF11的内源性产生。
4. 权利要求1的用途,其中所述组合物被制备成通过选自肠内、静脉内、皮下、肌肉内和鞘内的途径给药。
5. 权利要求1的用途,其中在所述对象中,所述GDF11多肽增加至少100%。
6. 权利要求1的用途,其中在所述对象中,所述GDF11多肽被提高到健康参比水平的至少75%。
7. 权利要求1的用途,其中所述GDF11多肽是人类GDF11多肽。
8. 权利要求1的用途,其中所述GDF11多肽被制备成以0.5mg/kg/天的剂量给药到所述对象。
9. 权利要求1的用途,其中所述对象是哺乳动物。
10. 权利要求1的用途,其中所述对象是人类。
11. 权利要求1-10任一项的用途,其中所述对象是成年人。
12. 权利要求10的用途,其中所述GDF11多肽包含人类GDF11多肽或其功能片段。
13. 权利要求12的用途,其中所述GDF11多肽是重组制备的。
14. 权利要求1的用途,其中所述组合物还包含可药用载体。
15. 权利要求14的用途,其中所述组合物被制备成用于向所述对象每周给药。
16. 权利要求14的用途,其中所述组合物被制备成用于向所述对象每月给药。
17. 权利要求14的用途,其中所述组合物被制备成用于向所述对象每季度给药。
18. 权利要求1-17中任一项的用途,其中所述GDF11多肽是经修饰的。
19. 权利要求18的用途,其中所述修饰选自偶联到Fc和PEG化的GDF11。

使用GDF11的治疗防止体重增加、提高葡萄糖耐量并减轻脂肪肝

[0001] 本申请是国际申请日2017年1月6日、国际申请号PCT/US2017/012505于2018年8月6日进入中国国家阶段、申请号201780010078.3、发明名称“使用GDF11的治疗防止体重增加、提高葡萄糖耐量并减轻脂肪肝”的申请的分案申请。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请要求2016年1月6日提交的美国临时申请号62/275,645的权益，所述美国临时申请的全部教导通过引用并入本文。

背景技术

[0004] 在小鼠和人类两者中，葡萄糖耐量受损和脂肪肝增加与肥胖和年龄增加相关。这些缺陷被归因于肥胖和胰岛素抗性的增加。与衰老相关的β细胞功能降低通过造成胰岛素相对不足，也扮演重要角色。葡萄糖耐量受损和空腹血糖受损形成糖尿病（例如1型、2型和妊娠期糖尿病）进程中的中间阶段，并造成代谢健康下降。

[0005] 对降低发生一种或多种代谢疾病例如糖尿病的风险的组合物和方法，存在着需求。对预防或治疗肥胖和与肥胖相关的相关代谢健康受损的组合物和方法，也存在着需求。对在对象中预防或治疗脂肪肝的组合物和方法，也存在着需求。

发明内容

[0006] 本文中公开的组合物和方法与下述发现相关，即生长分化因子11（GDF11）可用于预防并在某些实施方式中治疗某些与衰老和/或肥胖相关的代谢疾病，例如葡萄糖耐量受损、胰岛素抗性和脂肪肝。例如，本文中公开的用于在对象中防止或减少肥胖的方法和组合物，引起与肥胖相关的代谢疾病或共患病（co-morbidity）发生的相应减少。本文中还公开了用于预防并在某些情况下治疗肥胖和相关代谢健康受损的新的组合物和方法。在某些情况下，本文中公开的组合物和方法可用于在对象中预防体重增加或肥胖，提高葡萄糖耐量和/或预防脂肪肝。

[0007] 本文中描述的工作总的来说与下述发现相关，即在给予高脂肪饮食的动物中GDF11的给药预防体重增加。在某些实施方式中，本文中公开了在需要的对象中减轻和/或治疗脂肪肝的方法，这些方法包括向所述对象给药在所述对象中增加GDF11多肽并由此在所述对象中减轻或治疗脂肪肝的组合物的步骤。

[0008] 还公开了在需要的对象中预防、抑制和/或治疗一种或多种代谢疾病（例如糖尿病）的方法，这些方法包括向所述对象给药在所述对象中增加GDF11多肽的组合物的步骤。所述组合物（例如包含人类GDF11多肽或其功能片段或变体的组合物）向所述对象的这种给药在所述对象中减少体重增加和/或肥胖，并由此在所述对象中预防、抑制和/或治疗所述一种或多种代谢疾病。例如，在某些情况下，可以将本文中公开的组合物和方法施用到对象（例如具有代谢疾病的家族史的对象）以在这些对象中减缓或防止体重增加和/或肥胖的发生，由此降低或减少这些对象发生所述代谢疾病的风险。

[0009] 在某些情况下,本文中还公开了在需要的对象中治疗或预防葡萄糖不耐受的方法,这些方法包括向所述对象给药在所述对象中增加GDF11多肽的组合物,并由此在所述对象中治疗或预防葡萄糖不耐受的步骤。

[0010] 在某些实施方式中,本发明涉及在需要的对象中治疗和/或预防代谢疾病(例如II型糖尿病)的方法,这些方法包括向所述对象给药在所述对象中增加GDF11多肽的组合物,并由此治疗或/或预防所述代谢疾病的步骤。

[0011] 在某些情况下,本文中公开的方法包括向对象给药在所述对象中增加GDF11蛋白或多肽的组合物(例如给药人类GDF11多肽或其功能片段或变体)的步骤。例如,在某些实施方式中,这种组合物包含GDF11多肽(例如人重组GDF11)或其功能片段或变体(例如人GDF11的非天然存在的功能变体)。在某些实施方式中,所述GDF11多肽或其功能片段或变体是重组制备的。在某些情况下,所述组合物刺激GDF11在所述对象中的内源表达和/或产生。在任一上述实施方式中,所述组合物可以通过任何适合的给药途径给药到对象。例如,在某些情况下,本文中公开的组合物(例如包含重组制备的人GDF11蛋白的组合物)通过选自肠内、静脉内、皮下、肌肉内和鞘内的给药途径给药到对象。在某些情况下,将有效量的所述组合物给药到所述对象。例如,在某些情况下,将所述GDF11多肽以约0.1mg/kg/天、约0.25mg/kg/天、约0.3mg/kg/天、约0.5mg/kg/天、约0.75mg/kg/天、约1.0mg/kg/天、约1.25mg/kg/天、约1.5mg/kg/天、约2.0mg/kg/天或更高的剂量(例如每日剂量)给药到所述对象。

[0012] 在某些实施方式中,本文中公开的组合物包含人GDF11多肽或其功能片段或变体(例如非天然存在的功能性GDF11变体)。在任一上述实施方式的某些情况下,所述GDF11多肽是重组制备的。在任一上述实施方式的某些情况下,本文中公开的组合物还包含可药用载体。在某些实施方式中,本文中公开的组合物可以被配制成用于每日、每周、每两周、每月、每两月、每季度、一年两次地、每半年或每年给药。例如,在某些实施方式中,所述GDF11多肽可以被修饰(例如PEG化、突变或偶联到Fc),以向所述多肽赋予一种或多种所需特性(例如以扩展其治疗活性)。

[0013] 在某些实施方式中,本文中公开的方法引起所述对象中GDF11蛋白或多肽浓度的提高(例如在所述对象的血清或组织中所测量的)。例如,在某些情况下,所述对象中GDF11蛋白或多肽的浓度提高至少约5%、约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%、约100%或更多。在某些情况下,所述对象中GDF11蛋白或多肽的浓度被提高到健康GDF11参比水平的至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约97.5%、至少约99%或更高。

[0014] 本文中公开的组合物和方法可用于预防或治疗一种或多种代谢疾病。例如,这些组合物和方法可用于治疗选自I型糖尿病、II型糖尿病、妊娠期糖尿病、胰岛素抗性、代谢综合征、肥胖、葡萄糖耐量受损、空腹血糖受损和脂肪肝的一种或多种代谢疾病。在任一上述实施方式的某些情况下,所述代谢疾病是糖尿病。在任一上述实施方式的某些情况下,所述代谢疾病是脂肪肝。

[0015] 在任一上述实施方式的某些情况下,所述对象是哺乳动物。在任一上述实施方式的某些情况下,所述对象是人类。在某些实施方式中,所述对象是成年人(例如老年人)。

[0016] 通过参考本发明的以下详细描述,本发明的上文讨论的和许多其他特征和伴随的优点将变得更好理解。

附图说明

[0017] 所述专利或申请文件含有至少一张彩图。本专利或专利申请文献的带有彩图的拷贝将在提出申请并支付必要的费用后由专利办公室提供。

[0018] 图1示出了本文中描述的研究结果，并证实了GDF11在给予高脂肪饮食的老龄小鼠中防止体重增加。

[0019] 图2A-2C证实了在各个不同时间点，GDF11在喂食高脂肪饮食的老龄小鼠中提高葡萄糖耐量。图2A比较了在那些被随机分配以接受磷酸盐缓冲盐水(盐水)的老龄小鼠和那些被随机分配以接受GDF11的老龄小鼠中，在第0天进行的基线葡萄糖耐量试验(GTT)的结果。图2B示出了在那些被随机分配以接受磷酸盐缓冲盐水(盐水)的老龄小鼠和那些被随机分配以接受GDF11的老龄小鼠中，在第7天进行的GTT的结果。图2C描绘了在那些被随机分配以接受磷酸盐缓冲盐水(盐水)的老龄小鼠和那些被随机分配以接受GDF11的老龄小鼠中，在第28天进行的GTT的结果。

[0020] 图3A-3B显示了在喂食高脂肪饮食的老龄小鼠中GDF11逆转脂肪肝。图3A描绘了盐水和GDF11处理的老龄小鼠两者的肝组织的H&E染色的结果，并证实了与PBS处理的喂食高脂肪饮食的动物相比，这些GDF11处理的小鼠具有减轻的脂肪肝。图3B示出了与盐水处理的小鼠相比，在GDF11处理的小鼠中GDF11减轻脂肪肝。

[0021] 图4显示了与对照动物(正常脂肪饮食或高脂肪饮食)相比，GDF11处理的高脂肪饮食动物表现出显著减轻的脂肪肝，证实了GDF11处理可以改善与衰老相关的脂肪肝，即使是在高脂肪饮食小鼠中。

[0022] 图5示出了编码人GDF11前体多肽的氨基酸序列(SEQ ID NO:1)。

[0023] 图6示出了编码人GDF11前肽的氨基酸序列(SEQ ID NO:2)。

[0024] 图7示出了编码人成熟GDF11多肽的氨基酸序列(SEQ ID NO:3)。

[0025] 图8示出了编码人GDF11 N-端多肽的氨基酸序列(SEQ ID NO:4)。

[0026] 发明详述

[0027] 已知肥胖和年龄增加两者都对代谢疾病包括例如糖尿病、葡萄糖耐量受损和空腹血糖受损的发生有贡献。这些代谢疾病(例如糖尿病)的发生或发展造成所述对象健康的总体下降。本文中公开了与GDF11在给予高脂肪饮食的老龄小鼠中防止体重增加、提高葡萄糖耐量和减轻脂肪肝这些发现相关的组合物和方法。具体来说，本文中公开的方法和组合物涉及提高对象中GDF11多肽的水平，由此在所述对象中治疗或预防肥胖的发生，减轻肥胖的代谢后果并改善所述对象的代谢健康。

[0028] 当在本文中使用时，术语“GDF11”是指“生长和分化因子11”(NCBI Gene ID No: 10220)，其是生长因子的转化生长因子-β超家族的成员。已知GDF11结合TGFβ3超家族I型受体，包括ALK4、ALK5和ALK7。对于在哺乳动物发育中的信号传导来说，GDF11主要使用ALK4和ALK5。在某些实施方式中，GDF11信号传导也可以通过ACVR2B受体发生。当在本文中使用时，“GDF11”可以包括GDF11的人类前体多肽(SEQ ID NO:1，描绘在图5中；NCBI Ref Seq:NP_005802)、人类前肽(SEQ ID NO:2，描绘在图6中)、人类N-端多肽(SEQ ID NO:4，描绘在图8中)和人类成熟多肽(SEQ ID NO:3，描绘在图7中)形式，以及来自于其他物种包括但不限于牛、狗、猫、鸡、鼠(murine)、大鼠、猪、牛、火鸡、马、鱼、狒狒和其他灵长动物的同源物。所述术语也指GDF11的片段或变体(例如非天然存在的变体)，其例如当在适合的动物模型(例如

给予高脂肪饮食的老龄小鼠)中测量时,维持SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3的全长GDF11的至少50%的效果(例如防止体重增加或预防、抑制或治疗或以其他方式降低代谢疾病的发生率的效果)。

[0029] 在某些情况下,本文中公开的GDF11蛋白或多肽已被修饰(例如经修饰以扩展这些GDF11蛋白或多肽的治疗活性)。在某些情况下,所述GDF11蛋白或多肽已被修饰,使得它们成为GDF11的非天然存在的变体(例如人GDF11的功能性变体)。维持野生型GDF11的效果的保守替换变体包括本文中所定义的保守替换。最可能忍受保守替换并同时维持野生型GDF11的至少50%的活性的氨基酸的鉴定,由例如与来自于其他物种的GDF11同源物或旁系同源物的序列比对来指导。在GDF11同源物之间一致的氨基酸不太可能忍受变化,而显示出保守差异的氨基酸更可能忍受人工变体背景中的保守变化。同样地,具有非保守差异的位置对功能来说不太可能是重要的,并且更可能忍受人工变体中的保守替换。变体的活性可以例如通过将所述变体给药到适合的动物模型(例如给予高脂肪饮食的老龄小鼠)来试验。

[0030] 对于人GDF11来说,加上信号序列的前肽(例如前体多肽)长为407个氨基酸。切掉24个氨基酸的信号肽产生383个氨基酸的前肽,并且所述前肽的切割产生109个氨基酸的成熟GDF11多肽,其对应于所述前肽的C-端109个氨基酸。所述成熟多肽形成二硫键连接的同二聚体。所述前肽的切割还产生包含SEQ ID NO:1的25-298位氨基酸的N-端多肽(例如SEQ ID NO:4)。所述N-端GDF11多肽可以至少在体外通过与其他形式的GDF11多肽形成复合物而拮抗例如SEQ ID NO:2和3的多肽的活性,并且因此可用于调节本文中描述的GDF11组合物的活性。因此,就本文中所描述的GDF11多肽防止肥胖发生而言,并且就例如SEQ ID NO:4的N-端GDF11多肽可以拮抗这些效果而言,SEQ ID NO:4的多肽可以排除在本文中使用的术语“GDF11多肽”的意义之外。

[0031] 当在本文中使用时,术语“蛋白质”和“多肽”可互换使用,是指通过相邻残基的 α -氨基与羧基之间的肽键彼此相连的一系列氨基酸残基。术语“蛋白质”和“多肽”是指蛋白质氨基酸包括修饰的氨基酸(例如磷酸化、糖化、糖基化等)和氨基酸类似物的聚合物,不论所述氨基酸和类似物的大小或功能如何。“蛋白质”和“多肽”通常被用于指称相对大的多肽,而术语“肽”通常用于指称小的多肽,但这些术语在本领域中的用法是重叠的。术语“蛋白质”和“多肽”当指称基因产物及其片段时,在本文中可互换使用。因此,示例性的多肽或蛋白质包括基因产物、天然存在的蛋白质、同源物、直系同源物、旁系同源物、片段和其他等同物,以及上述物质的天然和非天然存在的变体、片段和类似物。

[0032] 在某些情况下,GDF11可以被修饰(例如经修饰以扩展其治疗活性)。当在本文中使用时,术语“修饰”通常是指改变GDF11以赋予一种或多种性质或以选择性方式改变GDF11的活性以使GDF11发挥所需生理效应。应该指出,在某些实施方式中,修饰包括将GDF11偶联到一种或多种次级化合物或分子(例如将GDF11或其片段或变体偶联到融合蛋白或偶联到一种或多种聚合物)。在某些实施方式中,GDF11可以被修饰以包含突变。在某些实施方式中,GDF11可以通过偶联到Fc进行修饰。在其他实施方式中,GDF11可以通过偶联到一种或多种聚合物(例如PEG)进行修饰。在某些实施方式中,所述修饰可以包含对GDF11的一种或多种化学修饰,例如通过改变编码GDF11蛋白的氨基酸。

[0033] 在某些情况下,GDF11被修饰,以将一个或多个外源核酸引入到编码GDF11的序列中。因此,应该认识到,术语修饰旨在包括将一个或多个经修饰的核酸引入到编码GDF11的

序列中，并且可以包括但不限于例如(a)末端修饰，例如5'末端修饰(磷酸化、去磷酸化、偶联、反向链接等)、3'末端修饰(偶联、DNA核苷酸、反向链接等)，(b)碱基修饰，例如替换成经修饰的碱基、稳定化碱基、去稳定化碱基或与扩展的配偶体清单碱基配对的碱基或偶联的碱基，(c)糖修饰(例如在2'位置或4'位置处)或糖的替换，以及(d)核苷间连接修饰，包括磷酸二酯键的修饰或替换。

[0034] 当在本文中使用时，术语“前肽”当用于指称GDF11时是指其中在GDF11的成熟和/或活性形式的形成期间信号结构域(例如SEQ ID NO:1的1-24位氨基酸)已被切掉的GDF11多肽。当在本文中使用时，术语“前体多肽”被用于指称包含信号结构域的GDF11多肽(例如包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的多肽)。

[0035] 本文中公开的组合物和方法可用于预防或在某些情况下治疗肥胖、体重增加、脂肪肝和/或一种或多种代谢疾病。当在本文中使用时，术语“代谢疾病”通常是指影响对象的病症，在所述对象中发生代谢错误、代谢失衡或亚最适代谢，并且包括例如葡萄糖耐量受损、胰岛素抗性、糖尿病和/或脂肪肝。在某些实施方式中，所述代谢疾病与病状相关或作为病状的结果而发生。例如，肥胖可能造成糖尿病的发生或发展，使肥胖对象处于发生所述代谢疾病的提高的风险之下。

[0036] 在某些情况下，本文中公开的组合物和方法可用于治疗选自I型糖尿病、II型糖尿病、妊娠期糖尿病、胰岛素抗性、代谢综合征、肥胖、葡萄糖耐量受损、空腹血糖受损和脂肪肝的一种或多种代谢疾病。在某些情况下，所述代谢疾病是糖尿病。在某些情况下，所述代谢疾病是脂肪肝。

[0037] 在某些实施方式中，本文中公开的组合物和方法可用于降低或以其他方式减小对象发生代谢疾病的风险，或者在某些情况下可用于减缓或防止与肥胖相关的代谢后果。例如，可以将这些组合物和方法施用于具有发生代谢疾病的风险的对象(例如具有糖尿病家族史的对象)，并由此降低或减小这些对象发生所述代谢疾病的风险。同样地，在某些情况下，可以将这些组合物和方法施用于对象(例如具有代谢疾病家族史的对象)以在这些对象中减缓或防止肥胖的发生，并由此降低或减小这些对象发生所述代谢疾病的风险。在某些实施方式中，所述对象发生所述代谢疾病的风险被降低或逆转大约至少1%、至少2%、至少3%、至少4%、至少5%、至少6%、至少7%、至少8%、至少9%、至少10%、至少11%、至少12%、至少13%、至少14%、至少15%、至少16%、至少17%、至少18%、至少19%、至少20%、至少25%、至少30%、至少33%、至少35%、至少41%、至少44%、至少50%、至少60%、至少70%、至少75%、至少80%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或至少100%。

[0038] 应该理解，本发明不限于降低、预防、抑制或减小一种或多种代谢疾病的风险。相反，还设想了使用本文中公开的组合物和方法治疗一种或多种代谢疾病的方法。例如，可以将有效量的本文中公开的组合物给药到肥胖对象以治疗所述对象的肥胖(例如引起对象体重减轻)，并由此降低所述对象经历他们的代谢疾病进一步恶化的风险。在某些实施方式中，本文中公开的方法和组合物与一种或多种非药理学干预联合使用。例如，本文中公开的组合物可以与一种或多种生活方式改良(例如饮食、锻炼和/或戒烟疗法)相组合施用。

[0039] 当在本文中使用时，“对象”意味着人或动物。通常，所述动物是脊椎动物例如灵长动物、啮齿动物、家畜或狩猎动物(game animal)。灵长动物包括黑猩猩、食蟹猴、蜘蛛猴和猕猴例如恒河猴。啮齿动物包括小鼠、大鼠、土拨鼠、白鼬、兔和仓鼠。家畜和狩猎动物包括

奶牛、马、猪、鹿、野牛、水牛、猫科动物例如家猫、犬科动物例如狗、狐狸、狼、鸟类例如鸡、鸸鹋、鸵鸟和鱼类例如鳟鱼、鲶鱼和鲑鱼。对象可以包括上述对象的任何子集，例如所有上述对象但排除一个或多个组或物种例如人类、灵长动物或啮齿动物。在某些实施方式中，所述对象是哺乳动物例如灵长动物，例如人类。优选地，所述对象是哺乳动物。所述哺乳动物可以是人类、非人类灵长动物、小鼠、大鼠、狗、猫、马或奶牛，但不限于这些实例。人类之外的哺乳动物可以被有利地用作例如代表例如肥胖和/或代谢疾病的动物模型的对象。此外，本文中描述的方法可用于治疗家畜和/或宠物。对象可以是雄性或雌性。对象可以是以前已被诊断或鉴定为患有或具有本文中描述的需要治疗的病状、疾病或病症或与这种病状相关的一种或多种并发症，并且任选地但不需要已经历用于病状或与所述病状相关的一种或多种并发症的治疗的对象。或者，对象也可以是以前尚未被诊断为具有需要治疗的病状或与这种病状相关的一种或多种并发症的对象。相反，对象可以包括表现出病状或与病状相关的一种或多种并发症的一种或多种风险因子的对象。

[0040] “需要治疗特定病状的对象”可以是具有该病状、被诊断为具有该病状或相对于给定参比人群来说处于发生该病状的增加的风险的对象。例如，在某些实施方式中，需要的对象可能具有发生一种或多种代谢疾病（例如糖尿病）的家族史或倾向（predisposition），并因此可以被当作候选者接受按照本文公开的方法和组合物的治疗。同样地，在某些实施方式中，需要的对象可能肥胖并因此倾向于发生一种或多种代谢疾病，并因此也将被当作候选者接受按照本文公开的方法和组合物的治疗。

[0041] 在某些情况下，本文公开的方法包括向对象给药在所述对象中提高GDF11多肽的水平或浓度的组合物。在某些实施方式中，所述对象是具有或已被诊断为具有代谢疾病或病状或处于发生代谢疾病或病状的高风险中的对象。在某些情况下，所述对象由于衰老、老龄、肥胖和/或其他共病而处于发生所述代谢疾病或病状的高风险中。当在本文中使用时，“由衰老造成的”病状、疾病或病症是指这种病状、疾病或病症至少部分可归因于对象的年龄。在某些实施方式中，所述对象是成年对象。在某些实施方式中，所述对象是老龄对象。在某些实施方式中，老龄对象的年龄超过50、55、60、65、70、75、80、85、90或100岁。

[0042] 在某些实施方式中，GDF11多肽的水平通过测量对象的循环中的GDF11水平来确定。在某些实施方式中，GDF11多肽的水平是在对象的血清或组织中测量或检测的GDF11水平。在某些实施方式中，GDF11多肽的水平通过测量编码GDF11多肽的mRNA的水平来确定。对象中GDF11的水平可以通过从所述对象获取生物样品并确定所述生物样品中的GDF11水平来确定。用于确定对象或从对象获得的样品中的多肽水平的方法在本领域中是公知的，并且包括但不限于ELISA、放射免疫测定法、免疫组织化学、涉及特异性针对GDF11的标记抗体的方法、斑点印迹分析、功能性生物测定、Northern印迹、原位杂交、RT-PCR、基于适体的蛋白质组学技术（例如可以从SomaLogic, Inc. 商购的SOMAscanTM）等。特异性针对GDF11的抗体是可商购的，例如来自于Abeam:Cambridge, MA的目录号ab71347。在某些实施方式中，所述抗体是选择性GDF11单克隆抗体。在某些实施方式中，GDF11的水平可以如Souza等，Molecular Endocrinology 2008 22:2689-2702中所述来测量，所述文献通过引用以整体并入本文。

[0043] 在某些实施方式中，本文中公开的组合物包含人GDF11多肽或其功能片段或变体。在某些情况下，本文中公开的组合物还包含可药用载体。本发明的方法和组合物以及可药

用载体和赋形剂的选择被详细描述在例如L.William, Remington:《药物学科学与实践》(The Science and Practice of Pharmacy)第22版, Pharmaceutical Press (2012)中,其全部内容通过引用并入本文。在某些情况下,本文中公开的组合物被配制成用于每日、每月、每季度或每年给药。例如,本文中公开的GDF11组合物可以被PEG化或突变或偶联到Fc,以扩展这些组合物的活性。

[0044] 本公开的各种情况涉及使用有效量的GDF11。GDF11(或含有GDF11的组合物)的“有效量”或“有效剂量”通常是指当例如在体外与细胞相接触或按照选定的给药形式、途径和/或日程表给药到对象时,足以实现所需生物学和/或药理学效果的量。正如本领域普通技术人员将会认识到的,GDF11的有效的绝对量可能随着诸如所需生物学或药理学终点、待递送的药剂、靶组织等因素而变。本领域普通技术人员将会进一步理解,在各种不同实施方式中,可以将“有效量”在单次给药中或通过使用多次给药与细胞接触或施用。应该理解,本文中公开的GDF11组合物可以以有效实现所需生物学和/或治疗效果的量使用。在某些实施方式中,“有效量”是指本文中描述的药剂或组合物的例如降低所述对象体重增加或患有一种或多种代谢疾病的风险的量。在某些实施方式中,“有效量”是指本文中描述的GDF11或组合物的防止对提供高脂肪饮食做出响应而体重增加的量。专业技术人员可以使用常规方法,不需过多实验,容易地确定本文中描述的药剂或组合物用于实现其有效目的的有效量。应该理解,在某些实施方式中,本文中公开的组合物的有效量可以在有限的时间段(例如几天、数周或数月)内给药到对象。在某些实施方式中,本文中公开的药剂和组合物可以与例如生活方式改良(例如锻炼计划)相结合施用给对象。

[0045] 应该理解,本文公开的发明不将其应用限于说明书中阐述的或作为示例的细节。本发明涵盖了其他实施方式,并且可以以各种不同方式实践或执行。此外还应该理解,本文中使用的短语和术语是出于描述的目的,并且不应被当作限制性的。

[0046] 尽管本发明的某些组合物、方法和测定法已根据某些实施方式进行了具体描述,但下述实施例仅用于说明本发明的方法和组合物而不打算限制它们。

[0047] 当在本文中在说明书和权利要求书中使用时,没有具体数目的指称应该被理解为包括复数指称物,除非明确指明与此相反。在组的一个或多个成员之间包括“或”的权利要求项或描述被认为满足下述条件,即所述组的一个、超过一个或所有成员存在于、使用在给定产物或方法中或以其他方式与给定产物或方法相关,除非指明或从上下文明显看出与此相反。本发明包括其中所述组的仅仅一个成员存在于、使用在给定产物或方法中或以其他方式与给定产物或方法相关的实施方式。本发明还包括其中所述组的超过一个或全部成员存在于、使用在给定产物或方法中或以其他方式与给定产物或方法相关的实施方式。此外应该理解,本发明涵盖了其中来自于一个或多个列出的权利要求项的一个或多个限制、要素、条款、描述性术语等被引入到依赖于同一基础权利要求项的另一个权利要求项(或者适合情况下任何其他权利要求项)中的所有变化形式、组合和排列,除非另有指明或除非本领域普通技术人员可以明显看出引起矛盾或不一致。当要素作为列表(例如以Markush组或类似格式)呈现时,应该理解,所述要素的每个亚组也被公开,并且可以从所述组中移除任何要素。应该理解,通常来说,当本发明或本发明的方面被称为包含特定要素、特点等时,本发明或本发明的方面的某些实施方式由这些要素、特点等构成或基本上由其构成。出于简化的目的,那些实施方式在本文中没有在每种情况下都具体地用如此多词语阐述。还应该理

解,本发明的任何实施方式或方面可以被明确地从权利要求书中排除,不论在说明书中是否叙述了所述特定排除。本文中为描述本发明的背景和提供关于其实践的其他详情而引用的出版物和其他参考资料,通过引用并入本文。

实施例

[0048] 实施例1

[0049] 喂食高脂肪饮食的小鼠变得肥胖、葡萄糖不耐受和胰岛素抗性,并且本调查人员进行了以下研究以确定使用GDF11的治疗是否在喂食高脂肪饮食的老龄小鼠中防止体重增加,提高葡萄糖耐量并减轻脂肪肝。

[0050] 将用鼠粮(chow)喂食的老龄(23月龄)小鼠称重并进行腹膜内葡萄糖耐量试验(GTT),以评估它们的基线体重和葡萄糖耐量。随后将所述小鼠喂食高脂肪饮食(HFD)并随机地用PBS或GDF11处理1周和1个月。在处理后,将所述动物再次称重并进行GTT。如图1中所示,用GDF11处理喂食高脂肪饮食的老龄动物防止了在PBS处理的动物中观察到的体重增加。

[0051] 与用PBS处理的喂食高脂肪饮食的对照小鼠相比,用GDF11处理的老龄小鼠表现出显著提高的葡萄糖耐量,如图2A-2C中所示。在处理1个月后,将动物牺牲,将它们的肝脏收获并处理,用于组织学分析。进行显微组织分析以确定脂肪肝总量。如图3A-3B中所示,发现与PBS处理的喂食高脂肪饮食的动物相比,用GDF11处理的老龄动物具有显著减轻的脂肪肝。

[0052] 为了确定GDF11处理是否能够改善预先存在的与衰老相关的病状,本发明人接下来对从正常脂肪饮食的对照老龄小鼠剖下的肝脏进行组织学分析,并将其与来自于用盐水和GDF11处理的HFD老龄动物的肝脏的组织学分析进行比较。本发明人发现,NFD老龄小鼠表现出与HFD老龄小鼠相比相近的脂肪肝。如图4中所示,还确定了GDF11处理的HFD动物与对照动物(NFD或HFD)相比表现出显著减轻的脂肪肝,证实了GDF11处理可以改善与衰老相关的脂肪肝,即使是在HFD小鼠中。

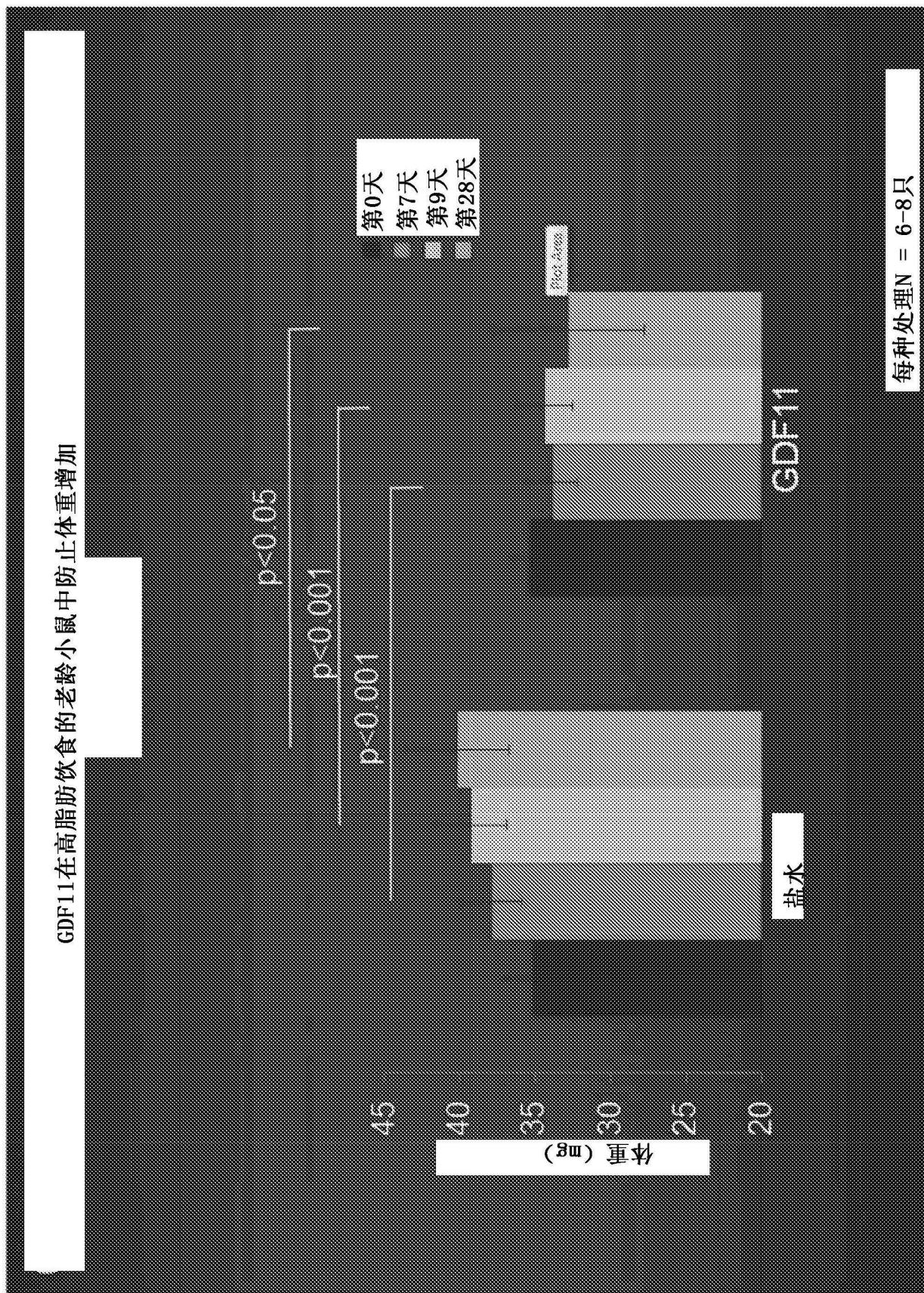


图1

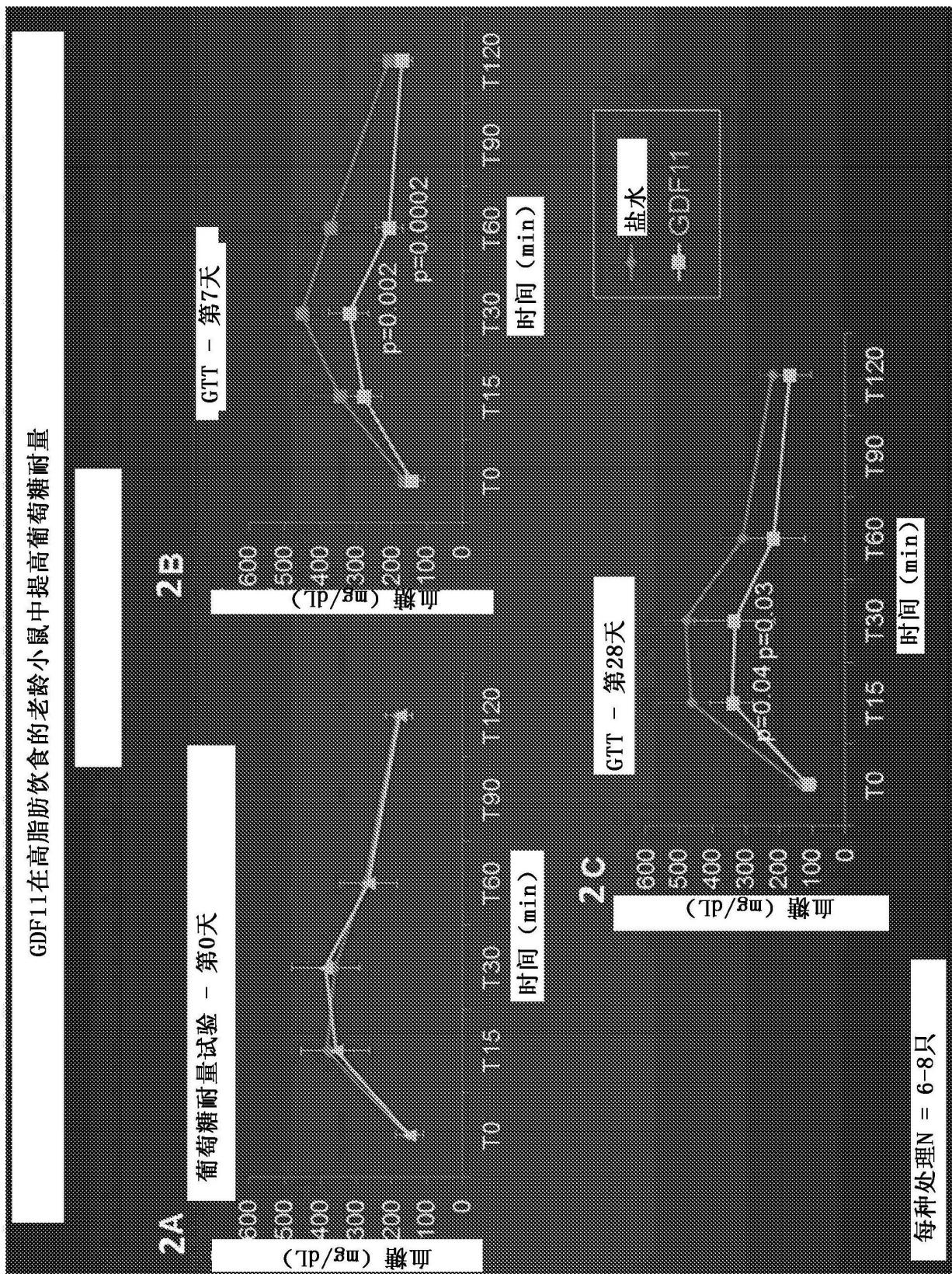


图2A图2B图2C

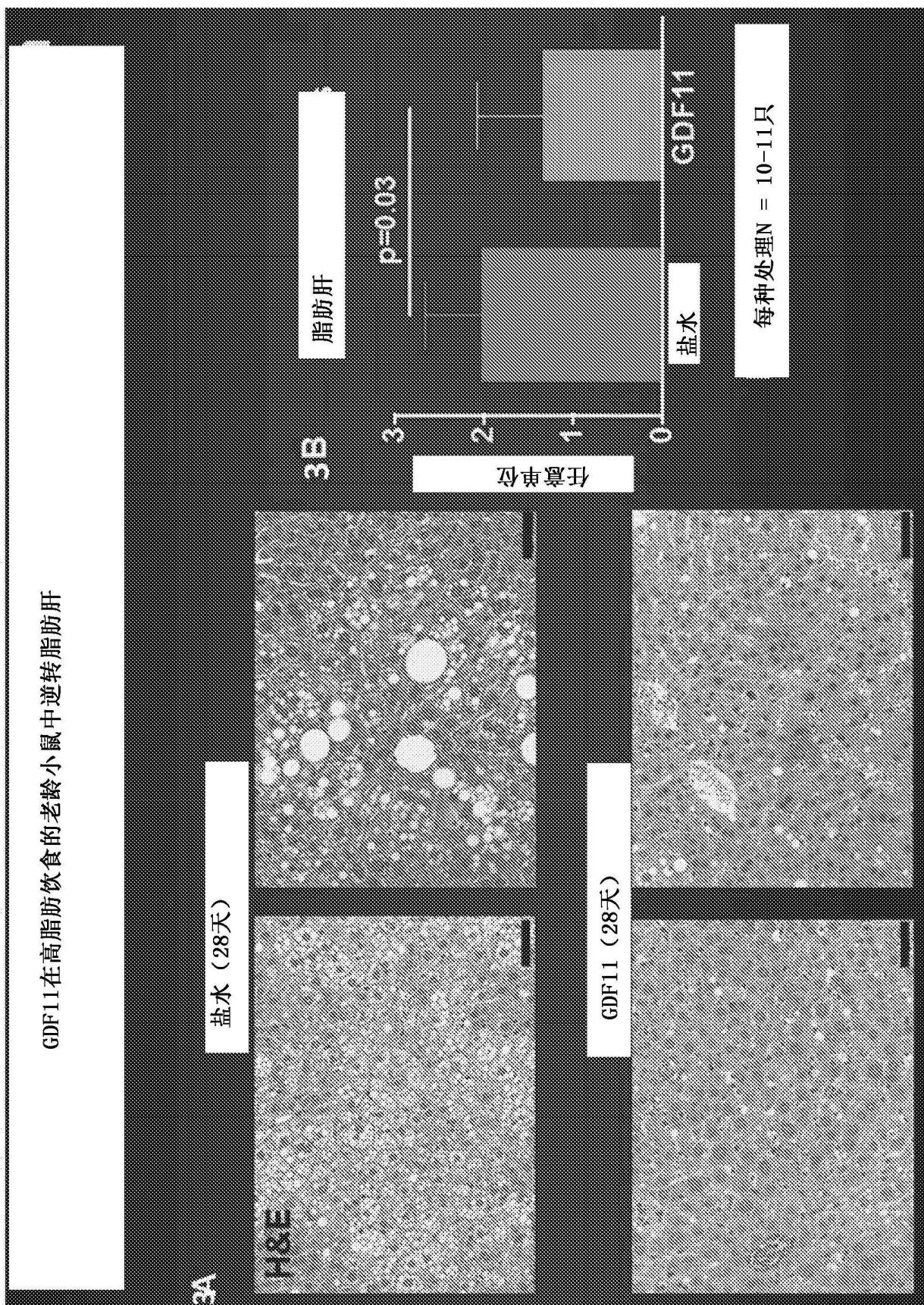


图3A图3B

GDF11处理改善与衰老相关的脂肪肝

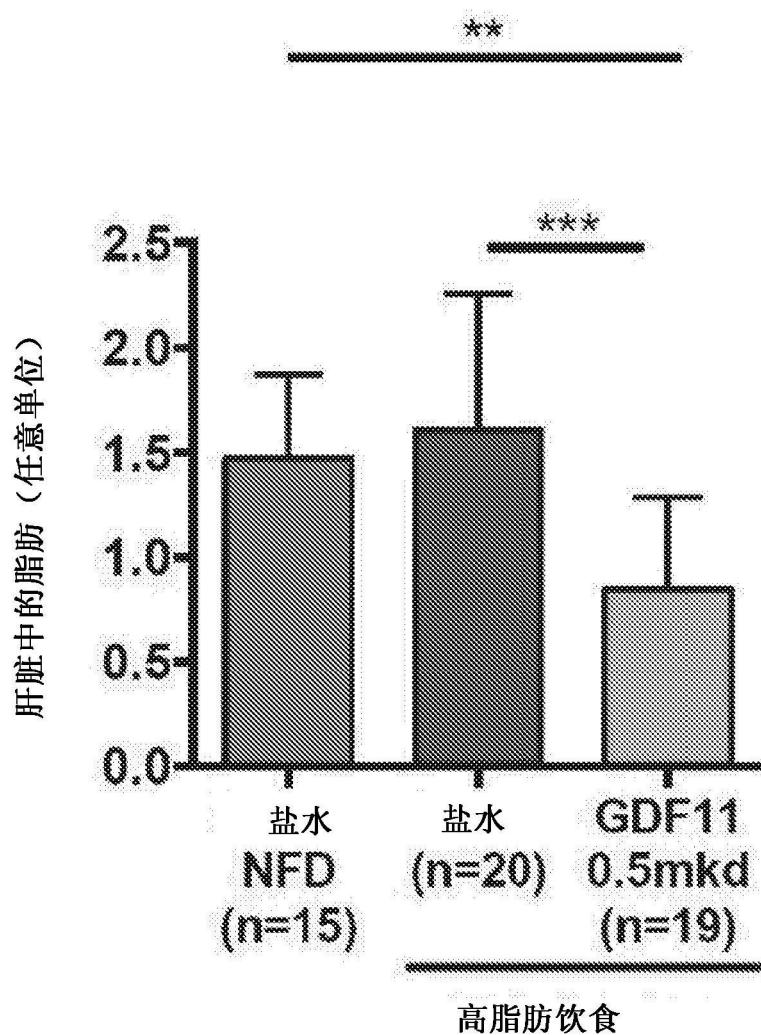


图4

SEQ ID NO: 1

Met Val Leu Ala Ala Pro Leu Leu Leu Gly Phe Leu Leu Leu Ala Leu
 1 5 10 15
 Glu Leu Arg Pro Arg Gly Glu Ala Ala Glu Gly Pro Ala Ala Ala
 20 25 30
 Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Val Gly Gly Glu Arg Ser
 35 40 45
 Ser Arg Pro Ala Pro Ser Val Ala Pro Glu Pro Asp Gly Cys Pro Val
 50 55 60
 Cys Val Trp Arg Gin His Ser Arg Glu Leu Arg Leu Glu Ser Ile Lys
 65 70 75 80
 Ser Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg Leu Lys Glu Ala Pro Asn Ile Ser
 85 90 95
 Arg Glu Val Val Lys Gin Leu Leu Pro Lys Ala Pro Pro Leu Gln Gin
 100 105 110
 Ile Leu Asp Leu His Asp Phe Gln Gly Asp Ala Leu Gln Pro Glu Asp
 115 120 125
 Phe Leu Glu Glu Asp Glu Tyr His Ala Thr Thr Glu Thr Val Ile Ser
 130 135 140
 Met Ala Gln Glu Thr Asp Pro Ala Val Gln Thr Asp Gly Ser Pro Leu
 145 150 155 160
 Cys Cys His Phe His Phe Ser Pro Lys Val Met Phe Thr Lys Val Leu
 165 170 175
 Lys Ala Gln Leu Trp Val Tyr Leu Arg Pro Val Pro Arg Pro Ala Thr
 180 185 190
 Val Tyr Leu Gln Ile Leu Arg Leu Lys Pro Leu Thr Gly Glu Gly Thr
 195 200 205
 Ala Gly Gly Gly Gly Arg Arg His Ile Arg Ile Arg Ser Leu
 210 215 220
 Lys Ile Glu Leu His Ser Arg Ser Gly His Trp Gln Ser Ile Asp Phe
 225 230 235 240
 Lys Gln Val Leu His Ser Trp Phe Arg Gln Pro Gln Ser Asn Trp Gly
 245 250 255
 Ile Glu Ile Asn Ala Phe Asp Pro Ser Gly Thr Asp Leu Ala Val Thr
 260 265 270
 Ser Leu Gly Pro Gly Ala Glu Gly Leu His Pro Phe Met Glu Leu Arg
 275 280 285
 Val Leu Glu Asn Thr Lys Arg Ser Arg Arg Asn Leu Gly Leu Asp Cys
 290 295 300
 Asp Glu His Ser Ser Glu Ser Arg Cys Cys Arg Tyr Pro Leu Thr Val
 305 310 315 320
 Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp Trp Ile Ile Ala Pro Lys Arg Tyr
 325 330 335
 Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Gln Cys Glu Tyr Met Phe Met Gln Lys
 340 345 350
 Tyr Pro His Thr His Leu Val Gln Gln Ala Asn Pro Arg Gly Ser Ala
 355 360 365
 Gly Pro Cys Cys Thr Pro Thr Lys Met Ser Pro Ile Asn Met Leu Tyr
 370 375 380
 Phe Asn Asp Lys Gln Gln Ile Ile Tyr Gly Lys Ile Pro Gly Met Val
 385 390 395 400
 Val Asp Arg Cys Gly Cys Ser
 405

图5

SEQ ID NO: 2

Ala Glu Gly Pro Ala
 1 5 10 15
 Ala Gly Val Gly Gly Glu Arg Ser Ser Arg Pro Ala Pro Ser Val Ala
 20 25 30
 Pro Glu Pro Asp Gly Cys Pro Val Cys Val Trp Arg Gln His Ser Arg
 35 40 45
 Glu Leu Arg Leu Glu Ser Ile Lys Ser Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg
 50 55 60
 Leu Lys Glu Ala Pro Asn Ile Ser Arg Glu Val Val Lys Gln Leu Leu
 65 70 75 80
 Pro Lys Ala Pro Pro Leu Gln Gln Ile Leu Asp Leu His Asp Phe Gln
 85 90 95
 Gly Asp Ala Leu Gln Pro Glu Asp Phe Leu Glu Asp Glu Tyr His
 100 105 110
 Ala Thr Thr Glu Thr Val Ile Ser Met Ala Gln Glu Thr Asp Pro Ala
 115 120 125
 Val Gln Thr Asp Gly Ser Pro Leu Cys Cys His Phe His Phe Ser Pro
 130 135 140
 Lys Val Met Phe Thr Lys Val Leu Lys Ala Gln Leu Trp Val Tyr Leu
 145 150 155 160
 Arg Pro Val Pro Arg Pro Ala Thr Val Tyr Leu Gln Ile Leu Arg Leu
 165 170 175
 Lys Pro Leu Thr Gly Glu Gly Thr Ala Gly Gly Gly Gly Arg
 180 185 190
 Arg His Ile Arg Ile Arg Ser Leu Lys Ile Glu Leu His Ser Arg Ser
 195 200 205
 Gly His Trp Gln Ser Ile Asp Phe Lys Gln Val Leu His Ser Trp Phe
 210 215 220
 Arg Gln Pro Gln Ser Asn Trp Gly Ile Glu Ile Asn Ala Phe Asp Pro
 225 230 235 240
 Ser Gly Thr Asp Leu Ala Val Thr Ser Leu Gly Pro Gly Ala Glu Gly
 245 250 255
 Leu His Pro Phe Met Glu Leu Arg Val Leu Glu Asn Thr Lys Arg Ser
 260 265 270
 Arg Arg Asn Leu Gly Leu Asp Cys Asp Glu His Ser Ser Glu Ser Arg
 275 280 285
 Cys Cys Arg Tyr Pro Leu Thr Val Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp
 290 295 300
 Trp Ile Ile Ala Pro Lys Arg Tyr Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Gln
 305 310 315 320
 Cys Glu Tyr Met Phe Met Gln Lys Tyr Pro His Thr His Leu Val Gln
 325 330 335
 Gln Ala Asn Pro Arg Gly Ser Ala Gly Pro Cys Cys Thr Pro Thr Lys
 340 345 350
 Met Ser Pro Ile Asn Met Leu Tyr Phe Asn Asp Lys Gln Gln Ile Ile
 355 360 365
 Tyr Gly Lys Ile Pro Gly Met Val Val Asp Arg Cys Gly Cys Ser
 370 375 380

图6

SEQ ID NO: 3

Asn Ileu Gly Leu Asp Cys Asp Glu His Ser Ser Glu Ser Arg Cys Cys
1 5 10 15
Arg Tyr Pro Leu Thr Val Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp Trp Ile
20 25 30
Ile Ala Pro Lys Arg Tyr Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Gln Cys Glu
35 40 45
Tyr Met Phe Met Gln Lys Tyr Pro His Thr His Leu Val Gln Gln Ala
50 55 60
Asn Pro Arg Gly Ser Ala Gly Pro Cys Cys Thr Pro Thr Lys Met Ser
65 70 75 80
Pro Ile Asn Met Leu Tyr Phe Asn Asp Lys Gln Gln Ile Ile Tyr Gly
85 90 95
Lys Ile Pro Gly Met Val Val Asp Arg Cys Gly Cys Ser
100 105

图7

SEQ ID NO: 4

Ala Glu Gly Pro Ala
 1 8 10 18
 Ala Gly Val Gly Gly Glu Arg Ser Ser Arg Pro Ala Pro Ser Val Ala
 20 25 30
 Pro Glu Pro Asp Gly Cys Pro Val Cys Val Trp Arg Gln His Ser Arg
 35 40 45
 Glu Leu Arg Leu Glu Ser Ile Lys Ser Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg
 50 55 60
 Leu Lys Glu Ala Pro Asn Ile Ser Arg Glu Val Val Lys Gln Leu Leu
 65 70 75 80
 Pro Lys Ala Pro Pro Leu Gln Gln Ile Leu Asp Leu His Asp Phe Gln
 85 90 95
 Gly Asp Ala Leu Gln Pro Glu Asp Phe Leu Glu Glu Asp Glu Tyr His
 100 105 110
 Ala Thr Thr Glu Thr Val Ile Ser Met Ala Gln Glu Thr Asp Pro Ala
 115 120 125
 Val Gln Thr Asp Gly Ser Pro Leu Cys Cys His Phe His Phe Ser Pro
 130 135 140
 Lys Val Met Phe Thr Lys Val Leu Lys Ala Gln Leu Trp Val Tyr Leu
 145 150 155 160
 Arg Pro Val Pro Arg Pro Ala Thr Val Tyr Leu Gln Ile Leu Arg Leu
 165 170 175
 Lys Pro Leu Thr Gly Glu Gly Thr Ala Gly Gly Gly Gly Arg
 180 185 190
 Arg His Ile Arg Ile Arg Ser Leu Lys Ile Glu Leu His Ser Arg Ser
 195 200 205
 Gly His Trp Gln Ser Ile Asp Phe Lys Gln Val Leu His Ser Trp Phe
 210 215 220
 Arg Gln Pro Gln Ser Asn Trp Gly Ile Glu Ile Asn Ala Phe Asp Pro
 225 230 235 240
 Ser Gly Thr Asp Leu Ala Val Thr Ser Leu Gly Pro Gly Ala Glu Gly
 245 250 255
 Leu His Pro Phe Met Glu Leu Arg Val Leu Glu Asn Thr Lys Arg Ser
 260 265 270
 Arg Arg

图8