

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4733922号
(P4733922)

(45) 発行日 平成23年7月27日 (2011.7.27)

(24) 登録日 平成23年4月28日 (2011.4.28)

(51) Int. Cl.

F 1

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

A 6 1 K 37/02

A 6 1 P 3/04 (2006.01)

A 6 1 P 3/04

請求項の数 27 (全 91 頁)

(21) 出願番号 特願2003-557592 (P2003-557592)
 (86) (22) 出願日 平成15年1月10日 (2003.1.10)
 (65) 公表番号 特表2005-519059 (P2005-519059A)
 (43) 公表日 平成17年6月30日 (2005.6.30)
 (86) 国際出願番号 PCT/GB2003/000062
 (87) 国際公開番号 W02003/057235
 (87) 国際公開日 平成15年7月17日 (2003.7.17)
 審査請求日 平成18年1月10日 (2006.1.10)
 (31) 優先権主張番号 0200507.2
 (32) 優先日 平成14年1月10日 (2002.1.10)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)
 (31) 優先権主張番号 60/392,109
 (32) 優先日 平成14年6月28日 (2002.6.28)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 505167543
 インペリアル・イノベーションズ・リミテッド
 イギリス国、エスタブリッシュメント・2エーゼット、ロンドン、エクシビション・ロード、インペリアル・カレッジ、エレクトロカル・アンド・エレクトロニック・エンジニアリング・ビルディング、レベル 12
 (73) 特許権者 504115426
 オレゴン ヘルス アンド サイエンス ユニバーシティー
 アメリカ合衆国 オレゴン州 ポートランド スト エイディー 120 サウス ウェスト ファースト アベニュー 25 25

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 摂食行動の修正

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

GLP-1と、体重が70から75kgであるヒト対象を基準に100nmol以下の投与量のPYYとを対象に末梢的に投与することを含む、対象におけるカロリー摂取を低下させる方法、対象における食欲を低下させる方法、または、対象における食物摂取を低下させる方法における使用のための1つまたは複数の医薬の製造における使用のための、PYYと、GLP-1とを含む組成物。

【請求項 2】

対象における肥満の低減または防止のための方法における使用のための1つまたは複数の医薬の製造における使用のための請求項1記載の組成物。

【請求項 3】

前記PYYと、GLP-1とは、同時にまたは逐次に投与されることを特徴とする請求項1または2記載の組成物。

【請求項 4】

前記PYYとGLP-1とは、異なる経路を介して投与されることを特徴とする請求項1～3のいずれか1つに記載の組成物。

【請求項 5】

前記対象は、太りすぎであり、前記太りすぎの個人は、 $25.0\text{ kg/m}^2 \sim 29.9\text{ kg/m}^2$ の体格指数 (BMI) を有することを特徴とする請求項1～4のいずれか1つに記載の組成物。

【請求項 6】

前記対象は、肥満であることを特徴とする請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 つに記載の組成物。

【請求項 7】

前記対象は、糖尿病であることを特徴とする請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 つに記載の組成物。

【請求項 8】

前記末梢投与は、皮下、静脈内、筋肉内、鼻腔内、経皮、舌下、腹腔内、経口、局所、または経粘膜投与、または肺吸入であることを特徴とする請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 つに記載の組成物。

10

【請求項 9】

PYY を末梢的に投与することは、対象の体重 1 キログラム当たり 45 から 135 pmol を投与することを含むことを特徴とする請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 つに記載の組成物。

【請求項 10】

PYY を末梢的に投与することは、対象の体重 1 キログラム当たり 72 pmol を投与することを含むことを特徴とする請求項 9 記載の組成物。

【請求項 11】

PYY を末梢的に投与することは、食事の少なくとも 30 分間前に、対象の体重 1 キログラム当たり 45 から 135 pmol を投与することを含むことを特徴とする請求項 9 記載の組成物。

20

【請求項 12】

PYY を末梢的に投与することは、複数の投与において、PYY を対象に投与することを含み、複数の投与における各投与は、食事の少なくとも 30 分間前における、体重 1 キログラム当たり 0.5 から 135 pmol の投与を含むことを特徴とする請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 つに記載の組成物。

【請求項 13】

前記 PYY は、対象の体重 1 kg 当たり 0.1 nmol 以上かつ 0.8 nmol 以下の投与量で、末梢的に投与されることを特徴とする請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 つに記載の組成物。

30

【請求項 14】

前記 GLP-1 は、対象の体重 1 kg 当たり 0.1 nmol 以上かつ 3.2 nmol 以下の投与量で、末梢的に投与されることを特徴とする請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 つに記載の組成物。

【請求項 15】

アンフェブラモン（ジエチルプロピオン）、フェンテルミン、マジンドール、フェニルプロパノールアミン、フェンフルラミン、デクスフェンフルラミン、またはフルオキセチンを投与することをさらに含むことを特徴とする請求項 1 ~ 14 のいずれか 1 つに記載の組成物。

【請求項 16】

前記対象は、ヒトであることを特徴とする請求項 1 ~ 15 のいずれか 1 つに記載の組成物。

40

【請求項 17】

前記 PYY と、GLP-1 とは、複数の投与で投与されることを特徴とする請求項 1 ~ 16 のいずれか 1 つに記載の組成物。

【請求項 18】

前記 PYY は PYY₃₋₃₆であることを特徴とする請求項 1 ~ 17 のいずれか 1 つに記載の組成物。

【請求項 19】

前記 PYY はヒトの PYY であることを特徴とする請求項 1 ~ 18 のいずれか 1 つに記

50

載の組成物。

【請求項 20】

体重が 70 から 75 kg であるヒト対象を基準に 100 nmol 以下の投与量の PYY と、PYY と組み合わせて対象におけるカロリー摂取、食欲または食物摂取を低下させるのに有効な GLP-1 とを単一の製薬組成物または別々の組成物で対象に末梢投与するのに適した形態で、対象におけるカロリー摂取、食欲または食物摂取を低下させるのに使用するための、製薬上適した担体と混合または組み合わせた、PYY と、GLP-1 とを含むことを特徴とする製薬組成物。

【請求項 21】

皮下投与に適した形態であることを特徴とする請求項 20 記載の製薬組成物。

10

【請求項 22】

10 nmol 以上の PYY を含むことを特徴とする請求項 21 記載の製薬組成物。

【請求項 23】

20 から 60 nmol の PYY を含むことを特徴とする請求項 22 記載の製薬組成物。

【請求項 24】

単一の投与量の形態であることを特徴とする請求項 21 記載の製薬組成物。

【請求項 25】

前記 PYY は、SEQ ID NO: 334 の PYY₃₋₃₆であることを特徴とする請求項 1 記載の組成物。

【請求項 26】

前記 PYY は、SEQ ID NO: 1 の PYY であることを特徴とする請求項 1 記載の組成物。

20

【請求項 27】

体重が 70 から 75 kg であるヒト対象を基準に 100 nmol 以下の投与量の PYY と、PYY と組み合わせて対象におけるカロリー摂取、食欲または食物摂取を低下させるのに有効な GLP-1 とを単一の製薬組成物または別々の組成物で対象に末梢投与することを含む、対象におけるカロリー摂取を低下させる方法、対象における食欲を低下させる方法、または、対象における食物摂取を低下させる方法における使用のための、PYY と、GLP-1 とを含む組成物。

【発明の詳細な説明】

30

【技術分野】

【0001】

この出願は、食欲、摂食、食物摂取、エネルギー消費、およびカロリー摂取を、特に肥満分野において、制御する薬剤の使用に関する。

【0002】

(優先権主張)

この出願は、2002 年 1 月 10 日に出願された英国出願第 GB0200507.2 号、および国際出願 PCT/US02/31944 の利益を主張し、これらの出願は両方とも、それらの全体がそのまま参照することにより本願に組み込まれる。

【0003】

40

(政府助成の陳述)

この開示は、部分的には米国国立衛生研究所からの助成 RR00163、DK51730、および DK55819 に従った米国政府助成でなされた。米国政府は、本開示に特定の権利を有する。

【背景技術】

【0004】

米国国立衛生・栄養検査調査(National Health and Nutrition Examination Survey)(NHANES III、1988 から 1994)によれば、米国内の男女の 3 分の 1 から 2 分の 1 が、太りすぎである。米国では、20 歳またはそれより年齢が上の、男性の 60%、および女性の 51% が、太りすぎまたは肥満である。さらに、米国のかなりの割合の児童が、太りすぎであ

50

る。

【 0 0 0 5 】

肥満の原因は複雑かつ多因子性である。肥満が単純な自制の問題ではなく、食欲調節およびエネルギー代謝を含む合併症障害であることを示唆する証拠が増加している。さらに、肥満は、人口の罹患率および死亡率の増加に付随するさまざまな条件に関連する。肥満の病因は、決定的には立証されていないとはいえ、遺伝的、代謝的、生化学的、文化的、および心理社会的な因子が寄与していると考えられる。一般に、肥満は、過剰体脂肪によって個人が健康リスクに陥る状態として記述されてきた。

【 0 0 0 6 】

肥満が罹患率および死亡率の増加と関連するという強力な証拠がある。心血管疾患リスクおよび2型糖尿病疾患リスクなどの疾患リスクは、体格指数(BMI)の増加とは独立に増加する。実際、このリスクは、24.9を超えるBMIの1ポイント毎に、女性の心臓疾患リスクの5パーセントの増加として、および、男性の心臓疾患リスクの7パーセントの増加として、定量化されている(Kenchiah et al., N. Engl. J. Med. 347:305, 2002; Massie, N. Engl. J. Med. 347:358, 2002 を参照のこと)。さらに、肥満の人の体重減少が重要な疾患リスク因子を低減するという実質的な証拠がある。太りすぎおよび肥満の成人の最初の体重の10%などといった少しの体重減少であっても、高血圧症、高脂血症、および高血糖症などのリスク因子の低下に関連している。

【 発明の開示 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 7 】

飲食物および運動は、体重増加を低下させる簡単な方法を提供するとはいえ、太りすぎおよび肥満の個人は、通常、体重を効果的に減少させるほどにはこれらの因子を十分に制御できない。薬物療法は、有効であり、いくつかの体重減少薬物が、食品医薬品局によって認可されており、包括的体重減少プログラムの一部として使用できる。しかしながら、これらの薬物の多くは、深刻で有害な副作用を有する。より侵襲性の少ない方法が失敗し、患者が肥満関連の罹患率または死亡率に対する高いリスクにある場合は、体重減少手術が、臨床的に重度の肥満を有し慎重に選択された患者では1つの選択肢である。しかしながら、これらの処置は、高いリスクを伴っており、限られた数の患者への使用に適しているだけである。体重の減少を望むのは肥満対象者だけではない。推奨範囲内の体重を有する人々、例えば、推奨範囲の上部にいる人々は、体重を減少させて理想体重により近づけたいと望むことがある。このように、太りすぎおよび肥満対象者の体重減少をもたらすのに使用できる薬剤の必要性が依然として残されている。

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 0 8 】

対象へのPYYまたはそのアゴニストの末梢投与によって、食物摂取、カロリーの摂取、および食欲が低下し、また、エネルギー代謝が変化するという知見が、ここに開示されている。対象は、どのような対象とすることもでき、限定される訳ではないが、ヒト対象を含む。いくつかの実施態様では、対象は、体重減少を望んでいるか、肥満、太りすぎであるか、または体重関連障害に苦しんでいる。好ましくはPYY₃₋₃₆が対象に投与できる。

【 0 0 0 9 】

また、対象へのPYYまたはそのアゴニスト、例えば、PYY₃₋₃₆の、GLP-1またはそのアゴニストとの共投与(co-administration)によって、食物摂取、カロリーの摂取、および食欲が、PYYまたはそのアゴニストだけを投与したときより大幅に低下するという知見が、ここに開示されている。この効果は、相乗的である。

【 0 0 1 0 】

一実施態様においては、対象のカロリー摂取を低下させる方法が開示される。この方法は、治療効果量のPYYまたはそのアゴニストと、GLP-1またはそのアゴニストとを対象に末梢的に投与し、それによって、対象のカロリー摂取を低下させることを含む。

【 0 0 1 1 】

別の実施態様においては、対象の食欲を低下させる方法が開示される。この方法は、治療効果量の P Y Y またはそのアゴニストと、G L P - 1 またはそのアゴニストとを対象に末梢的に投与し、それによって、対象の食欲を低下させることを含む。

【 0 0 1 2 】

さらなる実施態様においては、対象の食物摂取を低下させる方法が開示される。この方法は、治療効果量の P Y Y またはそのアゴニストと、G L P - 1 またはそのアゴニストとを対象に末梢的に投与し、それによって、対象の食物摂取を低下させることを含む。

【 0 0 1 3 】

さらに別の実施態様においては、対象のエネルギー消費を増加させる方法がここに開示される。この方法は、治療効果量の P Y Y またはそのアゴニストと、G L P - 1 またはそのアゴニストとを対象に末梢的に投与し、それによって、対象のエネルギー消費を増加させることを含む。

10

【 0 0 1 4 】

さらに、ヒト対象のカロリー摂取、食物摂取、または食欲を低下させる方法が開示される。この方法は、製薬上許容可能な担体(carrier)内で治療効果量の P Y Y またはそのアゴニストを対象にパルス投与量で末梢的に注入し、それによって、対象のカロリー摂取、食物摂取、または食欲を低下させることを含む、さらに、G L P - 1 またはそのアゴニストを投与することを含む。

【 0 0 1 5 】

20

上述の各方法においては、G L P - 1 またはそのアゴニストが、P Y Y またはそのアゴニストと同時に、または実質的に同時に、あるいは、どのような順序でも逐次に、投与され得る。P Y Y またはそのアゴニストと、G L P - 1 またはそのアゴニストとは、単一の製薬組成物で、または別々の組成物で投与でき、またそれらは、同じ経路によってあるいは異なる経路によって投与できる。

【 0 0 1 6 】

上述した特徴および利点、さらには他の特徴および利点は、添付の図面を参照して行われるいくつかの実施態様の以下の詳細な説明からより明らかとなるであろう。

【発明を実施するための最良の形態】

【 0 0 1 7 】

30

I . 略語

- M S H : アルファメラノコルチン刺激ホルモン(alpha melanocortin stimulating hormone)、

A r c : 弓状核(arcuate nucleus)、

E P S P : 興奮性シナプス後電位(excitatory postsynaptic potential)、

G A B A : アミノ酪酸(aminobutyric acid)、

G F P、E G F P : 緑色蛍光タンパク質(green fluorescent protein)、

G L P - 1 : グルカゴン様(glucagons-like)ペプチド - 1、

I C V : 脳室内、

I P : 腹腔内、

40

I P S C : 阻害性シナプス後電流(inhibitory postsynaptic current)、

k b : キロベース(kilobase)、

k g : キログラム(kilogram)、

M O P - R : μ - オピオド受容体(μ -opioid receptor)、

M V : ミリボルト(millivolt)、

N P Y : 神経ペプチド Y(neuropeptide Y)、

O x m : オキシントモジュリン(oxyntomodulin)、

p m o l : ピコモル(picomole)、

P O M C : プロオピオメラノコルチン(proopiomelanocortin)、

R I A : ラジオイムノアッセイ(radioimmunoassay)、

50

R P A : R Nアーゼ保護アッセイ(RNase protection assay)、
 s . e . m . : 平均の標準偏差(standard error of the mean)、
 T H : チロシンヒドロキシラーゼ(tyrosine hydroxylase)、
 μ M : マイクロモル(micromolar)、
 V : ボルト(volt)、
 Y 2 A : N-アセチル(Leu²⁸, Leu³¹)NPY(24-36)(N-acetyl (Leu²⁸, Leu³¹) NPY (24-36))。

【 0 0 1 8 】

I I . 用語

特に言及しない限り、技術用語は、従来の用法に従って使用する。分子生物学の一般的用語の定義は、Benjamin Lewin, Genes V, Oxford University Press 発行, 1994 (ISBN 0-19-854287-9); Kendrew et al. (eds.), The Encyclopedia of Molecular Biology, Blackwell Science Ltd. 発行, 1994 (ISBN 0-632-02182-9); Robert A. Meyers (ed.), Molecular Biology and Biotechnology: a Comprehensive Desk Reference, VCH Publishers, Inc. 発行, 1995 (ISBN 1-56081-569-8)に見出すことができる。

【 0 0 1 9 】

本開示のさまざまな実施態様の考察を容易にするために、特定の用語について以下に説明を与える。

【 0 0 2 0 】

活動電位(Action potential) : ニューロンの軸索に沿って、また、多数の筋肉細胞および線細胞の表面膜を亘って、速く進行する迅速に伝達される電氣的メッセージ。軸索においては、それらは、短く、一定速度で進行し、一定振幅を維持する。中枢神経系の全ての電氣的メッセージと同様に、活動電位は、膜内のイオンチャンネルを通るイオンの流れによって引き起こされる膜電位変化である。一実施態様では、活動電位は、ナトリウム透過性の再生性の波である。

【 0 0 2 1 】

動物(Animal) : 生きている多細胞脊椎動物有機体であり、この部門には例えば、哺乳類および鳥類が含まれる。哺乳類という用語は、ヒトおよびヒト以外の哺乳類の両方を含む。同様に、「対象」という用語は、ヒトおよび獣医対象の両方を含む。

【 0 0 2 2 】

食欲不振症(Anorexia) : 食物に対する食欲の欠如または喪失。一実施態様では、食欲不振症は、「拒食症」の結果である。これは、主として女性が、一般に青春期の開始とともに、罹患する摂食障害であり、正常最低体重を維持することの拒絶、体重増加または肥満になることに対する激しい恐怖、極端に衰弱しているときでさえも太っているまたは特定の領域が太っているという感情を引き起こす身体像の攪乱、自己評価のための体重への過度の依存、および無月経を特徴とする。関連する特徴としては、一般に、病気の否定、心理療法への反抗、うつ症状、著しく低下した性欲、および、貯蔵などといった食物に関する強迫観念または特異行動が挙げられる。障害は、制限型と過食/吐き出し型の2つの亜類型に分けられ、制限型では、体重減少が主としてダイエットまたは運動を通して達成され、過食/吐き出し型では、過食または吐き出し行動が同様に定期的に生じる。

【 0 0 2 3 】

アンタゴニスト(Antagonist) : 生物学的応答を誘発せずに細胞受容体に結合し、そのような反応を誘発し得たであろう物質の結合を阻害する薬品として、他の物質の作用を無効にする傾向がある物質。

【 0 0 2 4 】

食欲(Appetite) : 食物に対する自然な欲求または切望。一実施態様では、食欲は、食物に対する欲求を評価する調査によって測定される。食欲の増加は、一般に、摂食行動の増加につながる。

【 0 0 2 5 】

食欲抑制剤(Appetite Suppressant) : 食物に対する欲求を減少させる化合物。商業上

10

20

30

40

50

入手可能な食欲抑制剤としては、限定される訳ではないが、アンフェプラモン（ジエチルプロピオン）(amfepramone (diethylpropion))、フェンテルミン(phentermine)、マジンドール(mazindol)、フェニルプロパノールアミン(phenylpropanolamine)、フェンフルラミン(fenfluramine)、デキスフェンフルラミン(dexfenfluramine)、フルオキセチン(flouxetine)が挙げられる。

【 0 0 2 6 】

結合(Binding)： 2つの分子が相互に作用するような2分子間の特異的相互作用。結合は、特異的かつ選択的となり得るものであり、それによって、1つの分子が、別の分子と比較して、優先的に結合される。一実施態様では、特異的結合は、解離定数 (K_d) によって特定される。

10

【 0 0 2 7 】

体格指数(Body Mass Index) (BMI)： 体重を測定するための数式であり、ときとしてケトラー指数(Quetelet's Index)とも呼ばれる。 BMI は、体重 (kg) を身長² (m^2) で割ることによって計算する。男性と女性に対して「正常」として許容される現在の標準は、 $20 - 24.9 kg/m^2$ の BMI である。一実施態様では、 $25 kg/m^2$ より大きな BMI は、肥満対象を特定するのに使用され得る。第I度 ($Grade I$) 肥満は、 $25 - 29.9 kg/m^2$ の BMI に相当する。第II度肥満は、 $30 - 40 kg/m^2$ の BMI に相当し、第III度肥満は、 $40 kg/m^2$ より大きな BMI に相当する (Jequier, Am. J Clin. Nutr. 45:1035-47, 1987)。理想体重は、身長、体格、骨構造、および性別に基づいて種および個体間で変わるものである。

20

【 0 0 2 8 】

c - f o s : F B J (Finkel-Biskis-Jenkins) および F B R ハツカネズミ骨肉腫ウイルス(murine osteosarcoma virus) (MSV) 内に見出されるウイルス性 v - f o s 腫瘍形成遺伝子(oncogene)の細胞相同体。ヒト f o s 遺伝子は、染色体 14 q 21 - q 31 に位置する。ヒト f o s は、T I S - 28として特定されている。

【 0 0 2 9 】

c - f o s は、情報伝達、細胞増殖、および分化において重要な役割を果たすと考えられている。他の転写因子 (例えば、j u n) と共同して、遺伝子発現のトランス活性化調節因子として作用するのは、核タンパク質である。c - f o s は、前初期応答遺伝子であり、成長因子に対する細胞の初期応答において鍵となる役割を果たすと信じられている。c - f o s は、胚性造血細胞およびニューロン細胞の細胞成長および分化の制御にも関与する。ヒト c - f o s コードアミノ酸および核酸配列は、知られている (例えば、Verma et al., Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 51, 949, 1986 を参照のこと; GenBank Accession Nos. K00650 および M16287 であり、インターネット上で入手可能である)。

30

【 0 0 3 0 】

カロリーの摂取またはカロリー摂取(Caloric intake or calorie intake)： 個体により消費されたカロリー数 (エネルギー)。

【 0 0 3 1 】

カロリー(Calorie)： 食物における測定単位。標準カロリーは、 4.184 絶対ジュールとして、または、1グラムの水の温度を 15 から 16 に上昇させるのに必要なエネルギー量 (または、1気圧において1グラムの水の温度を 0 から 100 に上昇させるのに必要とされるエネルギー量の $1/100$) として定義されており、食品カロリー (food calorie) は、実際には、 $1,000$ 標準カロリーに等しい (1 食品カロリー = 1 キロカロリー)。

40

【 0 0 3 2 】

保存的な変化(Conservative variation)： アミノ酸残基の別の生物学的に類似の残基による置換。保存的な変化の例としては、イソロイシン、バリン、ロイシン、またはメチオニンなどの1つの疎水性残基の別のものとの置換、あるいは、アルギニンのリシンとの置換、グルタミン酸のアスパラギン酸との置換、またはグルタミンのアスパラギンとの置

50

換などの1つの極性残基の別のものとの置換、などが挙げられる。「保存的な変化」という用語は、置換ポリペプチドに対して引き起こされた抗体も、非置換ポリペプチドと免疫反応するならば、非置換親アミノ酸の代わりに置換アミノ酸を使用することを含む。

【0033】

保存的アミノ酸置換の非限定的な例としては、以下に列挙したものが含まれる。

【0034】

元の残基：	保存的置換、
Ala：	Ser、
Arg：	Lys、
Asn：	Gln, His、
Asp：	Glu、
Cys：	Ser、
Gln：	Asn、
Glu：	Asp、
His：	Asn; Gln、
Ile：	Leu, Val、
Leu：	Ile; Val、
Lys：	Arg; Gln; Glu、
Met：	Leu; Ile、
Phe：	Met; Leu; Tyr、
Ser：	Thr、
Thr：	Ser、
Trp：	Tyr、
Tyr：	Trp; Phe、
Val：	Ile; Leu 。

10

20

【0035】

脱分極(Depolarization)：細胞の膜電位の増加。特定の刺激が、細胞質膜を横切る電荷を低減する。これには、電気的刺激(電圧ゲートチャンネルを開く)、機械的刺激(機械的ゲートチャンネルを活性化する)、または特定の神経伝達物質(リガンドゲートチャンネルを開く)があり得る。それぞれの場合、ナトリウムの細胞内への促進された拡散が、興奮シナプス後電位(EPS P)を生成する細胞上の位置における静止電位を増加する。脱分極は、阻害性シナプス後電流(IPSC)の周波数を低減することによっても、生成されることができ、これらは、IPSCを生成する塩素イオンの細胞内への流入を促進する阻害神経伝達物質に起因する。電位が、閾値電圧(哺乳動物のニューロンでは約-50mV)に増加されると、活動電位が、細胞内に生成される。

30

【0036】

糖尿病(Diabetes)：インスリンの内生欠乏とインスリン感受性の欠陥の少なくとも一方に起因する、細胞膜を横断して内生グルコースを輸送しなくなる細胞の障害。糖尿病は、インスリンの不十分な分泌または標的組織インスリン抵抗性に起因する、障害のある炭水化物、タンパク質、および脂肪の代謝の慢性症候群である。それは、2つの主要な形態、すなわち、インスリン依存性糖尿病(IDDM、I型)およびインスリン非依存性糖尿病(NIDDM、II型)で生じ、これらは、病因学、病理学、遺伝学、発病年齢、および処置が異なる。

40

【0037】

糖尿病の2つの主要な形態は、両方とも、グルコース恒常性の制御に必要とされる正確なタイミングでかつ所定の量でインスリンを分泌できないことを特徴とする。I型糖尿病すなわちインスリン依存性糖尿病(IDDM)は、内生インスリンのレベルが不十分になる、細胞の破壊により生じる。II型糖尿病すなわちインスリン非依存性糖尿病は、インスリンに対する身体の感受性の欠陥とインスリン生産の相対的な欠乏の両方から生じる。

50

【 0 0 3 8 】

エクセンジン(Exendin)： アメリカドクトカゲ(*Gila monster* (*Heloderma suspectum*))の唾液腺から単離された39アミノ酸ペプチド(Eng J et al J Biol Chem 267:7402-7405, 1992)、SEQ ID NO:341 を参照のこと。エクセンジンは、GLP-1受容体におけるアゴニストの一例である。エクセンジン-4から誘導されGLP-1アゴニスト活性も有する分子は、GLP-1アゴニストのさらなる例である。

【 0 0 3 9 】

食物摂取(Food intake)： 個体により消費される食物の量。食物摂取は、体積または重量により測定できる。一実施態様では、食物摂取は、個体により消費された食物の全量である。別の実施態様では、食物摂取は、個体の、タンパク質、脂肪、炭水化物、コレステロール、ビタミン、ミネラル、または他の任意の食物成分の量である。「タンパク質摂取」は、個体により消費されたタンパク質の量のことを言う。同様に、「脂肪摂取」、「炭水化物摂取」、「コレステロール摂取」、「ビタミン摂取」、および「ミネラル摂取」は、個体により消費される、タンパク質、脂肪、炭水化物、コレステロール、ビタミン、またはミネラルの量を言う。

【 0 0 4 0 】

グルカゴン様ペプチド-1(Glucagon-like peptide-1)： 中枢神経系(CNS)内および腸内における160アミノ酸ポリペプチドであるプレプログルカゴン(preproglucagon)を処理することにより生成されるペプチド。GLP-1(1-37)が、最初の生成物である。GLP-1(1-37)は、翻訳後処理によりアミド化されて、GLP-1(1-36)NHを生成し、あるいは、酵素によって処理されて、GLP-1(7-37)(SEQ ID NO: 338)を与える。GLP-1(7-37)は、アミド化できて、GLP-1(7-36)アミド(SEQ ID NO: 339)を与えるが、これは、最も生物学的に活性な形態である。GLP-1は、栄養分の摂取に応答して循環内に放出される。腸細胞は、GLP-1(7-37)とGLP-1(7-36)アミドを1対5の割合で分泌する。

【 0 0 4 1 】

GLP-1受容体は、脳幹、弓状核、および室傍核内で見出される。ヒトにおけるGLP-1の生理学的作用としては、インスリン放出の刺激、胃酸分泌の抑制、および胃内容排出(gastric emptying)の減速、が挙げられる。

【 0 0 4 2 】

GLP-1アゴニストは、GLP-1受容体に優先的に結合しGLP-1と同じ生物学的活性を刺激するペプチド、小さな分子、または化学的化合物である。一実施態様では、GLP-1受容体に対するアゴニストは、GLP-1ペプチドと同じかそれより大きな親和性で受容体に結合する。別の実施態様では、アゴニストは、別の受容体に結合するのに比較して、GLP-1受容体を選択的に結合する。

【 0 0 4 3 】

当業者は、与えられた化合物の解離定数(K_d)の値を容易に決定できる。この値は、試験された化合物の選択性に依存する。例えば、10 nMより小さな K_d を有する化合物は、卓越した薬物候補と一般に考えられる。しかしながら、低い親和性を有するが、特定の受容体に対して選択的である化合物も、良好な薬物候補となり得る。一つの特定の非限定的な例では、競合効力検定(competition assay)などの効力検定が、興味のある化合物が、GLP-1受容体アゴニストか決定するのに使用される。

【 0 0 4 4 】

GLP-1アゴニストは、GLP-1関連ペプチドを含み、また、GLP-1ペプチドまたは関連ペプチドの天然または合成の酵素のまたは化学的な処理によって得られるペプチドを含む。

【 0 0 4 5 】

過分極(Hyperpolarization)： 細胞の膜電位の低下。阻害神経伝達物質が、過分極を介して神経インパルスの伝達を阻害する。この過分極は、阻害シナプス後電位(IPAP)と呼ばれる。細胞の閾値電圧は、不変であるけれども、過分極細胞は、閾値に到達する

10

20

30

40

50

のにより強力な興奮刺激を必要とする。

【 0 0 4 6 】

阻害シナプス後電流(Inhibitory Postsynaptic Current)： シナプス後細胞の電気生理学的パラメータを阻害する電流。シナプス後細胞の電位は、シナプス前細胞に対する影響を決定するように解析され得る。一実施態様では、シナプス後細胞は、電圧クランプモードで保持されて、シナプス後電流が記録される。必要ならば、他の種類の電流のアンタゴニストが添加され得る。1つの特定の非限定的な例では、GABA活性化IPACを記録するために、興奮チャンネルまたは受容体の遮断薬が添加され得る。次に、時間に亘る瞬間周波数が決定される。

【 0 0 4 7 】

一実施態様では、IPSCは、NPYニューロンからのGABA放出の周波数の測定を与える。従って、NPYニューロンが、GABAをPOMCニューロン上に放出するので、IPSC周波数の測定は、POMCニューロンが受け取る阻害調子(tone)の基準となり、YYYのアゴニストの効果を評価するのに使用できる。

【 0 0 4 8 】

膜電位(Membrane potential)： 外部浴溶液などの環境に対する細胞の内部の電位。当業者は、従来の全細胞(whole cell)技術などを用いることによって細胞の膜電位を容易に評価できる。細胞の活性化は、より負でない膜電位(例えば、約-50mVから約-40mVへの移動)を伴う。このような電位の変化は、活動電位の可能性を増加させ、従って、活動電位の割合の増加に繋がる。

【 0 0 4 9 】

活動電位の割合は、従来の全細胞方法を用いること、または、例えば、貫通パッチ全細胞および細胞付着構成(perforated-patch whole-cell and cell-attached configurations)を用いることなどを含む、多くの方法を用いて評価できる。絶対電圧および電流が評価できない各場合は、むしろ、活動電位に特徴的な迅速偏向(rapid deflection)の周波数が、時間の関数として評価される(従って、この周波数は、「二値(bins)」で報告される瞬間周波数である)。この時間成分は、活動電位興奮割合に対するYYYアゴニストなどの化合物の効果を解析するのにYYYアゴニストなどの化合物が浴に適用される時間に関係し得る。

【 0 0 5 0 】

神経ペプチド(Neuropeptide Y (NPY))： 哺乳動物の脳内で同定される神経ペプチドである36-アミノ酸ペプチド。NPYは、中枢および末梢神経系の両方の中の重要な調節因子であると信じられており、精神運動活性、食物摂取、中枢内分泌物分泌、および心血管系内の血管作動性を含む、さまざまな範囲の生理学的パラメータに影響を及ぼす。高濃度のNPYは、冠状動脈、大脳、および腎臓血管系に供給する交感神経に見出されており、血管収縮に寄与している。NPY結合部位は、脾臓、腸管膜、脳、大動脈平滑筋、腎臓、精巣、および胎盤を含む、さまざまな組織内で同定されている。さらに、結合部位は、多数のラットおよびヒト細胞系内で報告されている。

【 0 0 5 1 】

神経ペプチドY(NPY)受容体は、膵臓ポリペプチドファミリー内で構造/活性関係を有する。このファミリーは、ニューロン内で主に合成されるNPY、消化管内の内分泌細胞により主に合成されるペプチドYYY(PYY)、および膵臓内の内分泌細胞により主に合成される膵臓ポリペプチド(PP)を含む。これらの36アミノ酸ペプチドは、ペプチドの中央部で「PP-折りたたみ」と呼ばれるアミノ酸構造を含むコンパクトならせん構造を有する。

【 0 0 5 2 】

NPYは、Y1、Y2、Y3、Y4(PP)、Y5、Y6、およびY7受容体を含む、いくつかの受容体に結合する。これらの受容体は、結合親和性、薬理学、および配列(もし知られていれば)に基づいて理解される。これらの受容体の全部ではないが大部分は、Gタンパク質結合受容体である。Y1受容体は、シナプス後であると一般に考えられてお

10

20

30

40

50

り、末梢における神経ペプチドYの知られている作用の多くを媒介する。元来、この受容体は、13 - 36断片などの神経ペプチドYのC末端断片に対して弱い親和性を有するとして記載されたが、同じ親和性で全部の長さの神経神経ペプチドYおよびペプチドYYと相互作用する(例えば、PCT公開第WO93/09227号参照のこと)。

【0053】

薬理学的には、Y2受容体は、神経ペプチドYのC末端断片に対する親和性を示すことによりY1とは区別される。Y2受容体は、神経ペプチドY(13 - 36)の親和性により非常にしばしば区別されているが、神経ペプチドYおよびペプチドYYの3 - 36断片は、向上した親和性および選択性を与える(Dumont et al., Society for Neuroscience Abstracts 19:726, 1993 を参照のこと)。Y1およびY2受容体の両方を通る信号伝達は、アデニル酸シクラーゼの阻害に結合される。また、Y-2受容体への結合は、N型カルシウムチャンネルの選択的阻害によりシナプス内のカルシウムの細胞内レベルを低減することが見出された。さらに、Y-2受容体は、Y1受容体と同様に、セカンドメッセンジャーへの特質的(differential)な結合を示す(米国特許第6,355,478号参照のこと)。Y2受容体は、海馬、黒質側部(substantia nigra-lateralis)、視床、視床下部、および脳幹を含む、さまざまな脳領域内に見出される。ヒト(human)、ネズミ(murine)、サル(monkey)、およびラット(rat)Y2受容体は、クローン化されている(例えば、米国特許第6,420,352号および米国特許第6,355,478号を参照のこと)。

【0054】

Y2受容体アゴニストは、Y2受容体に優先的に結合し細胞内信号伝達を刺激するペプチド、小さな分子、または化学的化合物である。一実施態様では、Y2受容体のためのアゴニストは、NPYと同じかそれより大きな親和性で受容体に結合する。別の実施態様では、アゴニストは、別の受容体に結合するのに比較して、Y2受容体に選択的に結合する。

【0055】

当業者は、与えられた化合物の解離定数(K_d)の値を容易に決定できる。この値は、試験された化合物の選択性に依存する。例えば、10 nMより小さな K_d を有する化合物は、卓越した薬物候補と一般に考えられる。しかしながら、低い親和性を有するが、特定の受容体に対して選択的である化合物も、良好な薬物候補となり得る。1つの特定の非限定的な例では、競合効力検定(competition assay)などの効力検定が、興味のある化合物が、Y2受容体アゴニストか決定するのに使用される。神経ペプチドY受容体アンタゴニストのために有用な効力検定も、当業技術内でよく知られている(参照することで本願に組み込まれる米国特許第5,284,839号、および、Walker et al., Journal of Neurosciences 8:2438-2446, 1988 を参照のこと)。

【0056】

標準1日当たり食物(Normal Daily Diet): 与えられた種の個体のための平均食物摂取。標準1日当たり食物は、カロリーの摂取、タンパク質摂取、炭水化物摂取、脂肪摂取のうちの少なくとも1つによって表示できる。ヒトの標準1日当たり食物は、一般に以下の、約2,000、約2,400、または約2,800から実質的により多くのカロリーまでから成る。さらに、ヒトの標準1日当たり食物は、一般に、約12 gから45 gのタンパク質、約120 gから約610 gの炭水化物、および約11 gから約90 gの脂肪を含む。低カロリー食物は、ヒトの個体の標準カロリーの摂取の約85%以下、好ましくは約70%以下となるであろう。

【0057】

動物では、カロリーおよび栄養分の必要量は、動物の種および大きさに依存して変わる。例えば、ネコでは、1ポンド当たりの全カロリーの摂取、および、タンパク質、炭水化物、脂肪のパーセント配分は、ネコの年齢および繁殖状態とともに変わる。しかしながら、ネコに対する一般的指針は、40 cal/lb/day (18.2 cal/kg/day)である。約30%から約40%をタンパク質とする必要があり、約7%から約10%を炭水化物からとする必要があり、約50%から約62.5%を脂肪摂取から由来させる

必要がある。当業者は、どのような種の個体の標準 1 日当たり食物も容易に特定できる。

【 0 0 5 8 】

肥満 (Obesity) : 過剰の体脂肪によって人が健康リスクに陥る状態 (Barlow and Dietz, Pediatrics 102:E29, 1998; National Institutes of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI), Obes. Res. 6 (suppl. 2):51S-209S, 1998 を参照のこと)。過剰の体脂肪は、エネルギー摂取とエネルギー消費の不均衡の結果である。一実施態様では、体格指数 (BMI) が、肥満を評価するのに使用される。一実施態様では、 25.0 kg/cm^2 から 29.9 kg/m^2 の BMI が太りすぎであり、一方、 30 kg/m^2 の BMI が肥満である。

【 0 0 5 9 】

別の実施態様では、胸回りが、肥満を評価するのに使用される。この実施態様では、男性では、 102 cm またはそれを上回る胸回りが肥満と考えられており、一方、女性では、 89 cm またはそれを上回る胸回りが肥満と考えられている。有力な証拠が、個人の罹患率および死亡率の両方に影響を及ぼすことを示している。例えば、肥満の個人は、特に、心臓病、インスリン非依存性 (2 型) 糖尿病、高血圧症、脳卒中、癌 (例えば、子宮内膜癌、乳癌、前立腺癌、および結腸癌)、脂質異常 (dyslipidemia)、胆嚢症、睡眠時無呼吸、低妊性、および変形性関節炎に対するリスクが増加している (Lyznicki et al., Am. Fam. Phys. 63:2185, 2001 を参照のこと)。

【 0 0 6 0 】

太りすぎ (Overweight) : 自身の理想体重より体重が重い個人。太りすぎの個人は、肥満の可能性があるが、必ずしも肥満とはならない。一実施態様では、太りすぎの個人は、自身の体重が低下するのを望む任意の個人である。別の実施態様では、太りすぎの個人は、 25.0 kg/cm^2 から 29.9 kg/m^2 の BMI を有する個人である。

【 0 0 6 1 】

オキシントモジュリン (Oxyntomodulin) : CNS 内および腸内におけるプレプログルカゴン翻訳後処理することにより生成されるさらなるペプチド、SEQ ID NO: 340 を参照のこと。オキシントモジュリンのアゴニストは、GLP-1 のアゴニストおよび NPY のアゴニストに対して上述したように特定でき、他の種類のオキシントモジュリン、さらには、修飾された配列を含み、例えば、この本文内で使用される用語 OXM が上述した OXM 配列のどのような類似物もまた含むような配列を含み、ここでは、1 位にあるヒスチジン残基は、正電荷を有する芳香族部分 (aromatic moiety) またはその誘導体によって置換または維持され、好ましくは、この部分は、アミノ酸であり、より好ましくは、それは、ヒスチジン誘導体であり、上述した OXM 配列内の 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、または 22 個の他のアミノ酸が、1 位にあるヒスチジンを除いて、任意の他の独立して選択されたアミノ酸によって独立して置換され得る。

【 0 0 6 2 】

配列内のいずれか 1 つまたは複数 (22 個まで) の他の - アミノ酸残基が、任意の他の 1 つの - アミノ酸残基によって独立して置換され得る。好ましくは、ヒスチジンを除く任意のアミノ酸残基は、当業技術内でよく知られる保存的置換、すなわち、1 つの疎水性アミノ酸を別のものに置き換えるなどといったアミノ酸を化学的に類似の種類のアミノ酸に置き換えることによって置換される。

【 0 0 6 3 】

上述したように、1 から 22 個のアミノ酸が置換され得る。上述した置換の選択肢に加えて、これは、アミノ酸の非必須形態、修飾形態、または異性形態によって行われ得る。例えば、1 から 22 個のアミノ酸は、異性形態 (例えば、D - アミノ酸)、修飾アミノ酸、例えばノルアミノ酸 (nor-amino acid) (ノルロイシンまたはノルバリンなど)、または非必須アミノ酸 (タウリンなど) によって置換できる。さらに、1 から 22 個のアミノ酸は、その側鎖を介して結合された対応するまたは異なるアミノ酸 (例えば、 γ -結合 (gamma-linked) グルタミン酸) によって置換できる。上述した各置換では、1 位にあるヒスチ

10

20

30

40

50

ジン残基は、変更されないか、あるいは、上述したように規定される。

【 0 0 6 4 】

さらに、1、2、3、4、または5個のアミノ酸残基が、1位にあるヒスチジンを除いて(または上に規定したように)、O X M配列から除去できる。削除される残基は、任意の2、3、4、または5個の隣接残基、または全く別々の残基とすることができる。

【 0 0 6 5 】

O X M配列のC末端は、さらなるアミノ酸残基または他の部分を付加するように修飾できる。

【 0 0 6 6 】

膵臓ポリペプチド(Pancreatic Polypeptide)： P Y YおよびN P Yに対してホモロジーがある、膵臓により生成された36アミノ酸ポリペプチド。

10

【 0 0 6 7 】

末梢投与(Peripheral Administration)： 中枢神経系の外部での投与。末梢投与は、脳への直接投与は含まない。末梢投与は、限定される訳ではないが、脈管内、筋肉内、皮下、吸入、経口、直腸、経皮、または鼻腔内の投与を含む。

【 0 0 6 8 】

ポリペプチド(Polypeptide)： 単量体が、アミド結合を通して互いに結合するアミノ酸残基である、高分子。アミノ酸がアルファアミノ酸であるときは、L光学異性体またはD光学異性体を使用され得るが、L光学異性体が好ましい。ここで使用する「ポリペプチド」または「タンパク質」という用語は、どのようなアミノ酸配列も包含すること、かつ、糖タンパク質などの修飾配列を含むことが、意図されている。「ポリペプチド」という用語は、天然に生じるタンパク質ばかりでなく、組換えまたは合成により製造されたものも含むことが、特に意図されている。「ポリペプチド断片」という用語は、例えば、受容体と結合するのに有用な少なくとも1つの配列を示す断片などの、ポリペプチドの一部のことを言う。「ポリペプチドの機能的断片」という用語は、ポリペプチドの作用を保持するポリペプチドの全ての断片のことを言う。生物学的に機能的なペプチドは、興味のあるペプチドがその所望の作用を低減しない別のペプチドと融合されている、融合タンパク質も含み得る。

20

【 0 0 6 9 】

P Y Y： 任意の種から得られたまたは由来するペプチドY Yポリペプチド。従って、P Y Yは、ヒト(human)の全部の長さのポリペプチド (SEQ ID NO: 1 に記載されている)、および、例えば、ネズミ(murine)、ハムスター(hamster)、ニワトリ(chicken)、ウシ亜科(bovine)、ラット(rat)、およびイヌ(dog) P Y Y (SEQ ID NOS: 5-12 に記載されている)を含むP Y Yの種の変形物(variations)、を含む。一実施態様においては、P Y Yアゴニストは、N P Yを含まない。また、P Y Yは、P Y Y₃₋₃₆を含む。「P Y Yアゴニスト」は、P Y Yに特異的に結合する受容体に結合し、P Y Yの効果を誘発する、任意の化合物である。一実施態様では、P Y Yアゴニストは、食物摂取、カロリーの摂取、または食欲に影響を及ぼすこと、および、Y受容体効力検定において特異的に結合するかあるいは標識化P Y Yとの競合結合効力検定などにおいてP Y Yと結合しようと競合すること、の少なくとも一方を行う化合物である。P Y Yアゴニストは、限定される訳ではないが、Y 2受容体に結合する化合物を含む。

30

40

【 0 0 7 0 】

実質的に精製されたもの(Substantially purified)： 実質的に他のタンパク質、脂質、炭水化物、または天然に付随する他の物質のない、ポリペプチド。例えば、ポリペプチドは、他のタンパク質、脂質、炭水化物、または天然に付随する他の物質のない少なくとも50%、80%、または90%のものとすることができる。

【 0 0 7 1 】

治療効果量(Therapeutically effective amount)： 障害の進行を防止するかまたは後退を生じさせるのに十分であるか、障害の徴候または症状を軽減できるか、あるいは、所望の結果を達成できる、投与量。いくつかの実施態様では、P Y Yまたはそのアゴニスト

50

の治療効果は、体重増加を阻害または停止されるのに十分な量、食欲を低下させるのに十分な量、あるいは、カロリーの摂取または食物摂取を低減するかまたはエネルギー消費を増加するのに十分な量である。

【0072】

特に説明しない限り、ここで使用される全ての技術および科学用語は、この開示が属する技術内の当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有する。単数の用語（「a」、「an」、および「the」）は、それ以外を文脈が明確に示さない限り、複数の指示対象を含む。同様に、「または」という言葉は、それ以外を文脈が明確に示さない限り、「および」を含むことが意図される。さらに理解されるように、核酸またはポリペプチドに対して与えられた、全ての塩基サイズまたはアミノ酸サイズ、および全ての分子量または分子質量値は、概略であり、記載のために与えられている。ここに記載されているものと類似または同等の方法および物質が、この開示の実施または試験において使用できるとはいえ、適切な方法および物質が、以下に記載される。「から成る(comprise)」という用語は、「含む(include)」を意味する。ここで言及する全ての公報、特許出願、特許、および他の文献は、参照することによってそれらの全体が組み込まれる。対立がある場合は、用語の説明を含め、本明細書は、調整されることになる。さらに、物質、方法、および実施例は、例示に過ぎず、限定を意図していない。

【0073】

食物摂取、食欲、カロリーの摂取、およびエネルギー消費を変える方法：

治療効果量の PYY または PYY のアゴニストと、GLP-1 またはそのアゴニストとを対象に末梢的に投与することによって、食物摂取を低減する方法がここに開示される。一実施態様においては、PYY または PYY のアゴニストと、GLP-1 またはそのアゴニストとの投与によって、食物の量すなわち全重量または全体積が低下する。他の実施態様においては、PYY またはそのアゴニストと、GLP-1 またはそのアゴニストとの投与によって、脂質、炭水化物、コレステロール、またはタンパク質の（経口）摂取が低下するなどといった、食物成分の摂取が低下する。ここに開示されているどの方法においても、好ましい化合物である PYY₃₋₃₆ が、投与できる。この開示は、ここにおいて定められている目的のために 1 つまたは複数の医薬を製造するための PYY またはそのアゴニストと、GLP-1 またはそのアゴニストとの対応する使用を含むとともに、PYY₃₋₃₆ の使用を含む。

【0074】

また、治療効果量の PYY または PYY のアゴニストと、GLP-1 またはそのアゴニストとを対象に末梢的に投与することによって、カロリーの摂取を低減する方法がここに開示される。一実施態様においては、全体のカロリーの摂取が、治療効果量の PYY と、GLP-1 またはそのアゴニストとの末梢投与によって低減される。他の実施態様においては、限定される訳ではないが、脂質、炭水化物、コレステロール、またはタンパク質の（経口）摂取などといった、特定の食物成分の（経口）摂取からのカロリーの摂取が低下する。

【0075】

さらなる実施態様においては、治療効果量の PYY またはそのアゴニストと、GLP-1 またはそのアゴニストとを投与することによって、食欲を低下させる方法がここに開示される。食欲は、当業者に知られるどのような手段によっても測定できる。例えば、低下した食欲は、心理学的評価によって評価できる。この実施態様においては、PYY とその他の 1 つまたは複数の薬剤との投与によって、知覚された空腹(hunger)、飽満(satiety)、および満腹感(fullness)の少なくとも 1 つが変化する。空腹は、当業者に知られるどのような手段によっても評価できる。一実施態様においては、空腹は、限定される訳ではないが、視覚的アナログ指数(Visual Analog Score)(VAS)質問表(実施例の欄を参照のこと)などの質問表を用いる空腹感情および感覚的知覚(sensory perception)の評価などによる心理学的評価を用いて評価される。1 つの特定の非限定的な例では、空腹は、食物に対する欲求、飲料、予想食物消費、悪心、および、においまたは味に関する知覚、に

関する質問に回答することにより評価される。

【 0 0 7 6 】

さらなる実施態様においては、対象におけるエネルギー代謝を変化させる方法がここに開示される。この方法は、治療効果量の P Y Y またはそのアゴニストと、G L P - 1 またはそのアゴニストとを対象に末梢的に投与し、それによって、エネルギー消費を変化させることを含む。エネルギーは、全ての生理学的過程において燃焼される。身体は、これらの過程の効率を調節することによって、または、生じている過程の数および性質を変えることによって、エネルギー消費の速度を直接変化させることができる。例えば、消化中に、身体は、エネルギーを消費し、腸を通して食物を移動させ、食物を消化し、細胞内では、細胞代謝の効率が、より多いまたはより少ない熱を生成するように変更され得る。さら

10

【 0 0 7 7 】

いくつかの実施態様においては、P Y Y (例えば、P Y Y₃₋₃₆) またはそのアゴニストと、G L P - 1 またはそのアゴニストとが、体重制御、および、肥満の治療、低減、または防止のために、特に以下の、体重増加を防止および低減すること、体重減少を誘発および促進すること、および、体格指数により測定される肥満を低減すること、のいずれか1つまたは複数のために、使用される。さらに、開示は、食欲、飽満、および空腹のいずれか1つまたは複数の制御における、特に以下の、食欲を低減、抑制、および阻害すること、飽満および飽満の感覚を誘発、増加、増強、および促進すること、および、空腹および空腹の感覚を低減、阻害、および抑制すること、のいずれか1つまたは複数における、P Y Y またはアゴニストと、G L P - 1 またはそのアゴニストとの使用に関する。さらに、開示は、所望の体重、所望の体格指数、所望の容姿、および良好な健康のいずれか1つまたは複数維持することにおける、P Y Y またはそのアゴニストと、G L P - 1 またはそのアゴニストとの使用に関する。

20

30

【 0 0 7 8 】

対象は、ヒト対象および獣医哺乳動物対象の両方を含むどのような対象とすることもできる。従って、対象は、ヒトとすることができ、あるいは、非ヒト霊長類、ブタ(swine)、ウシ(cattle)、家禽(poultryなどの飼育動物(farm animal)、イヌ、ネコ、ウマ、ハムスター、齧歯類(rodent)などのスポーツ動物(sport animal)またはペット、または、ライオン、トラ、またはクマなどの動物園の動物(zoo animal)とすることができる。

【 0 0 7 9 】

肥満は、現在、完全には治療できず慢性的で実質的に難治性の障害である。肥満の人の体重減少に有用な治療薬物は、その人の健康に極めて大きな有益な影響を及ぼすことができたであろう。従って、対象は、限定される訳ではないが、太りすぎまたは肥満である対象とすることができる。一実施態様においては、対象は、障害を有するかはたは有するリスクにあり、そこでは、肥満または太りすぎがこの障害に対するリスク因子である。興味のある疾患としては、限定される訳ではないが、心血管疾患(限定される訳ではないが、高血圧症、アテローム性動脈硬化症、うっ血性心不全、および脂質異常を含む)、脳卒中、胆嚢症、変形性関節炎、睡眠時無呼吸、限定される訳ではないが多嚢胞性卵巣症候群などの生殖障害(reproductive disorder)、癌(例えば、乳癌、前立腺癌、結腸癌、子宮内膜癌、腎臓癌、および食道癌)、静脈瘤様静脈、黒色表皮腫(acanthosis nigricans)、湿疹、運動不耐症(exercise intolerance)、インスリン抵抗性、高血圧症高コレステロール血症、胆石症(cholithiasis)、変形性関節炎、整形外科創傷(orthopedic injury)、イン

40

50

スリン抵抗性（限定される訳ではないが、2型糖尿病、および症候群X）、およびトロンプ塞栓症(tromboembolic disease)などが挙げられる(Kopelman, Nature 404:635-43; Ris sanen et al., British Med. J. 301, 835, 1990 を参照のこと)。

【0080】

他の付随する障害としては、うつ病、不安、パニック発作、片頭痛、PMS、慢性疼痛状態、結合組織炎(fibromyalgia)、不眠症、衝動(impulsivity)、強迫性障害、およびミオクロヌスなども挙げられる。肥満は、全身麻酔の合併症の発生率増加に対する認められたリスク因子である。（例えば、Kopelman, Nature 404:635-43, 2000 を参照のこと）。それは、寿命を低減し、上に列挙した共罹患率(co-morbidity)の重度のリスクを伴う。

10

【0081】

肥満に付随する他の疾患または障害は、先天性欠損症（母性肥満は、神経管欠損の発生率の増加を伴う）、手根管症候群（CTS）、慢性静脈不全（CVI）、昼間の眠気(day time sleepiness)、深部静脈血栓症(deep vein thrombosis)（DVT）、最終期(end stage)腎臓疾患（ESRD）、痛風、熱障害(heat disorder)、免疫応答障害、呼吸機能障害、不妊症、肝臓疾患、下部(lower)腰痛、産科・婦人科合併症、膵炎(pancreatitis)、さらには、腹壁ヘルニア、黒色表皮腫(acanthosis nigricans)、内分泌異常、慢性低酸素症および高炭酸ガス症、皮膚科学影響、象皮病(elephantitis)、胃食道逆流、踵拍車(heel spur)、下端部(lower extremity)浮腫、乳房肥大(mammegaly)（ブラストラップ痛(bra strap pain)、皮膚損傷、頸部痛、乳房の下皮膚の折り返し内の慢性的なにおいおよび感染などの考慮すべき問題を引き起こす）、大きな前腹部壁質量（頻繁な皮下脂肪組織炎を有する腹部皮下脂肪組織炎、歩行を妨げ、頻繁な感染、におい、着衣困難、下部腰痛を引き起こす）、筋肉および骨格の疾患、脳偽腫瘍(pseudo tumor cerebri)（または良性頭蓋内高血圧）、および滑脱裂孔ヘルニア(sliding hiatal hernia)である。

20

【0082】

本開示は、相対的に高い栄養分の有効性によって引き起こされ、悪くされ(complicate)、または悪化され(aggravate)た状態または障害を処置、防止、改善、または軽減することに関する。「カロリー（または栄養分）の有効性を低減することにより軽減できる状態または障害」とは、相対的に高い栄養分の有効性によって引き起こされ、悪くされ、または悪化されるか、あるいは、栄養分の有効性を低減すること例えば食物摂取を低減することによって軽減できる、対象におけるどのような状態または障害をも意味する。インスリン抵抗性、グルコース不耐性であるか、または、いずれかの形態の真性糖尿病（例えば、1型、2型、または妊娠糖尿病）を有する対象は、開示から利益を得ることができる。

30

【0083】

このような状態または障害は、増加したカロリーの摂取、インスリン抵抗性、またはグルコース不耐性に関連し、限定される訳ではないが、肥満、2型糖尿病を含む糖尿病、摂食障害、インスリン抵抗性症候群、およびアルツハイマー病を含む。

【0084】

別の実施態様においては、対象は、自らの容姿の変化を望んでいる女性および男性対象などの体重減少を望んでいる対象である。なおさらなる実施態様においては、対象は、限定される訳でないが、高いレベルの集中が必要な長たらしい仕事に従事している人（例えば、従軍中の兵士、航空管制官、または長距離ルートのトラック運転手）などといった、空腹感情の低減を望んでいる対象である。

40

【0085】

適切な投与形式は、対象または開業医によって最もよく決定され得る。一実施態様においては、PYYまたはそのアゴニストを含む製薬組成物は、好ましくは、正確な投与量の個々の投与に適した単位投与量形態で処方されることになる。効果量のPYYまたはそのアゴニストが、単一の投与量において、または、複数の投与量において、例えば、毎日、治療の経過の間、投与され得る。一実施態様においては、PYYは、効果（例えば、食欲抑制、食物摂取の低減、またはカロリーの摂取の低減）が望まれるときは必ず、投与され

50

る。別の実施態様においては、PYYまたはその類似物質が、効果が望まれるときは必ず少し前に、例えば、限定される訳ではないが、効果が望まれるときの約10分間、約15分間、約30分間、約60分間、約90分間、または約120分間前に、投与される。別の実施態様においては、徐放性(time release)処方を用いられる。

【0086】

一実施態様では、治療効果量のPYYまたはそのアゴニストが、単一のパルス投与量として、ボーラス投与量として、または時間に亘って投与されるパルス投与量として、投与される。従って、パルス投与においては、PYYのボーラス投与が提供され、次に、所定の長さの時間、PYYは対象に投与されず、その後、第2のボーラス投与が続く。特定の非限定的な例では、PYYのパルス投与量は、1日間の経過の間、1週間の経過の間、または1月間の経過の間、投与される。

10

【0087】

治療効果量のPYYまたはそのアゴニストは、使用される分子、治療される対象、苦悩の度合いまたは種類、および投与の仕方に依存することになる。例えば、治療効果量のPYYまたはそのアゴニストは、約1 μ gから約5mg毎体重、または約5 μ gから約1mg毎kg体重などと、約0.01 μ g毎キログラム(kg)体重から約1g毎kg体重まで変わり得る。別の実施態様においては、PYYまたはそのアゴニストは、0.5から135ピコモル(pmol)毎kg体重、または約72pmol毎kg体重で対象に投与される。1つの特定の非限定的な例では、約2から約20nmol、または約10nmolが皮下注入として注入されるなどと、約5から約50nmolが、皮下注入として投与される。正確な投与量は、使用される特定の化合物(PYYポリペプチド、またはアゴニストなど)の効力、対象の年齢、体重、性別、および生理的状态に基づいて、当業者によって容易に決定される。アゴニストの投与量は、治療効果投与量のPYYまたはPYY₃₋₃₆のモル当量(molar equivalent)とすることができる。

20

【0088】

組成物または製薬組成物は、静脈内、腹腔内、皮下、舌下、経皮、筋肉内、経口、局所、経粘膜(transmucosal)を含むどのようなルートによっても、または、肺吸入によって、投与できる。開示において有用な組成物は、非経口(静脈内、筋肉内、および皮下を含む)、鼻腔、または経口投与に適した処方の形態において、都合よく提供できる。ここで使用する「非経口」という用語は、静脈内、筋肉内、腹腔内、胸骨内、皮下、および関節内の注入(injection)および点滴注入(infusion)を含む投与の方式のことを言う。PYY₃₋₃₆を含むPYY、PYYのアゴニスト、またはPYYのアнтаゴニストは、皮下で投与できる。当業技術内で、皮下注入が容易に自己投与できることは、よく知られている。

30

【0089】

いくつかの場合は、PYYまたはPYYアゴニストおよび別の食物摂取低減、細胞質グルコース低減、または細胞質脂質変更薬剤を、共に投与するために単一の組成物または溶液で提供するのが都合がよいことになる。他の場合は、上述したPYYまたはPYYアゴニストとは別個に付加的な薬剤をするのがより有利となり得る。

【0090】

適切な投与形式が、各患者に対して個別に開業医によって最もよく決定され得る。さまざまな製薬上許容可能な担体および処方が、標準処方論文、例えば、E. W. Martin による Remington's Pharmaceutical Sciences に記載されている。Wang, Y. J. and Hanson, M. A., Journal of Parenteral Science and Technology, Technical Report No. 10, Supp. 42:2S, 1988 も参照のこと。

40

【0091】

本開示の方法において有用なPYYおよびPYYアゴニストは、非経口組成物、例えば、注入または点滴注入用、として提供され得る。好ましくは、これらは、水性担体、例えば、約3.0から約8.0のpH、好ましくは約3.5から約7.4、3.5から6.0、または3.5から約5.0のpHの等張緩衝溶液中に懸濁(suspend)される。有用な緩衝液は、クエン酸ナトリウム - クエン酸、およびリン酸ナトリウム - リン酸、および酢酸

50

ナトリウム / 酢酸緩衝液が挙げられる。持続性(repository)または「デポー (depot)」緩慢放出製剤(slow release preparation)の形態は、治療効果量の製剤が、経皮注入または供給に続く何時間または何日間にも亘って血流内に供給されるように、使用され得る。

【 0 0 9 2 】

P Y Yおよびアゴニストは、両性なので、これらは、遊離(free)塩基として、酸付加(Addition)塩として、または金属塩として利用できる。当然のことながら、塩は、製薬上許容可能である必要があり、これらは、金属塩、特にアルカリおよびアルカリ土類金属塩、例えばカリウムまたはナトリウム塩を含むことになる。非常に多様な製薬上許容可能な酸付加塩が利用可能である。そのような生成物は、当業者によく知られている処置によって容易に調製される。

10

【 0 0 9 3 】

医師による使用では、組成物は、別の活性成分、例えば、食物摂取低減、細胞質グルコース低減、または細胞質脂質変更薬剤と共にまたはこれら別の活性成分なしで、所定量のP Y YまたはP Y Yアゴニストを含む投与量単位形態で提供できる。投与は、栄養分の有効性、食物摂取、体重、血液グルコース、または細胞質脂質低減の抑制が望まれるとき、例えば、体重関連障害の症状の最初の徴候のとき、あるいは、肥満、真性糖尿病、またはインスリン抵抗性症候群の診断後は必ず、開始され得る。

【 0 0 9 4 】

栄養分の有効性を低減するのに使用するための治療効果量のP Y YまたはP Y Yアゴニストは、食欲を所望のレベルに抑える量である。当業者によって理解されるように、効果量の治療薬剤は、特定の化合物の効力、患者の年齢および体重、患者の身体状態、血糖レベル、達成される体重レベル、および他の因子を含む多数の因子によって変わるものである。当業者によって理解されるように、同様に、効果量の治療薬剤は、特定の化合物の効力、患者の年齢および体重、患者の身体状態、血糖レベル、達成される体重レベル、および他の因子を含む多数の因子によって変わるものである。投与は、限定される訳ではないが、食欲不振症の症状の最初の徴候のとき、あるいは、A I D Sに起因する体重減少の開始のときなどといった、栄養分の有効性、食物摂取、体重、血液グルコース、または細胞質脂質低減の増加が望まれるときは必ず、開始され得る。

20

【 0 0 9 5 】

患者へのP Y YまたはP Y Yアゴニストの最適処方および方式は、特定の疾患または障害、所望の効果、および患者の種類などといった当業技術内で知られている因子に依存する。P Y YおよびP Y Yアゴニストは、一般に、ヒト対象を治療するのに使用されるものであるとはいえ、これらは、他の霊長類、ブタ、ウシ、および家禽などの飼育動物、ウマ、イヌ、およびネコなどのスポーツ動物およびペット、などの他の脊椎動物における類似または同一の疾患を治療するのに使用され得る。

30

【 0 0 9 6 】

製薬上の医薬として、本開示のP Y YおよびP Y Yアゴニストは、非経口、鼻腔内、経口、または、皮膚を通しての吸収によるなどといった適切な技術によって直接、投与され得る。各薬剤の投与の特定のルートは、例えば、動物の病歴(medical history)に依存することになる。

40

【 0 0 9 7 】

非経口投与では、一実施態様において、P Y YおよびP Y Yアゴニストは、一般に、それを、所望の程度の純度で単一投与量注入可能形態(溶液、懸濁液、または乳濁液)において、製薬上許容可能な担体、すなわち、使用される投与量および濃度において受容者(recipients)に非毒性でありかつ処方の他の成分と適合性(compatible)のある担体、と混合することにより処方できる。「製薬上許容可能な担体」とは、非毒性の固体、半固体、または液体の増量剤(filler)、希釈剤、カプセル化物質(encapsulating material)、または任意の種類の処方補助物のことを言う。例えば、処方は、好ましくは、P Y YおよびP Y Yアゴニストに有害であると知られている酸化剤および他の化合物を含まない。

【 0 0 9 8 】

50

一般に、処方は、P Y YまたはP Y Yアゴニストを、液体担体、または微細に分割された固体担体、または両方と、均一かつ均質(intimately)に接触させることにより調製される。次に、必要ならば、生成物は、所望の処方に形づくられる。好ましくは、担体は、非経口担体であり、より好ましくは、受容体の血液と等張な溶液である。そのような担体賦形剤(vehicles)の例としては、水、食塩水、リンゲル液(Ringer's solution)、およびデキストロース溶液が挙げられる。凝固(fixed)油およびオレイン酸エチルさらにはリポソームなどの非水系賦形剤も、ここでは有用である。

【 0 0 9 9 】

P P YおよびP Y Yアゴニストは、徐放性(sustained release)系によっても適切に投与される。徐放性P Y YおよびP Y Yアゴニストの適切な例としては、適切な高分子物質(例えば、フィルムまたはマイクロカプセルなどの成形物品(shaped articles)の形態の半透性高分子マトリックスなど)、適切な疎水性物質(例えば、許容可能な油内の乳濁液として)、または、イオン交換樹脂、およびそれほど可溶性でない(sparingly soluble)誘導体(例えば、それほど可溶性でない塩など)が挙げられる。徐放性P P YおよびP Y Yアゴニスト組成物は、経口、直腸、非経口、大槽内(intracistemally)、腔内、腹腔内、局所(topically)(粉末、軟膏、ゲル(gels)、点滴薬(drops)、または経皮貼付剤(patch)など)、口腔粘膜(bucally)、または口腔または鼻腔噴霧により、投与され得る。

【 0 1 0 0 】

徐放性マトリックスには、ポリラクチド(poly lactides)(U.S. Patent No. 3,773,919, EP 58,481)、L-グルタミン酸と γ -エチル-L-グルタマート(γ -ethyl-L-glutamate)の共重合体(Sidman et al., Biopolymers 22:547-556, 1983, ポリ(メタクリル酸2-ヒドロキシエチル)(poly(2-hydroxyethyl methacrylate))) ; (Langer et al., J. Biomed. Mater. Res.15:167-277, 1981; Langer, Chem. Tech. 12:98-105, 1982, エチレン ビニル アセタート(ethylene vinyl acetate) (Langer et al., Id.) または ポリ-D-(-)-3-ヒドロキシ酪酸(poly-D-(-)-3-hydroxybutyric acid) (EP 133,988)が挙げられる。

【 0 1 0 1 】

徐放性P P YおよびP Y Yアゴニストは、リポソーム(liposomally)でP P YおよびP Y Yアゴニスト(一般に、Langer, Science 249:1527-1533, 1990; Treat et al., in Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, pp. 317 327 and 353-365, 1989 を参照のこと)を含む。P P Yペプチドおよびペプチド類似物を含有するリポソームは、本質的に知られている方法: DE 3, 218, 121; Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82:3688-3692, 1985; Hwang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 77:4030-4034, 1980; EP 52, 322; EP 36, 676; EP 88, 046; EP 143, 949; EP 142, 641; 日本国特許出願第83 118008号; 米国特許第4, 485, 045号, 米国特許第4, 544, 545号; および EP 102, 324 によって調製される。通常、リポソームは、小さな(約200 - 800オングストローム)1枚膜型(unilamellar type)であり、そこでは、脂質含有量が、約30モルパーセントコレステロールより大きく、選択された割合が、最適性能のために調節される。

【 0 1 0 2 】

投与のための調合は、P Y YおよびP Y Yアゴニストの制御された放出を与えるように適切に処方され得る。例えば、製薬組成物は、生分解性高分子、多糖ゼリー化(polysaccharide jellifying)高分子、および生物粘着性(bioadhesive)高分子の少なくとも1つの高分子、両親媒性高分子、粒子の界面特性を修飾する薬剤、および薬理的に活性な物質から成る粒子の形態とすることができる。これらの組成物は、活性物質の制御された放出を可能とする特定の生体適合性特徴を示す。米国特許第5, 700, 486号参照のこと。

【 0 1 0 3 】

なおさらなる実施態様においては、P P YおよびP Y Yアゴニストは、ポンプを用いて(Langer, supra; Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201, 1987; Buchwald et al., Surgery 88:507, 1980; Saudek et al., N. Engl. J. Med. 321:574, 1989)、また

10

20

30

40

50

は連続皮下点滴注入により、例えばミニポンプを用いて、供給される。静脈内バッグ溶液も利用できる。適切な投与量を選択する際の鍵となる因子は、体重全体の減少によって、赤身質量(lean mass)に対する脂肪の割合の低減によって、または、開業医が適切と見なす、肥満の制御または防止、あるいは肥満関連状態の防止の測定のための基準によって、測定される達成された結果である。他の制御された放出システムは、Langer による総説(Science 249:1527-1533, 1990) で検討されている。

【0104】

開示の別の態様においては、PPYおよびPY YAゴニストは、例えば米国特許第6,436,091号;米国特許第5,939,380号;米国特許第5,993,414号に記載されている埋め込みポンプを用いて供給される。

10

【0105】

埋め込み可能薬物点滴注入装置は、患者に、薬物または任意の他の治療薬剤の長期間かつ一定の投入量または点滴注入を提供する。本質的に、このような装置は、能動または受動として分類され得る。

【0106】

能動薬物またはプログラム可能点滴注入装置は、薬物を患者の身体内へ供給するポンプまたは計量システムを特徴とする。現在利用可能なこのような能動薬物点滴注入装置の一例としては、Medtronic SynchroMed™プログラム可能ポンプがある。このようなポンプは、通常、薬物容器と、容器から薬物を汲み出すための蠕動ポンプと、汲み出された薬物を容器からポンプを介して患者の身体へ輸送するためのカテーテルポートとを含む。また、このような装置は、通常、ポンプに電力を供給するための電池、さらには、ポンプの流量を制御するための電子モジュールを含む。Medtronic SynchroMed™は、さらに、ポンプの遠隔プログラミングを可能にするアンテナを含む。これとは対照的に、受動薬物点滴注入装置は、ポンプを特徴としないが、むしろ、薬物を供給するために加圧された薬物容器に依拠する。従って、このような装置は、能動装置に比較して、より小型かつより安価となる傾向がある。このような装置の一例としては、Medtronic IsoMed™がある。この装置は、流量制御装置に亘って適用された加圧容器によって与えられる力を通して薬物を患者内へ供給する。

20

【0107】

埋め込みポンプは、患者の皮膚の下に完全に埋め込むことができ、それによって、経皮カテーテルの必要性を解消する。この埋め込みポンプは、一定の供給速度で、またはプログラムされた供給速度で、例えば、食事時間にまたは食事時間辺りにパルス投与量を与えるように、PY YAゴニストを患者に供給する。一定の速度またはプログラムされた速度のポンプは、位相変化または蠕動技術に基づく。一定の変化しない供給速度が必要なときは、一定速度ポンプが、長期間埋め込み薬物供給にはよく適している。点滴注入速度の変化が期待される場合は、プログラム可能ポンプが、一定速度ポンプシステムの代わりに使用され得る。浸透ポンプは、その点滴注入速度が非常に遅くなり得るので、他の一定速度またはプログラム可能ポンプよりかなり小さくなり得る。そのようなポンプの一例は、米国特許第5,728,396号に列挙されて記載されている。

30

【0108】

経口投与では、製薬組成物は、例えば、錠剤(tablets)またはカプセルの形態をとることができ、これらは、結合剤(binding agents)(例えば、前もってゼラチン化されたトウモロコシデンプン、ポリビニルピロリドン、またはヒドロキシプロピルメチルセルロース)、増量剤(例えば、ラクトース、微晶質セルロース、またはリン酸水素カルシウム)、滑沢剤(例えば、ステアリン酸マグネシウム、滑石、またはシリカ)、崩壊剤(例えば、ジャガイモデンプンまたはグリコール酸デンプンナトリウム(sodium starch glycolate))、または湿潤剤(例えば、硫酸ラウリルナトリウム(sodium lauryl sulphate))などの製薬上許容可能な賦形剤(excipients)を用いて、従来の手段により調製される。錠剤は、当業技術内でよく知られる方法により被覆される。経口投与のための調合物は、例えば、溶液、シロップ、または懸濁液の形態をとることができ、あるいは、使用する前に水ま

40

50

たは他の適切な賦形剤(vehicle)を用いる構成のための乾燥生成物として与えられる。このような液体調合物は、懸濁剤(suspending agents) (例えば、ソルビトールシロップ、セルロース誘導体、または水素添加可食性脂肪)、乳化剤(emulsifying agents) (例えば、レシチン、またはアラビアゴム(acacia))、非水系賦形剤(vehicles) (アーモンド油、油性エステル、エチルアルコール、または分別(fractionated)植物油)、防腐剤(preservatives) (例えば、p-ヒドロキシ安息香酸メチルまたはプロピル(methyl or propyl-p-hydroxybenzoates)、またはソルビン酸)などの製薬上許容可能な添加剤(additives)を用いて、従来の手段により調製される。調合物は、適切な緩衝塩、香味剤(flavoring agents)、着色剤、および甘味料を含むこともできる。

【0109】

10

吸入による投与では、本開示に従う使用のための化合物は、適切な推進剤(propellant)、例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素、または他の適切な気体など、を使用して、加圧パック(packs)または噴霧器からのエアロゾル噴霧提供の形態で都合よく供給される。加圧エアロゾルの場合は、投与量単位が、計量された量を供給するための弁を備えることによって、決定され得る。吸入器または注入器に使用するための例えばゼラチンなどのカプセルおよびカートリッジが、化合物とラクトースまたはデンプンなどの適切な粉末基剤(base)との粉末混合物を含むように処方され得る。

【0110】

また、化合物は、例えばカカオバターまたは他のグリセリドなどの従来の坐剤基剤(suppository bases)を含む坐剤または保持(retention)浣腸剤などの直腸組成物内に処方され得る。

20

【0111】

先に述べた処方に加えて、化合物は、デポー製剤として処方することもできる。このような長時間作用性の処方は、埋め込み(implantation) (例えば、皮下または筋肉内)によって、または、筋肉内注入によって、投与され得る。従って、例えば、化合物は、適切な高分子物質または疎水性物質 (例えば、許容可能な油の中の乳濁液として)、またはイオン交換樹脂と共に、または、それほど可溶性でない誘導体、例えば、それほど可溶性でない塩として、処方され得る。

【0112】

30

ここに説明されるような、PYYまたはそのアゴニストを活性成分として含む製薬組成物は、一般に、選択された特定の投与方式に依存して、適切な固体または液体担体と共に処方されるものである。この開示において有用な製薬上許容可能な担体および賦形剤は、従来のものである。例えば、非経口的処方は、通常、水、生理食塩水、平衡塩類溶液、水性デキストロース、グリセロールなどの製薬上および生理的に許容可能な流体賦形剤(vehicles)である注入可能な流体を含む。含ませることができる賦形剤は、例えば、ヒト血清アルブミンまたはプラズマ調合物などの他のタンパク質である。所望ならば、投与される製薬組成物は、湿潤剤または乳化剤、防腐剤、およびpH緩衝剤などの非毒性補助物質、例えば、酢酸ナトリウムまたはモノラウリン酸ソルビタン(sorbitan monolaurate)、を少量含み得る。また、他の医薬および製薬上の薬剤、例えば、他の食欲抑制剤、またはプロテアーゼ阻害物質を含み得る。このような投与量形態の実際の調合方法は、当業者には知られているか、または、明らかなものである。

40

【0113】

製薬組成物の投与量形態は、選択された投与方式により決定されることになる。例えば、注入可能な流体に加えて、吸入、坐薬、および経口処方が、利用され得る。製薬組成物は、従来の混合、顆粒化、糖菓剤化(confectioning)、溶解、または凍結乾燥プロセスから製造できる。

【0114】

経口処方は、液体 (例えば、シロップ、溶液、または懸濁液)、または固体 (例えば、粉末、丸薬(pills)、錠剤、またはカプセル) とすることができる。例えば、経口用途の

50

ための製薬組成物は、活性成分を1つまたは複数の担体と混合し、得られた混合物を随意に顆粒化し、所望ならば、混合物または顆粒を適切ならば付加的な賦形剤の添加とともに処理して、錠剤または糖衣錠コア(cores)を形成することにより、得ることができる。

【0115】

適切な担体は、糖、例えばラクトース、サッカロース、マンニトール、またはソルビトールなど、セルロース調合物、およびリン酸カルシウム、例えばリン酸三カルシウムまたはリン酸水素カルシウムなど、のうちの少なくとも1つなどの増量剤と、デンプン、例えばトウモロコシ(corn)、小麦(wheat)、米(rice)、またはジャガイモ(potato)デンプンなど、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム(sodium carboxymethylcellulose)、およびポリビニルピフオリドン(poly vinylpyrrolidone)、のうちの少なくとも1つの結合剤(binders)と、所望ならば、上述したデンプン、またカルボキシメチルデンプン、橋かけポリビニルピロリドン、アルギン酸、またはアルギン酸ナトリウムなどといったその塩などの崩壊剤と、のうちの少なくとも1つを含む。付加的な賦形剤は、流れ調製剤(conditioners)および滑沢剤、例えば、ケイ酸、滑石、ステアリン酸またはステアリン酸マグネシウムまたはステアリン酸カルシウムなどといったその塩、および、ポリエチレングリコールまたはその誘導体、の少なくとも1つなどを含む。

10

【0116】

非経口投与では、組成物は、水溶性形態、例えば水溶性塩の形態の活性成分の適切な水溶液を、または、粘性変更物質、例えばカルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトール、およびデキストランのうちの少なくとも1つ、さらに所望ならば安定剤、を含む水性注入懸濁液を、含む。活性成分は、随意の賦形剤と共に、凍結乾燥物(lyophilisate)の形態とすることもでき、非経口投与の前に適切な溶媒を添加することによって溶液にすることができる。例えば非経口投与に使用されるものなどといった溶液は、注入溶液としても使用できる。

20

【0117】

吸入では、PYYまたはそのアゴニストは、エーロゾルとして、または担体中の分散(dispersion)として、投与される。特定の非限定的な例では、PYYまたはそのアゴニストは、限定される訳ではないが計量投与量弁などの従来の弁から、アクチュエータとしても知られているエーロゾルアダプター(adapter)を通して、エーロゾルとして投与される。また、適切な流体担体は、限定される訳ではないが、空気、特にn-ブタン、プロパン、イソペンタンなどの炭化水素、または、限定される訳ではないがフルオロカーボンなどの推進剤、などの処方内に含まれることができる。随意に、安定剤も含まれること、および、深い肺供給のための多孔質粒子が含まれること、の少なくとも一方が行われる(例えば、米国特許第6,447,743号を参照のこと)。

30

【0118】

水性系に溶解性の乏しい化合物は、イオン性界面活性剤、コール酸塩(cholates)、ポリエチレングリコール(PEG)、エタノール、または吸入に使用されるとき望ましくない影響を有し得る他の試薬などの可溶化剤を使用することによる処方が必要である。さらに、下方肺領域(lower pulmonary region)の肺胞内への好結果の供給を必要とする処置は、クロロフルオロカーボンなどの特定の刺激物の使用を処方から除外する場合があります、最小数の必要投与量を含む必要がある。代替として、そのような制限を回避するために、リポソームまたは疎水性粒子が、使用され得る。一実施態様においては、徐放性のための吸入処方、大きさが約1-2.1 μm の、または大きさが1 μm より小さなエーロゾル小滴(droplet)粒子を使用することを含む。医療用の小さな粒子エーロゾルリポソームおよびリポソーム-薬物配合は、以前に記載されている(例えば、EP 87309854.5を参照のこと)。

40

【0119】

本発明によれば、治療効果量のPYY、またはそのアゴニストが、治療効果量のGLP-1またはそのアゴニストと共に投与される。

50

【 0 1 2 0 】

P Y Yまたはそのアゴニストと、G L P - 1またはそのアゴニストとは、同時に、または実質的に同時に、あるいは、どのような順序でも逐次に、投与され得る。P Y Yまたはそのアゴニストと、G L P - 1またはそのアゴニストとは、単一の製薬組成物で、または別々の組成物で投与でき、またそれらは、同じ経路によってあるいは異なる経路によって投与できる。

【 0 1 2 1 】

P Y Yと、G L P - 1またはそのアゴニストとが、単一の製薬組成物で投与されることになる場合は、この組成物は、P Y Yまたはそのアゴニストに対して上述した任意の組成物とすることができる。組成物は、P Y Yまたはそのアゴニストと、G L P - 1またはそのアゴニストとの同時のまたは実質的に同時の投与を可能とし得る。所望ならば、P Y Yまたはそのアゴニストと、G L P - 1またはそのアゴニストとは、組成物内において、例えば、タブレットの別々の層、または、カプセル内の別々の顆粒に区分することができる。所望ならば、そのような区分は、2つの組成物に異なる放出特性を与えて、P Y Yまたはアゴニスト成分と、G L P - 1またはそのアゴニストとの供給を異なる時間に、例えば逐次的に可能とするように、設計することができる。

10

【 0 1 2 2 】

代替として、P Y Yまたはそのアゴニストと、G L P - 1またはそのアゴニストとは、別々の製薬組成物、例えば、P Y Yまたはそのアゴニストに対して上述した任意の製薬組成物で処方できる。このような別々の組成物は、同時に、または実質的に同時に投与でき、あるいは、それらは、どのような順序でも逐次に投与できる。

20

【 0 1 2 3 】

別々に投与する場合は、逐次であろうと、同時（または実質的に同時）であろうと、P Y Yまたはそのアゴニストと、G L P - 1またはそのアゴニストとは、同じ経路によってあるいは異なる経路によって投与できる。全ての活性薬剤を単一の組成物で投与するのが、一般により都合がよい。しかしながら、いくつかの場合には、異なる経路で活性剤を投与するのが必要または適切になり得る。例えば、ペプチドは、特別な方法で修飾あるいは処方しない限り、一般に経口投与では安定でなく、従って、一般に非経口経路を介して投与する必要がある。いくつかのアゴニスト、例えば、G L P - 1アゴニストは、経口投与するときに安定な化学的化合物である。O X Mを非経口で、また他の成分を非経口経路によって投与するのが適切になり得る。

30

【 0 1 2 4 】

P Y Yまたはそのアゴニストと、G L P - 1またはそのアゴニストとが、ここに記載する処置に使用するための医薬の製造に使用されるとき、医薬は、上述した二つの成分を含む単一の製薬組成物とすることができ、あるいは、一つの成分がP Y Yまたはそのアゴニストを含む医薬組成物であり、他方の成分がG L P - 1またはそのアゴニストを含む医薬組成物である、二成分医薬とすることができるが、これについては上記を参照のこと。医薬は、上述したような、一成分医薬であろうと、二成分医薬であろうと、一般に、その使用に関連する使用説明書と共に梱包されることになる。そのような使用説明書は、1つまたは複数の組成物の投与の時間、投与量、および経路について言及するものである。

40

【 0 1 2 5 】

所望ならば、食物摂取と食欲の一方または両方に影響を及ぼすさらなる薬剤を投与することもできる。そのような薬剤としては、天然産の薬剤およびそのアゴニスト、例えば、アミリン(amylin)およびアミリンアゴニスト、レプチンおよびレプチンアゴニスト、およびオキシントモジュリンなどが挙げられる。

【 0 1 2 6 】

所望ならば、限定される訳ではないが、付加的な食欲抑制剤などの1つまたは複数の薬剤も投与できる。付加的な食欲抑制剤の特定の非限定的な例としては、アンフェプラモン（ジエチルプロピオン）、フェンテルミン、マジンドール、および、フェニルプロパノールアミン、フェンフルラミン、デキスフェンフルラミン、フルオキセチンが挙げられる。

50

【 0 1 2 7 】

P Y YまたはP Y Yアゴニスト、あるいは、G L P - 1またはG L P - 1アゴニスト、あるいはこれらの両方は、付加的な1つまたは複数の薬剤と同時に投与でき、あるいは、これらさまざまな物質は、どのような順序でも逐次に投与できる。従って、一実施態様においては、P Y Yまたはそのアゴニストと、G L P - 1またはそのアゴニストとは、付加的な薬剤、例えば、オキシントモジュリンまたはそのアゴニスト、または食欲抑制剤と共に単一の組成物として処方および投与される。

【 0 1 2 8 】

さらに、肥満を治療する方法が、ここに開示される。方法は、治療効果量のP Y YまたはP Y Yアゴニストと、G L P - 1またはそのアゴニストとを肥満対象に投与することを含む。P Y Yアゴニストは、食物摂取または胃内容排出(gastric emptying)の少なくとも一方においてN P Yより大きな効力を有し得る。P Y YまたはP Y Yアゴニストは、単一または分割された投与量などで、末梢的に投与できる。適切な単一または分割投与量は、限定される訳ではないが、 $1\mu\text{g}$ から約 5mg 、または、 $0.01\mu\text{g}/\text{kg}$ から約 $500\mu\text{g}/\text{kg}$ 毎投与量である。対象は、インスリン抵抗性またはグルコース不耐性、あるいは両方とすることができる。肥満であることに加えて、対象は、真性糖尿病を有し得る。

10

【 0 1 2 9 】

また、食物摂取を低減する方法が、ここに開示される。方法は、治療効果量のP Y YまたはP Y Yアゴニストと、G L P - 1またはそのアゴニストとを肥満対象に投与することを含む。P Y Yアゴニストは、食物摂取または胃内容排出の少なくとも一方においてN P Yより大きな効力を有し得る。P Y YまたはP Y Yアゴニストは、単一または分割された投与量などで、末梢的に投与できる。適切な単一または分割投与量は、限定される訳ではないが、 $1\mu\text{g}$ から約 5mg 、または、 $0.01\mu\text{g}/\text{kg}$ から約 $500\mu\text{g}/\text{kg}$ 毎投与量である。対象は、I I型糖尿病および太りすぎの少なくとも一方を有し得る。

20

【 0 1 3 0 】

対象内の脂質プロファイルを改善する方法が、ここに開示される。方法は、効果量のP Y YまたはP Y Yアゴニストと、G L P - 1またはそのアゴニストとを対象に投与することを含む。脂質プロファイルの改善は、限定される訳ではないが、コレステロールレベルを低減すること、トリグリセリドレベルを低減すること、およびH D Lコレステロールレベルを増加させることのうちの少なくとも1つの方法を含む。P Y YまたはP Y Yアゴニストは、単一または分割された投与量などで、末梢的に投与できる。P Y YまたはP Y Yアゴニストは、単一または分割された投与量などで、末梢的に投与できる。適切な単一または分割投与量は、限定される訳ではないが、 $1\mu\text{g}$ から約 5mg 、または、 $0.01\mu\text{g}/\text{kg}$ から約 $500\mu\text{g}/\text{kg}$ 毎投与量である。P Y Yアゴニストは、食物摂取または胃内容排出の少なくとも一方においてN P Yより大きな効力を有し得る。

30

【 0 1 3 1 】

別の実施態様においては、栄養分の有効性を低減することにより軽減できる状態または障害を軽減する方法が、ここに開示される。方法は、治療効果量のP Y YまたはP Y Yアゴニストと、G L P - 1またはそのアゴニストとを対象に投与することを含む。適切な障害は、上述した障害のいずれでも含む。

40

【 0 1 3 2 】

P Y YまたはP Y Yアゴニストと、G L P - 1またはG L P - 1アゴニストとは、単一または分割された投与量などで、末梢的に投与できる。適切な単一または分割投与量は、限定される訳ではないが、 $1\mu\text{g}$ から約 5mg 、または、 $0.01\mu\text{g}/\text{kg}$ から約 $500\mu\text{g}/\text{kg}$ のP Y YまたはP Y Yアゴニスト毎投与量である。P Y Yアゴニストは、食物摂取または胃内容排出の少なくとも一方においてN P Yより大きな効力を有し得る。また、適切な投与量は、限定される訳ではないが、P Y Y（またはアゴニスト）の模擬朝食後(postprandial)血清濃度をする投与量など、P Y Yおよびそのアゴニストの少なくとも一方の濃度をP Y Yの基底(basal)濃度より実質的に上に上昇させるような投与量を

50

含む。従って、一実施態様においては、PYYまたはそのアゴニストは、カロリー摂取、食物摂取、または食欲の低減に相当する、カロリー摂取、食物摂取、または食欲における低減に影響を及ぼすレベルを達成するように、または、PYY₃₋₃₆の摂食後レベルにより生じるエネルギー消費を増加させるように、投与される。投与量の特定の非限定的な例としては、限定される訳ではないが、PYYの血清レベルが約40 pM / リットルから約60 pM / リットル、例えば、約40 pM / リットルから約50 pM / リットル、または約40 pM / リットルから約45 pM / リットル、または約43 pM / リットルのときに示される効果を生じるような投与量が挙げられる。

【0133】

ここに開示される全ての方法では、PYYまたはPYY₃₋₃₆の投与量は、摂食後に観察される生理的レベルに基づくことができる。PYY₃₋₃₆の正常循環レベルは、約8 pmol / リットルであり、一般に食事後、約40から60 pmol / リットルに上昇する。PYYのアゴニストは、類似の投与量で使用できる。単一投与量が、毎日投与でき、あるいは、分割投与量が、使用できる（上記を参照のこと）。

【0134】

上に示したように、PYY₃₋₃₆は、長時間の持続した作用を有し、それが循環血液から取り除かれた後でさえも、例えば、12時間まで、あるいは24時間までも、作用し続ける。従って、PYYまたはそのアゴニストは、毎日、2回だけの投与量で、あるいはたった1回の投与量ででも、投与できる。所望ならば、より多数回の投与量、例えば、毎日、3回または4回で投与できる。例えば、PYYまたはそのアゴニストを食事前に、例えば食事の約半時間前に投与するのが望ましくなり得る。各食事前にPYYまたはそのアゴニストを投与するのが望ましくなり得る。代替として、できるだけ少ない回数の投与量を投与するのが望ましくなり得るが、そのような場合は、投与処方(regime)すなわち毎日1回または2回が使用され得る。

【0135】

GLP-1またはアゴニストは、PYYまたはPYYアゴニストと同時に、または実質的に同時に、あるいは逐次に、のいずれであろうと、PYYまたはそのアゴニストと同じ投与処方に従って投与できる。代替として、GLP-1は、異なる投与処方、例えば、PYYよりは多数回のGLP-1の投与量で投与でき、例えば、PYYまたはPYYアゴニスト、毎日1回または2回で投与でき、GLP-1またはそのアゴニストは、毎日3回または4回で投与できる。例えば、PYYまたはPYYアゴニストは、朝と晩に、例えば、朝食前と夕食前に投与でき、GLP-1そのアゴニストは、昼食前にも投与できる。

【0136】

一実施態様においては、末梢的に投与するときは、PYY₃₋₃₆を含むPYYは、生理的レベルでその影響を及ぼす。そのようなレベルでPYY₃₋₃₆が使用されるときは、副作用は観察されない。理論によって拘束されずに、PYYは₃₋₃₆、副作用を生じ得るであろう、脳全体に亘るY₂受容体に影響を及ぼさない。制限されずに、PYY₃₋₃₆のさらなる利点、PYY₃₋₃₆が血圧を上昇させないことであることは、留意すべきである。PYY₃₋₃₆の効果は、24時間も長く継続する。受容者は、この期間に亘って食欲の低下を主張し、約3分の1の食物摂取の低下が報告されている。

【0137】

1つの特定の非限定的な例では、PYY₃₋₃₆は、約1 nmolまたはそれを上回り、2 nmolまたはそれを上回り、あるいは5 nmolまたはそれを上回る投与量で投与される。この例では、PYY₃₋₃₆の投与量は、一般に、100 nmolを超えず、例えば、投与量は、90 nmolまたはそれを下回り、80 nmolまたはそれを下回り、70 nmolまたはそれを下回り、60 nmolまたはそれを下回り、50 nmolまたはそれを下回り、40 nmolまたはそれを下回り、30 nmolまたはそれを下回り、20 nmolまたはそれを下回り、10 nmolである。例えば、投与量範囲は、任意の特定の上方投与量限界との任意の特定の下方投与量限界の任意の組み合わせを含み得る。従って、PYY₃₋₃₆の投与量を含む例示的な非限定的な投与量範囲は、1から100 nmol、1か

10

20

30

40

50

ら 90 nmol 、 1 から 80 nmol の範囲内となり得る。例示的な非限定的な投与量範囲は、 2 から 100 nmol 、 2 から 90 nmol 、例えば、 2 から 80 nmol など、 5 nmol から 100 nmol 、 5 nmol から 90 nmol 、 5 nmol から 80 nmol などを含む。一例として、約 5 から約 50 nmol の投与量、例えば、限定される訳ではないが、約 2 から約 20 nmol 、例えば 10 nmol などが、投与できる。選択された投与量は、例えば、注入により、例えば、皮下注入として、投与できる。PYYアゴニストは、同じ投与量で投与できる。

【0138】

さらなる非限定的な例においては、PYY₃₋₃₆は、対象の体重 1 kg 当たり 0.1 nmol 以上の投与量、例えば、体重 1 kg 当たり、 0.2 nmol 以上、例えば 0.4 nmol 以上、例えば 0.6 nmol 以上、例えば 0.8 nmol 以上、例えば 1.0 nmol 以上、例えば 1.2 nmol 以上、例えば 1.4 nmol 以上、例えば 1.6 nmol 以上、例えば 1.8 nmol 以上、例えば 2.0 nmol 以上、例えば 2.2 nmol 以上、例えば 2.4 nmol 以上、例えば 2.6 nmol 以上、例えば 2.8 nmol 、例えば 3.0 nmol 以上、例えば 3.2 nmol 以下の量で、末梢的に投与できる。PYY₃₋₃₆またはPYYアゴニストおよびは、体重 1 kg 当たり 3.0 以下の量、例えば、体重 1 kg 当たり、 2.8 nmol 以下、例えば 2.6 nmol 以下、例えば 2.4 nmol 以下、例えば 2.2 nmol 以下、例えば 2.0 nmol 以下、例えば 1.8 nmol 以下、例えば 1.4 nmol 以下、例えば 1.2 nmol 以下、例えば 1.0 nmol 以下、例えば 0.8 nmol 以下、例えば 0.6 nmol 以下、例えば 0.4 nmol 以下、例えば 0.2 nmol 以下の量で、末梢的に投与できる。

【0139】

皮下投与では、 10 nmol 以上、例えば 20 nmol 以上、例えば 30 nmol 以上、例えば 40 nmol 以上のPYY例えばPYY₃₋₃₆またはPYYアゴニストの投与量が、使用され得る。約 70 nmol 以下、例えば約 60 nmol 以下の量を使用するのが一般に好ましい。約 40 nmol の投与量が使用され得る。一実施態様においては、 0.143 nmol (1 モルの 7 分の 1) でPYYまたはPYY₃₋₃₆の投与量が、PYYの摂食後レベルに類似する投与量を達成するのに、 1 キログラム当たりで投与される。

【0140】

PYYそれ自体またはそのアゴニストが使用される場合は、投与量は、好ましくは、上述したように、PYY₃₋₃₆の投与量のモル当量(molar equivalent)であり、あるいは、PYY₃₋₃₆の投与量と同じ効果を達成する。投与量は、体重が 70 から 75 kg である対象などといった対象を基準に計算できる。正確な投与量は、使用される特定の化合物(PYYポリペプチド、またはアゴニストなど)の効力、対象の年齢、体重、性別、および生理的状态に基づいて当業者によって容易に決定される。

【0141】

PYY₃₋₃₆に関連して上に与えた教示は、PYYそれ自体およびPYYアゴニストにも当てはまる。例えば、投与の経路および投与処方に関連する教示。

【0142】

GLP-1またはそのアゴニストは、治療効果投与量で投与する必要があり、以下のGLP-1およびそのアゴニストの部分を参照のこと。GLP-1またはそのアゴニストは、PYYまたはPYYアゴニストに対して上述した範囲内の量または投与量で使用できる。さまざまな薬剤の投与量は、互いに独立し得るものであり、例えば、等モル投与量を使用でき、例えば、GLP-1またはそのアゴニストと、PYYまたはそのアゴニストとの等モル投与量を使用できる。

【0143】

ここに開示されるように、天然に生じるペプチドすなわちPYYまたはPYY₃₋₃₆は、生理的効果を達成するのに使用される。これは、結果として最小の副作用を生じ、必要ならば、長期間の使用が可能となる。PYYまたはPYY₃₋₃₆の投与量は、摂食後に観察される生理的レベルに基づくことができる。PYY₃₋₃₆の正常循環レベルは、約 8 pmol

／リットルであり、一般に食事後、約40から60 pmol／リットルに上昇する。PYY（例えば、PYY₃₋₃₆）およびアゴニストは、類似の投与量で利用できる。

【0144】

投与処方に関連して上に説明した考慮は、皮下経路を用いる投与にも関係する。

【0145】

上述したように、PYYまたはそのアゴニストと、GLP-1またはそのアゴニストとのさまざまな使用は、そのような処置を必要とする哺乳類対象を処置する方法に置かれ得るもの、あるいは、そのような処置のための医薬の製造に置かれ得るものである。PYY（例えば、PYY₃₋₃₆）またはそのアゴニストと、GLP-1またはそのアゴニストとは、上述した目的を達成するのに効果的な量で投与する必要がある。上述した処置のいくつかは、医療処置、例えば肥満の治療である。しかしながら、別のいくつかは、医療処置に関連せず、健康な生活様式の維持の一部であり、または、美容目的のためである。

10

【0146】

OXMおよびGLP-1またはそのアゴニストと、PYYまたはそのアゴニストとの任意の組み合わせの使用は、例えば上述したように、その単独での使用に比較して、これらの任意の薬剤の効果を高めるように機能し得る。代替としてまたは追加して、2つまたは3つの薬剤を組み合わせる使用することによって、薬剤を単独に使用したときのどのような「逸散(escape)」の傾向も低減される。「逸散」という用語は、時間の経過による薬剤の効果の低減を表すのに使用される。例えば、上述した薬剤のいずれか1つを単独で使用した場合は、その効果は、時間と共に低減し得る。それに加えて他の薬剤の一方または両方を使用することによって、このような効果の低減の傾向が、低減または防止され得る。例えば、PYYは、持続効果を有し、長期間使用できる。PYYの効果が、万一低減すると思われる場合、あるいはそのようななどのような効果の低減も低減または防止するために、PYYに加えてOXMを投与できる。GLP-1も、OXMと共に、またはOXMおよびPYYと共に、同じ目的で使用できる。

20

【0147】

別の態様では、本発明は、活性成分としてPYYまたはPYYアゴニストと、皮下投与に適した形態で、例えば注入可能な溶液として製薬上適した担体とを含む製薬組成物を提供する。そのような組成物は、10 nmol以上のPYY例えばPYY₃₋₃₆またはPYYアゴニストの量を含むことができ、例えば20 nmol以上、例えば30 nmol以上、例えば40 nmol以上の量が使用できる。約70 nmol以下、例えば約60 nmol以下の量を使用するのが一般に好ましい。約40 nmolが与えられ得る。皮下投与に適した処方、よく知られており、上述されている。また、1つまたは複数のさらなる活性成分、特にGLP-1またはそのアゴニストが、組成物中に存在でき、上述した量または投与量で利用できる。さらなる活性成分、例えば上述したように、例えばオキシントモジュリンまたはそのアゴニスト、あるいは上述した食欲抑制剤が存在できる。

30

【0148】

本発明のさらなる態様は、対象におけるカロリー摂取を低下させる方法、対象における食欲を低下させる方法、対象における食物摂取を低下させる用法、対象における体重の制御または処置のための方法、および、肥満の低減または防止のための方法、特に以下の、体重増加を防止および低減すること、体重減少を誘発および促進すること、および体格指数により測定される肥満を低減すること、のいずれか1つまたは複数を含む方法、を含む、上に開示された方法に関する。方法は、食欲、飽満、および空腹のいずれか1つまたは複数の制御、特に以下の、食欲を低減、抑制、および阻害すること、飽満および飽満の感覚を誘発、増加、増強、および促進すること、および、空腹および空腹の感覚を低減、阻害、および抑制すること、のいずれか1つまたは複数を含む。さらに、方法は、所望の体重、所望の体格指数、所望の容姿、および良好な健康のいずれか1つまたは複数を含む。本発明のこの態様の方法においては、PYY例えばPYY₃₋₃₆またはPYYアゴニストが、対象に皮下投与される。

40

【0149】

50

好ましくは、PYYまたはPYYアゴニストは、10 nmol以上の投与量で投与され、例えば20 nmol以上、例えば30 nmol以上、例えば、40 nmol以上の量で使用できる。約70 nmol以下、例えば約60 nmol以下の量を使用するのが一般に好ましい。約40 nmolの投与量を使用される。上に示したように、PYY₃₋₃₆は、長時間の持続した作用を有し、それが循環血液から取り除かれた後でさえも、例えば、12時間まで、あるいは24時間までも、作用し続ける。従って、PYYまたはそのアゴニストは、毎日、2回だけの投与量で、あるいはたった1回の投与量でも、投与できる。所望ならば、より多数回の投与量、例えば、毎日、3回または4回で投与できる。例えば、PYYまたはそのアゴニストを食事前に、例えば食事の約半時間前に投与するのが望ましくなり得る。各食事前にPYYまたはそのアゴニストを投与するのが望ましくなり得る。代替として、できるだけ少ない回数の投与量を投与するのが望ましくなり得るが、そのような場合は、投与処方(regime)すなわち毎日1回または2回が使用され得る。

10

【0150】

本発明のこの態様では、PYYまたはそのアゴニストを、単独で投与でき、あるいは、PYYまたはそのアゴニストと、GLP-1またはそのアゴニストとを、投与できる。GLP-1またはそのアゴニストが、PYYまたはPYYアゴニストに加えて使用される場合は、GLP-1またはそのアゴニストは、PYYまたはそのアゴニストと同時に、または実質的に同時に、あるいは、いずれかの順序で逐次に、投与され得る。PYYまたはそのアゴニストと、GLP-1またはそのアゴニストとは、単一の製薬組成物で、または別々の組成物で投与でき、またそれらは、同じ経路によってあるいは異なる経路によって投与できる。さらなる活性成分も、例えば、皮下PYY製薬組成物に対して上述したように投与できる。

20

【0151】

本発明は、上述した処置の任意の方法のための皮下投与のための医薬の製造に使用するPYYまたはそのアゴニストを含む。

【0152】

PYYアゴニスト：

本開示の方法における使用のPYYアゴニストは、特異的にPYYに結合する受容体に結合し、PYYの効果を誘発する分子である。PYY受容体に結合し、PYY受容体と共に細胞内での応答を誘発するための効力検定は、当業技術内で知られている。また、PYYアゴニストを検出するための特定の効力検定は、ここに開示されている。従って、一実施態様においては、PYYアゴニストは、弓状核内のNPYニューロンに結合し、その結果、NPYニューロンに対する電気生理学的影響が生じる。ここに開示されるように、NPYニューロンは、POMCニューロンとシナプスを形成する。従って、NPYニューロンに対する電気生理学的影響は、POMCニューロンに対するさらなる電気生理学的影響となり得る。1つの特定の非限定的な例では、PYYアゴニストの投与は、POMCニューロンの膜電位の過分極となる。別の特定の非限定的な例では、PYYアゴニストの投与は、POMCニューロン内のIPSCの増加となる。

30

【0153】

別の実施態様においては、PYYアゴニストは、NPYを含まない。適切なPYYアゴニストは、NPYニューロンに結合するが、血液/脳関門を横断しない分子である。PYYがその影響を及ぼす弓状核ニューロンは、血液/脳関門によって保護されていず、それによって、末梢的に利用可能な分子に容易にアクセスできる。さらに、Y2受容体を発現する他の脳部位は、血液/脳関門によって保護されている。理論によって拘束されずに、弓状Y2Rに結合できるが、末梢的な投与の後で血液/脳関門を横断しない薬剤は、有用になりそうである。

40

【0154】

一実施態様においては、PYYアゴニストは、食物摂取、カロリーの摂取、または食欲に影響を及ぼすこと、および、Y受容体効力検定において特異的に結合するかあるいは標識化PYYとの競合結合効力検定などにおいてPYYと結合しようと競合すること、の少

50

なくとも一方を行う化合物である。PYYアゴニストは、限定される訳ではないが、Y2受容体に結合する化合物を含む。

【0155】

ここに開示される方法において有用なPYYおよびアゴニストは、限定される訳ではないが、PPYおよびそのアゴニスト、例えば、その突然変異体、断片、および変異物(variants)の少なくとも1つに対するアミノ酸配列を含むかあるいは代替として構成される、ポリペプチドを含む。変異物は、欠失、挿入、逆位、反復、および置換(例えば、保存的置換、および非保存的置換;例えば、表1および表2、以下、を参照のこと)を含む。1つを超えるアミノ酸(例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10など)が、欠失、または挿入、または別のアミノ酸と置換される。通常の保存的置換は、脂肪族アミノ酸、Ala, Val, Leu、およびIleの中での1つのものと別のものの置換;ヒドロキシ残基を含むSerとThrの交換、酸性残基AspとGluの交換、アミド残基AsnとGlnの間の交換、塩基性残基LysとArgの交換、芳香族残基PheとTyrの交換、および小さな大きさのアミノ酸Ala, Ser, Thr, Met、およびGlyの交換である。どのように表現型的沈黙アミノ酸置換を行うかの案内は、Bowie et al., Science 247:1306-1310, 1990 に提供されている。

【0156】

別の例として、ポリペプチド断片は、アミノ(N)末端、またはカルボキシル(C)末端、または両方(例えば、表1および表2、以下、を参照のこと)からの連続した一連の欠失された残基を含み得る。1から24の範囲の任意の数のアミノ酸が、N末端、C末端、または両方から欠失され得る。

【0157】

さらに、アゴニストポリペプチドは、限定される訳ではないが、PPYおよびそのアゴニストの少なくとも一方に対するアミノ酸配列の内部欠失を含むかあるいは代替として構成される、ポリペプチドも含み得る(例えば、表2、以下、を参照のこと)。このような欠失は、1つまたはそれを超えるアミノ酸残基欠失(例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10など)を含み得るし、任意のアミノ酸位置(例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10など)において開始され得る。また、この開示のポリペプチドは、1つまたはそれを超えるそのような内部欠失を含み得る。そのような欠失は、PPY、NPY、およびPP内で考えられる。

【0158】

また、Y2受容体に対して高い親和性および選択性の少なくとも一方を有するPPY、NPY、およびPPのキメラの少なくとも1つであるアゴニストペプチドが考えられる。これらのキメラは、PPY、NPY、およびPPの少なくとも1つの変異物、突然変異体、およびその欠失の少なくとも1つからの1つまたはそれを超えるアミノ酸(例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10など)の、第2のPPY、NPY、またはPPの変異物、突然変異体、およびその欠失の少なくとも1つからの1つまたはそれを超えるアミノ酸(例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10など)との、アミノ酸置換を含み得る。これらの置換は、任意のアミノ酸位置(例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10など)において開始され得る。

【0159】

好ましくは、ペプチドは、Y2受容体に対して選択的である。すなわち、それは、Y1、Y2、Y3、Y4、Y5、およびY6などの他の受容体に比較して、より高い親和性でY2に結合する。別の実施態様においては、ペプチドは、Y1、Y3、Y4、およびY6受容体よりも、Y2およびY5受容体に対して選択的である。

【0160】

他のポリペプチド断片は、この開示のポリペプチドの構造上および機能上のドメインを含む断片である。そのような断片は、ポリプロリンII型ヘリックス(polyproline-type II helix)(残基1-8)、ターン(残基9-14)、両親媒性ヘリックス(残基14-35)、およびC末端ターン(turn)構造(残基33-36)の少なくとも1つを含むアミノ酸残基を含む。Kirby et al., J Med Chem 36:385-393, 1993 を参照のこと。

【 0 1 6 1 】

さらに、この開示は、P P Y、N P Y、およびP Pの種の変異物（表 1、以下、を参照のこと）および突然変異体の少なくとも一方、およびその断片に対するアミノ酸配列を含むかあるいは代替として構成される、ポリペプチドまたはアゴニストの使用を含む。

【 0 1 6 2 】

P Y YまたはP Y Yアゴニストが、当業技術内で知られる組換え方法を用いて、別のタンパク質またはポリペプチド（融合相手(partner)）に融合されることになる、融合タンパク質も考えられる。代替として、そのような融合タンパク質は、どのような既知の方法によっても人工的に合成できる。任意の既知のペプチドまたはタンパク質が、融合相手（例えば、血清アルブミン、カルボニックアンヒドラーゼ、グルタチオン - S - 転移酵素、またはチオレドキシンなど）として使用できる。好ましい融合相手は、生体内での有害な生物学的活性を有さないものである。そのような融合タンパク質は、融合相手のカルボキシ末端をP Y Yまたはアゴニストペプチドのアミノ末端に結合するように、またはその逆になるように、設計できる。随意に、開裂可能リンカー領域が、P Y YまたはP Y Yアゴニストを融合相手に結合するように使用でき、さらに、生体内で、開裂でき、それによって、P Y YまたはP Y Yアゴニストの活性形態が放出されることになる。そのような開裂領域は、限定される訳ではないが、リンカー領域、D-D-D-D-Y (SEQ ID NO: 330)、G-P-R (SEQ ID NO: 331)、A-G-G (SEQ ID NO: 332)、およびH-P-F-H-L (SEQ ID NO 333) が挙げられ、これらは、エンテロキナーゼ、トロンビン、ユビキチン開裂酵素、およびレニンによって丁重に開裂され得る。例えば、米国特許第 6 , 4 1 0 , 7 0 7 号を参照のこと。

【 0 1 6 3 】

有用なP Y Yアゴニストとして、米国特許第 5 , 0 2 6 , 6 8 5 号、米国特許第 5 , 5 7 4 , 0 1 0 号、米国特許第 5 , 6 0 4 , 2 0 3 号、米国特許第 5 , 6 9 6 , 0 9 3 号、米国特許第 6 , 0 4 6 , 1 6 7 号に開示されるような、Y 2 特異的N P Yペプチドアゴニストも考えられる。以下を参照のこと。

【 0 1 6 4 】

好ましいP P Yアゴニストは、ここに以下のように記載される。

【 0 1 6 5 】

表 1 - P Y Y : 種の中の変形物。

【 0 1 6 6 】

ペプチド Y Y、	A A 配列、	
ヒト(Human)	YPIKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNLVTRQRY	(SEQ ID NO: 1)
ラット(Rat)	YPAKPEAPGEDASPEELSRYYASLRHYLNLVTRQRY	(SEQ ID NO: 5)
ブタ(Pig)	YPAKPEAPGEDASPEELSRYYASLRHYLNLVTRQRY	(SEQ ID NO: 6)
モルモット(Guinea pig)	YPSKPEAPGSDASPEELARYASLRHYLNLVTRQRY	(SEQ ID NO: 7)
カエル(Frog)	YPPKPENPGEDASPEEMTKYLTALRHYINLVTRQRY	(SEQ ID NO: 8)
ラージャ(Raja)	YPPKPENPGDDAAPEELAKYYASLRHYINLITRQRY	(SEQ ID NO: 9)
サメ(Dogfish)	YPPKPENPGEDAPPEELAKYYASLRHYINLITRQRY	(SEQ ID NO: 10)
ヤツメウナギ(Lampetra)	FPPKPDNPGDNASPEQMARYKAAVRHYINLITRQRY	(SEQ ID NO: 11)
ヤツメウナギ(Petromyzon)	MPPKPDNPSDASPEELSKYMLAVRNYINLITRQRY	(SEQ ID NO: 12)

【 0 1 6 7 】

神経ペプチド Y、	A A 配列、	
ヒト(Human)	YPSKPDNPGEDAPAEDMARYSALRHYINLITRQRY	(SEQ ID NO: 2)
ラット(Rat)	YPSKPDNPGEDAPAEDMARYSALRHYINLITRQRY	(SEQ ID NO: 13)
ウサギ(Rabbit)	YPSKPDNPGEDAPAEDMARYSALRHYINLITRQRY	(SEQ ID NO: 14)
イヌ(Dog)	YPSKPDNPGEDAPAEDMARYSALRHYINLITRQRY	(SEQ ID NO: 15)
ブタ(Pig)	YPSKPDNPGEDAPAEDLARYSALRHYINLITRQRY	(SEQ ID NO: 16)
雌ウシ(Cow)	YPSKPDNPGEDAPAEDLARYSALRHYINLITRQRY	(SEQ ID NO: 17)
ヒツジ(Sheep)	YPSKPDNPGDDAPAEDLARYSALRHYINLITRQRY	(SEQ ID NO: 18)

モルモット (Guinea pig)	YPSKPDNPGEDAPAEDMARYYSALRHYINLITRQRY	(SEQ ID NO: 19)
トリ (Avian)	YPSKPDSPGEDAPAEDMARYYSALRHYINLITRQRY	(SEQ ID NO: 20)
アカガエル (Rana)	YPSKPDNPGEDAPAEDMAKYYSALRHYINLITRQRY	(SEQ ID NO: 21)
キンギョ (Goldfish)	YPTKPDNPGEGAPAEELAKYYSALRHYINLITRQRY	(SEQ ID NO: 22)
サメ (Dogfish)	YPSKPDNPGEGAPAEEDLAKYYSALRHYINLITRQRY	(SEQ ID NO: 23)
ヤツメウナギ (Lampetra)	PPNKPDSPGEDAPAEDLARYLSAVRHYINLITRQRY	(SEQ ID NO: 24)

。

【 0 1 6 8 】

膵臓ポリペプチド、

A A 配列、

ヒト (Human)	ASLEPEYPGDNATPEQMAQYAAELRRYINMLTRPRY	(SEQ ID NO: 3)	10
ヒツジ (Sheep)	APLEPVYPGDNATPEQMAQYAADLRRYINMLTRPRY	(SEQ ID NO: 25)	
ブタ (Pig)	APLEPVYPGDDATPEQMAQYAAELRRYINMLTRPRY	(SEQ ID NO: 26)	
イヌ (Dog)	APLEPVYPGDDATPEQMAQYAAELRRYINMLTRPRY	(SEQ ID NO: 27)	
ネコ (Cat)	APLEPVYPGDNATPEQMAQYAAELRRYINMLTRPRY	(SEQ ID NO: 28)	
雌ウシ (Cow)	APLEPEYPGDNATPEQMAQYAAELRRYINMLTRPRY	(SEQ ID NO: 29)	
ラット (Rat)	APLEPMYPGDYATHEQRAQYETQLRRYINTLTRPRY	(SEQ ID NO: 30)	
マウス (Mouse)	APLEPMYPGDYATPEQMAQYETQLRRYINTLTRPRY	(SEQ ID NO: 31)	
モルモット (Guinea pig)	APLEPVYPGDNATPEQMAQYAAEMRRYINMLTRPRY	(SEQ ID NO: 32)	
ニワトリ (Chicken)	GPSQPTYPGDDAPVEDLIRFYNDLQQYLNVTTRHRY	(SEQ ID NO: 33)	
アリゲーター (Alligator)	TPLQPKYPGDGAPVEDLIQFYNDLQQYLNVTTRPRF	(SEQ ID NO: 34)	20
ウシガエル (Bullfrog)	APSEPHHPGDQATPDQLAQYYSPLYQYITFITRPRF	(SEQ ID NO: 35)	

Ref: Beck-Sickinger, A.G., Jung, G., Biopolymers 37:123-142, 1995.

【 0 1 6 9 】

表 2 - P Y Y のペプチドアゴニスト。

【 0 1 7 0 】

ペプチド、 配列、

PPY(3-36) (ヒト (human))

IKPEAPGEDASPEELNRYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 334)

Ref: Eberlein et al., Peptides 10:797-803, 1989; Grandt et al., Peptides 15(5): 815-20, 1994.

30

【 0 1 7 1 】

PPY(3-36)の変形物

PYYのN末端欠失は、限定される訳でないが以下のものを含む: PYY(26-36), PYY(25-36), PYY(24-36), PYY(23-36), PYY(22-36), PYY(21-36), PYY(20-36), PYY(19-36), PYY(18-36), PYY(17-36), PYY(16-36), PYY(15-36), PYY(14-36), PYY(13-36), PYY(12-36), PYY(11-36), PYY(10-36), PYY(9-36), PYY(8-36), PYY(7-36), PYY(6-36), PYY(5-36), PYY(4-36), PYY(3-36).

Ref: See, e.g., Balasubramaniam et al., Pept Res 1(1):32-5, Sep-Oct 1998; Liu et al., J Gastrointest Surg 5(2):147-52, Mar-Apr 2001.

【 0 1 7 2 】

ペプチド、 配列、

NPY (ヒト (human))

YPSKPDNPGEDAPAEDMARYYSALRHYINLITRQRY (SEQ ID NO: 2)

Ref: Tatemoto et al., Proc Natl Acad Sci U.S.A. 79:5485-9, 1982.

【 0 1 7 3 】

NPYの変形物

NPYのN末端欠失は、限定される訳でないが以下のものを含む: NPY(26-36), NPY(25-36), NPY(24-36), NPY(23-36), NPY(22-36), NPY(21-36), NPY(20-36), NPY(19-36), NPY(18-36), NPY(17-36), NPY(16-36), NPY(15-36), NPY(14-36), NPY(13-36), NPY(12-36), NPY(11-36), NPY(10-36), NPY(9-36), NPY(8-36), NPY(7-36), NPY(6-36), NPY(5-36), NP

50

Y(4-36), NPY(3-36).

Ref: See e.g., Gehlert et al., Proc Soc Exp Biol Med 218:7-22, 1998; Sheikh et al., Am J Physiol 261:G701-15, Nov. 1991.

【 0 1 7 4 】

内部欠失は、限定される訳でないが以下のものを含む: (1-4)-Aca-(14-36)pNPY, (1-4)-Aca-(15-36)pNPY, (1-4)-Aca-(16-36)pNPY, (1-4)-Aca-(17-36)pNPY, (1-4)-Aca-(18-36)pNPY, (1-4)-(31-36)pNPY11, (1-4)-Aca-(31-36)pNPY, (4-1)-(31-36)pNPY, (4-1)-Aca-(31-36)pNPY, (4-1)_D-(31-36)pNPY, (4-1)_D-Aca-(31-36)pNPY.

Ref: Fournier et al., Mol Pharmacol 45(1):93-101, Jan 1994.

【 0 1 7 5 】

付加的な内部欠失突然変異体は、限定される訳でないが以下のものを含む: des-AA¹⁰⁻¹⁷-NPY, des-AA¹⁰⁻¹⁷, Ac-[D-Lys⁹(-Ac-Ala)]NPY, des-AA¹⁰⁻¹⁷, Ac[D-Lys⁹(-Ac-Ala)]NPY, des-AA¹⁰⁻¹⁷[Ala^{7,21}]NPY, des-AA¹⁰⁻¹⁷[Cys^{7,21}]NPY, des-AA¹⁰⁻¹⁷[Glu⁷, Lys²¹]NPY, des-AA¹¹⁻¹⁷[D-Lys¹⁰(-Ac), Cys^{7,21}]NPY, des-AA¹⁰⁻¹⁷[D-Cys⁷, D-Lys(-Ac), Cys²¹]NPY, des-AA¹⁰⁻¹⁷[D-Cys⁷, Lys⁹(-Ac), Cys²¹]NPY, des-AA¹⁰⁻¹⁷[Cys^{7,21}, Pro³⁴]NPY, des-AA¹⁰⁻¹⁷[Asp⁷, Dpr²¹, Pro³⁴]NPY, des-AA¹⁰⁻¹⁷[Glu⁷, Lys²¹, Pro³⁴]NPY, des-AA¹⁰⁻¹⁷[Cys^{7,21}, Leu³¹, Pro³⁴]NPY, des-AA¹⁰⁻²⁰[Cys^{7,21}, Pro³⁴]NPY, des-AA¹⁰⁻¹⁷[Cys^{2,27}]NPY, des-AA¹⁰⁻¹⁷[Cys², D-Cys²⁷]NPY.

Ref: Kirby et al., J Med Chem 38:4579-86, 1995.

【 0 1 7 6 】

NPYの環状アゴニストは、限定される訳でないが以下のものを含む: [Lys 25-Glu 29]NPY(Ac-25-36), [Glu 25-Lys 29]NPY(Ac-25-36), [Lys 26-Glu31]NPY(Ac-25-36), [Glu 27-Lys 31]NPY(Ac-25-36), [Lys28-Glu 32]NPY(Ac-25-36), [Lys27-Glu34]NPY(Ac-25-36).

Ref: Rist et al., Eur J Biochem 247:1019-1028, 1997.

【 0 1 7 7 】

D-アミノ酸置換: [D-Tyr¹]NPY, [D-Pro²]NPY, [D-Ser³]NPY, [D-Lys⁴]NPY, [D-Pro⁵]NPY, [D-Asp⁶]NPY, [D-Asn⁷]NPY, [D-Pro⁸]NPY, [D-Ala⁹]NPY, [D-Glu¹⁰]NPY, [D-Asp¹¹]NPY, [D-Ala¹²]NPY, [D-Pro¹³]NPY, [D-Ala¹⁴]NPY, [D-Glu¹⁵]NPY, [D-Asp¹⁶]NPY, [D-Leu¹⁷]NPY, [D-Ala¹⁸]NPY, [D-Arg¹⁹]NPY, [D-Tyr²⁰]NPY, [D-Tyr²¹]NPY, [D-Ser²²]NPY, [D-Ala²³]NPY, [D-Leu²⁴]NPY, [D-Arg²⁵]NPY, [D-His²⁶]NPY, [D-Tyr²⁷]NPY, [D-Ile²⁸]NPY, [D-Asn²⁹]NPY, [D-Leu³⁰]NPY, [D-Ile³¹]NPY, [D-Thr³²]NPY, [D-Arg³³]NPY, [D-Gln³⁴]NPY, [D-Arg³⁵]NPY, [D-Tyr³⁶]NPY, [D-Tyr¹, D-Pro²]NPY, [D-Ser³, D-Lys⁴]NPY, [D-Pro⁵, D-Asp⁶]NPY, [D-Asn⁷, D-Pro⁸]NPY, [D-Glu¹⁰, D-Asp¹¹]NPY, [D-Asp¹¹, D-Ala¹²]NPY, [D-Pro¹³, D-Ala¹⁴]NPY, [D-Glu¹⁵, D-Asp¹⁶]NPY, [D-Met¹⁷, D-Ala¹⁸]NPY, [D-Arg¹⁹, D-Tyr²⁰]NPY, [D-Tyr²¹, D-Ser²²]NPY, [D-Ala²³, D-Leu²⁴]NPY, [D-Arg²⁵, D-His²⁶]NPY, [D-Tyr²⁷, D-Ile²⁸]NPY, [D-Asn²⁹, D-Leu³⁰]NPY, [D-Ile³¹, D-Thr³²]NPY, [D-Arg³³, D-Gln³⁴]NPY, [D-Arg³⁵, D-Tyr³⁶]NPY.

Ref: Kirby et al., J Med Chem 36:3802-08, 1993; Grundemar et al., Regulatory Peptides 62:131-136, 1996.

【 0 1 7 8 】

他のNPYアゴニストおよび類似体

ペプチド、配列、

NPY(3-36) SKPDNPGEDAPAEDMARYYSALRHYINLITRQRY (SEQ ID NO: 335)

Ref: Grandt et al., Regulatory Peptides 67(1):33-7, 1996.

【 0 1 7 9 】

ペプチド、配列、

N-アセチル NPY(24-36)

LRHYINLITRQRY (SEQ ID NO: 213)

Ref: Potter et al., Eur J Pharmacol 267(3):253-262, May 17, 1994.

【 0 1 8 0 】

ペプチド、 配列、

N-アセチル [Leu²⁸, Leu³¹] NPY(24-36)

LRHYLNLLTRQRY (SEQ ID NO: 214)

Ref: Potter et al., Eur J Pharmacol 267(3):253-262, May 17, 1994.

【 0 1 8 1 】

ペプチド、 配列、

[Leu²⁸, Leu³¹] NPY(24-36)

LRHYLNLLTRQRY (SEQ ID NO: 215)

Ref: Potter et al., Eur J Pharmacol 267(3):253-262, May 17, 1994.

10

【 0 1 8 2 】

ペプチド、 配列、

[Leu¹⁷, Gln¹⁹, Ala²¹, Ala²², Glu²³, Leu²⁸, Leu³¹] NPY(13-36)

PAEDLAQYAAELRHYLNLLTRQRY (SEQ ID NO: 216)

Ref: Potter et al., Eur J Pharmacol 267(3):253-262, May 17, 1994.

【 0 1 8 3 】

ペプチド、 配列、

シクロ S-S [Cys²⁰, Cys²⁴]pNPY

SKPDNPGEDAPAEDMARCYSACRHYINLITRQRY (SEQ ID NO: 315)

Ref: Soll et al., Eur J Biochem 268(10):2828-37, May 2001.

20

【 0 1 8 4 】

ペプチド、 配列、

シクロ-(28/32)-Ac-[Lys²⁸-Glu³²]- (25-36)-pNPY

RHYLNLIQRQRY (SEQ ID NO: 316)

Ref: Cabrele et al., J Pept Sci 6(3):97-122, Mar 2000.

【 0 1 8 5 】

ペプチド、 配列、

シクロ-(27/31)-Ac-[Glu²⁷-Lys³¹]- (25-36)-pNPY

RHGLNLLGRQRY (SEQ ID NO: 317)

Ref: Cabrele et al., J Pept Sci 6(3):97-122, Mar 2000.

30

【 0 1 8 6 】

ペプチド、 配列、

[Tyr³², Leu³⁴]NPY(27-36)

YINLIYRLRY (SEQ ID NO: 318)

Ref: Leban et al., J Med Chem 38:1150-57, 1995.

【 0 1 8 7 】

ペプチド、 配列、

[Tyr³², Leu³⁴]NPY(26-36)

HYINLIYRLRY (SEQ ID NO: 319)

Ref: Leban et al., J Med Chem 38:1150-57, 1995.

40

【 0 1 8 8 】

ペプチド、 配列、

[Tyr³², Leu³⁴]NPY(25-36)

RHYINLIYRLRY (SEQ ID NO: 320)

Ref: Leban et al., J Med Chem 38:1150-57, 1995.

【 0 1 8 9 】

[Leu³¹]NPY(27-36)

YINLLYRQRY (SEQ ID NO: 321)

Ref: Leban et al., J Med Chem 38:1150-57, 1995.

【 0 1 9 0 】

50

ペプチド、配列、
 [Tyr³², Leu³⁴] (1-4)-Ahr-(27-36)NPY
 YPSL-Aha-YINLIYRLRY (SED ID NO: 322)

Ref: Leban et al., J Med Chem 38:1150-57, 1995.

【 0 1 9 1 】

ペプチド、配列、
 [Tyr³², Leu³⁴]NPY(28-36)
 INLIYRLRY (SEQ ID NO: 323)

Ref: Leban et al., J Med Chem 38:1150-57, 1995.

【 0 1 9 2 】

ペプチド、配列、
 PP (ヒト(human))
 ASLEPEYPGDNATPEQMAQYAAELRRYINMLTRPRY (SEQ ID NO: 3)

Ref: Kimmel et al., Endocrinology 83:1323-30, 1968.

【 0 1 9 3 】

PPの変形物(Variations)

N末端欠失は、限定される訳でないが以下のものを含む: PP(26-36), PP(25-36), PP(24-36), PP(23-36), PP(22-36), PP(21-36), PP(20-36), PP(19-36), PP(18-36), PP(17-36), PP(16-36), PP(15-36), PP(14-36), PP(13-36), PP(12-36), PP(11-36), PP(10-36), PP(9-36), PP(8-36), PP(7-36), PP(6-36), PP(5-36), PP(4-36), PP(3-36)。

【 0 1 9 4 】

表 3 - P Y Y の保存的アミノ酸置換の例。

【 0 1 9 5 】

PYY(25-36)の単一点(Single point)突然変異

ペプチド、	配列、	
[Lys ²⁵]PPY(25-36)	KHYLNLVTRQRY	(SEQ ID NO: 36)
[Thr ²⁷]PPY(25-36)	RHTLNLVTRQRY	(SEQ ID NO: 37)
[Phe ²⁷]PPY(25-36)	RHFLNLVTRQRY	(SEQ ID NO: 38)
[Ile ²⁸]PYY (25-36)	RHYINLVTRQRY	(SEQ ID NO: 39)
[Val ²⁸]PYY (25-36)	RHYVNLVTRQRY	(SEQ ID NO: 40)
[Gln ²⁹]PYY (25-36)	RHYLQLVTRQRY	(SEQ ID NO: 41)
[Ile ³⁰]PYY (25-36)	RHYLNIVTRQRY	(SEQ ID NO: 42)
[Val ³⁰]PYY (25-36)	RHYLNVVTRQRY	(SEQ ID NO: 43)
[Ile ³¹]PYY (25-36)	RHYLNLI TRQRY	(SEQ ID NO: 44)
[Leu ³¹]PYY (25-36)	RHYLNLLTRQRY	(SEQ ID NO: 45)
[Ser ³²]PYY (25-36)	RHYLNLSRQRY	(SEQ ID NO: 46)
[Lys ³³]PYY (25-36)	RHYLNLVTKQRY	(SEQ ID NO: 47)
[Asn ³⁴]PYY (25-36)	RHYLNLVTRNRY	(SEQ ID NO: 48)
[Lys ³⁵]PYY (25-36)	RHYLNLVTRQKY	(SEQ ID NO: 49)
[Thr ³⁶]PYY (25-36)	RHYLNLVTRQRT	(SEQ ID NO: 50)
[Phe ³⁶]PYY (25-36)	RHYLNLVTRQRF	(SEQ ID NO: 51)。

【 0 1 9 6 】

二重点(Double point)突然変異

ペプチド、	配列、	
[Lys ²⁵ , Thr ²⁷]PPY(25-36)	KHTLNLVTRQRY	(SEQ ID NO: 52)
[Lys ²⁵ , Phe ²⁷]PPY(25-36)	KHFLNLVTRQRY	(SEQ ID NO: 53)
[Lys ²⁵ , Ile ²⁸]PPY(25-36)	KHYINLVTRQRY	(SEQ ID NO: 54)
[Lys ²⁵ , Val ²⁸]PPY(25-36)	KHYVNLVTRQRY	(SEQ ID NO: 55)
[Lys ²⁵ , Gln ²⁹]PPY(25-36)	KHYLQLVTRQRY	(SEQ ID NO: 56)
[Lys ²⁵ , Ile ³⁰]PPY(25-36)	KHYLNIVTRQRY	(SEQ ID NO: 57)

10

20

30

40

50

[Lys ²⁵ , Val ³⁰]PPY(25-36)	KHYLNVTQRQRY	(SEQ ID NO: 58)	
[Lys ²⁵ , Ile ³¹]PPY(25-36)	KHYLNLI TRQRY	(SEQ ID NO: 59)	
[Lys ²⁵ , Leu ³¹]PPY(25-36)	KHYLNLLTRQRY	(SEQ ID NO: 60)	
[Lys ²⁵ , Ser ³²]PPY(25-36)	KHYLNLSRQRY	(SEQ ID NO: 61)	
[Lys ²⁵ , Lys ³³]PPY(25-36)	KHYLNLVTKQRY	(SEQ ID NO: 62)	
[Lys ²⁵ , Asn ³⁴]PPY(25-36)	KHYLNLVTRNRY	(SEQ ID NO: 63)	
[Lys ²⁵ , Lys ³⁵]PPY(25-36)	KHYLNLVTRQKY	(SEQ ID NO: 64)	
[Lys ²⁵ , Thr ³⁶]PPY(25-36)	KHYLNLVTRQRT	(SEQ ID NO: 65)	
[Lys ²⁵ , Phe ³⁶]PPY(25-36)	KHYLNLVTRQRF	(SEQ ID NO: 66)	
[Thr ²⁷ , Ile ²⁸]PPY(25-36)	RHTINLVTRQRY	(SEQ ID NO: 67)	10
[Thr ²⁷ , Val ²⁸]PPY(25-36)	RHTVNLVTRQRY	(SEQ ID NO: 68)	
[Thr ²⁷ , Gln ²⁹]PPY(25-36)	RHTLQLVTRQRY	(SEQ ID NO: 69)	
[Thr ²⁷ , Ile ³⁰]PPY(25-36)	RHTLNIVTRQRY	(SEQ ID NO: 70)	
[Thr ²⁷ , Val ³⁰]PPY(25-36)	RHTLNVVTRQRY	(SEQ ID NO: 71)	
[Thr ²⁷ , Ile ³¹]PPY(25-36)	RHTLNLI TRQRY	(SEQ ID NO: 72)	
[Thr ²⁷ , Leu ³¹]PPY(25-36)	RHTLNLLTRQRY	(SEQ ID NO: 73)	
[Thr ²⁷ , Ser ³²]PPY(25-36)	RHTLNLSRQRY	(SEQ ID NO: 74)	
[Thr ²⁷ , Lys ³³]PPY(25-36)	RHTLNLVTKQRY	(SEQ ID NO: 75)	
[Thr ²⁷ , Asn ³⁴]PPY(25-36)	RHTLNLVTRNRY	(SEQ ID NO: 76)	
[Thr ²⁷ , Lys ³⁵]PPY(25-36)	RHTLNLVTRQKY	(SEQ ID NO: 77)	20
[Thr ²⁷ , Thr ³⁶]PPY(25-36)	RHTLNLVTRQRT	(SEQ ID NO: 78)	
[Thr ²⁷ , Phe ³⁶]PPY(25-36)	RHTLNLVTRQRF	(SEQ ID NO: 79)	
[Phe ²⁷ , Ile ²⁸]PPY(25-36)	RHFINLVTRQRY	(SEQ ID NO: 80)	
[Phe ²⁷ , Val ²⁸]PPY(25-36)	RHFVNLVTRQRY	(SEQ ID NO: 81)	
[Phe ²⁷ , Gln ²⁹]PPY(25-36)	RHFLQLVTRQRY	(SEQ ID NO: 82)	
[Phe ²⁷ , Ile ³⁰]PPY(25-36)	RHFLNIVTRQRY	(SEQ ID NO: 83)	
[Phe ²⁷ , Val ³⁰]PPY(25-36)	RHFLNVVTRQRY	(SEQ ID NO: 84)	
[Phe ²⁷ , Ile ³¹]PPY(25-36)	RHFLNLI TRQRY	(SEQ ID NO: 85)	
[Phe ²⁷ , Leu ³¹]PPY(25-36)	RHFLNLLTRQRY	(SEQ ID NO: 86)	
[Phe ²⁷ , Ser ³²]PPY(25-36)	RHFLNLSRQRY	(SEQ ID NO: 87)	30
[Phe ²⁷ , Lys ³³]PPY(25-36)	RHFLNLVTKQRY	(SEQ ID NO: 88)	
[Phe ²⁷ , Asn ³⁴]PPY(25-36)	RHFLNLVTRNRY	(SEQ ID NO: 89)	
[Phe ²⁷ , Lys ³⁵]PPY(25-36)	RHFLNLVTRQKY	(SEQ ID NO: 90)	
[Phe ²⁷ , Thr ³⁶]PPY(25-36)	RHFLNLVTRQRT	(SEQ ID NO: 91)	
[Phe ²⁷ , Phe ³⁶]PPY(25-36)	RHFLNLVTRQRF	(SEQ ID NO: 92)	
[Gln ²⁹ , Ile ³⁰]PYY (25-36)	RHYLQIVTRQRY	(SEQ ID NO: 93)	
[Gln ²⁹ , Val ³⁰]PYY (25-36)	RHYLQVVTRQRY	(SEQ ID NO: 94)	
[Gln ²⁹ , Ile ³¹]PYY (25-36)	RHYLQLI TRQRY	(SEQ ID NO: 95)	
[Gln ²⁹ , Leu ³¹]PYY (25-36)	RHYLQLLTRQRY	(SEQ ID NO: 96)	
[Gln ²⁹ , Ser ³²]PYY (25-36)	RHYLQLVSRQRY	(SEQ ID NO: 97)	40
[Gln ²⁹ , Leu ³³]PYY (25-36)	RHYLQLVTKQRY	(SEQ ID NO: 98)	
[Gln ²⁹ , Asn ³⁴]PYY (25-36)	RHYLQLVTRNRY	(SEQ ID NO: 99)	
[Gln ²⁹ , Leu ³⁵]PYY (25-36)	RHYLQLVTRQKY	(SEQ ID NO: 100)	
[Gln ²⁹ , Thr ³⁶]PYY (25-36)	RHYLQLVTRQRT	(SEQ ID NO: 101)	
[Gln ²⁹ , Phe ³⁶]PYY (25-36)	RHYLQLVTRQRF	(SEQ ID NO: 102)	
[Ile ³⁰ , Ile ³¹]PYY (25-36)	RHYLNLI TRQRY	(SEQ ID NO: 103)	
[Ile ³⁰ , Leu ³¹]PYY (25-36)	RHYLNLI TRQRY	(SEQ ID NO: 104)	
[Ile ³⁰ , Ser ³²]PYY (25-36)	RHYLNIVSRQRY	(SEQ ID NO: 105)	
[Ile ³⁰ , Lys ³³]PYY (25-36)	RHYLNIVTKQRY	(SEQ ID NO: 106)	
[Ile ³⁰ , Asn ³⁴]PYY (25-36)	RHYLNIVTRNRY	(SEQ ID NO: 107)	50

[Ile ³⁰ , Lys ³⁵]PYY (25-36)	RHYLNIVTRQKY (SEQ ID NO: 108)
[Ile ³⁰ , Thr ³⁶]PYY (25-36)	RHYLNIVTRQRT (SEQ ID NO: 109)
[Ile ³⁰ , Phe ³⁶]PYY (25-36)	RHYLNIVTRQRF (SEQ ID NO: 110)
[Val ³⁰ , Ile ³¹]PYY (25-36)	RHYLNVITRQRY (SEQ ID NO: 111)
[Val ³⁰ , Leu ³¹]PYY (25-36)	RHYLNVLTQRQY (SEQ ID NO: 112)
[Val ³⁰ , Ser ³²]PYY (25-36)	RHYLNVVSRQRY (SEQ ID NO: 113)
[Val ³⁰ , Lys ³³]PYY (25-36)	RHYLNVVTKQRY (SEQ ID NO: 114)
[Val ³⁰ , Asn ³⁴]PYY (25-36)	RHYLNVVTRNRY (SEQ ID NO: 115)
[Val ³⁰ , Lys ³⁵]PYY (25-36)	RHYLNVVTRQKY (SEQ ID NO: 116)
[Val ³⁰ , Thr ³⁶]PYY (25-36)	RHYLNVVTRQRT (SEQ ID NO: 117)
[Val ³⁰ , Phe ³⁶]PYY (25-36)	RHYLNVVTRQRF (SEQ ID NO: 118)
[Ile ³¹ , Ser ³²]PYY (25-36)	RHYLNLISRQRY (SEQ ID NO: 119)
[Ile ³¹ , Lys ³³]PYY (25-36)	RHYLNLITKQRY (SEQ ID NO: 120)
[Ile ³¹ , Asn ³⁴]PYY (25-36)	RHYLNLITRNRY (SEQ ID NO: 121)
[Ile ³¹ , Lys ³⁵]PYY (25-36)	RHYLNLITRQKY (SEQ ID NO: 122)
[Ile ³¹ , Thr ³⁶]PYY (25-36)	RHYLNLITRQRT (SEQ ID NO: 123)
[Leu ³¹ , Phe ³⁶]PYY (25-36)	RHYLNLITRQRF (SEQ ID NO: 124)
[Leu ³¹ , Ser ³²]PYY (25-36)	RHYLNLISRQRY (SEQ ID NO: 125)
[Val ³¹ , Lys ³³]PYY (25-36)	RHYLNLITKQRY (SEQ ID NO: 126)
[Leu ³¹ , Asn ³⁴]PYY (25-36)	RHYLNLITRNRY (SEQ ID NO: 127)
[Leu ³¹ , Lys ³⁵]PYY (25-36)	RHYLNLITRQKY (SEQ ID NO: 128)
[Leu ³¹ , Thr ³⁶]PYY (25-36)	RHYLNLITRQRT (SEQ ID NO: 129)
[Leu ³¹ , Phe ³⁶]PYY (25-36)	RHYLNLITRQRF (SEQ ID NO: 130)
[Ser ³² , Lys ³³]PYY (25-36)	RHYLNLVSKQRY (SEQ ID NO: 131)
[Ser ³² , Asn ³⁴]PYY (25-36)	RHYLNLVSRNRY (SEQ ID NO: 132)
[Ser ³² , Lys ³⁵]PYY (25-36)	RHYLNLVSRQKY (SEQ ID NO: 133)
[Ser ³² , Thr ³⁶]PYY (25-36)	RHYLNLVSRQRT (SEQ ID NO: 134)
[Ser ³² , Phe ³⁶]PYY (25-36)	RHYLNLVSRQRY (SEQ ID NO: 135)
[Lys ³³ , Asn ³⁴]PYY (25-36)	RHYLNLVTKNRY (SEQ ID NO: 136)
[Lys ³³ , Lys ³⁵]PYY (25-36)	RHYLNLVTKQKY (SEQ ID NO: 137)
[Lys ³³ , Thr ³⁶]PYY (25-36)	RHYLNLVTKQRT (SEQ ID NO: 138)
[Lys ³³ , Phe ³⁶]PYY (25-36)	RHYLNLVTKQRF (SEQ ID NO: 139)
[Asn ³⁴ , Lys ³⁵]PYY (25-36)	RHYLNLVTRNKY (SEQ ID NO: 140)
[Asn ³⁴ , Thr ³⁶]PYY (25-36)	RHYLNLVTRNRT (SEQ ID NO: 141)
[Asn ³⁴ , Phe ³⁶]PYY (25-36)	RHYLNLVTRNRF (SEQ ID NO: 142)
[Lys ³⁵ , Thr ³⁶]PYY (25-36)	RHYLNLVTRQKT (SEQ ID NO: 143)
[Lys ³⁵ , Phe ³⁶]PYY (25-36)	RHYLNLVTRQKF (SEQ ID NO: 144)。

【 0 1 9 7 】

PYY(24-36)の点突然変異

ペプチド、

配列、

PYY(24-36)	LRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 145)
[Ile ²⁴]PYY(24-36)	IRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 146)
[Val ²⁴]PYY(24-36)	VRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 147)。

【 0 1 9 8 】

PYY(24-36)突然変異として、任意のこれらの3つの突然変異体の、任意の上に列挙されたPYY(25-36)に対する突然変異体との組み合わせから生じるポリペプチド変形物(アミノ酸配列変形物)も含まれ、例えば、[Lys²⁵]PYY(24-36)(アミノ酸配列=LKHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 191))は、SEQ ID NO: 145とSEQ ID NO: 36からの突然変異を組み合わせることから生じるであろう。

【 0 1 9 9 】

10

20

30

40

50

PYY(23-36)の点突然変異

ペプチド、

配列、

PYY(23-36)

SLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 148)

[Thr²³]PYY(23-36)

TLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 149)。

【 0 2 0 0 】

PYY(23-36)突然変異として、これらの2つのいずれかの突然変異体の、任意の上に列挙されたPYY(25-36)に対する突然変異体および任意の上に列挙されたPYY(24-36)に対する突然変異体の少なくとも一方との組合わせから生じるポリペプチド変形物(アミノ酸配列変形物)も含まれ、例えば、[Lys²⁵]PYY(23-36)(アミノ酸配列 = SLKHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 192))は、SEQ ID NO: 148とSEQ ID NO: 36からの突然変異を組合わせることから生じるであろう。

10

【 0 2 0 1 】

PYY(22-36)の点突然変異

ペプチド、

配列、

PYY(22-36)

ASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 150)

[Ser²²]PYY(22-36)

SSLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 151)。

【 0 2 0 2 】

PYY(22-36)突然変異として、これらの2つのいずれかの突然変異体の、任意の上に列挙されたPYY(25-36)に対する突然変異体および任意の上に列挙されたPYY(23-36)に対する突然変異体の少なくとも一方との組合わせから生じるポリペプチド変形物(アミノ酸配列変形物)も含まれ、例えば、[Lys²⁵]PYY(22-36)(アミノ酸配列 = ASLKHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 193))は、SEQ ID NO: 150とSEQ ID NO: 36からの突然変異を組合わせることから生じるであろう。

20

【 0 2 0 3 】

PYY(21-36)の点突然変異

ペプチド、

配列、

PYY(21-36)

YASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 152)

[Thr²¹]PYY(21-36)

TASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 153)

[Phe²¹]PYY(21-36)

FASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 154)。

【 0 2 0 4 】

PYY(21-36)突然変異として、任意のこれらの3つのいずれかの突然変異体の、任意の上に列挙されたPYY(25-36)に対する突然変異体および任意の上に列挙されたPYY(22-36)に対する突然変異体の少なくとも一方との組合わせから生じるポリペプチド変形物(アミノ酸配列変形物)も含まれ、例えば、[Lys²⁵]PYY(21-36)(アミノ酸配列 = YASLKHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 194))は、SEQ ID NO: 152とSEQ ID NO: 36からの突然変異を組合わせることから生じるであろう。

30

【 0 2 0 5 】

PYY(20-36)の点突然変異

ペプチド、

配列、

PYY(20-36)

YYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 155)

[Thr²⁰]PYY(20-36)

TYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 156)

[Phe²⁰]PYY(20-36)

FYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 157)。

【 0 2 0 6 】

PYY(20-36)突然変異として、任意のこれらの3つのいずれかの突然変異体の、任意の上に列挙されたPYY(25-36)に対する突然変異体および任意の上に列挙されたPYY(21-36)に対する突然変異体の少なくとも一方との組合わせから生じるポリペプチド変形物(アミノ酸配列変形物)も含まれ、例えば、[Lys²⁵]PYY(20-36)(アミノ酸配列 = YYASLKHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 195))は、SEQ ID NO: 155とSEQ ID NO: 36からの突然変異を組合わせることから生じるであろう。

40

【 0 2 0 7 】

50

PYY(19-36)の点突然変異

ペプチド、

配列、

PYY(19-36)

RYYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 158)

[Lys¹⁹]PYY(19-36)

KYYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 159)。

【0208】

PYY(19-36) 突然変異として、これらの2つのいずれかの突然変異体の、任意の上に列挙されたPYY(25-36)に対する突然変異体および任意の上に列挙されたPYY(20-36)に対する突然変異体の少なくとも一方との組み合わせから生じるポリペプチド変形物(アミノ酸配列変形物)も含まれ、例えば、[Lys²⁵]PYY(19-36)(アミノ酸配列=RYYASLKHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 196))は、SEQ ID NO: 158とSEQ ID NO: 36からの突然変異を組み合わせることから生じるであろう。

10

【0209】

PYY(18-36)の点突然変異

ペプチド、

配列、

PYY(18-36)

NRYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 160)

[Gln¹⁸]PYY(18-36)

QRYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 161)。

【0210】

PYY(18-36) 突然変異として、これらの2つのいずれかの突然変異体の、任意の上に列挙されたPYY(25-36)に対する突然変異体および任意の上に列挙されたPYY(19-36)に対する突然変異体の少なくとも一方との組み合わせから生じるポリペプチド変形物(アミノ酸配列変形物)も含まれ、例えば、[Lys²⁵]PYY(18-36)(アミノ酸配列=NRYASLKHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 197))は、SEQ ID NO: 160とSEQ ID NO: 36からの突然変異を組み合わせることから生じるであろう。

20

【0211】

PYY(17-36)の点突然変異

ペプチド、

配列、

PYY(17-36)

LNRYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 162)

[Ile¹⁷]PYY(17-36)

INRYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 163)

[Val¹⁷]PYY(17-36)

VNRYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 164)。

【0212】

PYY(17-36) 突然変異として、任意のこれらの3つのいずれかの突然変異体の、任意の上に列挙されたPYY(25-36)に対する突然変異体および任意の上に列挙されたPYY(18-36)に対する突然変異体の少なくとも一方との組み合わせから生じるポリペプチド変形物(アミノ酸配列変形物)も含まれ、例えば、[Lys²⁵]PYY(17-36)(アミノ酸配列=LNRYASLKHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 198))は、SEQ ID NO: 162とSEQ ID NO: 36からの突然変異を組み合わせることから生じるであろう。

30

【0213】

PYY(16-36)の点突然変異

ペプチド、

配列、

PYY(16-36)

ELNRYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 165)

[Asp¹⁶]PYY(16-36)

DLNRYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 166)。

【0214】

PYY(16-36) 突然変異として、これらの2つのいずれかの突然変異体の、任意の上に列挙されたPYY(25-36)に対する突然変異体および任意の上に列挙されたPYY(17-36)に対する突然変異体の少なくとも一方との組み合わせから生じるポリペプチド変形物(アミノ酸配列変形物)も含まれ、例えば、[Lys²⁵]PYY(16-36)(アミノ酸配列=ELNRYASLKHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 199))は、SEQ ID NO: 165とSEQ ID NO: 36からの突然変異を組み合わせることから生じるであろう。

40

【0215】

PYY(15-36)の点突然変異

50

ペプチド、
PYY(15-36)
[Asp¹⁵]PYY(15-36)
【0216】

配列、
EELNRYYYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 167)
DELNRYYYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 168)。

PYY(15-36)突然変異として、これらの2つのいずれかの突然変異体の、任意の上に列挙されたPYY(25-36)に対する突然変異体および任意の上に列挙されたPYY(16-36)に対する突然変異体の少なくとも一方との組み合わせから生じるポリペプチド変形物(アミノ酸配列変形物)も含まれ、例えば、[Lys²⁵]PYY(15-36)(アミノ酸配列 = EELNRYYYASLKHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 200))は、SEQ ID NO: 167とSEQ ID NO: 36からの突然変異を組み合わせることから生じるであろう。

10

【0217】
PYY(14-36)の点突然変異
ペプチド、
PYY(14-36)
【0218】

配列、
PEELNRYYYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 169)。

PYY(14-36)突然変異として、このPYY(14-36)突然変異体の、任意の上に列挙されたPYY(25-36)に対する突然変異体および任意の上に列挙されたPYY(15-36)に対する突然変異体の少なくとも一方との組み合わせから生じるポリペプチド変形物(アミノ酸配列変形物)も含まれ、例えば、[Lys²⁵]PYY(23-36)(アミノ酸配列 = PEELNRYYYASLKHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 201))は、SEQ ID NO: 169とSEQ ID NO: 36からの突然変異を組み合わせることから生じるであろう。

20

【0219】
PYY(13-36)の点突然変異
ペプチド、
PYY(13-36)
[Thr¹³]PYY(13-36)
【0220】

配列、
SPEELNRYYYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 170)
TPEELNRYYYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 171)。

PYY(13-36)突然変異として、これらの2つのいずれかの突然変異体の、任意の上に列挙されたPYY(25-36)に対する突然変異体および任意の上に列挙されたPYY(14-36)に対する突然変異体の少なくとも一方との組み合わせから生じるポリペプチド変形物(アミノ酸配列変形物)も含まれ、例えば、[Lys²⁵]PYY(13-36)(アミノ酸配列 = SEELNRYYYASLKHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 202))は、SEQ ID NO: 170とSEQ ID NO: 36からの突然変異を組み合わせることから生じるであろう。

30

【0221】
PYY(12-36)の点突然変異
ペプチド、
PYY(12-36)
[Ser¹²]PYY(12-36)
【0222】

配列、
ASPEELNRYYYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 172)
SSPEELNRYYYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 173)。

PYY(12-36)突然変異として、これらの2つのいずれかの突然変異体の、任意の上に列挙されたPYY(25-36)に対する突然変異体および任意の上に列挙されたPYY(13-36)に対する突然変異体の少なくとも一方との組み合わせから生じるポリペプチド変形物(アミノ酸配列変形物)も含まれ、例えば、[Lys²⁵]PYY(12-36)(アミノ酸配列 = ASEELNRYYYASLKHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 203))は、SEQ ID NO: 172とSEQ ID NO: 36からの突然変異を組み合わせることから生じるであろう。

40

【0223】
PYY(11-36)の点突然変異
ペプチド、
PYY(11-36)
[Glu¹¹]PYY(11-36)

配列、
DASPEELNRYYYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 174)
EASPEELNRYYYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 175)。

50

【 0 2 2 4 】

PYY(12-36)突然変異として、これらの2つのいずれかの突然変異体の、任意の上に列挙されたPYY(25-36)に対する突然変異体および任意の上に列挙されたPYY(12-36)に対する突然変異体の少なくとも一方との組み合わせから生じるポリペプチド変形物（アミノ酸配列変形物）も含まれ、例えば、[Lys²⁵]PPY(11-36)（アミノ酸配列 = DASEELNRYASYLKHLYNLVTRQRY (SEQ ID NO: 204)）は、SEQ ID NO: 174とSEQ ID NO: 36からの突然変異を組み合わせることから生じるであろう。

【 0 2 2 5 】

PYY(10-36)の点突然変異

ペプチド、

配列、

PYY(10-36)

EDASPEELNRYASYLKHLYNLVTRQRY (SEQ ID NO: 176)

[Asp¹⁰]PYY(10-36)

DDASPEELNRYASYLKHLYNLVTRQRY (SEQ ID NO: 177)。

10

【 0 2 2 6 】

PYY(10-36) 突然変異として、これらの2つのいずれかの突然変異体の、任意の上に列挙されたPYY(25-36)に対する突然変異体および任意の上に列挙されたPYY(11-36)に対する突然変異体の少なくとも一方との組み合わせから生じるポリペプチド変形物（アミノ酸配列変形物）も含まれ、例えば、[Lys²⁵]PPY(10-36)（アミノ酸配列 = EDASEELNRYASYLKHLYNLVTRQRY (SEQ ID NO: 205)）は、SEQ ID NO: 176とSEQ ID NO: 36からの突然変異を組み合わせることから生じるであろう。

【 0 2 2 7 】

PYY(9-36)の点突然変異

ペプチド、

配列、

PYY(9-36)

GEDASPEELNRYASYLKHLYNLVTRQRY (SEQ ID NO: 178)。

20

【 0 2 2 8 】

PYY(9-36)突然変異として、このPPY(9-36)突然変異体の、任意の上に列挙されたPYY(25-36)に対する突然変異体および任意の上に列挙されたPYY(10-36)に対する突然変異体の少なくとも一方との組み合わせから生じるポリペプチド変形物（アミノ酸配列変形物）も含まれ、例えば、[Lys²⁵]PPY(9-36)（アミノ酸配列 = GEDASPEELNRYASYLKHLYNLVTRQRY (SEQ ID NO: 206)）は、SEQ ID NO: 178とSEQ ID NO: 36からの突然変異を組み合わせることから生じるであろう。

30

【 0 2 2 9 】

PYY(8-36)の点突然変異

ペプチド、

配列、

PYY(8-36)

PGEDASPEELNRYASYLKHLYNLVTRQRY (SEQ ID NO: 179)。

【 0 2 3 0 】

PYY(8-36)突然変異として、このPPY(8-36)突然変異体の、任意の上に列挙されたPYY(25-36)に対する突然変異体および任意の上に列挙されたPYY(9-36)に対する突然変異体の少なくとも一方との組み合わせから生じるポリペプチド変形物（アミノ酸配列変形物）も含まれ、例えば、[Lys²⁵]PPY(8-36)（アミノ酸配列 = SEQ ID NO: 207)）は、SEQ ID NO: 179とSEQ ID NO: 36からの突然変異を組み合わせることから生じるであろう。

40

【 0 2 3 1 】

PYY(7-36)の点突然変異

ペプチド、

配列、

PYY(7-36)

APGEDASPEELNRYASYLKHLYNLVTRQRY (SEQ ID NO: 180)

[Ser⁹]PYY(7-36)

SPGEDASPEELNRYASYLKHLYNLVTRQRY (SEQ ID NO: 181)。

【 0 2 3 2 】

PYY(7-36)突然変異として、これらの2つのいずれかの突然変異体の、任意の上に列挙されたPYY(25-36)に対する突然変異体および任意の上に列挙されたPYY(8-36)に対する突然変異体の少なくとも一方との組み合わせから生じるポリペプチド変形物（アミノ酸配列変形物）も含まれ、例えば、[Lys²⁵]PPY(7-36)（アミノ酸配列 = APGEDASEELNRYASYLKHLYNLV

50

TRQRY (SEQ ID NO: 208)) は、SEQ ID NO: 180とSEQ ID NO: 36からの突然変異を組み合わせることから生じるであろう。

【 0 2 3 3 】

PYY(6-36)の点突然変異

ペプチド、

配列、

PYY(6-36)

EAPGEDASPEELNRYYYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 182)

[Asp⁶]PYY(6-36)

DAPGEDASPEELNRYYYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 183)。

【 0 2 3 4 】

PYY(6-36)突然変異として、これらの2つのいずれかの突然変異体の、任意の上に列挙されたPYY(25-36)に対する突然変異体および任意の上に列挙されたPYY(7-36)に対する突然変異体の少なくとも一方との組み合わせから生じるポリペプチド変形物(アミノ酸配列変形物)も含まれ、例えば、[Lys²⁵]PYY(6-36)(アミノ酸配列 = EAPGEDASEELNRYYYASLKHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 209)) は、SEQ ID NO: 182とSEQ ID NO: 36からの突然変異を組み合わせることから生じるであろう。

10

【 0 2 3 5 】

PYY(5-36)の点突然変異

ペプチド、

配列、

PYY(5-36)

PEAPGEDASPEELNRYYYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 184)。

【 0 2 3 6 】

PYY(5-36)突然変異として、このPYY(5-36)突然変異体の、任意の上に列挙されたPYY(25-36)に対する突然変異体および任意の上に列挙されたPYY(6-36)に対する突然変異体の少なくとも一方との組み合わせから生じるポリペプチド変形物(アミノ酸配列変形物)も含まれ、例えば、[Lys²⁵]PYY(5-36)(アミノ酸配列 = PEAPGEDASPEELNRYYYASLKHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 210)) は、SEQ ID NO: 184とSEQ ID NO: 36からの突然変異を組み合わせることから生じるであろう。

20

【 0 2 3 7 】

PYY(4-36)の点突然変異

ペプチド、

配列、

PYY(4-26)

KPEAPGEDASPEELNRYYYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 185)

[Arg⁴]PYY(4-36)

RPEAPGEDASPEELNRYYYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 186)

[Gln⁴]PYY(4-36)

QPEAPGEDASPEELNRYYYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 187)

[Asn⁴]PYY(4-36)

NPEAPGEDASPEELNRYYYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 188)

30

。

【 0 2 3 8 】

PYY(4-36)突然変異として、任意のこれらの4つのいずれかの突然変異体の、任意の上に列挙されたPYY(25-36)に対する突然変異体および任意の上に列挙されたPYY(5-36)[Lys²⁵]に対する突然変異体の少なくとも一方との組み合わせから生じるポリペプチド変形物(アミノ酸配列変形物)も含まれ、例えば、PPY(4-36)(アミノ酸配列KPEAPGEDASEELNRYYYASLKHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 211)) は、SEQ ID NO: 185とSEQ ID NO: 36からの突然変異を組み合わせることから生じるであろう。

40

【 0 2 3 9 】

PYY(3-36)の点突然変異

ペプチド、

配列、

PYY(3-36)

IKPEAPGEDASPEELNRYYYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 334)

[Leu³]PYY(3-36)

LKPEAPGEDASPEELNRYYYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 189)

)

[Val³] PYY(3-36)

VKPEAPGEDASPEELNRYYYASLRHYLNLVTRQRY (SEQ ID NO: 190)

。

【 0 2 4 0 】

PYY(3-36)突然変異として、任意のこれらの3つのいずれかの突然変異体の、任意の上

50

に列挙されたPYY(25-36)に対する突然変異体および任意の上に列挙されたPYY(4-36)に対する突然変異体の少なくとも一方との組み合わせから生じるポリペプチド変形物（アミノ酸配列変形物）も含まれ、例えば、[Lys²⁵]PPY(3-36)（アミノ酸配列 = IKPEAPGEDASEELNRY Y ASLKHYLNVLTRQRY (SEQ ID NO: 212)）は、SEQ ID NO: 1とSEQ ID NO: 36からの突然変異を組み合わせることから生じるであろう。

【0241】

また、以下の式：

X-Q-R₁₉-R₂₀-R₂₁-R₂₂-R₂₃-Leu-R₂₅-R₂₆-R₂₇-R₂₈-R₂₉-R₃₀-R₃₁-R₃₂-Arg-R₃₄-Arg-R₃₆-Y、

を有するPYYアゴニスト（NPY類似体）が考えられ、ここで、Xは、Hまたは、C^a Me、またはN^a Me、またはデスアミノ(desamino)、または7個以下の炭素原子を有するアシル基であり、；Qは、R₁₇-R₁₈、R₁₈、またはデスQ(desQ)であり；R₁₇は、Met、Arg、Nle、Nva、Leu、Ala、またはD-Alaであり；R₁₈は、Ala、Ser、Ile、D-Ala、D-Ser、またはD-Ileであり；R₁₉は、Arg、Lys、またはGlnであり；R₂₀は、TyrまたはPheであり；R₂₁は、Tyr、Glu、His、またはAlaであり；R₂₂は、Ser、Ala、Thr、Asn、またはAspであり；R₂₃は、Ala、Asp、Glu、Gln、Asn、またはSerであり；R₂₅は、ArgまたはGlnであり；R₂₆は、His、Arg、またはGlnであり；R₂₇は、PheまたはTyrであり；R₂₈は、Ile、Leu、Val、またはArgであり；R₂₉は、AsnまたはIleであり；R₃₀は、Leu、Met、Thr、またはValであり；R₃₁は、Ile、Val、またはLeuであり；R₃₂は、ThrまたはPheであり；R₃₄は、Gln、ProまたはHisであり；R₃₆は、PheまたはTyrであり；かつ、Yは、NH₂またはOHであり；ただし、QがR₁₈の場合は、R₂₇とR₃₆の少なくとも1つはPheであるとする。NPYの類似体は、以下の：高血圧および心原性ショックの有効なシナプス後処置、急性心血管循環機能不全の処置、および、細胞内カルシウムの上昇、の用途を有する。米国特許第5,026,685号を参照のこと。

【0242】

特定の好ましいNPY類似体は、式：X-R₁₈-Arg-Tyr-Tyr-R₂₂-R₂₃-Leu-Arg-His-Tyr-R₂₈-Asn-Leu-R₃₁-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂、を有し、ここで、Xは、H、またはC^a Me、またはN^a Me、またはデスアミノ、または7個以下の炭素原子を有するアシル基であり；R₁₈は、AlaまたはSerであり；R₂₂は、SerまたはAlaであり；R₂₃は、AlaまたはSerであり；R₂₇は、PheまたはTyrであり；R₂₈は、IleまたはLeuであり；R₃₁は、IleまたはValであり；かつ、R₃₆は、PheまたはTyrであり；ただし、R₂₇とR₃₆の少なくとも1つはPheであるとする。米国特許第5,026,685号を参照のこと。

【0243】

他の考えられるNPY類似体は、式：

X-R₁₇-R₁₈-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-R₂₇-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-R₃₆-NH₂、

を有しており、ここで、R₁₇は、ArgまたはLeuであり、R₁₈は、Ser、またはAla、またはIleであり；かつ、X、R₂₇、およびR₃₆は、上に示したものである。

【0244】

さらに他の好ましいNPY類似体は、式：

X-R₁₈-Arg-Tyr-Tyr-Ala-Ser-Leu-R₂₅-His-R₂₇-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-R₃₆-NH₂、

を有しており、ここで、Xは、デスアミノ、またはC^a Me、またはN^a Meであり、かつ、R₁₈、R₂₅、R₂₇、およびR₃₆は、上に示したものである。

【0245】

このようなNPYアゴニストの例としては、以下のものが挙げられる。

【0246】

式：

H-Leu-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 217)、

を有する、pNPY (17-36)。

【 0 2 4 7 】

式：

H-Met-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 218)、

を有する、ペプチドhNPY (17-36)。

【 0 2 4 8 】

式：

H-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Phe-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 219)、

を有する、ペプチド[Phe²⁷]-NPY (18-36)。

【 0 2 4 9 】

式：

Ac-D-Ala-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 220)、

を有する、ペプチド[Ac-D-Ala¹⁷]-NPY (17-36)。

【 0 2 5 0 】

式：

H-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 221)、

を有する、ペプチドNPY (19-36)。

【 0 2 5 1 】

式：

H-Ile-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 222)、

を有する、ペプチド[Ile¹⁷]-NPY (17-36)。

【 0 2 5 2 】

式：

H-D-Ser-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 223)、

を有する、ペプチド[D-Ser¹⁸]-NPY (18-36)。

【 0 2 5 3 】

式：

H-Ala-Ala-Arg-Tyr-His-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 224)、

を有する、ペプチド[Ala¹⁷, His²¹]-NPY (17-36)。

【 0 2 5 4 】

式：

D-Ile-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 225)、

を有する、ペプチド[D-Ile¹⁸]-NPY (18-36)。

【 0 2 5 5 】

式：

Ac-Arg-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 226)、

を有する、ペプチド[Ac-Arg¹⁷]-NPY (17-36)。

【 0 2 5 6 】

式：

H-Gln-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 227)、

10

20

30

40

50

を有する、ペプチド[Gln¹⁹]-NPY (19-36)。

【 0 2 5 7 】

式：

H-Ala-Arg-Phe-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 228)、

を有する、ペプチド[Phe²⁰]-NpY (18-36)。

【 0 2 5 8 】

式：

H-C^a MeLeu-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 229)、

を有する、ペプチド[C^a MeLeu¹⁷]-pNPY (17-36)。

【 0 2 5 9 】

式：

H-N^a MeLeu-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 230)、

を有する、ペプチド[N^a MeLeu¹⁷]-pNPY (17-36)。

【 0 2 6 0 】

式：

デスアミノ-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 231)、

を有する、ペプチド[デスアミノ Ala¹⁸]-NpY (18-36)。

【 0 2 6 1 】

式：

For-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Glu-Leu-Arg-Arg-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 232)、

を有する、ペプチド[For-Ala¹⁸, Glu²³, Arg²⁶]-NPY (18-36)。

【 0 2 6 2 】

式：

H-Nva-Ala-Arg-Tyr-Ala-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 233)、

を有する、ペプチド[Nva¹⁷, Ala²¹, Leu²⁸]-NPY (17-36)。

【 0 2 6 3 】

式：

H-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Thr-Gln-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 234)、

を有する、ペプチド[Thr²², Gln²³]-NPY (18-36)。

【 0 2 6 4 】

式：

H-デスアミノ Leu-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Asn-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Val-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 235)、

を有する、ペプチド[デスアミノ Leu¹⁷, Asn²³, Val³⁰]-NPY (17-36)。

【 0 2 6 5 】

式：

H-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Asp-Ser-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Thr-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 236)、

を有する、ペプチド[Asp²², Ser²³, Thr³⁰]-NPY (18-36)。

【 0 2 6 6 】

式：

H-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Gln-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Leu-Thr-Arg-Pro-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 237)、

10

20

30

40

50

を有する、ペプチド[Gln²⁵, Leu³¹, Pro³⁴]-NPY (18-36)。

【 0 2 6 7 】

式：

H-Leu-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-Gln-Tyr-Arg-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 238)、

を有する、ペプチド[Gln² Phe³⁶]-NPY (17-36)。

【 0 2 6 8 】

式：

H-Arg-Tyr-Tyr-Ala-Ser-Leu-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 239)、

を有する、ペプチド[Phe³⁶]-pPYY (19-36)。

【 0 2 6 9 】

式：

H-Ser-Arg-Tyr-Tyr-Ala-Ser-Leu-Arg-His-Tyr-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 240)、

を有する、ペプチドpPYY (18-36)。

【 0 2 7 0 】

式：

Ac-Ser-Arg-Tyr-Tyr-Ala-Ser-Leu-Arg-His-Phe-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 241)、

を有する、ペプチド[Ac-Ser¹⁸, Phe²⁷]-pPYY (18-36)。

【 0 2 7 1 】

式：

H-Ile-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Asn-Ala-Leu-Arg-His-Phe-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 242)、

を有する、ペプチド[Ile¹⁷, Asn²², Phe²⁷]-NPY (17-36)。

【 0 2 7 2 】

式：

H-D-Ala-Arg-Tyr-Glu-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-His-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 243)、

を有する、ペプチド[D-Ala¹⁸, Glu²¹, His³⁴]-NPY (18-36)。

【 0 2 7 3 】

式：

Bz-Leu-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Pro-Arg-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 244)、

を有する、ペプチド[Bz-Leu¹⁷, Pro³⁴, Phe³⁶]-pNPY (17-36)。

【 0 2 7 4 】

式：

H-Ala-Lys-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Phe-Val-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 245)、

を有する、ペプチド[Lys¹⁹, Phe²⁷, Val²⁸]-NpY (18-36)。

【 0 2 7 5 】

式：

D-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Val-Asn-Leu-Ile-Phe-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 246)、

を有する、ペプチド[D-Ala¹⁷, Val²⁸, Phe³²]-NPY (17-36)。

【 0 2 7 6 】

式：

H-C^a MeSer-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Met-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 247)、

を有する、ペプチド[C^a MeSer¹⁸, Met³⁰, Phe³⁶]-NPY (18-36)。

【 0 2 7 7 】

式：

H-Arg-Ile-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Phe-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 248)、

を有する、ペプチド[Arg¹⁷, Ile¹⁸, Phe^{27, 36}]-NPY (17-36)。

【 0 2 7 8 】

式：

H-Leu-Ser-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Phe-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 249)、

を有する、ペプチド[Ser¹⁸, Phe²⁷]-pNPY (17-36)。

【 0 2 7 9 】

式：

N^a Melle-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Gln-His-Phe-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 250)、

を有する、ペプチド[N^a Melle¹⁸, Gln²⁵, Phe²⁷]-NPY (18-36)。

【 0 2 8 0 】

式：

H-D-Ser-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Phe-NH₂ (SEQ ID NO: 251)、

を有する、ペプチド[D-Ser¹⁸, Phe³⁶]-NPY (18-36)。

【 0 2 8 1 】

式：

H-Met-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Asp-Leu-Arg-Arg-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 252)、

を有する、ペプチド[Asp²³, Arg²⁶]hNPY (17-36)。

【 0 2 8 2 】

式：

H-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Glu-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Ile-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 253)、

を有する、ペプチド[Glu²³, Ile²⁹]-NPY (18-36)。

【 0 2 8 3 】

式：

D-Ala-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-OH (SEQ ID NO: 254)、

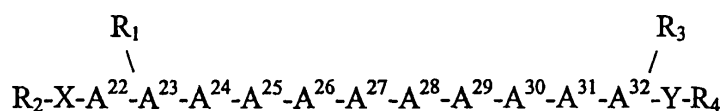
を有する、ペプチド[D-Ala¹⁷]-NPY(17-36)-OH。

【 0 2 8 4 】

他のペプチドYYアゴニストは、以下の式を有している。

【 0 2 8 5 】

【 化 1 】



【 0 2 8 6 】

ここで、

Xは、0-5 (両端の数を含む) アミノ酸鎖であり、この内のN-末端アミノ酸は、R₁とR₂に結合しており、

10

20

30

40

50

Yは、0-4（両端の数を含む）アミノ酸鎖であり、この内のC-末端アミノ酸は、 R_3 と R_4 に結合しており、

R_1 は、H、 C_1 - C_2 アルキル(例えば、メチル)、 C_6 - C_{18} アリール(例えば、フェニル、ナフタレンアセチル(napthaleneacetyl))、 C_1 - C_{12} アシル(例えば、ホルミル、アセチル、およびミリストイル(myristoyl))、 C_7 - C_{18} アラルキル(alkaryl)(例えば、ベンジル)、または C_7 - C_{18} アルカリール(alkaryl)(例えば、p-メチルフェニル)；

R_2 は、H、 C_1 - C_{12} アルキル(例えば、メチル)、 C_6 - C_{18} アリール(例えば、フェニル、ナフタレンアセチル)、 C_1 - C_{12} アシル(例えば、ホルミル、アセチル、およびミリストイル)、 C_7 - C_{18} アラルキル(例えば、ベンジル)、または C_7 - C_{18} アルカリール(例えば、p-メチルフェニル)；

A^{22} は、芳香族アミノ酸、Ala、Aib、Anb、N-Me-Alaであるか、または欠失しており；

A^{23} は、Ser、Thr、Ala、N-Me-Ser、N-Me-Thr、N-Me-Alaであるか、または欠失しており；

A^{24} は、Leu、Ile、Val、Trp、Gly、Aib、Anb、N-Me-Leuであるか、または欠失しており；

A^{25} は、Arg、Lys、ホモ-Arg、ジエチル-ホモ-Arg、Lys- $-NH-R$ （ここで、Rは、H、分岐鎖または直鎖 C_1 - C_{10} アルキル基、またはアリール基である）、Ornであるか、または欠失しており；

A^{26} は、His、Thr、3-Me-His、1-Me-His、 $-$ ピロゾリルアラニン($-$ pyroazolylalanine)、N-Me-His、Arg、Lys、ホモ-Arg、ジエチル-ホモ-Arg、Lys- $-NH-R$ （ここで、Rは、H、分岐鎖または直鎖 C_1 - C_{10} アルキル基、またはアリール基である）、Ornであるか、または欠失しており；

A^{27} は、Tyr以外の芳香族アミノ酸であり；

A^{28} は、Leu、Ile、Val、Trp、Aib、Anb、またはN-Me-Leuであり；

A^{29} は、Asn、Ala、Gln、Gly、Trp、またはN-Me-Asnであり；

A^{30} は、Leu、Ile、Val、Trp、Aib、Anb、またはN-Me-Leuであり；

A^{31} は、Val、Ile、Trp、Aib、Anb、またはN-Me-Valであり；

A^{32} は、Thr、Ser、N-Me-Ser、またはN-Me-Thrであり；

R_3 は、H、 C_1 - C_{12} アルキル(例えば、メチル)、 C_6 - C_{18} アリール(例えば、フェニル、ナフタレンアセチル)、 C_1 - C_{12} アシル(例えば、ホルミル、アセチル、およびミリストイル)、 C_7 - C_{18} アラルキル(例えば、ベンジル)、または C_7 - C_{18} アルカリール(例えば、p-メチルフェニル)；

R_4 は、H、 C_1 - C_{12} アルキル(例えば、メチル)、 C_6 - C_{18} アリール(例えば、フェニル、ナフタレンアセチル)、 C_1 - C_{12} アシル(例えば、ホルミル、アセチル、およびミリストイル)、 C_7 - C_{18} アラルキル(例えば、ベンジル)、または C_7 - C_{18} アルカリール(例えば、p-メチルフェニル)、またはこれらの製薬上許容可能な塩である。米国特許第5,574,010号を参照のこと。

【0287】

開示の方法において使用されるこの式の特定の好ましいアゴニストとしては、

N- $-$ Ala-Ser-Leu-Arg-His-Trp-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ ID NO: 255)が挙げられる。

【0288】

他のペプチドYYアゴニストは、以下の式を有している。

【0289】

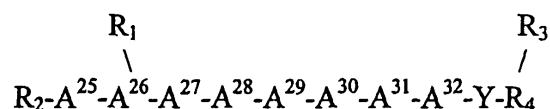
10

20

30

40

【化2】



【0290】

ここで、

N-末端アミノ酸は、 R_1 と R_2 に結合しており；

10

Y は、0-4 (両端の数を含む) アミノ酸鎖であり、この内のC-末端アミノ酸は、 R_3 と R_4 に結合しており；

R_1 は、H、 C_1 - C_{12} アルキル、 C_6 - C_{18} アリール、 C_1 - C_{12} アシル、 C_7 - C_{18} アラルキル、または C_7 - C_{18} アルカリールであり；

R_2 は、H、 C_1 - C_{12} アルキル、 C_6 - C_{18} アリール、 C_1 - C_{12} アシル、 C_7 - C_{18} アラルキル、または C_7 - C_{18} アルカリールであり；

A^{25} は、Arg, Lys, ホモ-Arg, ジエチル-ホモ-Arg, Lys- -NH-R (ここで、Rは、H、分岐鎖または直鎖 C_1 - C_{10} アルキル基、またはアリール基である)、Ornであるか、または欠失しており；

A^{26} は、Ala, His, Thr, 3-Me-His, 1-Me-His, -ピロゾリルアラニン, N-Me-His, Arg, Lys, ホモ-Arg, ジエチル-ホモ-Arg, Lys- -NH-R (ここで、Rは、H、分岐鎖または直鎖 C_1 - C_{10} アルキル基、またはアリール基である)、Ornであるか、または欠失しており；

20

A^{27} は、芳香族アミノ酸であり；

A^{28} は、Leu, Ile, Val, Trp, Aib, Anb, または N-Me-Leu であり；

A^{29} は、Asn, Ala, Gln, Gly, Trp, または N-Me-Asn であり；

A^{30} は、Leu, Ile, Val, Trp, Aib, Anb, または N-Me-Leu であり；

A^{31} は、Val, Ile, Trp, Aib, Anb, または N-Me-Val であり；

A^{32} は、Thr, Set, N-Me-Set, または N-Me-Thr、または D-Trp であり；

R_3 は、H、 C_1 - C_{12} アルキル、 C_6 - C_{18} アリール、 C_1 - C_{12} アシル、 C_7 - C_{18} アラルキル、または C_7 - C_{18} アルカリールであり；かつ、

30

R_4 は、H、 C_1 - C_{12} アルキル、 C_6 - C_{18} アリール、 C_1 - C_{12} アシル、 C_7 - C_{18} アラルキル、または C_7 - C_{18} アルカリール、またはこれらの製薬上許容可能な塩である。特に言及しない限り、ここに述べる全てのペプチド Y Y アゴニストでは、各アミノ酸残基、例えば、Leu および A^1 は、 $NH-C(R)H-CO-$ の構造を表しており、ここで、Rは、側鎖であることに留意のこと。アミノ酸残基間の線は、アミノ酸を結合させるペプチド結合を表している。また、アミノ酸残基が光学活性の場合は、D-体が特に指定されない限り、意図されているのは、L-体配置である。

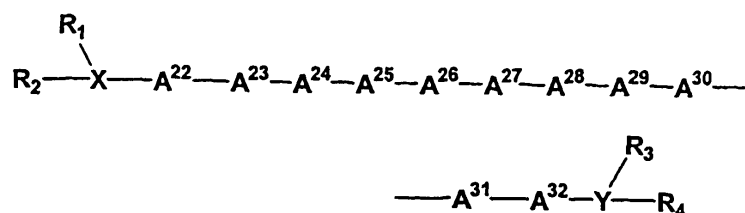
【0291】

他の PYY アゴニストは、以下の式を有している。

【0292】

40

【化3】



【0293】

50

ここで、

Xは、0-5（両端の数を含む）アミノ酸鎖であり、この内のN-末端アミノ酸は、 R_1 と R_2 に結合しており；

Yは、0-4（両端の数を含む）アミノ酸鎖であり、この内のC-末端アミノ酸は、 R_3 と R_4 に結合しており；

R_1 は、H、 C_1 - C_{12} アルキル（例えば、メチル）、 C_6 - C_{18} アリール（例えば、フェニル、ナフタレンアセチル）、 C_1 - C_{12} アシル（例えば、ホルミル、アセチル、およびミリストイル）、 C_7 - C_{18} アラルキル（例えば、ベンジル）、または C_7 - C_{18} アルカリール（例えば、p-メチルフェニル）であり；

R_2 は、H、 C_1 - C_{12} アルキル（例えば、メチル）、 C_6 - C_{18} アリール（例えば、フェニル、ナフタレンアセチル）、 C_1 - C_{12} アシル（例えば、ホルミル、アセチル、およびミリストイル）、 C_7 - C_{18} アラルキル（例えば、ベンジル）、または C_7 - C_{18} アルカリール（例えば、p-メチルフェニル）であり；

A^{22} は、芳香族アミノ酸、Ala、Aib、Anb、N-Me-Alaであるか、または欠失しており；

A^{23} は、Ser、Thr、Ala、Aib、N-Me-Ser、N-Me-Thr、N-Me-Alaであるか、または欠失しており；

A^{24} は、Ile、Val、Trp、Gly、Nle、Nva、Aib、Anb、N-Me-Leuであるか、または欠失しており；

A^{25} は、Arg、Lys、ホモ-Arg、ジエチル-ホモ-Arg、Lys-e-NH-R（ここで、Rは、H、分岐鎖または直鎖 C_1 - C_{10} アルキル基、またはアリール基である）、Ornであるか、または欠失しており；

A^{26} は、Ala、His、Thr、3-Me-His、1-Me-His、 β -ピロゾリルアラニン、N-Me-His、Arg、Lys、ホモ-Arg、ジエチル-ホモ-Arg、Lys-NH-R（ここで、Rは、H、分岐鎖または直鎖 C_1 - C_{10} アルキル基、またはアリール基である）、Ornであるか、または欠失しており；

A^{27} は、Tyr以外の芳香族アミノ酸であり；

A^{28} は、Leu、Ile、Val、Trp、Nle、Nva、Aib、Anb、またはN-Me-Leuであり；

A^{29} は、Asn、Ala、Gln、Gly、Trp、またはN-Me-Asnであり；

A^{30} は、Leu、Ile、Val、Trp、Nle、Nva、Aib、Anb、またはN-Me-Leuであり；

A^{31} は、Val、Leu、Ile、Trp、Nle、Nva、Aib、Anb、またはN-Me-Valであり；

A^{32} は、Thr、Ser、N-Me-Ser、N-Me-Thr、またはD-Trpであり；

R_3 は、H、 C_1 - C_{12} アルキル（例えば、メチル）、 C_6 - C_{18} アリール（例えば、フェニル、ナフタレンアセチル）、 C_1 - C_{12} アシル（例えば、ホルミル、アセチル、およびミリストイル）、 C_7 - C_{18} アラルキル（例えば、ベンジル）、または C_7 - C_{18} アルカリール（例えば、p-メチルフェニル）；かつ、

R_4 は、H、 C_1 - C_{12} アルキル（例えば、メチル）、 C_6 - C_{18} アリール（例えば、フェニル、ナフタレンアセチル）、 C_1 - C_{12} アシル（例えば、ホルミル、アセチル、およびミリストイル）、 C_7 - C_{18} アラルキル（例えば、ベンジル）、または C_7 - C_{18} アルカリール（例えば、p-メチルフェニル）、または、これらの製薬上許容可能な塩である。

【0294】

好ましい実施態様においては、 A^{27} は、Phe、Nal、Bip、Pcp、Tic、Trp、Bth、Thi、またはDipである。

【0295】

好ましい実施態様においては、Xは、 A^{17} - A^{18} - A^{19} - A^{20} - A^{21} であり、ここで、

A^{17} は、Cys、Leu、Ile、Val、Nle、Nva、Aib、Anb、またはN-Me-Leuであり；

A^{18} は、Cys、Ser、Thr、N-Me-Ser、またはN-Me-Thrであり；

A^{19} は、Arg、Lys、ホモ-Arg、ジエチル-ホモ-Arg、Lys-NH-R（ここで、Rは、H、分岐鎖または直鎖 C_1 - C_{10} アルキル基、または C_6 - C_{18} アリール基である）、Cys、またはOrnであり；

A^{20} は、芳香族アミノ酸、またはCysであり；かつ、

A^{21} は、芳香族アミノ酸、Cys、またはこれらの製薬上許容可能な塩である。さらに他の

10

20

30

40

50

好ましい実施態様においては、Yは、 A^{33} - A^{34} - A^{35} - A^{36} であり、ここで、

A^{33} は、Arg, Lys, ホモ-Arg, ジエチル-ホモ-Arg, Lys- -NH-R (ここで、Rは、H, 分岐鎖または直鎖 C_1 - C_{10} アルキル基、またはアリール基である), Cys, またはOrnであり;

A^{34} は、Cys, Gln, Asn, Ala, Gly, N-Me-Cln, Aib, またはAnbであり;

A^{35} は、Arg, Lys, ホモ-Arg, ジエチル-ホモ-Arg, Lys- -NH-R (ここで、Rは、H, 分岐鎖または直鎖 C_1 - C_{10} アルキル基、または C_6 - C_{18} アリール基である), Cys, またはOrnであり; かつ、

A^{36} は、芳香族アミノ酸, Cys, またはこれらの製薬上許容可能な塩である。米国特許第5,604,203号を参照のこと。

【0296】

10

特定の実施態様は、式： N - -Ac-Ala-Ser-Leu-Arg-His-Phe-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gin-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ. ID. NO: 325), H-Ala-Ser-Leu-Arg-His-Phe-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ. ID. NO: 326), N - -Ac-Ala-Ser-Leu-Arg-Thr-Arg-Gin-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ. ID. NO: 327), N - -Ac-Ala-Ser-Leu-Arg-His-Thi-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gin-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ. ID. NO: 328), N - -Ac-Tyr-Ser-Leu-Arg-His-Phe-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gin-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ. ID. NO: 329)、または製薬上許容可能な塩、を有する化合物を含む。

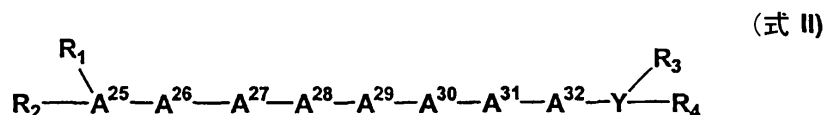
【0297】

他のPYYアゴニストは、以下の式を有している。

【0298】

20

【化4】



【0299】

ここで、

N-末端アミノ酸は、 R_1 と R_2 に結合されており; Yは、0-4 (両端の数を含む) アミノ酸鎖であり、この内のC-末端アミノ酸は、 R_3 と R_4 に結合しており;

30

R_1 は、H, C_1 - C_{12} アルキル(例えば、メチル), C_6 - C_{18} アリール(例えば、フェニル、ナフタレンアセチル), C_1 - C_{12} アシル(例えば、ホルミル、アセチル、およびミリストイル), C_7 - C_{18} アラルキル(例えば、ベンジル), または C_7 - C_{18} アルカリール(例えば、p-メチルフェニル)であり;

R_2 は、H, C_1 - C_{12} アルキル(例えば、メチル), C_6 - C_{18} アリール(例えば、フェニル、ナフタレンアセチル), C_1 - C_{12} アシル(例えば、ホルミル、アセチル、およびミリストイル), C_7 - C_{18} アラルキル(例えば、ベンジル), または C_7 - C_{18} アルカリール(例えば、p-メチルフェニル)であり;

A^{25} は、Arg, Lys, ホモ-Arg, ジエチル-ホモ-Arg, Lys- -NH-R (ここで、Rは、H, 分岐鎖または直鎖 C_1 - C_{10} アルキル基、またはアリール基である), Ornであるか、または欠失しており;

40

A^{26} は、Ala, His, Thr, 3-Me-His, 1-Me-His, -ピロゾリルアラニン, N-Me-His, Arg, Lys, ホモ-Arg, ジエチル-ホモ-Arg, Lys- -NH-R (ここで、Rは、H, 分岐鎖または直鎖 C_1 - C_{10} アルキル基、またはアリール基である), Ornであるか、または欠失しており;

A^{27} は、芳香族アミノ酸であり;

A^{28} は、Leu, Ile, Val, Trp, Nle, Nva, Aib, Anb, またはN-Me-Leuであり;

A^{29} は、Asn, Ala, Gln, Gly, Trp, またはN-Me-Asnであり;

A^{30} は、Leu, Ile, Val, Trp, Nle, Nva, Aib, Anb, またはN-Me-Leuであり;

A^{31} は、Val, Ile, Trp, Nle, Nva, Aib, Anb, またはN-Me-Valであり;

50

A³²は、Thr, Ser, N-Me-Ser, N-Me-Thr, またはD-Trpであり；

R₃は、H, C₁-C₁₂アルキル(例えば、メチル), C₆-C₁₈アリール(例えば、フェニル、ナフタレンアセチル), C₁-C₁₂アシル(例えば、ホルミル、アセチル、およびミリストイル), C₇-C₁₈アラルキル(例えば、ベンジル), またはC₇-C₁₈アルカリール(例えば、p-メチルフェニル)であり；かつ、

R₄は、H, C₁-C₁₂アルキル(例えば、メチル), C₆-C₁₈アリール(例えば、フェニル、ナフタレンアセチル), C₁-C₁₂アシル(例えば、ホルミル、アセチル、およびミリストイル), C₇-C₁₈アラルキル(例えば、ベンジル), またはC₇-C₁₈アルカリール(例えば、p-メチルフェニル), またはこれらの製薬上許容可能な塩である。米国特許第5,604,203号を参照のこと。

10

【0300】

特定の実施態様においては、A²⁷は、Phe, Nal, Bip, Pcp, Tic, Trp, Bth, Thi, またはDipである。

【0301】

特定の実施態様においては、Xは、A³³-A³⁴-A³⁵-A³⁶であり、ここで、

A³³は、Arg, Lys, ホモ-Arg, ジエチル-ホモ-Arg, Lys- -NH-R (ここで、Rは、H, 分岐鎖または直鎖C₁-C₁₀アルキル基, またはC₆-C₁₈アリール基である), Cys, またはOrnであり；

A³⁴は、Gln, Asn, Ala, Gly, N-Me-Gln, Aib, Cys, またはAnbであり；

A³⁵は、Arg, Lys, ホモ-Arg, ジエチル-ホモ-Arg, Lys- -NH-R (ここで、Rは、H, 分岐鎖または直鎖C₁-C₁₀アルキル基, またはC₆-C₁₈アリール基である), Cys, またはOrnであり；かつ、

20

A³⁶は、芳香族アミノ酸, Cys, またはこれらの製薬上許容可能な塩である。

【0302】

好ましくは、化合物は、式：

N- -Ac-Arg-His-Phe-Leu-Asn-Leu-Val-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂ (SEQ. ID. NO: 324)

を有する。

【0303】

例示的なPYYアゴニストとしては、以下のものが挙げられる。

30

【0304】

YPAKEAPGEDASPEELSTYYASLR [im-DNP-His²⁶] (SEQ ID NO: 256)

YLNLVTRZRY-NH₂

PYY(22-36)

ASLRHYLNLVTRQRY-NH₂

(SEQ ID NO: 257)

[Ala³²]PYY

ASLRHYLNLV[Ala]RQRY-NH₂

(SEQ ID NO: 258)

[Ala^{23,32}]PYY

A[Ala]LRHYLNLV[Ala]RQRY-NH₂

(SEQ ID NO: 259)

[Glu²⁸]PYY(22-36)

40

ASLRHY[Glu]NLVTRQRY-NH₂

(SEQ ID NO: 260)

N- -Ac-PYY(22-36)

N- -Ac-ASLRHYLNLVTRORY-NH₂

(SEQ ID NO: 261)

N- -Ac[p.CL.Phe²⁶]PYY

N- -Ac-ASLR[p.CL.Phe²⁶]YLNLVTRQRY-NH₂

(SEQ ID NO: 262)

N- -Ac[Glu²⁸]PYY

N- -Ac-ASLRHY[Glu]NLVTRQRY-NH₂

(SEQ ID NO: 263)

N- -Ac[Phe²⁷]PYY

N- -Ac-ASLRH[Phe]ENLVTRQR[N-Me-Tyr]-NH₂

(SEQ ID NO: 264)

N- -Ac]8N-Me-Tyr³⁶]PYY

50

N- -Ac-ASLRHYENLVTROR[N-Me-Tyr]-NH ₂	(SEQ ID NO: 265)	
N- -ミリストイル-PYY(2214 36)		
N- -ミリストイル-ASLRHYLNLVTRQRY-NH ₂	(SEQ ID NO: 266)	
N- -ナフタテンアセチル-PYY(22-36)		
N- -ナフタテンアセチル-ASLRHYLNLVTRQRY-NH ₂	(SEQ ID NO: 267)	
N- -Ac[Phe ²⁷]PYY		
N- -Ac-ASLRH[Phe]ENLVTROR[N-Me-Tyr]-NH ₂	(SEQ ID NO: 268)	
N- -Ac-PYY (22-36)		
N- -Ac-ASLRHYLNLVTRQRY-NH ₂	(SEQ ID NO: 269)	
N- -Ac-[Bth ²⁷]PYY (22-36)		10
N- -Ac-ASLRH[Bth]LNLVTRQRY-NH ₂	(SEQ ID NO: 270)	
N- -Ac-[Bip ²⁷]PYY (22-36)	(SEQ ID NO: 271)	
N- -Ac-ASLRH[Bth]LNLVTRQRY-NH ₂	(SEQ ID NO: 272)	
N- -Ac-[NaI ²⁷]PYY (22-36)		
N- -Ac-ASLRH[Bth]LNLVTRQRY-NH ₂	(SEQ ID NO: 273)	
N- -Ac-[Trp ²⁷]PYY (22-36)	(SEQ ID NO: 274)	
N- -Ac-ASLRH[Trp]LNLVTRQRY-NH ₂	(SEQ ID NO: 275)	
N- -Ac-[Thi ²⁷]PYY (22-36)		
N- -Ac-ASLRN[Thi]LNLVTRQRY-NH ₂	(SEQ ID NO: 276)	
N- -Ac-[Tic ²⁷]PYY (22-36)		20
N- -Ac-ASLRH[Tic]LNLVTRQRY-NH ₂	(SEQ ID NO: 277)	
N- -Ac-[Phe ²⁷]PYY (25-36)		
N- -Ac-H[Phe]LNLVTRQRY-NH ₂	(SEQ ID NO: 279)	
N- -Ac-[Phe ²⁷ , Thi ²⁷]PYY (22-36)		
N- -Ac-ASLRH[Phe]LNLVTRQR[Thi]-NH ₂	(SEQ ID NO: 280)	
N- -Ac-[Thz ²⁶ , Phe ²⁷]PYY (22-36)		
N- -Ac-ASLRH[Thz][Phe]LNLVTRQRY-NH ₂	(SEQ ID NO: 281)	
N- -Ac-[Phe ²⁷]PYY (22-36)		
N- -Ac-ASLRH[Thz][Phe]LNLVTRQRY-NH ₂	(SEQ ID NO: 282)	
N- -Ac-[Phe ²⁷]PYY (22-36)		30
N- -Ac-[Phe]SLRN[Phe]LNLVTRQRY-NH ₂	(SEQ ID NO: 289)	
N- -Ac-[Tyr ²² , Phe ²⁷]PYY (22-36)		
N- -Ac-[Tyr]SLRH[Phe]LNLVTRQRY-NH ₂	(SEQ ID NO: 290)	
N- -Ac-[Trp ²⁸]PYY (22-36)		
N- -Ac-ASLRHY[Trp]NLVTRQRY-NH ₂	(SEQ ID NO: 291)	
N- -Ac-[Trp ²⁸]PYY (22-36)		
N- -Ac-ASLRHYLN[Trp]VTRQRY-NH ₂	(SEQ ID NO: 292)	
N- -Ac-[Ala ²⁶ , Phe ²⁷]PYY (22-36)		
N- -Ac-ASLR[Ala][Phe]LNLVTRQRY-NH ₂	(SEQ ID NO: 293)	
N- -Ac-[Bth ²⁷]PYY (22-36)		40
N- -Ac-ASLR[Bth]LNLVTRQRY-NH ₂	(SEQ ID NO: 294)	
N- -Ac-[Phe ²⁷]PYY (22-36)		
N- -Ac-ASLRH[Phe]LNLVTRQRY-NH ₂	(SEQ ID NO: 295)	
N- -Ac-[Phe ²⁷ , ³⁶]PYY (22-36)		
N- -Ac-ASLRH[Phe]LNLVTRQR[Phe]-NH ₂	(SEQ ID NO: 296)	
N- -Ac-[Phe ²⁷ , D-Trp ³²]PYY (22-36)		
N- -Ac-ASLRH[Phe]LNLV[D-Trp]RQRY-NH ₂	(SEQ ID NO: 297)。	

【 0 3 0 5 】

他の P Y Y アゴニストとしては、式：

X1(-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14)_n-X15、

を有する神経親和性(neurophilic) Y Y2 受容体特異的ペプチドが挙げられ、ここで、
 X1は、NH、CH₃CO、あるいは、1つまたは2つの天然に生じるアミノ酸であり、
 X2は、Leu、Ile、またはValであり、
 X3は、Arg、Lys、またはHisであり、
 X4は、His、Lys、またはArgであり、
 X5は、TyrまたはPheであり、
 X6は、Leu、IleまたはValであり、
 X7は、AsnまたはGlnであり、
 X8は、Leu、Ile、またはValであり
 X9は、Leu、Ile、またはValであり
 X10は、ThrまたはSerであり、
 X11は、Arg、His、またはLysであり、
 X12は、GlnまたはAsnであり、
 X13は、Arg、His、またはLysであり、
 X14は、TyrまたはPheであり、
 X15は、COOH、NH₂、あるいは、末端アミノ酸が標準またはカルボキシアミド(carboxamide)形態である1つまたは2つの天然に生じるアミノ酸であり、；かつ、
 nは、1から5である。米国特許第5,696,093号を参照のこと。

10

【0306】

例示的なアゴニストとしては、

20

CH₃CO-L-R-H-Y-L-N-L-L-T-R-Q-R-Y-NH₂ (SEQ ID NO: 298)

CH₃CO-L-R-H-Y-I-N-L-I-T-R-Q-R-Y-NH₂ (SEQ ID NO: 299)

NH₂-L-R-H-Y-L-N-L-L-T-R-Q-R-Y-NH₂ (SEQ ID NO: 300)

NH₂-L-R-H-Y-I-N-L-I-T-R-Q-R-Y-NH₂ (SEQ ID NO: 301)

が挙げられる。

【0307】

他のPYYアゴニストは、式：

N- -R¹ -[Nle^{24,28,30}, Trp²⁷, Nva³¹, ^{35/36}]PYY(22-36)-NH₂,

N- -R¹ -[Nle^{24,28}, Trp^{27,30}, Nva³¹, ^{35/36}]PYY(22-36)-NH₂,

N- -R¹ -[Nle^{24,28,30}, Phe²⁷, Nva³¹, ^{35/36}]PYY(22-36)-NH₂,

30

N- -R¹ -[Nle^{24,28}, Phe²⁷, Trp³⁰, Nva³¹, ^{35/36}]PYY(22-36)-NH₂,

N- -R¹ -[Trp³⁰, ^{35/36}]PYY(25-36)-NH₂,

N- -R¹ -[Trp³⁰]PYY(25-36)-NH₂,

N- -R¹ -[Nle^{24,28}, Trp³⁰, Nva³¹, ^{35/36}]PYY(22-36)-NH₂ および、

N- -R¹ -[Nle²⁸, Trp³⁰, Nva³¹, ^{35/36}]PYY(22-36)-NH₂、またはこれらの製薬上許
 容可能な塩を有しており、ここで、

R¹は、H、(C₁-C₁₂)アルキル、または(C₁-C₁₂)アシルであり；かつ、

は、--CH₂--NH--、--CH₂--S--、--CH₂--CH₂--、--CH₂--O--、および--CH₂--
 CO--、から成る群より選択される擬似ペプチド(pseudopeptide)結合である。米国特許第
 6,046,162号を参照のこと。

40

【0308】

すぐ上の群の化合物の特定の化合物は、R¹が、アセチルであり、かつ、
 が、--CH₂--NH--である。

【0309】

特定の群の化合物は、

N- -Ac-[Nle^{24,28,30}, Trp²⁷, Nva³¹, ^{35/36}]PYY(22-36)-NH₂, (SEQ ID NO: 302)

N- -Ac-[Nle^{24,28}, Trp^{27,30}, Nva³¹, ^{35/36}]PYY(22-36)-NH₂, (SEQ ID NO: 303)

N- -Ac-[Nle^{24,28,30}, Phe²⁷, Nva³¹, ^{35/36}]PYY(22-36)-NH₂, (SEQ ID NO: 304)

N- -Ac-[Nle^{24,28}, Phe²⁷, Trp³⁰, Nva³¹, ^{35/36}]PYY(22-36)-NH₂, (SEQ ID NO: 305)

50

N- -Ac-[Trp³⁰, ^{35/36}]PYY(25-36)-NH₂, (SEQ ID NO: 306)
 N- -Ac-[Trp³⁰]PYY(25-36)-NH₂ (SEQ ID NO: 307) および、
 N- -Ac-[Nle²⁸, Trp³⁰, Nva³¹, ^{35/36}]PYY(22-36)-NH₂, (SEQ ID NO: 308)、または
 はこれらの製薬上許容可能な塩、
 から成る群より選択される。

【0310】

別の特定の化合物は、式： N- -Ac-[Nle^{24,28}, Trp³⁰, Nva.sup.³¹, ^{35/36}]PYY(22-36)-NH₂ (Seq. Id. No: 309) またはこれらの製薬上許容可能な塩である。

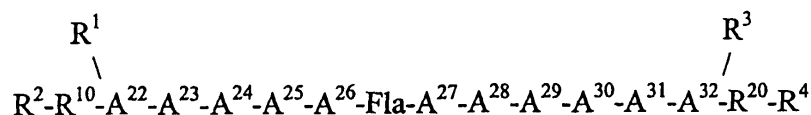
【0311】

別の P Y Y アゴニストは、式(A)を有している。

10

【0312】

【化5】



【0313】

これは、1つまたは2つの擬似ペプチド結合を有しており、各擬似ペプチド結合は、--CH₂--NH--、--CH₂--S--、--CH₂--CH₂--、--CH₂--O-- および -CH₂--CO-- から成る群より独立に選択され；ここで、

20

R¹⁰は、0-5（両端の数を含む）アミノ酸鎖であり、N-末端アミノ酸は、N-末端アミノ酸の側鎖により、または、N-末端アミノ酸のアミノ基の窒素により、R¹とR²に結合しており；

R²⁰は、0-4（両端の数を含む）アミノ酸鎖であり、C-末端アミノ酸は、C-末端アミノ酸の側鎖により、またはC-末端アミノ酸のカルボキシル基の炭素により、R³とR⁴に結合しており；

R¹, R², R³およびR⁴は、H, (C₁-C₁₂)アルキル, (C₆-C₁₈)アリール, (C₁-C₁₂)アシル, フェニル(C₁-C₁₂)アルキル、および((C₁-C₁₂)アルキル)₁₋₅-フェニルから成る群よりそれぞれ独立に選択され；

30

A²²は、芳香族アミノ酸, Ala, Aib, Anb, N-Me-Alaであるか、または欠失しており；

A²³は、Ser, Thr, Ala, N-Me-Ser, N-Me-Thr, N-Me-Alaであるか、または欠失しており；

A²⁴は、Leu, Ile, Nle, Val, Trp, Gly, Aib, Anb, N-Me-Leuであるか、または欠失しており；

A²⁵は、Arg, Lys, ホモ-Arg, ジエチル-ホモ-Arg, Lys-p -NH-Z, Ornであるか、または欠失しており；

A²⁶は、His, Thr, 3-Me-His, 1-Me-His, -ピラゾリルアラニン(-pyrazolylalanine), N-Me-His, Arg, Lys, ホモ-Arg, ジエチル-ホモ-Arg, Lys- -NH-Z, Ornであるか、または欠失しており；

40

A²⁸は、Leu, Ile, Nle, Val, Trp, Aib, Anb、またはN-Me-Leuであり；

A²⁹は、Asn, Ala, Gln, Gly, Trp、またはN-Me-Asnであり；

A³⁰は、Leu, Ile, Nle, Fla, Val, Trp, Aib, Anb、またはN-Me-Leuであり；

A³¹は、Val, Nva, Ile, Trp, Aib, Anb、またはN-Me-Valであり；かつ、

A³²は、Thr, Ser, N-Me-Ser、またはN-Me-Thrであり；

ここで、各発生に対するZは、H, (C₁-C₁₀)アルキル、および(C₆-C₁₈)アリール；またはこれらの製薬上許容可能な塩から成る群より独立に選択される。米国特許第6,046,167号を参照のこと。

【0314】

50

すぐ上の群の化合物の特定の群の化合物は、 R^{10} が、 A^{17} - A^{18} - A^{19} - A^{20} - A^{21} であり、ここで、

A^{17} は、Cys, Leu, Ile, Val, Nle, Nva, Aib, Anb、またはN-Me-Leuであり；

A^{18} は、Cys, Ser, Thr, N-Me-Ser、またはN-Me-Thrであり；

A^{19} は、Arg, Lys, ホモ-Arg, ジエチル-ホモ-Arg, Lys- -NH-R^{sup.5}, Cys、またはOrnであり；

A^{20} は、芳香族アミノ酸またはCysであり；

A^{21} は、芳香族アミノ酸またはCysであり；

R^{20} は、 A^{33} - A^{34} - A^{35} - A^{36} であり、

A^{33} は、Arg, Lys, ホモ-Arg, ジエチル-ホモ-Arg, Lys- -NH-R⁵, Cys、またはOrnであり；

A^{34} は、Cys, Gln, Asn, Ala, Gly, N-Me-Gln, Aib、またはAnbであり；

A^{35} は、Arg, Lys, ホモ-Arg, ジエチル-ホモ-Arg, Lys- -NH-R⁵, Cys、またはOrnであり；かつ、

A^{36} は、芳香族アミノ酸またはCysであり；

ここで、各発生に対する R^5 は、 H_1 (C_1 - C_{10})アルキル、および(C_6 - C_{18})アリールから成る群より独立に選択される。

【0315】

上の群の化合物の特定の群の化合物は、式N- -Ac-[Fla²⁷)]PYY(25-36)-NH₂およびN-Ac-[Fla²⁷)]PYY(22-36)-NH₂ またはこれらの製薬上許容可能な塩の化合物である。

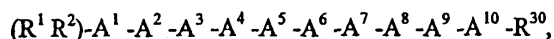
【0316】

別の群のPYYアゴニストは、以下の式、または、これらの製薬上許容可能な塩を有しており、ここで、 - - - は、結合して示されたアミノ酸間の随意の結合を示している。

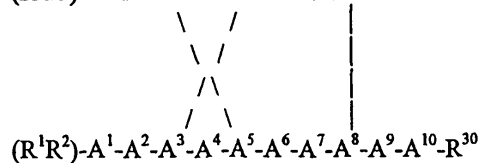
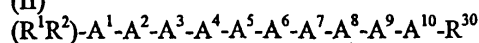
【0317】

【化6】

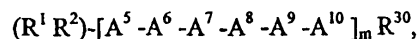
(I)



(II)



(III)

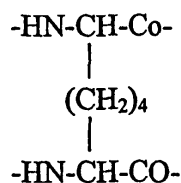


【0318】

ここで、各結合は、結合されたアミノ酸がCys-Cysのときのみ--S--S--、-CO-NH-、-CH₂-NH-、および、以下の式から成る群より独立に選択される。

【0319】

【化 7】



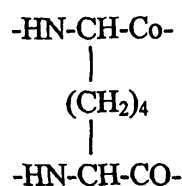
【 0 3 2 0 】

10

但し、随意の結合が、以下の式のと看は、それが、随意の結合が結合されている 2 つのアミノ酸を置換するものであるとの条件であり；qは、1-4であり；mは、1から4であり。

【 0 3 2 1 】

【化 8】



20

【 0 3 2 2 】

R^{30} は、OHまたは-O- R^1 であり、但し、 A^1 から A^7 が欠失するときは、そして R^{30} もNH- R^1 になるとの条件であり、ここで、 R^{30} は、C-末端アミノ酸のカルボキシルの炭素原子に結合しており；

各発生に対する R^1 および R^2 は、H、 $(C_1 - C_{12})$ アルキル、 $(C_6 - C_{18})$ アリール、 $(C_1 - C_{12})$ アシル、フェニル $(C_1 - C_{12})$ アルキル、および $((C_1 - C_{12})$ アルキル) $_{1-5}$ -フェニルから成る群より独立にそれぞれ選択され、ここで、 R^1 および R^2 は、N-末端アミノ酸のアミンの窒素に結合しており；

A^1 は、欠失しているか、あるいは、D-またはL-の以下のアミノ酸：Trp, Tyr, Fla, Bth, Nal, Tic, Tic-OH, Dip, Bip、または随意に置換されたPheであり、ここで、Pheは、 $(C_1 - C_4)$ アルキル、ハロ、 $(C_1 - C_4)$ アルコキシ、アミノ、およびニトロから成る群より選択された 1 から 5 個の置換基で随意に置換されており；

30

A^2 は、欠失しているか、あるいは、D-またはL-の以下のアミノ酸：Ile, Val, Leu, Nle, Anb, Aib, Pro, Gln、またはAsnであり；

A^3 は、欠失しているか、あるいは、D-またはL-の以下のアミノ酸：Asn, Gln, Glu, Asp, Orn, Lys, Dpr、またはCysであり；

A^4 は、欠失しているか、あるいは、D-またはL-の以下のアミノ酸：Ile, Val, Leu, Nle, Anb, Aib、またはProであり；

A^5 は、欠失しているか、あるいは、D-またはL-の以下のアミノ酸：Ile, Val, Leu, Nle, Anb, Aib, Pro, Glu, Asp, Orn, Lys, Dpr、またはCysであり；

40

A^6 は、欠失しているか、あるいは、D-またはL-の以下のアミノ酸：Thr, Ser, Trp, Tyr, Fla, Bth, Nal, Tic, Tic-OH, Dip, Bip、または随意に置換されたPheであり、ここで、Pheは、 $(C_1 - C_4)$ アルキル、ハロ、 $(C_1 - C_4)$ アルコキシ、アミノ、およびニトロから成る群より選択された 1 から 5 個の置換基で随意に置換されており；

A^7 は、欠失しているか、あるいは、D-またはL-の以下のアミノ酸：Arg, Lys, ホモ-Arg, ジアルキル-ホモ-Arg, Lys- -NH- R^7 、またはOrnであり；

A^8 は、欠失しているか、あるいは、D-またはL-の以下のアミノ酸：Nva, Val, Ile, Leu, Nle, Anb, Aib, Pro, Gln, Asn, Glu, Asp, Orn, Lys, Dpr、またはCysであり；

A^9 は、欠失しているか、あるいは、D-またはL-の以下のアミノ酸：Arg, Lys, ホモ-Arg

50

、ジアルキル-ホモ-Arg, Lys- -NH-R⁷、またはOrnであ；かつ、

A¹⁰は、欠失しているか、あるいは、D-またはL-の以下のアミノ酸：Tyr, Trp, Fla, Bth, Nal, Tic, Tic-OH, Dip, Bip, チラミン、または随意に置換されたPheであり、ここで、Pheは、(C₁ -C₄)アルキル、ハロ、(C₁ -C₄)アルコキシ、アミノ、およびニトロから成る群より選択された1から5個の置換基で随意に置換されており、あるいは、対応する脱炭酸(decarboxylated)された随意に置換されたPheであり；

ここで、各発生に対するR⁷は、H.sub.1 (C₁ -C₁₀)アルキル、および(C₆ -C₁₈)アリールから成る群より独立に選択され、但し、A₁からA₁₀の全てが同時には欠失しないとの条件である。米国特許第6,046,167号を参照のこと。

【0323】

10

すぐ上の群の化合物の特定の群の化合物は、以下の式、または、これらの製薬上許容可能な塩である。

【0324】

(SEQ ID NO: 310)

H--Ile--Asn--Pro--Ile--Tyr--Arg--Leu--Arg-Tyr--OMe。

【0325】

(SEQ ID NO: 311)

H--Ile--Asn--Pro--Cys--Tyr--Arg--Leu--Arg--Tyr - Ome

|

H--Ile--Asn--Pro--Cys--Tyr--Arg--Leu--Arg--Tyr--Ome。

20

【0326】

(SEQ ID NO: 312)

H--Cys--Tyr--Arg--Leu--Arg--Tyr - Ome

|

H--Cys--Tyr--Arg--Leu--Arg--Tyr--Ome。

【0327】

(SEQ ID NO: 313)

H--Ile--Asn--Pro--NH--CH--CO--Tyr--Arg--Leu--Arg--Tyr--OMe

|

(CH₂)₄

|

H--Ile--Asn--Pro--NH--CH--CO--Tyr--Arg--Leu--Arg--Tyr--OMe。

30

【0328】

(SEQ ID NO: 314)

H-[Tyr-Arg-Leu-Arg-Tyr]₂ -Ome。

【0329】

PYYおよびPYYアゴニストは、組換えDNA技術によって、化学合成によって、天然資源から、またはこれらの任意の組み合わせによって、製造できる。PYYおよびPYYアゴニストは、アミド化、グリコシル化、アシル化(例えば、アセチル化)、硫酸化(sulfation)、リン酸化(phosphorylation)、環化、脂質化(lipidization)、およびベジル化(pegylation)などのよく知られた処理により修飾できる。スルフィド含有化合物の脂肪酸誘導体を用いた脂質化の方法は、米国特許第5,936,092号；米国特許第6,093,692号；および米国特許第6,225,445号に開示されている。ジスルフィド結合を有する脂肪酸複合体化(conjugated)生成物を含むスルフィド含有PYYおよびPYYアゴニストの脂肪酸誘導体は、ニューロン細胞および組織へのPYYおよびPYYアゴニストの供給のために使用される。この修飾は、化合物の吸収を、非複合体(unconjugated)化合物の吸収速度に対して著しく増加するばかりでなく、化合物の血液および組織保持を延ばす。さらに、複合体(conjugate)内のジスルフィド結合は、細胞内で非常に不安定であり、従って、脂肪酸部分(moieties)から元のままの(intact)化合物の細胞内放出を容易にする。

40

50

【 0 3 3 0 】

脂肪酸は、リン脂質の成分として、細胞膜の大部分を形成する。その脂質の性質に起因して、毒性のない仕方で容易に細胞膜内に分割しかつ細胞膜と相互作用できる。従って、脂肪酸は、潜在的にタンパク質およびペプチドの供給のための有用な担体リガンドとなる。タンパク質およびペプチドの供給に脂肪酸を使用し得るという戦略は、タンパク質およびペプチドの共有結合(covalent)修飾、および脂肪酸乳濁液を含む。

【 0 3 3 1 】

そのような複合体を調製するために、スルフヒドリル含有 P Y Y および P Y Y アゴニストは、可逆性の生分解性ジスルフィド結合を介して脂肪酸誘導体に結合される。そのような複合体は、細胞膜の頂端(apical)側に結合し、膜輸送および代謝回転(turnover)の結果として G I - 上皮組織(epithelium)の側底側に到達し、ジスルフィド結合の還元の結果として間質液(interstitial fluid)内に放出される、ことが予想される。

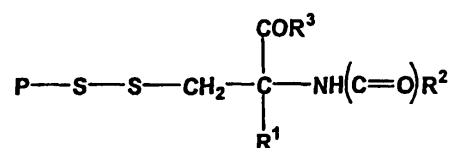
10

【 0 3 3 2 】

そのような脂質化された P Y Y および P Y Y アゴニスト化合物は、以下の一般式を有している。

【 0 3 3 3 】

【 化 9 】



20

【 0 3 3 4 】

ここで、Pは、PYYまたはPYYアゴニストから誘導される残基であり；R¹は、水素、低級アルキル、またはアリールであり；R²は、脂質含有部分であり、R³は、--OH，脂質含有部分、あるいは、1または2個のアミノ酸を含み-CO₂Hまたは-COR²が末端となっているアミノ酸鎖である。米国特許第5,936,092号を参照のこと。これらの複合体は、吸収を増加しかつPYYおよびPYYアゴニストの血液および組織保持を延ばすのに特に有用である。

30

【 0 3 3 5 】

通常のアルキル基としては、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、2-ペンチル、3-ペンチル、ネオペンチル、ヘキシル、2-ヘキシル、3-ヘキシル、2-メチル-1-ペンチル、3-メチル-1-ペンチル、4-メチル-1-ペンチルなどを含むC₁₋₆アルキル基が挙げられる。

【 0 3 3 6 】

好ましいアリール基は、C₆₋₁₄アリール基であり、通常は、フェニル、ナフチル、フルオレニル、フェナントリル、およびアントラシル(anthracyl)基が挙げられる。

40

【 0 3 3 7 】

「脂質含有部分」という用語は、脂質基それ自体か、または、脂質基を含む炭化水素に基づく基（特に、1つまたは複数のアミノ酸）のことを言う。「脂質基」という用語は、4から26個の炭素原子、好ましくは、5から19個の炭素原子を含む疎水性置換基を意味する。適切な脂質基としては、限定される訳ではないが、以下の：パルミチル(C₁₅H₃₁)，オレイル(C₁₅H₂₉)，ステアリル(C₁₇H₃₅)，コール酸塩；およびデオキシコール酸塩が挙げられる。

【 0 3 3 8 】

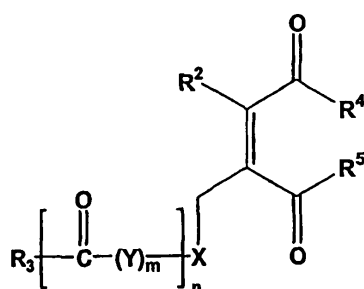
PCT出願第WO 00/34236号には、薬物担体複合体およびこれらの製造のための合成戦略、さらには、合成方法、中間体、および生理活性アミノ酸含有化合物の摂取

50

および放出に有用な最終生成物が記載されている。そのような脂質化された P Y Y および P Y Y アゴニスト化合物は、以下の一般式 I を有する。

【 0 3 3 9 】

【 化 1 0 】



10

【 0 3 4 0 】

ここで、R²は、水素、ハロ、アルキル、またはアリールから成る群より選択され、ここで、アルキルまたはアリール基は、1つまたは複数のアルコキシ、アルコシアルキル、アルカノイル、ニトロ、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アルカノイルオキシ、アルキル、またはハロゲン原子で随意に置換されており；

R³は、親油基であり；R⁴およびR⁵の一方は、P Y Y または P Y Y アゴニストであり、R⁴およびR⁵の他方は、OR⁶であり、ここで、R⁶は、水素、アルカリ金属、または負電荷であり；

20

Xは、酸素または硫黄であり；

Yは、架橋の天然または非天然(unnatural)アミノ酸であり；nは、零または1であり；かつ、mは、零から10の整数である。

【 0 3 4 1 】

通常のアシル基としては、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、2-ペンチル、3-ペンチル、ネオペンチル、ヘキシル、2-ヘキシル、3-ヘキシル、2-メチル-1-ペンチル、3-メチル-1-ペンチル、4-メチル-1-ペンチルなどを含むC₁₋₆アシル基が挙げられる。

30

【 0 3 4 2 】

通常のアシル基は、上述したアシル基のいずれかにより置換された酸素を含む。

【 0 3 4 3 】

通常のアシルアルキル基は、メトキシメチル、エトキシメチル、プロポキシメチル、ブトキシメチル、ペントキシ(pentoxo)メチル、ヘキソキシ(hexoxy)メチル、メトキシエチル、メトキシプロピル、メトキシブチル、メトキシペンチル、メトキシヘキシルなどといった、アシル基により置換された、上述のアシル基のいずれかを含む。

【 0 3 4 4 】

好ましいアリール基は、C₆₋₁₄アリール基であり、通常は、フェニル、ナフチル、フルオレニル、フェナントリル、およびアントラシル基が挙げられる。

40

【 0 3 4 5 】

通常のアシル置換アリール基としては、例えば、3-メトキシフェニル、2-エトキシフェニルなどといった、上述したアシル基の1つまたは複数により置換された、上述したアリール基が挙げられる。

【 0 3 4 6 】

通常のアシル置換アリール基としては、例えば、トリル、o-, m-, およびp-キシリル、エチルフェニル、1-プロピルフェニル、2-プロピルフェニル、1-ブチルフェニル、2-ブチルフェニル、t-ブチルフェニル、1-ペンチルフェニル、2-ペンチルフェニル、3-ペンチルフェニルなどといった、基Ph(CH₂)_n,但しnは1-6である,を含む、C₁₋₆アシル基のいずれかにより置換された、上述したアリール基のいずれかが挙げられる。

50

【0347】

通常のアルケニル基としては、例えば、エテニル、2-プロペニル、イソプロペニル、2-ブテニル、3-ブテニル、4-ペンテニル、3-ペンテニル、2-ペンテニル、5-ヘキセニル、4-ヘキセニル、3-ヘキセニル、および2-ヘキセニル基などといった、 C_{2-6} アルケニル基が挙げられる。

【0348】

通常のアルキニル基としては、例えば、エチニル、2-プロペニル(2-propenyl)、2-ブチニル、3-ブチニル、4-ペンチニル、3-ペンチニル、2-ペンチニル、5-ヘキシニル、4ヘキシニル、3-ヘキシニル、および2-ヘキシニル基などといった、 C_{2-6} アルキニル基が挙げられる。

10

【0349】

通常のアルケニルまたはアルキニル置換アリール基としては、エテニルフェニル、1-プロペニルフェニル、2-プロペニルフェニル、1ブテニルフェニル、2-ブテニルフェニル、1-ペンテニルフェニル、2-ペンテニルフェニル、3-ペンテニルフェニル、1-ヘキセニルフェニル、2-ヘキセニルフェニル、3-ヘキセニルフェニル、エチニルフェニル、1-プロピニルフェニル、2-プロピニルフェニル、1-ブチニルフェニル、2-ブチニルフェニル、1-ペンチニルフェニル、2-ペンチニルフェニル、3-ペンチニルフェニル、1-ヘキシニルフェニル、2-ヘキシニルフェニル、3-ヘキシニルフェニル基などといった、上述した C_{2-6} アルケニルまたは C_{2-6} アルキニル基のいずれかにより置換された、上述した C_{6-14} アリール基のいずれかが挙げられる。

20

【0350】

通常ハロゲン基としては、フッ素、塩素、臭素、およびヨウ素が挙げられる。

【0351】

通常ハロゲン置換アルキル基としては、例えば、フルオロメチル、ジフルオロメチル、トリフルオロメチル、ペンタフルオロエチル、1,1-ジフルオロエチル、およびトリクロロメチル基などといった、1つまたは複数のフッ素、塩素、臭素、またはヨウ素原子により置換された C_{1-6} アルキル基が挙げられる。

【0352】

通常のアルカノイル基としては、例えば、アセチル、プロピオニル、ブタノイル、ペンタノイル、およびヘキサノイル基などといった $C_{1-5}C(=O)$ -アルカノイル基が挙げられ、あるいは、例えば、上述したアリール基のいずれかにより置換された、 $C_{1-5}C(=O)$ -アルカノイル基などといったアリールアルカノイル基によるものが挙げられる。

30

【0353】

通常シクロアルキル基としては、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、およびシクロオクチル基を含む C_{3-8} シクロアルキル基が挙げられる。

【0354】

ここで使用される「親油基」という用語は、天然に生成する脂質それ自体、約4から約26個の炭素原子、好ましくは約5から約19個の炭素原子を含む疎水性の枝分かれしたまたは枝分かれしていない炭化水素、脂肪酸またはそのエステル、あるいは界面活性剤のことを言う。適切な親油基としては、限定される訳ではないが、パルミチル($C_{15}H_{31}$)、オレイル($C_{15}H_{29}$)、ステアシル($C_{17}H_{35}$)、ラウリル($C_{11}H_{23}$)、コリル(cholyl)、およびミリスチル($C_{13}H_{27}$)を含む長鎖アルカノイル基が挙げられる。

40

【0355】

ここで使用される「天然または非天然のアミノ酸」という用語は、21の天然に生成するアミノ酸のいずれかばかりでなく、D型アミノ酸、アミド化またはアシル化によりブロック(blocked)されたものなどといったブロックされたL型およびD型アミノ酸、置換によりアミノ酸内に立体配座の束縛が導入された置換されたアミノ酸(例えば、立体障害のあるアルキル基あるいはシクロプロピルまたはシクロブチルなどのシクロアルキル基で置換されたもの)のことを言う。本開示においてアミノ酸あるいはペプチドまたはタンパク

50

質の成分として使用するための好ましい天然に生成するアミノ酸は、アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、シトルリン、システイン、シスチン、 γ -グルタミン酸(γ -glutamic acid)、グルタミン、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ノルロイシン、ロイシン、リシン、メチオニン、オルニチン、フェニルアラニン、プロリン、ヒドロキシプロリン、セリン、トレオニン、トリプトファン、チロシン、バリン、 α -カルボキシグルタミン酸塩(α -carboxyglutamate)、またはO-ホスホセリンである。本開示においてアミノ酸あるいはペプチドまたはタンパク質の成分として使用するための好ましい非天然生成アミノ酸は、例えば、 α -アラニン、 α -アミノ酪酸、 β -アミノ酪酸、 α -(α -フェニル)酪酸、 α -アミノイソ酪酸、 α -アミノカプロン酸、7-アミノヘプタン酸、アミノ安息香酸、アミノフェニル酢酸、アミノフェニル酪酸、システイン(ACM)、メチオニンスルホン、フェニルグリシン、ノルバリン、オルニチン、 α -オルニチン、 α -ニトロフェニルアラニン、1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸、およびチオプロリン(thioprolin)などの、 α -アミノ酸のいずれかである。

【0356】

また、本開示は、PYYおよびPYYアゴニストの脂質化された複合体を調製する方法、PYYおよびPYYアゴニストの脂質化された複合体を含む製薬組成物、および細胞内へのアミノ基含有PYYおよびPYYアゴニストの供給を増加する方法に向けられている。

【0357】

また、開示によって、PYYおよびPYYアゴニストの化学的に修飾された誘導体が、提供され、この誘導体は、ポリペプチドの向上した溶解性、安定性、および循環時間、あるいは低下した免疫原性(米国特許第4,179,337号を参照のこと)などの付加的な利点を提供し得る。そのような修飾された誘導体は、ペジル化(pegylation)により修飾されたPYYおよびPYYアゴニストを含む。「ペジル化される(pegylated)」および「ペジル化」という用語は、アミノ酸、例えばリシン、などといった促進剤(facilitator)を用いて、ポリ(アルキレングリコール)を反応させる、好ましくは、ポリ(アルキレングリコール)を活性化させて、共有結合を形成する処理のことを言う。「ペジル化」は、一般に、ポリ(エチレングリコール)、またはメトキシポリ(エチレングリコール)などといったその誘導体を用いて実行されるけれども、用語は、ここではそのように限定されることを意図していず、例えばポリ(プロピレングリコール)などといった任意の他の有用なポリ(アルキレングリコール)を含むことを意図している。

【0358】

また、誘導体化(derivitization)のための化学的部分は、ポリエチレングリコール、エチレングリコール/プロピレングリコール共重合体、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコールなどの水溶性重合体から選択され得る。ポリペプチドは、分子内の任意の位置において、または分子内の予め決められた位置において修飾され得るし、1つ、2つ、3つ、またはそれを上回る結合された化学的部分を含み得る。

【0359】

高分子は、任意の分子量とすることができ、また、枝分かれするもの、あるいは枝分かれしていないもの、とすることができる。ポリエチレングリコールでは、取り扱いおよび製造を容易にするには、好ましい分子量は、約1kDaと約100kDaの間である(「約」という用語は、ポリエチレングリコールの調製において、いくつかの分子が、示された分子量より重くなり、いくつかは、軽くなるものであることを意味する)。所望の治療プロファイル(例えば、所望の徐放の継続時間、存在すれば生理活性への影響、取り扱いの容易さ、抗原性の程度または欠如、治療タンパク質または類似体へのポリエチレングリコールの他の既知の影響)に依存して、他の大きさも使用できる。例えば、ポリエチレングリコールは、約200, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500, 8000, 8500, 9000, 9500, 10,000, 10,500, 11,000, 11,500, 12,000, 12,500, 13,000, 13,500, 14,000, 14,500, 15,000, 15,500, 16,000, 16,500, 17,000, 17,500, 18,000, 18,500, 19,000, 19,500, 20,000, 25,000, 30,000, 35

,000, 40,000, 50,000, 55,000, 60,000, 65,000, 70,000, 75,000, 80,000, 85,000, 90,000, 95,000, または 100,000 kDaの平均分子量を有し得る。

【0360】

上述したように、ポリエチレングリコールは、枝分かれ構造を有し得る。枝分かれしたポリエチレングリコールは、例えば、米国特許第5,643,575号; Morpurgo et al., Appl. Biochem. Biotechnol. 56:59-72, 1996; Vorobjev et al., Nucleosides Nucleotides 18:2745-2750, 1999; および Caliceti et al., Bioconjug. Chem. 10:638-646, 1999 に記載されている。

【0361】

ポリエチレングリコール分子量(または他の化学的部分)は、ポリペプチドまたはタンパク質の機能上または抗原性のドメインに対する影響を考慮して、ポリペプチドまたはタンパク質に結合される必要がある。例えば、EP 0 401 384 (PEGをG-CSFに結合すること)など、当業者に利用できる多数の結合方法があり、Malik et al., Exp. Hematol. 20:1028-1035, 1992 (塩化トレシル(tresyl)を用いるGM-CSFのペジル化を報告している)も参照のこと。例えば、ポリエチレングリコールは、遊離アミノまたはカルボキシル基などの反応基を介してアミノ酸残基によって共有結合され得る。反応基は、活性化されたポリエチレングリコール分子が結合し得るものである。遊離アミノ基を有するアミノ酸残基としては、リシン残基およびN末端アミノ酸残基を挙げることができ、遊離カルボキシル基を有するものとしては、アスパラギン酸残基、グルタミン酸残基、およびC末端アミノ酸残基を挙げることができる。スルフヒドリル基も、ポリエチレングリコール分子を結合するための反応基として使用できる。治療目的では、N末端またはリシン基における結合などといったアミノ基における結合が好ましい。

【0362】

上に示唆したように、ポリエチレングリコールは、任意の数のアミノ酸残基への結合を介してタンパク質およびポリペプチドに結合され得る。例えば、ポリエチレングリコールは、リシン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、またはシステイン残基への共有結合を介してタンパク質およびポリペプチドに結合され得る。1つまたは複数の反応化学が、ポリペプチドまたはタンパク質の特定のアミノ酸残基(例えば、リシン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、またはシステイン)に、あるいは、タンパク質またはポリペプチドの2種以上のアミノ酸残基(例えば、リシン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、システイン、およびこれらの組み合わせ)に、ポリエチレングリコールを結合するのに、使用され得る。

【0363】

N末端において化学的に修飾されたタンパク質およびポリペプチドが所望され得る。ポリエチレングリコールを例示として用いて、さまざまなポリエチレングリコール分子(分子量、枝分かれ、その他による)から、反応混合物内におけるタンパク質(またはペプチド)分子に対するポリエチレングリコール分子の割合、実施するペジル化反応の種類、および選択されたN末端ペジル化タンパク質を得る方法、が選択され得る。N末端ペジル化調製を得る(すなわち、必要ならば、この部分を他のモノペジル化(monopegylated)部分から分離する)方法は、ペジル化タンパク質分子の母集団からのN末端ペジル化物質の精製によるものとして行うことができる。N末端修飾において化学的に修飾される選択的タンパク質は、特定のタンパク質内の誘導体化に利用できるさまざまな種類の第一アミノ基(リシン対N末端)の特異な反応性を活用する還元的アルキル化によって達成され得る。適切な反応条件下において、カルボニル基含有高分子を用いてN末端におけるタンパク質の実質的に選択的な誘導体化が達成される。

【0364】

上述したように、タンパク質およびポリペプチドのペジル化は、任意の数の手段によって達成され得る。例えば、ポリエチレングリコールは、直接に、あるいは、間に入る結合体(linker)によって、タンパク質またはポリペプチドに結合され得る。ポリエチレングリコールをタンパク質およびポリペプチドに結合するための結合体のないシステムは、DeIg

ado et al., Crit. Rev. Thera. Drug Carrier Sys. 9:249-304, 1992; Francis et al., Intern. J. of Hematol. 68:1-18, 1998; 米国特許第 4, 0 0 2, 5 3 1 号; 米国特許第 5, 3 4 9, 0 5 2 号; WO 9 5 / 0 6 0 5 8; および WO 9 8 / 3 2 4 6 6 に記載されている。

【 0 3 6 5 】

ポリエチレングリコールを、間に入る結合体なしでタンパク質およびポリペプチドのアミノ酸残基に直接結合するためのシステムの 1 つは、トレシル化された MPEG を使用するものであり、このトレシル化 MPEG は、塩化トレシル($\text{ClSO}_2\text{CH}_2\text{CF}_3$)を用いるモンメトキシ(monmethoxy)ポリエチレングリコール(MPEG)の修飾によって製造される。トレシル化 MPEG とタンパク質またはポリペプチドの反応において、ポリエチレングリコールは、タンパク質またはポリペプチドのアミン基に直接結合する。従って、開示は、タンパク質およびポリペプチドを、2,2,2 トリフルオロエタンスルホニル(2,2,2 trifluoroethane sulphonyl)基を有するポリエチレングリコール分子と反応させることによって製造されるタンパク質 - ポリエチレングリコール複合体を含む。

【 0 3 6 6 】

また、ポリエチレングリコールは、多数のさまざまな間に入る結合体を用いてタンパク質およびポリペプチドに結合され得る。例えば、米国特許第 5, 6 1 2, 4 6 0 号は、ポリエチレングリコールをタンパク質に結合するためのウレタン結合体を開示する。また、ポリエチレングリコールが結合体によってタンパク質またはポリペプチドに結合されているタンパク質 - ポリエチレングリコール複合体は、MPEG-スクシンイミジルスクシナート(MPEG-succinimidylsuccinate), 1,1' カルボニルジイミダゾールで活性化された MPEG, MPEG-2,4,5 トリクロロペンシルカーボネート(MPEG-2,4,5 trichloropenylcarbonate), MPEG- -ニトロフェノールカーボネート(MPEG -nitrophenolcarbonate), および さまざまな MPEG-スクシナート誘導体などの化合物とのタンパク質またはポリペプチドの反応により製造され得る。多数の付加的なポリエチレングリコール誘導体と、ポリエチレングリコールをタンパク質およびポリペプチドに結合するための反応化学とが、WO 9 8 / 3 2 4 6 6 に記載されている。

【 0 3 6 7 】

また、各タンパク質またはポリペプチドに結合されるポリエチレングリコール部分の数(すなわち、置換度)は、変わり得る。例えば、ペジル化されたタンパク質およびポリペプチドは、平均で、1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 17, 20, またはそれを上回るポリエチレングリコール分子に結合し得る。同様に、平均置換度は、タンパク質またはポリペプチド分子当たり 1-3, 2-4, 3-5, 4-6, 5-7, 6-8, 7-9, 8-10, 9-11, 10-12, 11-13, 12-14, 13-15, 14-16, 15-17, 16-18, 17-19, または 18-20 のポリエチレングリコール部分などといった範囲内にある。置換度を決定する方法は、例えば、Delgado et al., Crit. Rev. Thera. Drug Carrier Sys. 9:249-304, 1992 に検討されている。

【 0 3 6 8 】

実質的に非抗原性の高分子、好ましくはポリ(アルキレングリコール)、を含有するタンパク質およびポリペプチドは、例えば、米国特許第 5, 4 2 8, 1 2 8 号; 米国特許第 6, 1 2 7, 3 5 5 号; および米国特許第 5, 8 8 0, 1 3 1 号に記載されているように、調製される。

【 0 3 6 9 】

タンパク質またはポリペプチドへのポリ(エチレングリコール)(PEG)の共有結合を生じさせるために、PEGのヒドロキシル末端基が、最初に反応性官能基へと変換される必要がある。この処理は、しばしば「活性化」と呼ばれており、生成物は、「活性化PEG」と呼ばれる。反応性官能基で末端が覆われている(capped)メトキシポリ(エチレングリコール)(mPEG)が、一般に使用される。そのような活性化PEGの 1 つは、PEGのスクシンイミジルコハク酸エステル誘導体(SS-PEG)である。また、ポリ(エチレングリコール)-N-スクシンイミド炭酸エステルおよびその調製を開示している、米国特許第 5, 1 2 2, 6 1 4 号; および Abuchowski et al., Cancer Biochem. Biophys. 7:175-186, 1984, 122, 614

10

20

30

40

50

を参照のこと。

【 0 3 7 0 】

本開示の実施に使用され得る代替の実質的に非抗原性の高分子としては、デキストラン、ポリビニルピロリドン、多糖類、デンプン、ポリビニルアルコール、ポリアクリルアミド、または他の同様の非免疫原性高分子などの物質が挙げられる。当業者は、上述したものは、単なる例示であり、ここでの使用に適した高分子物質の種類を限定しようとするものではないことを、理解するであろう。

【 0 3 7 1 】

開示の一態様においては、高分子は、1つまたは複数のアミノ酸への反応および結合のために機能性化または活性化された後に、ペプチドまたはタンパク質分子内へ導入される。活性化によって、当業者には、高分子が所望の反応基を含むように機能性化されることが理解される。例えば、米国特許第4,179,337号および米国特許第5,122,614号を参照のこと。この実施態様においては、ポリ(アルキレングリコール)のヒドロキシル末端基が、反応性官能基へと変換されかつ活性化される。

10

【 0 3 7 2 】

開示の別の態様においては、高分子は、ポリペプチドまたはタンパク質分子内へ導入される前に、促進剤部分に複合体化される。促進剤部分は、好ましくは、リシンなどのアミノ酸であるが、非アミノ酸(non-amino acid)部分も考えられる。この態様には、アルキルまたは置換アルキルなどの多官能(multifunctionalized)有機部分が含まれる。このような部分は、アミンなどの求核官能基および酸などの求電子基を有するように、また、所望の1つまたは複数の高分子と複合体化するための適切に機能性化される領域を有するように、調製され得る。

20

【 0 3 7 3 】

促進剤部分によって、合成の際に高分子はペプチドまたはタンパク質分子内へ容易に含有される。例えば、安定な結合試薬を用いてポリペプチドまたはタンパク質内の促進剤アミノ酸またはアミノ酸残基に結合されるポリ(アルキレングリコール)が、例示的である。当業技術内で知られている多数の結合試薬の有用な総説は、Dreborg et al., Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems 6(4):315-165, 1990, 内に現れており、特に pp. 317-320 を参照のこと。

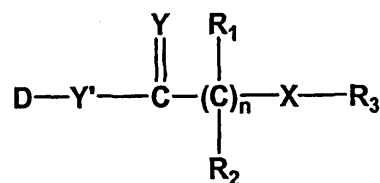
【 0 3 7 4 】

ベジル化された P Y Y ペプチドおよびアゴニストは、以下の一般式とすることもできる。

30

【 0 3 7 5 】

【 化 1 1 】



40

【 0 3 7 6 】

ここで、

Dは、P Y Y ペプチドまたはアゴニストの残基であり；

Xは、電子吸引基であり；

YおよびY'は、独立にOまたはSであり；

(n)は、(0)または正の整数、好ましくは1から約12であり；

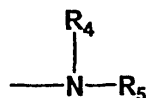
R₁およびR₂は、H、C₁₋₆アルキル、アリール、置換アリール、アラルキル、ヘテロアルキル、置換ヘテロアルキル、および置換C₁₋₆アルキルから成る群より独立に選択され；

50

R₃は、実質的に非抗原性の高分子、C₁₋₁₂直鎖または枝分かれアルキルまたは置換アルキル、C₅₋₈シクロアルキルまたは置換シクロアルキル、カルボキシアルキル、カルボアルコキシアルキル、ジアルキルアミノアルキル、フェニルアルキル、フェニルアリール、または以下の式である。

【 0 3 7 7 】

【 化 1 2 】



10

【 0 3 7 8 】

ここで、

R₄およびR₅は、H、C₁₋₆アルキル、アリール、置換アリール、アラルキル、ヘテロアルキル、置換ヘテロアルキル、および置換C₁₋₆アルキルから成る群よりそれぞれ独立に選択されるか、あるいは、共同して環状C₅₋₇環を形成する。米国特許第6,127,355号を参照のこと。

【 0 3 7 9 】

通常のアルキル基としては、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、2-ペンチル、3-ペンチル、ネオペンチル、ヘキシル、2-ヘキシル、3-ヘキシル、2-メチル-1-ペンチル、3-メチル-1-ペンチル、4-メチル-1-ペンチルなどを含むC₁₋₆アルキル基が挙げられる。

20

【 0 3 8 0 】

好ましいアリール基は、C₆₋₁₄アリール基であり、通常は、フェニル、ナフチル、フルオレニル、フェナントリル、およびアントラシル基が挙げられる。

【 0 3 8 1 】

通常のアルキル置換アリール基としては、例えば、トリル、o-, m-, およびp-キシリル、エチルフェニル、1-プロピルフェニル、2-プロピルフェニル、1-ブチルフェニル、2-ブチルフェニル、t-ブチルフェニル、1-ペンチルフェニル、2-ペンチルフェニル、3-ペンチルフェニルなどといった、基Ph(CH₂)_n,但しnは1-6である,を含む、C₁₋₆アルキル基のいずれかにより置換された、上述したアリール基のいずれかが挙げられる。

30

【 0 3 8 2 】

通常シクロアルキル基としては、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、およびシクロオクチル基を含むC₃₋₈シクロアルキル基が挙げられる。

【 0 3 8 3 】

通常電子吸引基としては、O, NR₁, S, SO、およびSO₂が挙げられ、ここで、R₁は、上に規定されている。

【 0 3 8 4 】

40

G L P - 1 およびそのアゴニスト：

G L P - 1 は、中枢神経系 (C N S) 内および腸内における160アミノ酸ポリペプチドであるプレプログルカゴン (preproglucagon) から生成される。それは、栄養分の摂取に応答して循環内に放出される。ヒトにおけるG L P - 1の生理学的作用としては、インスリン放出の刺激、胃酸分泌の抑制、および胃内容排出の減速、が挙げられる。

【 0 3 8 5 】

G L P - 1 (1 - 3 7) (SEQ ID NO: 336)は、プレプログルカゴンの処理の最初の生成物である。G L P - 1 (1 - 3 7)は、翻訳後処理によりアミド化されて、G L P - 1 (1 - 3 6) N H (SEQ ID NO 337)を生成し、あるいは、酵素によって処理されて、G L P - 1 (7 - 3 7) (SEQ ID NO: 338)を与える。G L P - 1 (7 - 3 7)は、アミド化でき

50

て、G L P - 1 (7 - 3 6) アミド (SEQ ID NO: 339) を与える。ヒト G L P - 1 の配列は、以下に与える。

【 0 3 8 6 】

G L P - 1 (1 - 3 7) : His Asp Glu Phe Glu Arg His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly Gly Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly (SEQ ID NO: 336)。

【 0 3 8 7 】

G L P - 1 (1 - 3 6) アミド : His Asp Glu Phe Glu Arg His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly Gly Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg NH₂ (SEQ ID NO: 337)。

10

【 0 3 8 8 】

G L P - 1 (7 - 3 7) : His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly Gly Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg Gly (SEQ ID NO: 338)。

【 0 3 8 9 】

G L P - 1 (7 - 3 6) アミド : His Ala Glu Gly Thr Phe Thr Ser Asp Val Ser Ser Tyr Leu Glu Gly Gly Ala Ala Lys Glu Phe Ile Ala Trp Leu Val Lys Gly Arg NH₂ (SEQ ID NO: 339)。

【 0 3 9 0 】

G L P - 1 アゴニストは、G L P - 1 受容体に優先的に結合し G L P - 1 が行うのと同じ生物学的活性を刺激するペプチド、小さな分子、または化学的化合物である。一実施態様では、G L P - 1 受容体に対するアゴニストは、G L P - 1 と同じかそれより大きな親和性で受容体に結合する。別の実施態様では、アゴニストは、別の受容体に結合するのに比較して、G L P - 1 受容体に選択的に結合する。エクセンジン - 4 は、アメリカドクトカゲ (*Gila monster* (*Heloderma suspectum*)) の唾液腺から単離された 3 9 アミノ酸ペプチド (Eng J et al J Biol Chem 267:7402-7405, 1992) であり、G L P - 1 受容体におけるアゴニストの一例である。エクセンジン - 4 から誘導され G L P - 1 アゴニスト活性も有する分子は、G L P - 1 アゴニストのさらなる例である。G L P - 1 アゴニストは、G L P - 1 関連ペプチドを含み、また、プレプログルカゴンのあるいは G L P - 1 ペプチドまたは関連ペプチドの天然または合成の酵素のまたは化学的な処理によって得られるペプチドを含む。

20

【 0 3 9 1 】

G L P - 1 アゴニストであると記載される任意の化合物は、例えば上述のように G L P - 1 アゴニスト活性に対する試験が行われ G L P - 1 アゴニストとして機能すると見出された任意の化合物が可能のように、本発明において使用され得る。スクリーニングに使用するのに適した組換え G L P - 1 受容体は、W O 9 3 / 1 9 1 7 5 に開示されている。多くの G L P - 1 アゴニストが、知られており、当業技術内に記載されている。G L P - 1 アゴニストを開示する公開特許明細書の例としては、以下の、W O 2 0 0 2 / 6 7 9 1 8、W O 2 0 0 2 / 6 6 4 7 9、W O 2 0 0 2 / 0 3 9 7 8、W O 2 0 0 1 / 8 9 5 5 4、W O 2 0 0 1 / 1 4 3 8 6、W O 2 0 0 1 / 6 6 1 3 5、W O 2 0 0 1 / 3 5 9 8 8、W O 2 0 0 1 / 1 4 3 6 8、W O 2 0 0 1 / 0 4 1 5 6、W O 2 0 0 0 / 7 8 3 3 3、W O 2 0 0 0 / 5 9 8 8 7、W O 2 0 0 0 / 4 2 0 2 6、E P 0 9 5 5 3 1 4、および W O 9 9 / 4 3 7 0 7 が挙げられる。G L P - 1 アゴニストの例には、Arg34, Lys26(N-(-Glu(N-ヘキサデカノイル))-GLP-1 (7-37), IP7-GLP-1 (7-37)OH がある。

30

40

【 0 3 9 2 】

G L P - 1 またはそのアゴニストは、本発明に従って、例えば対象の体重 1 k g 当たり 0 . 1 n m o l 以上の投与量で、例えば、体重 1 k g 当たり、0 . 2 n m o l 以上、例えば 0 . 4 n m o l 以上、例えば 0 . 6 n m o l 以上、例えば 0 . 8 n m o l 以上、例えば 1 . 0 n m o l 以上、例えば 1 . 2 n m o l 以上、例えば 1 . 4 n m o l 以上、例えば 1 . 6 n m o l 以上、例えば 1 . 8 n m o l 以上、例えば 2 . 0 n m o l 以上、例えば 2 .

50

2 nmol 以上、例えば 2.4 nmol 以上、例えば 2.6 nmol 以上、例えば 2.8 nmol、例えば 3.0 nmol 以上、例えば 3.2 nmol 以下で、末梢的に投与できる。使用される量は、体重 1 kg 当たり 3.0 nmol 以下、例えば、体重 1 kg 当たり、2.8 nmol 以下、例えば 2.6 nmol 以下、例えば 2.4 nmol 以下、例えば 2.2 nmol 以下、例えば 2.0 nmol 以下、例えば 1.8 nmol 以下、例えば 1.4 nmol 以下、例えば 1.2 nmol 以下、例えば 1.0 nmol 以下、例えば 0.8 nmol 以下、例えば 0.6 nmol 以下、例えば 0.4 nmol 以下、例えば 0.2 nmol 以下とすることができる。投与量は、一般に、体重 1 kg 当たり 0.1 から 3.2 nmol の範囲内、例えば、上に与えられた上部および下部の範囲の任意の組み合わせ内にある。

10

【0393】

我々は、ラットへの GLP-1 の脳室内 (ICV) 投与が、食物摂取を有効に阻害することを示した。この効果は、特定の GLP-1 受容体アンタゴニスト、エクセンジン 9-39 により阻害される。GLP-1 受容体は、脳幹、弓状核、および PVN 内で見出される。ICV GLP-1 投与後、c-fos が、弓状核および PVN 内で発現する。しかしながら、ヒトおよびラットにおける GLP-1 の末梢投与によって、食物摂取が阻害され、ラットの脳幹内で c-fos 発現が生じる。ここに開示されるように、GLP-1 の IP 投与の、絶食させていないラットの 1 時間食物摂取に対する効果は、ラットの弓状核内で付随するエクセンジン 9-39、GLP-1 受容体アゴニストの存在によっては影響を受けない。これは、循環 GLP-1 が、弓状核でなく脳幹を介して作用することを示している。

20

【0394】

これらと他の知見は、末梢 GLP-1 による食欲阻害に対する主要部位が、背側迷走神経複合体(dorsal vagal complex)であり、部分的には直接、最後野(area postrema)を通して作用することを示唆している。しかしながら、ヒトにおけるこの生理学的な重要性は、今のところ不明である。

【0395】

ここに開示されているように、ヒトに投与されるとき、PYY は、食欲を低減することが見出された。生理学的食後レベルにおいてヒトに注入されると、PYY₃₋₃₆ は、かなり食欲を低下させるとともに、12 時間に亘って 3 分の 1、さらには、24 時間に亘ってさえも 3 分の 1、食物摂取を低減した。効果それ自体および効果の継続時間の両方ともが、ホルモンが循環から一掃された後、何時間も生じていたのは、驚くべきことでありかつ予測できないことである。食欲の生理学的レベルにおいて生じる効果は、PYY が生体内で摂食行動を調節するように作用するという著しい徴候である。

30

【0396】

ここに開示されているように、ラットにおける PYY₃₋₃₆ の末梢投与は、視床下部の弓状核内における c-fos 免疫反応性の増加、および、視床下部の神経ペプチド Y (NPY) mRNA の低下を引き起こした。さらに、電気生理学的研究は、PYY₃₋₃₆ が、NPY 神経末端のシナプス活動を阻害し、従って、阻害 NPY シナプス入力を受け取るとして知られている POMC ニューロンを活性化する、ことを実証した。

40

【0397】

理論によって拘束されずに、これらの結果は、消化管ホルモン PYY₃₋₃₆ が、神経ペプチド Y Y2 受容体を介して作用できることを示している。この仮説は、PYY₃₋₃₆ が、神経ペプチド Y Y2 受容体欠損マウス (Y2R 遺伝子除去(knock out)マウス) に投与されるとき、摂食の阻害が観察されなかった、という観察によって支持される。Y2R 欠損マウスの野生型同腹子への PYY₃₋₃₆ の投与は、摂食の阻害に十分に効果があった。

【0398】

従って、食事後に摂食を阻害する新規な消化管 - 脳経路が、記載される。理論によって拘束されずに、自然の経路は、消化管からの PYY の放出、および、PYY₃₋₃₆ へのその変換を伴い、これは、脳内において神経ペプチド Y Y2 受容体 (NPY Y2 受容体)

50

に対してアゴニストとして作用する。NPY Y2受容体は、摂食の最も強力な刺激因子(stimulator)であるとともに食欲不振(anorexigenic)メラノコルチンシステムに対しても作用する神経ペプチドYの放出を低減する阻害シナプス前受容体として機能し、NPY Y2受容体活動の結果として、食欲を抑制しかつ食物摂取を低減する。PPY₃₋₃₆の作用は、視床下部の弓状核内で生じ得るが、他の領域も含まれ得る。

【0399】

得られた結果は、血液内を循環するPPY₃₋₃₆、消化管ホルモンが、生理的濃度において食欲を阻害すること、および、阻害効果が、ホルモンが血液から一掃された後、数時間も観察されること、を示している。この効果は、試験された全ての種において、すなわち、マウス、ラット、およびヒトにおいて観察された。循環する消化管ホルモンは、視床下部回路(circuits)を介して作用すると思われる。脳食欲調節ホルモンの合成に必要とされるメッセンジャーRNA、特に視床下部NPY mRNAの低減が、PPY₃₋₃₆の長い作用に対する可能な機構となり得る。

【0400】

PPY₃₋₃₆が、IPまたはIVのどちらかで非経口でGLP-1と共投与されたとき、食物摂取において明確な相乗的低減が生じた。これは、個々の効果の合計だけで相乗効果が見られないオキシントモジュリンを用いて得られる結果とは対照的である。上に示したように、PPY₃₋₃₆は、弓状核を介して作用すると思われる。オキシントモジュリンも、脳のその領域を介して作用すると思われる。しかしながら、GLP-1は、上に説明したように脳幹を介して作用すると信じられている。以下に限定される訳ではないが、脳の異なる領域と、異なる神経経路の一方または両方を介して作用する薬剤が、非経口投与されるとき、それらは相乗効果を生じ、一方、それらが、同じ領域と経路の一方または両方によって作用するときは、それらは相乗効果を生じない、と思われる。

【0401】

これらの結果は、食欲および食物摂取の調節に対する胃ホルモンのインビボでの相互作用の重要性を示している。本発明は、驚くべきことには、薬剤の情報を得た上での選択によって、より効果的に食欲および食物摂取を調節できることを実証する。

【0402】

開示は、以下の非限定的な実施例によって例示される。

【0403】

実施例：

実施例1

物質および方法。

【0404】

POMC-EGFPマウスの発生：EGFPカセット(cassette)は、EGFP mRNAの3'末端(3' end)の適切な処理を導くEGFPコード配列の下流にあるSV40ポリアデニル化信号と共にそれ自体のコザック共通(Kozak consensus)翻訳開始部位を含む。EGFPカセットは、標準の技術によって、13kbの5'および2kbの3'フランキング配列を含有するマウスPomcゲノムクローンのエクソン2の5'末翻訳領域内へ導入された(Young et al., J Neurosci 18, 6631-40, 1998)。導入遺伝子は、記載されるように(Young et al., J Neurosci 18, 6631-40, 1998)、C57BL/6Jマウス(Jackson Laboratories)の単細胞段階胚(one-cell stage embryos)の前核(pronuclei)内に顕微注射された。1つの創始者(founder)が、発生され、野生型C57BL/6Jに育てられて、N₁半接合体マウスが生成された。さらに、導入遺伝子に対して同型接合のマウスのN₂およびその後の世代も、発生された。マウスは、繁殖力があり、通常の成長および発達を有する。

【0405】

蛍光抗体法(Immunofluorescence)およびGFP共局在(co-localization)：麻酔をかけられたマウスが、4%パラホルムアルデヒドで心臓を通して灌流(perfused transcardially)され、浮動性(free-floating)の脳切片が、ビブラトーム(vibratome)を用いて調製された。切片は、標準技術を用いて蛍光抗体法およびGFP蛍光の共局在のために処理さ

れた。一次抗血清(Primary antisera)およびその最終希釈物は、ウサギ(rabbit)抗 エンドルフィン、1:2500 v/v ; ウサギ抗 N P Y、1:25,000 v/v (Alanex Corp.) ; ウサギ抗 A C T H、1:2000 v/v ; および、マウス抗 T H、1:1000 v/v (Incstar)であった。すすぎ後、切片は、10 mg / ml ビオチン化ウマ(horse)抗マウス / ウサギ I g G (Vector Laboratories)を用いて、その後、C y - 3 複合体化ストレプトアビジン(streptavidin) 1:500 v/v (Jackson Immunoresearch Laboratories)を用いて、培養された。顕微鏡写真が、F I T C および R I T C フィルターセット(Chroma Technology Corp.)を用いてZeiss Axioscop上で取られた。

【0406】

電気生理学(実施例2) : 200 μ m厚の冠状薄片が、4週齢オスP O M C - E G F PマウスのA R Cから切り取られた。薄片は、35 において(mMで) [N a C l , 126 ; K C l , 2.5 ; M g C l ₂ , 1.2 ; C a C l ₂ . 2 H ₂ O , 2.4 ; N a H ₂ P O ₄ . H ₂ O , 1.2 ; N a H C O ₃ , 21.4 ; グルコース, 11.1] (Krebs)中に維持され、記録前に1時間(h r)、95% O₂ 5% C O₂ で飽和された。記録は、35 においてKrebs中で行われた。薄片は、標準赤外光学系を通すAxioskop FS2 (Zeiss)上で、F I T C フィルターセット(図1cを参照のこと)を通すエビ蛍光を用いて可視化された。全体の細胞の記録は、Axopatch 1D増幅器(Axopatch 1D amplifier)(Axon Instruments)およびClampex 7 (Axon Instruments)を用いて、蛍光性ニューロンについて行われた。静止(Resting)膜電位が、PowerLab system (AD Instruments, Mountain View, CA)上で膜電位の平均拡大化トレースにイベント検出プロトコルを用いて決定された。薬物は、示される時間に亘って浴に添加された。静止膜電位は、Krebsのみで処理された細胞内では、1時間まで安定であった。M e t - E n k 電流に対するI - V関係は、ステッププロトコル(-60 mV保持電位、-120から-50 mVへの連続パルス(40 ms)であり、細胞は、電圧ステップ間で2 s間、-60 mVに戻された)を用いて確立された。プロトコルは、M e t E n k添加後、繰り返された。正味の電流が、2つのI - V関係の間の相違であった。このプロトコルは、6.5 mM K⁺を用いるKrebs中で繰り返された。シナプス後レプチン電流を特定するI - V関係が、同様に、レプチン(100 nM)の添加前、および添加10分後に、緩やかな電圧勾配(ramps)(5 mV / s、-100から-20 mV)を用いて達成された。G A B A活性化I P S Cが、C s C l 内部電極溶液(mMで) [C s C l , 140 ; H e p e s , 10 ; M g C l ₂ , 5 ; B a p t a , 1 ; (Mg) - A T P , 5 ; (Na) G T P , 0.3]を用いて記録された。小さな(mini) I P S Cおよび大きな振幅(おそらく多シナプス(multisynaptic))のI P S Cの両方が、未処理薄片において観察された。T T X (1 μ M)が、大きなI P S Cを消滅させた。データは、図の上に示された時間における薬物の添加の前後で、4 s毎の2 s掃引における-50 mV保持電位で得られた。小さなシナプス後電流は、Axograph 4 (Axon Instruments)を用いて解析された。I P S Cおよび興奮性シナプス後電流(E P S C)は、これらの減衰定数(decay constants)に基づいて識別され、さらに、ピクロトキシン(picrotoxin)(100 μ M)が、全てのI P S Cを阻害した。P O M Cニューロンは、低いE P S C調子を受け取り、周波数は、ここに記載されているいずれの処理でも変調されなかった。

【0407】

光学および電子顕微鏡法のための免疫染色(Immunostaining) : 異なる色のジアミノベンジジン(D A B)クロモゲンを用いるN P YおよびP O M Cのための二重免疫細胞化学(Double immunocytochemistry)が、発表されたプロトコル(Horvath et al., Neuroscience 51, 391-9, 1992)に従って固定マウス視床下部状に実行された。電子顕微鏡法のためには、- エンドルフィンのための免疫染色を前埋め込みすることは、ABC エリートキット(ABC Elite kit) (Vector Laboratories)およびD A B反応を用いており、その後、ウサギ抗G A B A、1:1000 v/vおよび金複合体化(10 nm)ヤギ(goat)抗ウサギI g G、またはヒツジ(sheep)抗N P Yおよび金複合体化(25 nm)ヤギ抗ヒツジI g Gを用いてG A B AおよびN P Yの標識を後埋め込みした。最後に、切片は、飽和酢酸ウラニル(1

0 分間) およびクエン酸鉛 (2 0 - 3 0 s) と対照され、Philips CM-10電子顕微鏡を用いて検査された。

【 0 4 0 8 】

動物： オスのウィスターラット(Wistar rats) (2 0 0 - 2 5 0 g)、7 - 8 週齢(Charles River Laboratories, United Kingdom)が、言及されるとき以外は、制御された温度 (2 1 - 2 3) および光条件下 (点灯、0 7 : 0 0 - 1 9 : 0 0) で、水および食物 (RM1 試料 (diet); SDS Ltd., Witham, United Kingdom) への随意 (ad libitum) アクセスと共に維持された。弓状および室傍核カニューレ挿入および注入が、先に述べられているように (Glaum et al., Mol. Pharmacol. 50, 230-5, 1996; Lee et al., J. Physiol (Lond) 515, 439-52; 1999; Shiraishi et al., Nutrition 15, 576-9, 1999)、実施された。正確な核内カニューレ配置は、各研究期間の最後に組織学的 (histologically) に確認された (Glaum et al., Mol. Pharmacol 50, 230-5, 1996; Lee et al., J. Physiol (Lond) 515, 439-52, 1999; Shiraishi et al., Nutrition 15, 576-9, 1999)。全ての動物の処置は、British Home Office Animals (Scientific Procedures) Act, 1986によって承認された。絶食させた動物についての全ての注入研究は、初期明相 (light-phase) (0 8 0 0 - 0 9 0 0) において実施された。全ての暗相 (dark-phase) 摂食研究注入は、消灯直前に実施された。

10

【 0 4 0 9 】

オス P o m c - E G F P マウスが、5 - 6 週齢において研究され、上述したように発生された。Y 2 r 欠損マウスが、Y 2 受容体の全コード領域の生殖細胞系欠失となる Cre-lo x P 媒介組換えを用いて、発生された。全ての Y 2 r 欠損マウスは、混合 C57/Bl6-129SvJ 背景上で維持された。8 - 1 2 週齢で 2 0 - 3 0 g の体重のオスのマウスが、言及されるとき以外は、制御された温度 (2 1 - 2 3) および光条件下 (点灯、0 6 : 0 0 - 1 8 : 0 0) で、水および食物 (Gordon ' s Speciality Stock feeds) への随意アクセスと共に保持された。全ての研究は、初期明相 (0 7 0 0 - 0 8 0 0) において実施された。

20

【 0 4 1 0 】

腹腔内注入： ラットが、研究の2日前に 0 . 5 m l の食塩水の注入により I P 注入に順応された。全ての研究では、動物は、5 0 0 μ l (ラットに対して) または 1 0 0 μ l (マウスに対して) で、P Y Y₃₋₃₆、G L P - 1、または食塩水の I P 注入を受けた。

【 0 4 1 1 】

30

電気生理学： 先に報告されているように (Cowley et al., Nature 411, 480-484, 2001)、P o m c - E G F P マウスからの 1 8 0 μ m 厚の冠状薄片の視床下部内の P O M C ニューロンについて、全体の細胞パッチクランプ記録が行われた。「ゆるく細胞付着した (Loose cell-attached)」記録が、電極溶液内の細胞外緩衝剤を用いて行われ、記録の全体を通して、3 - 5 M o h m の間のシール抵抗 (seal resistance) を維持した。興奮率が、ミニ解析 (mini-analysis) プロトコル (MiniAnalysis, Jaejin Software, NJ) を用いて解析された。神経ペプチドの電気生理学的活動に対して先に実証されている (Cowley et al., Nature 411, 480-484, 2001)、輸送手段 (Vehicle) 制御が、このシステム内で使用された。データは、分散分析、ノイマン - クールズ事後比較 (ANOVA, Neuman-Keuls posthoc comparison)、およびウィルコクソン符号付き順位検定 (Wilcoxon Signed Rank Test) によって解析された。

40

【 0 4 1 2 】

視床下部外植片： オスのウィスターラットが、断頭により殺され、脳全体が直ちに除去され、腹面 (ventral surface) を最も上にして載せられ、振動マイクロトーム (Biorad, Microfield Scientific Ltd., Devon, UK) 内に置かれた。1 . 7 m m の薄片が、P V N および A R C を含むように脳の基底から取られ、直ちに、9 5 % O₂ および 5 % C O₂ と平衡に保たれかつ 3 7 に維持された 1 m l の人工 C S F (a C S F) (Kim et al., J. Clin. Invest. 105, 1005-11, 2000) に移された。a C S F が 6 0 分間毎に取り替えられる最初の 2 時間の平衡時間後、視床下部は、次に、6 0 0 μ l の a C S F 中で Y 2 A (5 0 n M) に曝される前に、6 0 0 μ l の a C S F 中で 4 5 分間 (基底時間) 培養された。最後に

50

、組織の生存率が、56 mM KClへの45分間の曝露により確認されたが、ここでは、 Na^+ の代わりに K^+ を用いることにより等張性が維持された。各時間の最後において、aCSFは、除去され、ラジオイムノアッセイによってNPYおよびMSHが定量されるまで、-20℃において凍結された。

【0413】

c-fos発現：c-fos発現が、大人のウィスターラットおよびPomc-EGFPマウスにおいて、食塩水または PY Y_{3-36} (5 μg / 100 g) のIP投与2時間後に、標準免疫組織化学(immunohistochemical)技術(Hoffman et al., Front. Neuroendocrinol. 14, 173-213, 1993)を用いて測定された。データは、各群内の3匹のラットおよび5匹のマウスから得られた。Pomc-EGFPマウスでは、5つの解剖学的に一致する弓状核切片(Franklin et al., The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates, Academic Press, San Diego, 1997)が、各動物から数えられ、Leica TSC 共焦点顕微鏡(Leica TSC confocal microscope) (Grove et al., Neuroscience 100, 731-40, 2000)を用いて画像が得られた。

10

【0414】

RNase保護アッセイ(RPA)：全RNAが、視床下部から抽出された(Trizol, Gibco)。RPAが、5 μg のRNAと、NPY、MSH、およびアクチン(内部標準)に対して特異的なプローブとを用いて実施された(RPAs kit, Ambion)。各神経ペプチドに対して、アクチンの光学密度に対する神経ペプチドmRNAバンドの光学密度の割合が計算された。神経ペプチドmRNA発現レベルは、食塩水対照に対して表示される(平均 \pm s.e.m. n = 4 毎群)。使用された統計解析は、分散分析と、ボンフェローニ事後解析(Bonferroni post hoc analysis)であった。

20

【0415】

プラズマアッセイ：ヒトレプチンが、商業的に入手可能なラジオイムノアッセイ(RIA) (Linco Research, USA)を用いて測定された。全ての他のプラズマホルモンレベルは、確立された組織内(in-house) RIAs (Tarling et al., Intensive Care Med. 23, 256-260, 1997)を用いて測定された。グルコース濃度は、YSI 2300STAT 分析器(YSI 2300STAT analyser) (Yellow Springs Instruments Inc., Ohio, USA)を用いて測定された。プラズマパラセタモール(paracetamol)レベルは、酵素比色分析アッセイ(enzymatic colorimetric assay) (Olympus AU600 analyzer)を用いて測定された。

30

【0416】

ヒト研究： PY Y_{3-36} が、Bachem (California, USA)から購入された。発熱物質(pyrogen)に対するカプトガニ変形細胞溶解物アッセイ試験(Limulus Amoebocyte Lysate assay test)は、陰性であり、ペプチドは、培養上で不毛(sterile)であった。倫理上の承認が、Local Research Ethics Committee (プロジェクト登録(project registration) 2001/6094)から得られ、研究は、ヘルシンキ宣言(Declaration of Helsinki)の原則に従って実施された。対象者は、説明に基づき書面により同意した。

【0417】

各対象者は、各研究間で少なくとも1週間の2つの場合に研究された。志願者が、各点滴注入前の3日間およびその後の24時間、食事日誌に記入した。全ての対象者は、各研究前の夕方20:00からは絶食して水だけを飲んだ。対象者は、各研究の日の08:30に到着し、カニューレ挿入され、次に、研究プロトコルの開始前30分間は、くつろがされた。血液試料が、5,000カリクレイン阻害物質単位(Kallikrein Inhibitor Units) (0.2 ml)のアプロチニン(aprotinin) (Bayer)を含むヘパリン化管内に、30分間毎に収集され、遠心分離機にかけられた。プラズマが、分離され、次に、分析まで-70℃で貯蔵された。対象者は、二重盲式無作為化交差設計で90分間、食塩水または0.8 pmol \cdot kg⁻¹ \cdot min⁻¹の PY Y_{3-36} (約72 pmol点滴注入全体)が、点滴注入された。

40

【0418】

点滴注入の終了2時間後に、対象者には、全ての食欲が満たされることができるよう

50

、過剰の自由選択ビュッフェ式食事が提供された(Edwards et al., Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 281, E155-E166, 2001)。食物および水は、食事の前後に重量が計量され、カロリーの摂取が計算された。食欲評価が、最も陽性および陰性の評価を示す文言が各端部に記載された100mmの視覚的アナログ指数(VAS)(Raben et al., Br. J. Nutr. 73, 517-30, 1995)上に行われた。VASは、空腹、飽満、満腹感、予想食物消費、および悪心を評価するのに使用された。食塩水およびPYY₃₋₃₆後のカロリーの摂取が、対t検定(paired t test)を用いて比較された。食事後の応答曲線が、時間と処置を因子として繰り返し対測定(paired measures)を用いる分散分析によって比較された。

【0419】

エネルギー消費の測定： エネルギー消費に対するPYYの作用を決定するために、OXYMAXシステムが、処置コホート(cohort)内へのPYY注入に続き齧歯類と共に使用される。また、このシステムは、食塩注入(対象コホート)に続き齧歯類と共に使用される。装置は、O₂消費およびCO₂生成を測定し、O₂からCO₂を生成する際の効率が、カロリーまたは代謝の効率の信頼できる指数を与える。同様のシステムが、ヒト志願者と共に使用される。

【0420】

実施例2

弓状核内の神経回路網。

【0421】

正確なニューロン発現に必要とされる-13kbと-2kbの間に位置する領域を含むマウスPomcゲノム配列の転写制御のもとで、緑色の蛍光タンパク質を発現する(EGFP Clontech)遺伝子組換えマウスの一系統が生成された(Young et al., J Neurosci 18, 6631-40, 1998)(図1a)。明るい緑色蛍光(509nm)が、POMCが生成される2つの領域、ARCおよび孤束(solitary tract)の核、に見られた。紫外(450-480nm)励起のもとで、POMCニューロンは、赤外光学系のもとで可視化される隣接する非蛍光性ニューロン(図1b)から明確に識別された。二重蛍光抗体法が、ARC内のEGFPおよびPOMCペプチドの>99%細胞共局在を示した(図1c)。EGFP発現POMCニューロン上のチロシンヒドロキシラーゼ(TH)-およびNPY-染色末端の両方の近い並置(apposition)が存在したが、EGFPとのTHまたはNPY免疫活性の共局在の証拠はなかった。冠状視床下部切片上で実施された蛍光細胞の全体の計数は、ARC全体に亘って分散した3148±62(平均±SEM: n=3)POMC-EGFPニューロンを示した(Franklin et al., The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates, Academic Press, San Diego, 1997)(図1d)。マウス内のPOMCニューロンは、ラットARC内の主に側面(lateral)位置とは対照的に、ARC内で内側(medially)および腹面(ventrally)の両方に位置する。

【0422】

視床下部薄片内のPOMC-EGFPニューロンは、-40から-45mVの静止膜電位を有しており、しばしば自発的活動電位を示す。非選択的なオピオイドアゴニストメト-エンケファリン(Met-Enk: 30μM; Sigma)が、POMC細胞(n=10)の膜電位の迅速(35-40s)で可逆的な過分極(10-20mV)を引き起こし、自発的活動電位生成を防止した(図2a)。標準(2.5mM K⁺) Krebs 緩衝液内では、内向きに整流する(rectifying)オピオイド電流の反転電位は、ほぼ-90mVであったが、6.5mM K⁺ Krebs 内では、反転電位は、ほぼ-60mVへと移動した(n=3; 図2b)。μオピオイド受容体(MOP-R)アンタゴニストCTAP(1μM; Phoenix Pharmaceuticals)は、POMC細胞内でMet-Enkにより誘発される電流を防止した(n=3; 図2c)。これらの特性は、オピオイド電流が、MOP-Rの作用に起因したものであり、Gタンパク質が結合した内向きに整流するカリウムチャンネル(GIRK)を通るイオン伝導性を向上させたこと、を示す(Kelly et al., Neuroendocrinology 52, 268-75, 1990)。EGFP標識化POMCニューロン内における、モルモット(Kelly et al., Neuroendocrinology 52, 268-75, 1990)またはマウス(Slugg et al., Neuroendocr

10

20

30

40

50

inology 72, 208-17, 2000)のものと同様のオピオイド応答。後記録免疫組織化学により特定されるPOMC細胞は、EGFP導入遺伝子の発現が、受容体の発現とも、POMCニューロン内のセカンドメッセンジャーへのそれらの結合とも妥協しないことを示唆する。

【0423】

次に、薄片プレパラート内で特定されたPOMC細胞に対するレプチンの直接の影響が調査された。レプチン(0.1 - 100 nM)は、2 - 10分間で、3 - 30 mV(図3a; 100 nMのレプチンにおける、平均 \pm SEM脱分極 = 9.7 ± 1.2 mV、 $n = 45$)、77 POMC細胞のうちの72を、濃度に応答する仕方(図3b)で、脱分極させた。脱分極に対しては2つの成分があったが、いずれも、40分間内では、十分に可逆ではなかった。第1に、脱分極は、ほぼ - 20 mVにおいて反転した(図3b)小さな内向きの電流に起因したが、これは、非特異カチオンチャンネルの関与を示唆する(Powis et al., Am J Physiol 274, R1468-72, 1998)。第2に、レプチン処理は、POMC細胞上へのGABA活性化調子を低減する。GABA活性化阻害のシナプス後電流(IPSC)が、POMC細胞内で観察され、レプチン(100 nM)が、15細胞のうちの5においてその周波数を25%、低減したが、このことは、それが、シナプス前的に作用して、GABA放出を低減することを示唆する(レプチンは、15 POMCニューロンのうちの10においてIPSCに対して影響しなかった)。IPSC周波数に対する影響は、膜電位に対する影響と同様の遅延と共に生じた。従って、レプチンは、POMCニューロンを直接脱分極させるばかりでなく、GABA活性化神経末端において作用して、POMCニューロン上へのGABAの放出を低減し、それらが、より脱分極された静止電位を採用するように、させる。レプチンは、試験された13の隣接する非蛍光性細胞のうちの5に対して影響を及ぼさなかった(図3e)と同時に、それは、5を過分極化させ(図3f)、ARC内の3つの他の非POMCニューロンを脱分極させたので、レプチンによるPOMC細胞の首尾一貫した脱分極は、特異的であった。ここに報告したレプチンの電気生理学的影響は、レプチンの生物学的作用と矛盾がなく、レプチンは、おそらくPOMCニューロンを活性化することによって、迅速に、ラット視床下部から - MSHの放出を生じさせる(Kim et al., J Clin Invest 105, 1005-11, 2000)。

【0424】

レプチンによるニューロン過分極化についての先の報告(Glaum et al., Mol Pharmacol 50, 230-5, 1996; Spanswick et al., Nature 390, 521-5, 1997)、およびARCニューロンの部分母集団内でのGABAおよびNPYの実証された共局在(Horvath et al., Brain Res 756, 283-6, 1997)によって、我々は、レプチンが、POMCニューロンを直接刺激するNPY/GABA細胞を過分極化させ、従って、POMC細胞上へのGABA活性化活力(drive)を低減する、と推測する。レプチンおよびNPY Y2受容体の両方ともARC内のNPYニューロン上で発現される(Hakansson et al., J Neurosci 18, 559-72, 1998; Broberger et al., Neuroendocrinology 66, 393-408, 1997)。さらに、Y2受容体の活性化は、NPYニューロンからのNPY放出を阻害し(King et al., J Neurochem 73, 641-6, 1999)、おそらく、NPY/GABA末端からのGABA放出も低減するであろう。これは、GABA活性化NPYニューロンによるPOMCニューロンの仮定的な神経支配を試験する、レプチンとは独立した、代替の薬理学的方法である。実際、NPY(100 nM; Bachem)は、試験された全ての12のPOMC細胞において、3分間で、GABA活性化IPSCの周波数を、55%、低減した(図4a)。NPYおよびレプチンの両方とも、テトロドトキシン(TTX)の存在下において依然としてIPSCを阻害した(それぞれ、6つのうちの6つ、および5つのうちの3つ)が、これは、IPSCの阻害の一部が、シナプス前神経末端における直接の影響を通して生じていたことを示している。POMCニューロンは、NPY Y1受容体を発現し(Broberger et al., Neuroendocrinology 66, 393-408, 1997)、また、NPYは、試験された全てのPOMCニューロンを、平均 9 ± 6 mV($n = 3$)、過分極化させた。

【0425】

N P Y / G A B A 末端からの P O M C ニューロンに対する G A B A 活性化神経支配の起源を確認する別の薬理的試験は、最近特性が規定された高度に選択的な M C 3 - R アゴニスト D-Trp⁸- MSH (Grieco et al., J Med Chem 43, 4998-5002, 2000) の局所的な G A B A 放出に対する影響を試験することであった。D-Trp⁸- MSH (7 n M) は、 4 P O M C ニューロンのうちの 3 から記録された G A B A 活性化 I P S C の周波数を増加した (2 8 0 ± 9 0 %) (図 4 b) 。それは、 1 つの細胞には、影響を及ぼさなかった。M C 3 - R の陽性の効果は、N P Y およびレプチンの陰性の効果と共に、P O M C ニューロン上への N P Y / G A B A シナプスのダイナミックレンジを示すとともに、A R C 内での信号の流れを調節する際のこのシナプスの重要な役割を指摘する。また、D-Trp⁸- MSH (7 n M) は、試験された 1 5 P O M C ニューロンのうちの 9 を、過分極化 (- 5 . 5 ± 2 . 4 m V) させ、活動電位の周波数を低減したが (図 4 c) ; 残りの細胞は、D-Trp⁸- MSH に対して有意な応答を示さなかった。これらの影響は、もっぱら、P O M C 細胞上への増加した G A B A 放出に起因し得るものであったか、あるいは、P O M C ニューロンに対する D-Trp⁸- MSH の付加的なシナプス後作用に起因し得るものであったが、このほぼ半分は、また、M C 3 - R を発現する (Bagnol et al., J Neurosci (Online) 19, RC26, 1999)。従って、M C 3 - R は、P O M C ニューロンに対して M O P - R と同様の自己受容体 (autorceptor) の仕方で作用し、高められた P O M C ペプチドに応答して P O M C ニューロン活性を低減する。

【 0 4 2 6 】

P O M C ニューロン内の I P S C が、N P Y / G A B A 細胞による局所的な神経支配に起因したかをさらに決定するために、多標識 (multi-label) 免疫組織化学が、光学および電子顕微鏡法を用いて実施された。P O M C 細胞の独立した N P Y (Csiffary et al., Brain Res 506, 215-22, 1990) および G A B A (Horvath et al., Neuroscience 51, 391-9, 1992) 神経支配が報告されているとはいえ、P O M C 細胞上へのシナプスを形成する神経末端内における N P Y および G A B A の共局在は、示されていないかった。ラット (Csiffary et al., Brain Res 506, 215-22, 1990) と同様に、N P Y 軸索末端による P O M C 細胞の濃厚 (dense) な神経支配が、マウスにおいても検出された (図 4 d) 。電子顕微鏡法によって、軸索末端内における N P Y および G A B A の共発現が確認されるとともに、これらの神経繊維末端が、分析された全ての 1 5 A R C P O M C ニューロンの核周部上にシナプスを確立したことが示された (典型例、図 4 e) 。

【 0 4 2 7 】

この回路の調節の詳細なモデルは、A R C 内におけるレプチン作用の二重機構 (dual mechanisms) 、N P Y / G A B A と P O M C ニューロンとの相互作用、および、N P Y ばかりでなくオピオイドおよびメラノコルチンペプチドからの自己調節フィードバック、を示している (図 4 f) 。このモデルでは、レプチンが、直接、P O M C ニューロンを脱分極させ、同時に、N P Y / G A B A ニューロン細胞体を過分極化させ、N P Y / G A B A 末端からの放出を低減する。この低減された G A B A 放出は、P O M C ニューロンを脱阻害し、その結果、P O M C ニューロンの活性化、および、活動電位の周波数の増加になる。

【 0 4 2 8 】

実施例 3

P Y Y の投与が食物摂取を阻害する。

【 0 4 2 9 】

視床下部弓状核の食欲促進 (orexigenic) N P Y および食欲抑制 (anorectic) メラノコルチン刺激ホルモン (- M S H) システムは、食欲の中枢調節に含まれる (Schwartz et al., Nature 404, 661-671, 2000)。しかしながら、直接これらの視床下部 - 摂食回路に食事の (経口) 摂取の信号を送る潜在的な機構は、不明である。P Y Y₃₋₃₆ は、(経口) 摂取されたカロリーに比例して食後に放出される消化管由来のホルモンである (Pedersen-Bjergaard et al., Scand. J. Clin. Lab. Invest. 56, 497-503, 1996)。P Y Y₃₋₃₆ の末梢投与の摂食に対する影響が、調査された。

【 0 4 3 0 】

暗相の開始前における、自由に摂食するラットへの PYY_{3-36} の腹腔内注入 (IP) は、その後の食物摂取を有意に低下させた (図 5 a)。同様の摂食の障害が、24 時間絶食させたラットへの IP 注入後に見られた (図 5 b)。 PYY_{3-36} の IP 注入後に得られたプラズマ PYY_{3-36} レベルの時間的経過は、注入の 15 分間後にピークレベルを示したが、これは、標準の食後の範囲内であり (ピーク食事後レベル = $112.1 \pm 7.8 \text{ pmol/l}$ に対して、 $0.3 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ の IP 注入の 15 分間後のピーク PYY_{3-36} レベル = $99.3 \pm 10.4 \text{ pmol/l}$ 、 $n = 8 - 10$ 毎群)、このことは、 PYY_{3-36} の生理学的濃度が摂食を障害することを示唆している。 PYY_{3-36} は、胃内容排出に影響を及ぼさなかった (3 時間において胃内に残留する (経口) 摂取された食物の百分率: $PYY_{3-36} = 36 \pm 1.9\%$ 、食塩水 = $37.4 \pm 1.0\%$ $n = 12$) (Barrachina et al., Am. J. Physiol. 272, R1007-11, 1997)。7 日間、毎日 2 回の PYY_{3-36} 投与 IP は、累積食物摂取を低下させ (7 日間累積食物摂取: 食塩水 = 206.8 ± 2.3 に対して、 $PYY_{3-36} = 187.6 \pm 2.7 \text{ g}$ 、 $n = 8$ 毎群、 $P < 0.0001$)、体重増加を低減した (図 5 d) (食塩水 = 58.7 ± 1.9 に対して、 $PYY_{3-36} = 48.2 \pm 1.3 \text{ g}$ 、 $n = 8$ 毎群、 $P < 0.002$)。

【0431】

実施例 4

PYY 投与が $c-fos$ 発現に影響を及ぼす。

【0432】

食物摂取のこの障害が、視床下部経路を伴っていたかを調査するために、 $c-fos$ 発現が、 PYY_{3-36} の単一 IP 注入後に摂食制御の重要な中枢である弓状核内において調べられた (Schwartz et al., Nature 404, 661-671, 2000; Cowley et al., Nature 411, 480-484, 2001)。ラットの側面弓状部内において $c-fos$ に対する陽性の細胞の数には、2 倍の増加があった ($PYY_{3-36} = 168 \pm 2$ 、食塩水 = 82.7 ± 5 、 $n = 3$ 、 $P < 0.0001$)。 $Pomc-EGFP$ -遺伝子組換えマウス (Cowley et al., Nature 411, 480-484, 2001) と同様に、 PYY_{3-36} の IP 投与によって、食塩水対照動物 (図 6 a) に比較して、 $c-fos$ に対する陽性の弓状細胞の数は、1.8 倍の増加となった (図 6 b) ($PYY_{3-36} = 250 \pm 40$ 、食塩水 = 137 ± 15 、 $n = 5$ 、 $P < 0.05$)。IP PYY_{3-36} は、 $c-fos$ を発現する POMC ニューロンの割合において 2.6 倍の増加を生じた ($PYY_{3-36} = 20.4 \pm 2.9\%$ 、食塩水 = $8 \pm 1.4\%$ 、 $n = 5$ 、 $P < 0.006$) (図 6 c および図 6 d)。

【0433】

これらの観察結果は、 PYY_{3-36} が、弓状核を介して作用し得ることを示唆する。従って、視床下部内の NPY および $POMC$ 回路に対する PYY_{3-36} の作用およびその影響が研究された。 PYY_{3-36} の末梢投与後における、食物摂取の持続される障害、および体重増加に対する影響を考慮して、 $Pomc$ および Npy 両方の視床下部メッセンジャー RNA (mRNA) が、RNA アーゼを用いて測定された。食塩水処置動物に比較して、 PYY_{3-36} に応答する Npy mRNA の有意の低減が、IP 注入 6 時間後に観察された (食塩水 = 17.3 ± 2.0 、 $PYY_{3-36} = 8.8 \pm 1.0$ 、相対光学密度単位、 $P < 0.02$)。非有意の増加が、 $Pomc$ mRNA レベルにおいて生じた。

【0434】

実施例 5

Y2 受容体。

【0435】

PYY_{3-36} は、 NPY に対して 70% アミノ酸配列同一性 (identity) を示しており、 NPY 受容体を通して作用する (Soderberg et al., J. Neurochem. 75, 908-18, 2000)。Y2R は、推定上の障害シナプス前受容体であり、弓状 NPY ニューロン上に高度に発現する (Broberger et al., Neuroendocrinology 66, 393-408, 1997) が、隣接する $POMC$ ニューロン上には発現しない。 PYY_{3-36} は、Y2 受容体における高い親和性アゴニストである (Grandt et al., Regul. Pept. 51, 151-159, 1994)。末梢 PYY_{3-36} は、循環する

10

20

30

40

50

ホルモンに直接近づきやすいと知られている領域である弓状核内の Y 2 R を介して食物摂取を阻害する、と仮定されていた(Kalra et al., Endocr. Rev. 20, 68-100, 1999)。

【0436】

この仮定を調査するために、PYY₃₋₃₆が、直接、弓状核内に注入された(Kim et al., Diabetes 49, 177-82, 2000)。24時間絶食させたラットにおいては、食物摂取は、100 fmol と同じくらい少量の投与量によって有意に減少し(図7a)、IP投与後に見られるのと同様の阻害となった。これらの影響が、Y2Rを介するものであったかを確立するために、Y2R選択的アゴニストが、使用された(Potter et al., Eur. J. Pharmacol. 267, 253-262, 1994), N-アセチル (Leu²⁸, Leu³¹) NPY (24-36) [Y2A]。その親和性は、NPY、Y1、Y2、およびY5受容体を発現する細胞系(cell lines)についての受容体結合研究を用いて確認された(Small et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 94, 11686-91, 1997) (Y2 IC₅₀ = 1.3 ± 0.2 nM、Y1 IC₅₀ > 5000 nM、Y5 IC₅₀ > 5000 nM)。予め24時間絶食させたラットにおけるY2Aの弓状核内(Intra-arcuate nucleus)注入は、投与量に依存して(100 fmol - 1 nmol)、食物摂取を阻害した(注入2時間後に(経口)摂取された食餌、0.1 nmol Y2A = 6.2 ± 0.5 g、食塩水 = 8.2 ± 0.6 g、n = 8 毎群、P < 0.05)。

【0437】

この影響の解剖学的な詳細を確認するために、Y2A (100 fmol - 1 nmol) が、24時間絶食させたラットの室傍核(PVN)(Kim et al., J. Clin. Invest. 105, 1005-11, 2000)内に注入されたが、食物摂取の変化は見られなかった(注入2時間後の食塩水 = 8.3 ± 0.4 g、0.1 nmol Y2A = 8.0 ± 0.6 g、n = 8 毎群)。末梢PYY₃₋₃₆により生じた摂食阻害におけるY2Rの役割をさらに決定するために、Y2r欠損マウスおよび同腹子対照に対するPYY₃₋₃₆の影響が調べられた。PYY₃₋₃₆は、絶食させたオスの野生型マウスにおいて投与量に応答する仕方で昼間の摂食を阻害したが、絶食させたオスのY2r欠損マウスにおいては食物摂取を阻害しなかった(図7bおよび7c)。絶食に応答して測定された食物摂取は、オスのY2r欠損マウスが、その同腹子対照に比較して、2、4、および24時間において、有意により多量に食べるということを示した(24時間累積食物摂取; 野生型 = 5.3 ± 0.7 g に対して Y2r欠損マウス = 7.1 ± 0.48 g、n = 8 毎群、P < 0.05)。

【0438】

PYY₃₋₃₆およびY2Aの両方の投与に対する視床下部POMCニューロンの電気生理学的応答が、調べられた。これらのニューロンは、POMCニューロン内における緑色蛍光タンパク質の標的とされた発現を有するマウスを用いて特定された(Cowley et al., Nature 411, 480-484, 2001)。PYY₃₋₃₆は、POMCニューロンを脱阻害し、その結果、試験された22 POMCニューロンのうちの19に有意な脱分極が生じた(図8a挿入図)(10.3 ± 2.1 mV脱分極、n = 22、P < 0.0003)。同様の脱分極が、Y2Aで見られた(8.7 ± 1.8 mV脱分極、n = 9、P < 0.002)。PYY₃₋₃₆により生じた脱分極は、POMCニューロン内における活動電位の周波数に有意な増加を刺激した(対照に対して93%増加、P < 0.05、n = 22)。全体の細胞モードにおいては、PYY₃₋₃₆の影響は、時々、洗浄によって反転するが、長い待ち時間(latency)(30分間)の後だけである。これらのニューロンに対するレプチン効果の同様の洗浄が、観察された。

【0439】

細胞の衰退(rundown)またはシール劣化の影響を排除するために、「ゆるく細胞付着した」(または、細胞外の)構成内における影響が、調べられた。PYY₃₋₃₆は、POMCニューロンのゆるく細胞付着した記録では活動電位の周波数に可逆的な5倍の増加を生じた(図8b)。この興奮率の増加は、PYY₃₋₃₆が、試験された全ての13 POMCニューロン上への阻害性シナプス後電流(IPSC)の周波数を低減する(図8c)(51.9 ± 9.2%低減、n = 13、P < 0.0001)のと同じ待ち時間と共に生じたが、こ

れは、POMCニューロン上へのGABA放出の低減された周波数を示している。興味深いことには、POMCニューロンの興奮率は、IPSCの継続された阻害にもかかわらず、基部に戻った。IPSC周波数に対する同様の影響が、Y2Aで見られた($44.4 \pm 9.3\%$ 低減、 $n = 8$ 、 $P < 0.004$)が、このことは、この影響が、Y2Rを介してのものであることを示唆している。PYY₃₋₃₆(25 nM)は、特定されていないがおそらく、弓状核内のNPY含有非POMCニューロンの、過分極化(5.2 ± 1.16 mV、 $P < 0.004$ 、 $n = 5$)を引き起こした。NPYニューロンによるPOMCニューロンの持続性(tonic)GABA活性化阻害が存在しており(Cowley et al., Nature 411, 480-484, 2001)、これらの結果は、PYY₃₋₃₆が、NPYニューロンを阻害することによって作用し、従って、このGABA活性化調子を低減するとともに、結果として、POMCニューロンを脱阻害することを示唆している。また、ペプチド分泌に対するY2Aの影響が、視床下部外植片を用いて調べられた(Kim et al., J. Clin. Invest. 105, 1005-11, 2000)。Y2Aは、視床下部外植片からのMSH放出の付随的な増加を伴って、NPY放出を有意に低減する(図8dおよび4e)。ひとまとめにして考えると、これらの観察結果は、PYY₃₋₃₆が、弓状核内のNPYおよびメラノコルチンシステムの両方を調節することを示唆する。

【0440】

実施例 6

ヒト研究。

【0441】

ヒトにおけるメラノコルチンシステムは、重要であり(Barsh et al., Nature 404, 644-651, 2000)、また、摂食および体重変化の両方に対するPYY₃₋₃₆の甚大な影響が、齧歯類に見られるので、食欲および食物摂取に対するPYY₃₋₃₆の影響が、ヒト対象において調査された。12人の健康で絶食させた非肥満の志願者(6人の男性、6人の女性、平均年齢 26.7 ± 0.7 歳、BMI = 24.6 ± 0.94 kg·m⁻²)は、二重盲式ブラシーボ対照交差研究で90分間、食塩水またはPYY₃₋₃₆(0.8 pmol·kg⁻¹·min⁻¹)が、点滴注入された。

【0442】

PYY₃₋₃₆プラズマ濃度は、PYY₃₋₃₆点滴注入の間に、 8.3 ± 1.0 pMの平均基底濃度から 43.5 ± 3 pMに増加し、食後レベルを模擬した(Pedersen-Bjergaard et al., Scand. J. Clin. Lab. Invest. 56, 497-503, 1996; Adrian et al., Gastroenterology 89, 1070-1077, 1985)。点滴注入後、PYY₃₋₃₆濃度は、30分間内で基底に戻った。PYY₃₋₃₆点滴注入は、空腹指数(hunger scores)の有意な低下を生じた(Raben et al., Br. J. Nutr. 73, 517-30, 1995)(図9c)が、眠気および吐き気(sickness)に対する指数には生じなかった。点滴注入の終了2時間後の自由選択ピュッフェ式食事でのカロリー摂取(Tarling et al., Intensive Care Med. 23, 256-260, 1997)は、食塩水に比較して、3分の1を上回って低下した($36 \pm 7.4\%$ 、 $P < 0.0001$)(図9a)。流体摂取に対する影響はなく、志願者により報告された満腹感および悪心の感覚に相違もなかった。PYY₃₋₃₆投与は、パラセタモール吸収方法により評価されるような(Edwards et al., Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 281, E155-E166, 2001; Tarling et al., Intensive Care Med. 23, 256-260, 1997)、胃内容排出にも、プラズマグルコース、プラズマレプチン、GLP-1、またはインスリンにも、影響を及ぼさなかった。食事日誌の分析は、PYY₃₋₃₆点滴注入後の12時間の間における食物摂取の有意な阻害を示した(食塩水 = 2205 ± 243 kcal、PYY₃₋₃₆ = 1474 ± 207 kcal)。しかしながら、12から24時間の間の食物摂取は、2つの群の間で、事実上同一であった。全体的には、PYY₃₋₃₆点滴注入後の24時間の間における累積カロリー消費の全体には33%の低下があった(図9b)。これらの知見は、食事後レベルに一致するPYY₃₋₃₆の点滴注入が、ヒトの食欲および食物摂取の両方に顕著な阻害を生じることを実証している。

【0443】

さらなる研究においては、健康な対象者の2つの群 ($n = 12$ 毎群、6人の男性および6人の女性)、すなわち、1つの群は、増加した体格指数 (BMI) (平均 = $32.73 \pm 0.93 \text{ kg/m}^2$)、別の群は、低いBMI (平均 = $20.49 \pm 2.05 \text{ kg/m}^2$) である、2つの群が、各研究間で少なくとも1週間の2つの場合に研究された。全ての対象者は、各研究の前の夕方20:00時から絶食して水だけを飲んだ。対象者は、各研究の日の08:30に到着し、カニューレ挿入され、次に、研究プロトコルの開始前30分間は、くつろがされた。対象者は、二重盲式無作為化交差設計で90分間、食塩水または $0.8 \text{ pmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ の PYY_{3-36} が、点滴注入された。点滴注入の終了2時間後に、対象者には、全ての食欲が満たされることができるよう、過剰の自由選択ピュッフェ式食事が提供された。食物および水は、食事の前後に重量が計量され、カロリーの摂取が計算された。食塩水および PYY_{3-36} 後のカロリーの摂取は、対t検定 ($p < 0.001$) を用いて比較された。 PYY_{3-36} の投与後に (経口) 摂取されたカロリー数は、太りすぎの群およびやせた群の両方で、食塩水の投与後の (経口) 摂取されたカロリー数とは有意に異なっていた。太りすぎの群は、 $28.8 \pm 4.3\%$ の低下を示し、やせた群は、 $31.1 \pm 4.4\%$ の低下を示した。しかしながら、太りすぎの群における低下は、やせた群における低下とは有意には異なっていなかった。これらの知見は、食事後レベルに一致する PYY_{3-36} の点滴注入が、やせた対象者および太りすぎの対象者の両方に対して食欲および食物摂取の両方に顕著な障害を生じたことを実証している。

10

【0444】

20

ヒト対象への 10 nmol および 20 nmol (食塩水中) の投与量での PYY_{3-36} の皮下投与によって、図10に示されるように、 PYY_{3-36} のプラズマレベルが上昇した。

【0445】

理論によって拘束されずに、弓状核内の細胞は、循環する末梢飽満信号を検出し、この信号を他の脳領域へ中継することができた (Butler et al., Nature Neuroscience 4, 605-611, 2001)。これは、レプチンが、POMCおよびNPY弓状ニューロンの両方の活性を変更するという観察によって支持されている (Cowley et al., Nature 411, 480-484, 2001)。ここに開示される結果は、電気生理学的および視床下部外植片の研究を組み合わせることによって、消化管ホルモン、 PYY_{3-36} が、視床下部回路に直接影響を及ぼすことができ、その結果、POMCおよびNPY作用に同等の変更を生じることを、実証している。ここに呈示された結果は、ARC内のNPYニューロンが、血液/脳関門によって保護されず、従って、循環する分子に近づきやすいことを、示している。さらに、この脳領域内へ直接投与された PYY_{3-36} は、食物摂取を低減する。

30

【0446】

ここに開示されたデータは、 PYY_{3-36} の食事後レベルが、2種類以上の哺乳類 (例えば、齧歯類およびヒト対象) において12時間までの間、食物摂取を阻害することを、実証しており、それによって、食物摂取の調節における役割を示している。この役割は、数時間 (例えば、少なくとも、2、3、4、8、または12時間、あるいは、約2から約15時間まで) の継続時間に亘るといった長期間の役割として記載できる。これは、その効果が相対的に短命 (例えば、約1 - 4時間から) である先に特性が規定された消化管由来「短期」飽満信号、例えば、コレシストキニン (Schwartz et al., Nature 404, 661-671, 2000; Moran, Nutrition 16, 858-865, 2000) とは対照的である。

40

【0447】

PYY_{3-36} が Y2r 欠損マウスにおける食物摂取の阻害に失敗することは、 PYY_{3-36} が Y2R 依存機構を介して食物摂取を低減することを立証している。ここに開示された結果は、弓状 Y2R において作用する食事後 PYY_{3-36} を含む、摂食調節における新規な消化管 - 視床下部経路の存在を示唆している。従って、 PYY 、および PYY_{3-36} などのその類似体が、肥満の治療のための新規な治療薬剤を提供する。

【0448】

実施例 7

50

非経口投与 G L P - 1。

【 0 4 4 9 】

G L P - 1 すなわち G L P - 1 (7 - 3 6) アミド (2 5 n m o l / k g) または食塩水 (対照) が、暗相の開始前に、絶食させていないラットに非経口投与された。エクセ

【 0 4 5 0 】

図 1 1 に示される結果は、絶食させていないラットにおける 1 時間食物摂取に対する G L P - 1 の I P 投与の効果が、ラットの弓状核内で付随するエクセ

【 0 4 5 1 】

実施例 8

ラットにおける P Y Y ₃₋₃₆ と G L P - 1 との共投与。

【 0 4 5 2 】

P Y Y ₃₋₃₆ と、G L P - 1 すなわち G L P - 1 (7 - 3 6) アミドが、暗相の開始前に、絶食させていないラット内に注入 (腹腔内) された。G L P - 1 と P Y Y ₃₋₃₆ とは、以下の投与量 : G L P - 1 5 0 0 μ l の食塩水中に 3 0 μ g / k g = 1 × G または 6 0 μ g / k g = 2 × G ; P Y Y ₃₋₃₆ (5 0 0 μ l の食塩水中に 3 μ g / k g = 1 × P または 6 μ g / k g = 2 × P) で、別々に投与された。P Y Y ₃₋₃₆ と G L P - 1 とが、組み合わされた G L P - 1 3 0 μ g / k g と、P Y Y ₃₋₃₆ 3 μ g / k g との投与量で I P 共投与された (P + G 群) 。

【 0 4 5 3 】

図 1 2 に並べられた結果は、P Y Y ₃₋₃₆ と G L P - 1 とが共投与された (P + G) ととき、食物摂取の低減に対する明らかな相乗効果があることを示す。しかしながら、G L P - 1 の代わりにオキシントモジュリンを用いる処理を実行したとき、P Y Y ₃₋₃₆ とオキシントモジュリンとが共投与されたときの食物摂取の低減に対して得られた結果は、個々の効果の合計に過ぎなかった。相乗効果は観察されなかった。

【 0 4 5 4 】

実施例 9

ヒトにおける P Y Y ₃₋₃₆ と G L P - 1 との共投与。

【 0 4 5 5 】

平均年齢が 2 4 . 7 (± 0 . 8) 歳で B M I が 2 2 . 7 (± 0 . 6) k g / m² である 1 0 人の健康な志願者 (4 人の男性と 6 人の女性) が 採用された。志願者は、全ての研究の日の前夜に 9 p m から絶食し水を飲むだけにするように依頼された。各志願者は、4 日間の研究日に参加した。志願者は、9 . 3 0 a m に到着し、ベンフロン (venflons) が挿入された。次に、1 0 . 0 0 から 1 0 . 3 0 までの安静時間が続いた。静脈内 (intravenous) 点滴注入が、1 0 . 3 0 に開始され、ピュッフエ式昼食が、1 2 . 0 0 から 1 2 . 3 0 の間に提供された。点滴注入は、1 2 . 3 0 に終わり、志願者は、1 3 . 3 0 に帰宅した。

【 0 4 5 6 】

志願者には、以下の静脈内 (intra-venous) 点滴注入が任意の順序で 1 2 0 分間 (食事前 9 0 分間) 与えられた : 食塩水、G L P - 1、P Y Y ₃₋₃₆、P Y Y ₃₋₃₆ + G L P - 1。G L P - 1 と P Y Y ₃₋₃₆ 両方の投与量は、0 . 4 p m o l / k g / m i n であった。研究は、二重盲式であった。G L P - 1 は、すなわち G L P - 1 (7 - 3 6) アミドである。

【 0 4 5 7 】

自由ピュッフエ式食事からの食物摂取の結果は、以下の表に与えられるが、ここでは全

10

20

30

40

50

ての統計的比較に対して対 t 検定を用いた。

【 0 4 5 8 】

【表 1】

自由ビュッフェ式食事からの食物摂取 (Kcal)

	食塩水	G	P	P+G
平均	997	950	848	724
Sem	68.0	81.3	105.2	66.6
p v 食塩水		0.336318995	0.069375886	3.00605E-06
p v P+G		0.003622523	0.044418337	
食塩水からの 低減%		5%	15%	27%

10

【 0 4 5 9 】

これらの結果は、P Y Y 3 - 3 6 と G L P - 1 とが共投与されるときに相乗効果を示している。

【 0 4 6 0 】

20

上の実施例 4 および実施例 5 において得られた結果は、P Y Y₃₋₃₆ が弓状核を介して作用することを実証している。オキシントモジュリンも、脳のその領域を介して作用すると考えられる。上の実施例 8 において得られた結果は、G L P - 1 が、脳幹を介して作用することを示している。この実施例において得られた結果からは、脳の異なる領域、と異なる神経経路の一方または両方を介して作用する P Y Y₃₋₃₆ および G L P - 1 などの薬剤が非経口投与されるとき、それらは、相乗効果を生じ、一方、それらが、P Y Y₃₋₃₆ およびオキシントモジュリンなどといった同じ領域と経路の一方または両方によって作用するときは、それらは相乗効果を生じない、と思われる。ヒトに P Y Y と G L P - 1 とが共投与されたときに得られる食物摂取に対する相乗効果は、ラットにおいてなされた観察結果を確認するものである。

30

【 0 4 6 1 】

これらの結果は、食欲および食物摂取の調節に対する胃ホルモンのインビボでの相互作用の重要性を示している。本発明は、驚くべきことには、薬剤の情報を得た上での選択によって、より効果的に食欲および食物摂取を調節できることを実証する。

【 0 4 6 2 】

説明した方法または組成物の正確な詳細が、記載した開示の精神から逸脱せずに変更または修正できることは、明らかであろう。我々は、添付の請求項の範囲および精神内に含まれる全てのそのような修正物および変更物を請求する。

【 0 4 6 3 】

(配列表)

40

添付の配列表に挙げられた核酸およびアミノ酸配列は、3 7 C . F . R . 1 . 8 2 2 に規定されるように、ヌクレオチド塩基に対する標準文字省略形、およびアミノ酸に対する 3 文字略号を用いて示す。各核酸配列の 1 つの鎖だけを示すが、相補鎖は、表示された鎖のどのような参照によっても含まれるものとして理解される。

【図面の簡単な説明】

【 0 4 6 4 】

【図 1 a】図 1 は、A R C P O M C ニューロン内で E G F P を発現する遺伝子組換えマウスの生成を示す一組のダイアグラムおよびデジタル画像である。図 1 a は、P O M C - E G F P 導入遺伝子構造の概略ダイアグラムである。

【図 1 b】図 1 b は、電気生理学記録の前の生きたままの A R C 薄片内における、E G F

50

P 蛍光 (上方) および I R - D I C 顕微鏡 (下方) によるシングル P O M C ニューロン (記録電極先端上の矢印) の同定を示すデジタル画像である。

【図 1 c】図 1 c は、A R C P O M C ニューロン内の E G F P (左側) と β -エンドルフィン免疫反応 (中央) の共局在 (明るい部分、右側) を示す一組のデジタル画像である。スケールバーは、b、c とも 50 μ m である。

【図 1 d】図 1 d は、A R C 核 E G F P 陽性ニューロン細胞体の分布を示す一組のダイアグラムである。 = 5 細胞であり、 = 10 細胞である。

【図 2 a】図 2 は、M O P - R の活性が、G タンパク質が結合した内向きに整流するカリウムチャンネルを開くことによって E G F P 標識 P O M C ニューロンを過分極化させるのを示すトレースおよびグラフである。図 2 a は、メト - エンケファリンが、P O M C ニューロンを過分極化させ、全ての活性電位を阻害するのを示すトレースである。水平バーは、30 μ M M e t - E n k が薄片に浴適用 (bath-apply) された時間を示す。

【図 2 b】図 2 b は、メト - エンケファリン電流および反転電位が細胞外 K^+ 濃度により移動するのを示すグラフである。

【図 2 c】図 2 c は、メト - エンケファリンが P O M C ニューロン上の M O P - R を活性化させるのを示すグラフである。M e t - E n k (30 μ M) 電流が観察され、M O P - R 特異アンタゴニスト C T A P (1 μ M) が、1 分間適用された。C T A P の後では、M e t - E n k は、電流を誘発しなかった。図は、3 つの試験を代表する。

【図 3 a】図 3 は、レプチンが、非特異カチオンチャンネルを介して P O M C ニューロンを脱分極させ、P O M C 細胞上への G A B A 活性化調子を減少させるのを示すトレースおよびグラフである。図 3 a は、レプチンが、P O M C ニューロンを脱分極させ、添加の 1 から 10 分間の活動電位の周波数を増加させるのを示すトレースである。図は、77 P O M C ニューロンから得られた記録の代表例である。

【図 3 b】図 3 b は、レプチンが、P O M C 細胞の濃度依存脱分極を引き起こすのを示すグラフである。レプチンにより引き起こされた脱分極は、それぞれ (8, 7, 9, 3, 45) 細胞内で 0.1、1、50、および 100 nM ($E C_{50} = 5.9$ nM) において決定された。

【図 3 c】図 3 c は、レプチンが、非特異カチオン電流を活性化させることにより P O M C 細胞を脱分極させるのを示すグラフである。図は、10 細胞内における応答を代表する。

【図 3 d】図 3 d は、レプチンが、P O M C 細胞内の I P S C の周波数を減少させるのを示すグラフである。図は、5 細胞の例であり、ここでは、レプチン (100 nM) が、I P S C の周波数を減少させた。

【図 3 e】図 3 e は、5 隣接非蛍光性 A R C ニューロンに対して影響を与えなかったのを示すトレースである。

【図 3 f】図 3 f は、レプチンが、5 非蛍光性 A R C ニューロンを過分極化させるのを示すトレースである。

【図 4 a】図 4 は、P O M C 細胞への G A B A 活性化入力が、G A B A を共発現する N P Y ニューロンからのものであるのを示す一組のデジタル画像である。図 4 a は、N P Y が、P O M C ニューロン内の小さな I P S C の周波数を減少させるのを示すグラフである。

【図 4 b】図 4 b は、D - T r p⁸ - M S H (7 nM)、すなわち M C 3 - R を選択的に活性化させる、投与量が、P O M C ニューロン内の G A B A 活性化 I P S C の周波数を増加させるのを示すグラフである。

【図 4 c】図 4 c は、D - T r p⁸ - M S H が、P O M C ニューロンを過分極化させるのを示すトレースである。図 4 a、図 4 b、図 4 c は、代表である。

【図 4 d】図 4 d は、A R C 内の P O M C ニューロンに隣接する神経末端内の N P Y の発現を示す一組のデジタル画像である。N P Y 神経末端は、(黒、矢印)、P O M C ニューロン細胞体は、(灰色) である。スケールバーは、10 μ m である。

【図 4 e】図 4 e は、A R C 内の P O M C ニューロン上にシナプスを形成する神経末端内の G A B A と N P Y の発現を示すデジタル画像である。G A B A 免疫反応 (10 nm 金粒

10

20

30

40

50

子、尾部のない矢印)とNPY免疫反応(25nm金粒子、尾部のない矢印)は、POMCニューロンと直接接触するシナプス神経繊維末端内に共局在化された別々の小胞集団となっている(酢酸ウラニルとクエン酸鉛でコントラストが付けられたDAB、細胞質内の拡散黒)。スケールバーは、1 μm である。

【図4f】図4fは、ARC内のNPY/GABAとPOMCニューロンのモデルのダイアグラムである。

【図5a】図5は、ラット内のPY₃₋₃₆への摂食応答に関する一組のグラフである。図5aは、PY₃₋₃₆の腹腔内注入後の暗相摂食作表食物摂取(dark-phase feeding tabulating food intake)の棒グラフである。自由に摂食するラットには、「明かりを消す」直前に図に示される投与量($\mu\text{g}/100\text{g}$)でPY₃₋₃₆または生理食塩水が注入され、4時間の累積食物摂取が測定された。結果は、平均 \pm s.e.m.($n=8$ 毎群)であり、生理食塩水に比較して、 $*=p<0.05$ 、 $**=p<0.01$ 、 $***=p<0.001$ である。

10

【図5b】図5bは、PY₃₋₃₆の腹腔内注入後の食物摂取の棒グラフである。絶食させたラットには、図に示される投与量($\mu\text{g}/100\text{g}$)でPY₃₋₃₆または生理食塩水が注入され、4時間の累積食物摂取が測定された。結果は、平均 \pm s.e.m.($n=8$ 毎群)として示し、生理食塩水に比較して、 $*=p<0.05$ 、 $**=p<0.01$ 、 $***=p<0.001$ である。

【図5c】図5cは、生理食塩水またはPY₃₋₃₆の腹腔内注入後の累積食物摂取の棒グラフである。絶食させたラットには、生理食塩水(黒色棒)またはPY₃₋₃₆ 5 $\mu\text{g}/100\text{g}$ (白抜き棒)が注入され、図に示す時点における累積食物摂取が測定された。結果は、平均 \pm s.e.m.($n=12$ 毎群)として示し、生理食塩水に比較して、 $**=p<0.01$ である。

20

【図5d】図5dは、PY₃₋₃₆による長期にわたる処置における体重増加の線グラフである。ラットには、1日に2回、7日間、PY₃₋₃₆ 5 $\mu\text{g}/100\text{g}$ (白抜き四角)または生理食塩水(黒色逆三角)が注入された。体重増加は、毎日計算された。結果は、平均 \pm s.e.m.($n=12$ 毎群)として示し、生理食塩水に比較して、 $**=p<0.01$ である。

【図6a】図6は、Pomc-EGFPマウス内のc-fos発現の一組のデジタル画像である。図6aは、腹腔内生理食塩水に応答するPomc-EGFPマウスの弓状核内におけるc-fos発現の代表セクション(ブレグマ-1.4mm²²)のデジタル画像である。スケールバーは、100 μm である。3Vは、第三脳室であり、Arcは、弓状核である。

30

【図6b】図6bは、PY₃₋₃₆(5 $\mu\text{g}/100\text{g}$)に反応するPomc-EGFPマウスの弓状核内におけるc-fos発現の代表セクション(ブレグマ-1.4mm²²)のデジタル画像である。スケールバーは、100 μm である。3Vは、第三脳室であり、Arcは、弓状核である。

【図6c】図6cは、POMC-EGFPニューロンを示す代表セクションのデジタル画像である。スケールバーは、25 μm である。

【図6d】図6dは、共局在(明るい矢印)または単独(より暗い1つの矢印)のc-fos免疫反応を示す代表セクションのデジタル画像である。スケールバーは、25 μm である。

40

【図7a】図7は、ラット内の弓状内PY₃₋₃₆と、Y2r-欠損マウス内のIP PY₃₋₃₆の摂食効果とに関する一組の棒グラフである。図7aは、弓状内PY₃₋₃₆注入後の食物摂取の棒グラフである。絶食させたラットには、図に示す投与量で弓状核内に生理食塩水またはPY₃₋₃₆が注入された。注入2時間後の食物摂取が測定され、生理食塩水に比較して、 $**=p<0.01$ である。

【図7b】図7bは、IP投与後のY2r-欠損マウス内のPY₃₋₃₆に反応する摂食応答の棒グラフであり、野生型同腹子マウスで、24時間、絶食させて、図に示される投与量($\mu\text{g}/100\text{g}$)でPY₃₋₃₆または生理食塩水が注入され、4時間の累積食物摂取

50

が測定された。結果は、平均 \pm s . e . m . ($n = 5$ 毎群) で、生理食塩水に比較して、
 $* = p < 0.05$ 、 $** = p < 0.01$ である。

【図7c】図7cは、IP投与後のY2r - 欠損マウス内のPYY₃₋₃₆に应答する摂食応答の棒グラフであり、Y2r - 欠損マウスで、24時間、絶食させて、図に示される投与量 ($\mu\text{g} / 100\text{g}$) でPYY₃₋₃₆または生理食塩水が注入され、4時間の累積食物摂取が測定された。結果は、平均 \pm s . e . m . ($n = 5$ 毎群) で、生理食塩水に比較して、
 $* = p < 0.05$ 、 $** = p < 0.01$ である。

【図8a】図8は、PYY₃₋₃₆およびY2Aに対する電気生理学および神経ペプチドの応答に関する一組の画像である。図8aは、POMCニューロン (全細胞構成記録; $n = 22$) $*p < 0.05$ 、内の活動電位の周波数に対するPYY₃₋₃₆ (10nM) の効果を
 示すトレースである。PYY₃₋₃₆が、時刻Dにおいて3分間、投与され、基準は、-3から0分間であり、PYY₃₋₃₆は、2 - 5分間であり、洗浄は、8 - 11分間である。図内挿入図は、膜電位および活動電位周波数の代表記録を示す。

10

【図8b】図8bは、ゆるく細胞付着した断片の記録 ($n = 8$) 内の活動電位の周波数に対するPYY₃₋₃₆ (10nM) の効果のグラフである。個々の細胞からのデータは、PYY₃₋₃₆添加前の200sの間の興奮率に正規化された。

【図8c】図8cは、POMCニューロン ($n = 13$) 上への自発性IPSCに対するPYY₃₋₃₆ (50nM) の効果のトレースおよびグラフである。図内挿入図は、それぞれ、PYY₃₋₃₆ (50nM) 前と後のIPSCの代表記録を示す。図8a - 図8cの結果は、
 平均 \pm s . e . m . として示す。

20

【図8d】図8dは、Y2Aに应答して視床下部外植片から放出されたNPYを示す棒グラフである。視床下部薄片は、 50nM Y2AありまたはY2Aなしで人工CSF (aCSF) を用いて45分間培養した。結果は、平均 \pm s . e . m . ($n = 40$) として示し、生理食塩水に比較して、
 $** = p < 0.01$ 、 $*** = p < 0.001$ である。

【図8e】図8eは、Y2Aに应答して視床下部外植片から放出された - MSHを示す棒グラフである。視床下部薄片は、 50nM Y2AありまたはY2Aなしで人工CSF (aCSF) を用いて45分間培養した。結果は、平均 \pm s . e . m . ($n = 40$) として示し、生理食塩水に比較して、
 $** = p < 0.01$ 、 $*** = p < 0.001$ である。

【図9a】図9は、ヒト対象内の食欲および食物摂取に対するPYY₃₋₃₆点滴注入の効果を示す一組のグラフである。図9aは、生理食塩水またはPYY₃₋₃₆の点滴注入、2時間
 後の「自由選択」ピュッフェ式食事からのカロリー摂取のグラフである。細い線は、生理食塩水とPYY₃₋₃₆の投与間での各対象毎のカロリー摂取の個々の変化を示す。太い線は、2つの点滴注入 ($n = 12$) の間の平均変化を示す。

30

【図9b】図9bは、生理食塩水またはPYY₃₋₃₆の点滴注入後の24時間カロリー摂取のグラフである。食事日誌により評価された全カロリー摂取は、生理食塩水またはPYYの点滴注入後の24時間の期間に対して示す。データは、平均 \pm s . e . m . ($n = 12$) として得られ、生理食塩水に比較して、
 $*** = p < 0.0001$ である。

【図9c】図9cは、食欲指数(score) (相対尺度) のグラフである。視覚的アナログ指数(Raben et al., Br. J. Nutr. 73, 517-30, 1995)は、点滴注入時および点滴注入後の知覚空腹を示す。結果は、基準指数からの変化として示し、12対象全てに対する平均 \pm s . e . m . である。

40

【図10】図10は、 10nM のPYY₃₋₃₆ (破線) および 20nM のPYY₃₋₃₆ (実線) の皮下投与後のプラズマPYY₃₋₃₆ レベルを示す。

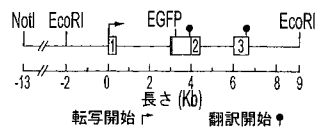
【図11】図11は、ラットの弓状核内で付随するエクセンジン9 - 39 (exendin 9-39) の存在下または不存在下でのGLP - 1のIP投与の、絶食させていないラットの1時間食物摂取に対する効果を示す。S = 食塩水、G = GLP - 1 (25nM / kg)、およびEx = エクセンジン9 - 39 (20nM / kg) である。

【図12】図12は、暗相の開始の前に注入 (腹腔内) された絶食させていないラットの1時間食物摂取に対するPYY₃₋₃₆とGLP - 1の共投与の効果を示す。IP GLP - 1 ($500\mu\text{l}$ の食塩水中に $30\mu\text{g}$ / kg = $1 \times \text{G}$ 、または $60\mu\text{g}$ / kg = $2 \times \text{G}$)

50

、あるいは、I P P Y Y₃₋₃₆ (500 μ l の食塩水中に 3 μ g / kg = 1 \times P、または 6 μ g / kg = 2 \times P)。共投与 (P + G 群) は、G L P - 1 の 30 μ g / kg および P Y Y₃₋₃₆ の 3 μ g / kg を組み合わせたものである。

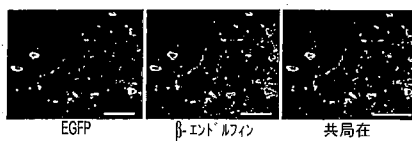
【図 1 a】



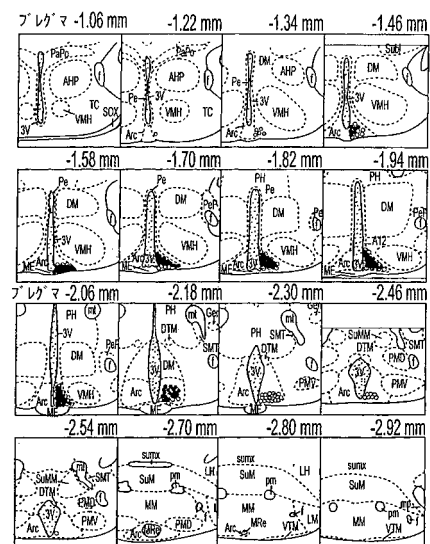
【図 1 b】



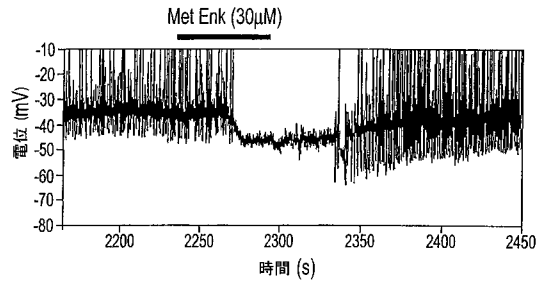
【図 1 c】



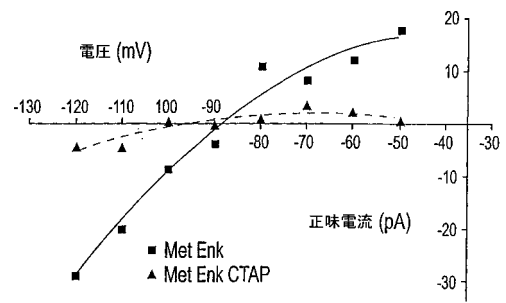
【図 1 d】



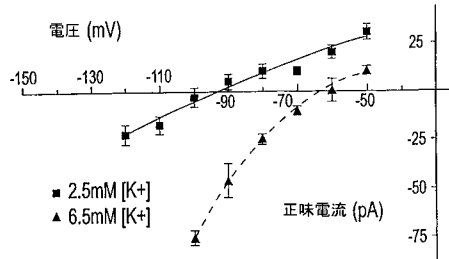
【図 2 a】



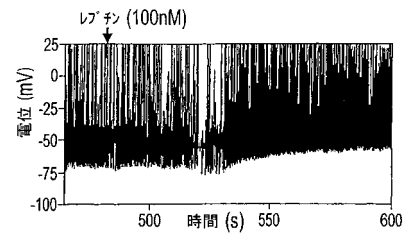
【図 2 c】



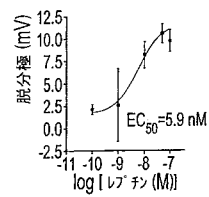
【図 2 b】



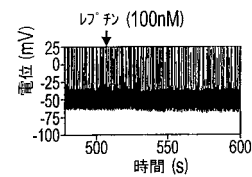
【図 3 a】



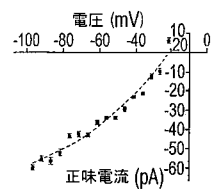
【図 3 b】



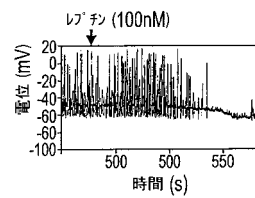
【図 3 e】



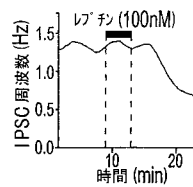
【図 3 c】



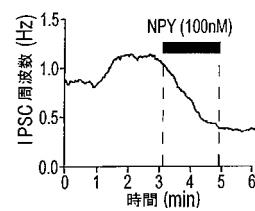
【図 3 f】



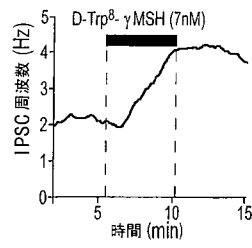
【図 3 d】



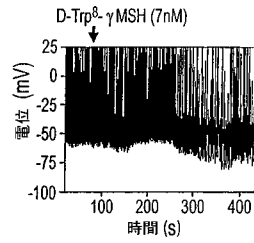
【図 4 a】



【図 4 b】



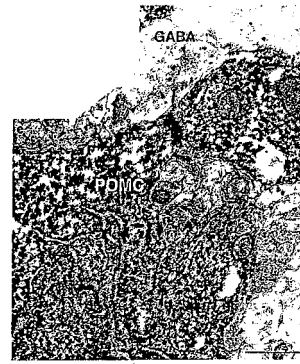
【図 4 c】



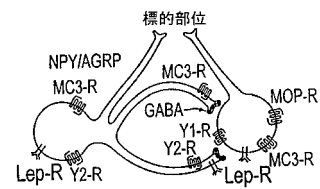
【図 4 d】



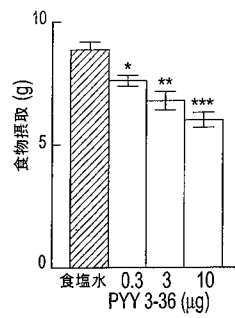
【図 4 e】



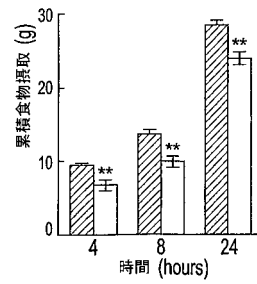
【図 4 f】



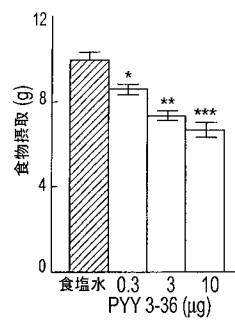
【図 5 a】



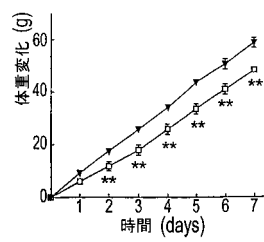
【図 5 c】



【図 5 b】



【図 5 d】



【図 6 a】



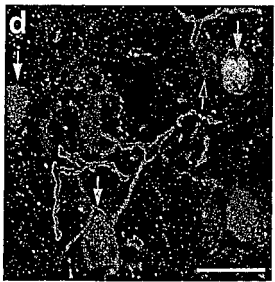
【図 6 b】



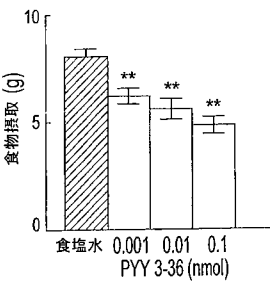
【図 6 c】



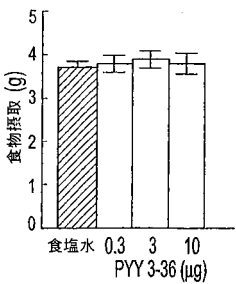
【図 6 d】



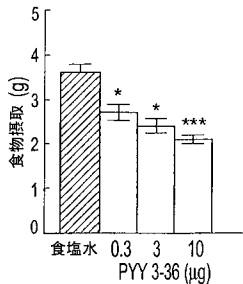
【図 7 a】



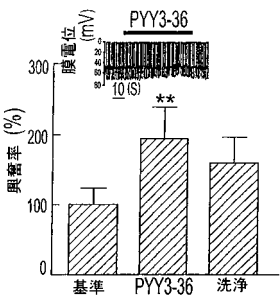
【図 7 c】



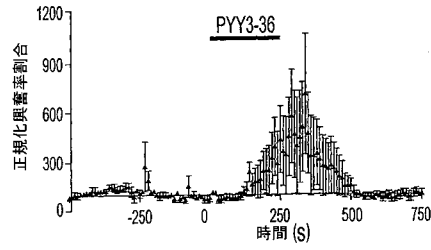
【図 7 b】



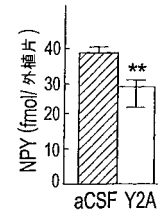
【図 8 a】



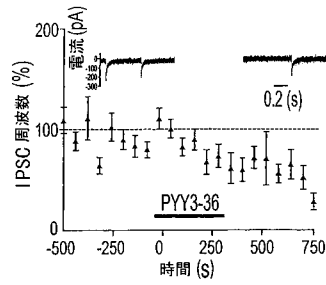
【図 8 b】



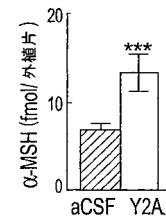
【図 8 d】



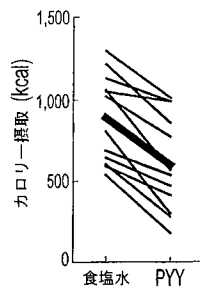
【図 8 c】



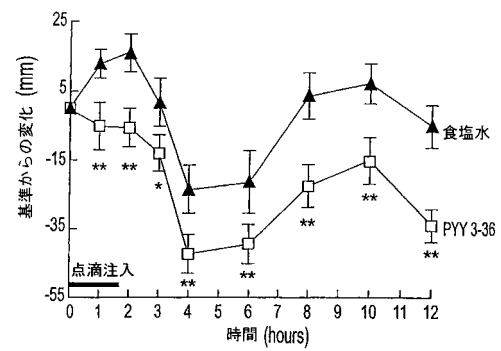
【図 8 e】



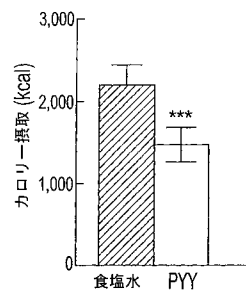
【図 9 a】



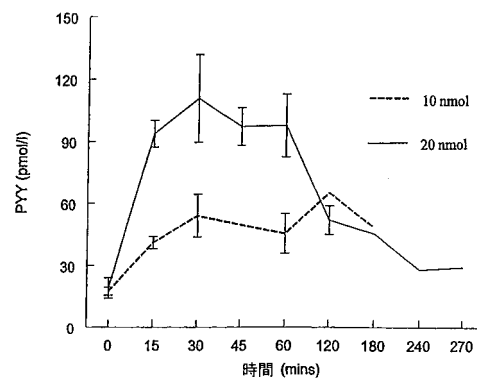
【図 9 c】



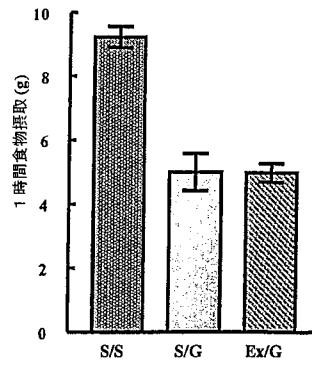
【図 9 b】



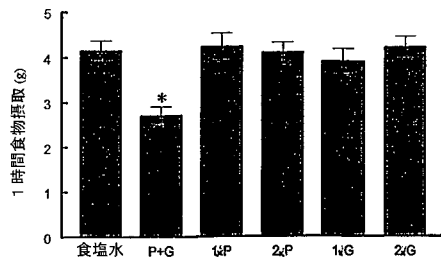
【図 10】



【図 1 1】



【図 1 2】



【配列表】

0004733922000001.app

フロントページの続き

- (31)優先権主張番号 PCT/US02/31944
(32)優先日 平成14年9月24日(2002.9.24)
(33)優先権主張国 米国(US)

前置審査

- (74)代理人 100096459
弁理士 橋本 剛
- (74)代理人 100092613
弁理士 富岡 潔
- (72)発明者 カウリー, マイケル
アメリカ合衆国, オレゴン, ポートランド, エス.イー. 19番 アヴェニュー 6724
- (72)発明者 コーン, ロジャー
アメリカ合衆国, オレゴン, オレゴン シティ, エス.ハッタン ロード 16563
- (72)発明者 ロー, マルコム
アメリカ合衆国, オレゴン, レイク オスウィーゴ, エス.ダブリュー.アッパー ドライブ 4650
- (72)発明者 バトラー, アンドルー
アメリカ合衆国, オレゴン, ポートランド, エス.ダブリュー.12番 アヴェニュー 3730, アpartment 10
- (72)発明者 ブルーム, スティーブン, ロバート
イギリス, ロンドン エスダブリュー72キューエー, エキシビション ロード, プリンズズ ゲート 47, インベリアル カレッジ イノベーションズ リミテッド
- (72)発明者 スモール, キャロライン, ジェーン
イギリス, ロンドン エスダブリュー72キューエー, エキシビション ロード, プリンズズ ゲート 47, インベリアル カレッジ イノベーションズ リミテッド
- (72)発明者 バターハム, レイチェル, ルイズ
イギリス, ロンドン エスダブリュー72キューエー, エキシビション ロード, プリンズズ ゲート 47, インベリアル カレッジ イノベーションズ リミテッド
- (72)発明者 ガティ, モハンマド, アリ
イギリス, ロンドン エスダブリュー72キューエー, エキシビション ロード, プリンズズ ゲート 47, インベリアル カレッジ イノベーションズ リミテッド

審査官 安藤 公祐

- (56)参考文献 国際公開第00/047219(WO, A1)
特開平11-228447(JP, A)
特開2001-011095(JP, A)
国際公開第98/030231(WO, A1)
国際公開第99/039702(WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 38/00
A61K 45/06
A61P 3/04
A61P 3/10
CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)

PubMed

Science Direct