

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2010 年 12 月 9 日(09.12.2010)

(10) 国際公開番号  
**WO 2010/140531 A1**

PCT

- (51) 国際特許分類:  
A61K 45/00 (2006.01) A23L 1/30 (2006.01)  
A61K 38/00 (2006.01) A23L 1/305 (2006.01)  
A61P 3/04 (2006.01) C07K 14/47 (2006.01)  
A61P 43/00 (2006.01) C12N 15/09 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2010/058998
- (22) 国際出願日: 2010 年 5 月 27 日(27.05.2010)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
61/213,349 2009 年 6 月 1 日(01.06.2009) US
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 国立大学法人東京大学 (THE UNIVERSITY OF TOKYO) [JP/JP]; 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目 3 番 1 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 宮崎 徹 (MIYAZAKI, Toru) [JP/JP]; 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目 3 番 1 号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 特許業務法人はるか国際特許事務所 (HARUKA PATENT & TRADEMARK ATTORNEYS); 〒1510051 東京都渋谷区千駄ヶ谷五丁目 2 7 番 7 号 日本ブランドウィックビル 9 階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF,

[続葉有]

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION, FOOD OR BEVERAGE, AND METHODS FOR THESE PRODUCTS

(54) 発明の名称: 医薬組成物、飲食物及びこれらに関する方法

[図]

|                                                                                                                                                                                      |                                 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| SRCS1                                                                                                                                                                                |                                 |
| 1 MALLLSILA---ICTREGLASPSQKLVGGHRCCEGRVEEGRGKGVYEDGWQIKD<br>NA L F L L A I F S P V LVGG HREGRVEE GQWGVYEDGWQIKD<br>MAPLENLMLALLSLEVGSCESEPTKQVLGGHRCCEGRVEEGRGKGVYEDGWQIKD           | 60 human<br>consensus<br>mouse  |
| SRCS2                                                                                                                                                                                |                                 |
| 61 VAVLCRELGGGASGTPSGILYEPFAEKEKVLQSVSCTGTEDTLAQCEQE-EYDCH<br>VAV CREL CGA TP G Y PPA EQ VLIQ V C GEDTLAQCE V DCH<br>VAVCRELNGCAVITPRGASYPPAS-EQVLIQVGDCTGTEDTLAQCELVNDVDCSH         | 120 human<br>consensus<br>mouse |
| SRCS3                                                                                                                                                                                |                                 |
| 123 EDAGASCENPESFSPVFEGRKLDGPGHCKGRVEVKNQNYITVCTQNSLRKAVVC<br>EDAGA CENP S PE VRL DGHGHC GRVEV HC QH TVC GH L KVV<br>EDAGACENPESDLEFEDVRLVGGHCKGRVEVKNQNYITVCTQNSLRKAVVC             | 180 human<br>consensus<br>mouse |
| SRCS4                                                                                                                                                                                |                                 |
| 181 RQLGCGRAVLTQRCNKHAYGRPTNLSSMCSGREATLQDPSGPGKNTCHREDTAV<br>RQLGCGRA LT CNK G PLR MSCG EA L C N H EDTW<br>RQLGCGRAVLTQRCNKHAYGRPTNLSSMCSGREATLQDPSGPGKNTCHREDTAV                   | 240 human<br>consensus<br>mouse |
| SRCS5                                                                                                                                                                                |                                 |
| 241 ECTDPPFRLVGGDNLCSGRLEVLHKGWVSVCDNNGEKEQDVVCKQLSGKSLSPSFR<br>ECTDPPFRLVGGDNLCSGRLEVLHKGWVSVCDNNGEKEQDVVCKQLSGKSLSPSFR<br>ECTDPPFRLVGGDNLCSGRLEVLHKGWVSVCDNNGEKEQDVVCKQLSGKSLSPSFR | 300 human<br>consensus<br>mouse |
| SRCS6                                                                                                                                                                                |                                 |
| 301 DRKVEPGVGRINLDVNRCSGEEQSLQCHREWGPHDCTHEDVAVICG<br>SR YPG GRINLD V CSQ EQSLC C HR WG HCTH EDV VIC<br>DRKVEPGVGRINLDVNRCSGEEQSLQCHREWGPHDCTHEDVAVICG                               | 360 human<br>consensus<br>mouse |

(57) Abstract: Disclosed are a novel pharmaceutical composition, a food or beverage, and methods for these products. The pharmaceutical composition is characterized by comprising the following protein (I) or (II) as an active ingredient: (I) a macrophage apoptosis inhibitor; and (II) a protein which comprises an amino acid sequence produced by deleting, substituting or adding one or several amino acid residues in the amino acid sequence for the macrophage apoptosis inhibitor and having homology with the aforementioned amino acid sequence, and has a function of inhibiting the differentiation of a progenitor adipocyte into a mature adipocyte and/or a function of inducing the decomposition of fat droplets in a mature adipocyte. For example, the pharmaceutical composition contains, as an active ingredient, a protein comprising an amino acid sequence depicted in sequence table 1, a protein comprising an amino acid sequence depicted in sequence table 5, or a mutant protein of any one of the aforementioned proteins which is so mutated that a function of inhibiting the differentiation of a progenitor adipocyte into a mature adipocyte and/or a function of inducing the decomposition of fat droplets in a mature adipocyte cannot be impaired.

(57) 要約:

[続葉有]

WO 2010/140531 A1



BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE,  
SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

— 補正された請求の範囲 (条約第 19 条(1))

— 明細書の別個の部分として表した配列リスト  
(規則 5.2(a))

新規な医薬組成物、飲食物及びこれらに関する方法を提供する。本発明に係る医薬組成物は、下記の (I) 又は (I I) のタンパク質を有効成分として含有することを特徴とする医薬組成物；(I) マクロファージアポトーシスインヒビター；、(I I) マクロファージアポトーシスインヒビターのアミノ酸配列において 1 若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、前記アミノ酸配列と同一性を有するアミノ酸配列からなり、脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質、である。すなわち、本発明に係る医薬組成物は、例えば、配列表 1 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質、配列表 5 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質又はこれらがその脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を損なわない範囲で変異したタンパク質を有効成分として含有する。

## 明 細 書

**発明の名称：** 医薬組成物、飲食物及びこれらに関する方法

### 技術分野

[0001] 本発明は、医薬組成物、飲食物及びこれらに関する方法に関する。

### 背景技術

[0002] 現在、様々な抗肥満薬の開発が進められている。例えば、脂肪酸合成酵素（FAS）の阻害剤は、視床下部におけるニューロペプチドY（NPY）の産生量を低減させることにより、顕著な食欲の減退を引き起こし、結果として、体重や脂肪量の減少をもたらすことが報告されている（例えば、非特許文献1参照）。

### 先行技術文献

#### 非特許文献

[0003] 非特許文献1：Loftus, T.M. et al. Science 288: 2379-2381 (2000)

### 発明の概要

#### 発明が解決しようとする課題

[0004] しかしながら、脳神経系に作用する低分子化合物を有効成分とする抗肥満薬は、好ましくない副作用（例えば、拒食症）を引き起こすという問題があった。

[0005] したがって、このような副作用（例えば、拒食症）を伴わない新たな抗肥満薬の登場が切望されていた。

[0006] 本発明は、上記課題に鑑みて為されたものであり、新規な医薬組成物、飲食物及びこれらに関する方法を提供することをその目的の一つとする。

#### 課題を解決するための手段

[0007] 上記課題を解決するための本発明の一実施形態に係る医薬組成物は、下記の（I）又は（I I）のタンパク質；（I）マクロファージアポトーシスインヒビター：、（I I）マクロファージアポトーシスインヒビターのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加され

た、前記アミノ酸配列と相同性を有するアミノ酸配列からなり、脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質、を有効成分として含有することを特徴とする医薬組成物である。本発明によれば、新規な医薬組成物を提供することができる。

[0008] 上記課題を解決するための本発明の一実施形態に係るタンパク質は、前記（Ⅰ）のタンパク質又は前記（ⅠⅠ）のタンパク質であって、医薬組成物の有効成分としての使用のためのタンパク質である。本発明によれば、新規な医薬用途のためのタンパク質を提供することができる。

[0009] 上述課題を解決するための本発明の一実施形態に係る方法は、前記医薬組成物を製造することを特徴とする。本発明によれば、新規な医薬組成物の製造方法を提供することができる。

[0010] 上述課題を解決するための本発明の一実施形態に係る方法は、前記医薬組成物を生体に投与することを特徴とする。本発明によれば、新規な医薬組成物を生体に投与する方法を提供することができる。

[0011] 上述課題を解決するための本発明の一実施形態に係る飲食物は、下記の（Ⅰ）又は（ⅠⅠ）のタンパク質を含有することを特徴とする飲食物である；  
（Ⅰ）マクロファージアポトーシスインヒビター；、  
（ⅠⅠ）マクロファージアポトーシスインヒビターのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、前記アミノ酸配列と相同性を有するアミノ酸配列からなり、脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質。本発明によれば、新規な飲食物を提供することができる。

[0012] 上述課題を解決するための本発明の一実施形態に係る方法は、前記飲食物を製造することを特徴とする。本発明によれば、新規な飲食物の製造方法を提供することができる。

## 図面の簡単な説明

[0013] [図1] ヒト A I M のアミノ酸配列と c D N A の塩基配列とを対応させて示す説明図である。

[図2] S R C R - S F に属する分子の一例を示す説明図である。

[図3] ヒトの A I M のアミノ酸配列、マウスの A I M のアミノ酸配列及びこれらに共通するコンセンサス配列を対応させて示す説明図である。

[図4] 脂肪組織に浸潤したマクロファージが A I M を産生していることを示す顕微鏡写真の一例を示す説明図である。

[図5A] 脂肪細胞に対する A I M の負荷スケジュールの一例を示す説明図である。

[図5B] 図 5 A に示すスケジュールで A I M が負荷された細胞を oil-red-o 脂肪染色した結果の一例を示す説明図である。

[図6A] 脂肪細胞に対する A I M の負荷スケジュールの一例を示す説明図である。

[図6B] 図 6 A に示すスケジュールで A I M が負荷された細胞を oil-red-o 脂肪染色した結果の一例を示す説明図である。

[図7A] 図 6 A に示すスケジュールで A I M が負荷された場合に得られた脂肪滴を有する細胞の数を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図7B] 図 6 A に示すスケジュールで A I M が負荷された場合に得られた脂肪滴を有する細胞における脂肪滴の直径を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図8A] 図 6 A に示すスケジュールで A I M が負荷された場合に培養上清中に放出されたグリセロールの量を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図8B] 図 6 A に示すスケジュールで A I M が負荷された場合に培養上清中に放出された遊離脂肪酸の量を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図9] 脂肪細胞の分化に伴う主な遺伝子の発現様式を模式的に示す説明図である。

[図10] 図 5 A 及び図 6 A に示すスケジュールで A I M が負荷された細胞における遺伝子の発現を解析した結果の一例を示す説明図である。

[図11A] 脂肪細胞に対するA I Mの負荷スケジュールの一例を示す説明図である。

[図11B] 図 1 1 Aに示すスケジュールでA I M又はF A S 阻害剤が負荷された細胞におけるF A S の酵素活性を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図11C] 図 1 1 Aに示すスケジュールでA I M又はF A S 阻害剤が負荷された細胞におけるF A S の酵素活性を測定した結果の他の例を示す説明図である。

[図12A] 図 1 1 Aに示すスケジュールでA I M又はF A S 阻害剤が負荷された細胞をoil-red-o脂肪染色した結果の一例を示す説明図である。

[図12B] 図 1 1 Aに示すスケジュールでA I M又はF A S 阻害剤が負荷された細胞における遺伝子の発現を解析した結果の一例を示す説明図である。

[図13A] 図 1 1 Aに示すスケジュールでA I M又はF A S 阻害剤が負荷された場合に培養上清中に放出されたグリセロールの量を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図13B] 図 1 1 Aに示すスケジュールでA I M又はF A S 阻害剤が負荷された場合に培養上清中に放出された遊離脂肪酸の量を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図14] H A タグが付加されたA I MとF L A G タグが付加されたF A S との結合を裏付ける免疫沈降の結果の一例を示す説明図である。

[図15A] A I Mが負荷され抗A I M抗体で染色された細胞の共焦点顕微鏡写真の一例を示す説明図である。

[図15B] A I Mが負荷され抗A I M抗体で染色された細胞の共焦点顕微鏡写真の他の例を示す説明図である。

[図16A] A I Mが負荷された細胞の免疫電子顕微鏡写真の一例を示す説明図である。

[図16B] A I Mが負荷された細胞の免疫電子顕微鏡写真の他の例を示す説明図である。

[図17] A I Mが細胞内に取り込まれる機構を模式的に示す説明図である。

[図18A] A I M及びC D 3 6を二重染色された脂肪細胞を共焦点顕微鏡にて二次元的に解析した結果の一例を示す説明図である。

[図18B] A I M及びC D 3 6を二重染色された脂肪細胞を共焦点顕微鏡にて三次元的に解析した結果の一例を示す説明図である。

[図18C] A I M及びC D 3 6を二重染色された脂肪細胞を共焦点顕微鏡にて三次元的に解析した結果の他の例を示す説明図である。

[図18D] A I M及びC D 3 6を二重染色された脂肪細胞を共焦点顕微鏡にて三次元的に解析した結果のさらに他の例を示す説明図である。

[図19A] C D 3 6の中和抗体の非存在下でA I Mを負荷された細胞を抗A I M抗体で染色した結果の一例を示す説明図である。

[図19B] C D 3 6の中和抗体とともにA I Mを負荷された細胞を抗A I M抗体で染色した結果の一例を示す説明図である。

[図20A] AIM<sup>-/-</sup> Adipo<sup>-/-</sup>マウスの腹腔内脂肪組織を撮影した写真の一例を示す説明図である。

[図20B] AIM<sup>+/+</sup>Adipo<sup>-/-</sup>マウスの腹腔内脂肪組織を撮影した写真の一例を示す説明図である。

[図21A] AIM<sup>-/-</sup> Adipo<sup>-/-</sup>マウス及びAIM<sup>+/+</sup>Adipo<sup>-/-</sup>マウスの体重を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図21B] AIM<sup>-/-</sup> Adipo<sup>-/-</sup>マウス及びAIM<sup>+/+</sup>Adipo<sup>-/-</sup>マウスの脂肪組織の重量を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図22A] B S Aを投与されたマウスにおける脂肪組織の顕微鏡観察結果の一例を示す説明図である。

[図22B] A I Mを投与されたマウスにおける脂肪組織の顕微鏡観察結果の一例を示す説明図である。

[図23A] H F Dを与える前のAIM<sup>-/-</sup> Adipo<sup>-/-</sup>マウス及びAIM<sup>+/+</sup>Adipo<sup>-/-</sup>マウスの体重を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図23B] H F Dを与えた後のAIM<sup>-/-</sup> Adipo<sup>-/-</sup>マウス及びAIM<sup>+/+</sup>Adipo<sup>-/-</sup>マウスの体重を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図23C] AIM<sup>-/-</sup> Adipo<sup>-/-</sup>マウス及びAIM<sup>+/+</sup>Adipo<sup>-/-</sup>マウスの内臓脂肪の重量を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図23D] AIM<sup>-/-</sup> Adipo<sup>-/-</sup>マウス及びAIM<sup>+/+</sup>Adipo<sup>-/-</sup>マウスの皮下脂肪の重量を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図23E] AIM<sup>-/-</sup> Adipo<sup>-/-</sup>マウス及びAIM<sup>+/+</sup>Adipo<sup>-/-</sup>マウスの肝臓の重量を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図24A] HFDを与える前のAIM<sup>-/-</sup>マウス及びAIM<sup>+/+</sup>マウスの体重を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図24B] HFDを与えた後のAIM<sup>-/-</sup>マウス及びAIM<sup>+/+</sup>マウスの体重を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図24C] AIM<sup>-/-</sup>マウス及びAIM<sup>+/+</sup>マウスの内臓脂肪組織の重量を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図24D] AIM<sup>-/-</sup>マウス及びAIM<sup>+/+</sup>マウスの皮下脂肪組織の重量を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図24E] AIM<sup>-/-</sup>マウス及びAIM<sup>+/+</sup>マウスの肝臓の重量を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図25] AIM<sup>-/-</sup>マウス及びAIM<sup>+/+</sup>マウスの食糧摂取量を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図26] AIM<sup>+/+</sup>マウス及びAIM<sup>-/-</sup>マウスの脂肪細胞のサイズを測定した結果の一例を示す説明図である。

[図27A] AIM<sup>+/+</sup>マウスから採取された内臓脂肪組織切片をH E染色して位相差顕微鏡下で観察した結果の一例を示す説明図である。

[図27B] AIM<sup>-/-</sup>マウスから採取された内臓脂肪組織切片をH E染色して位相差顕微鏡下で観察した結果の一例を示す説明図である。

[図28A] AIM<sup>+/+</sup>マウス及びAIM<sup>-/-</sup>マウスの体重を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図28B] AIM<sup>+/+</sup>マウス及びAIM<sup>-/-</sup>マウスの内臓脂肪組織の重量を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図28C] AIM<sup>+/+</sup>マウス及びAIM<sup>-/-</sup>マウスの皮下脂肪組織の重量を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図29A] AIM<sup>+/+</sup>マウス及びAIM<sup>-/-</sup>マウスの体温を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図29B] AIM<sup>+/+</sup>マウス及びAIM<sup>-/-</sup>マウスの酸素消費速度を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図29C] AIM<sup>+/+</sup>マウス及びAIM<sup>-/-</sup>マウスの食餌摂取量を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図29D] AIM<sup>+/+</sup>マウス及びAIM<sup>-/-</sup>マウスの運動性を評価した結果の一例を示す説明図である。

[図30A] AIM又はBSAが投与されたAIM<sup>-/-</sup>マウスの体重を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図30B] AIM又はBSAが投与されたAIM<sup>-/-</sup>マウスの内臓脂肪組織の重量を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図30C] AIM又はBSAが投与されたAIM<sup>-/-</sup>マウスの皮下脂肪組織の重量を測定した結果の一例を示す説明図である。

[図31] AIM又はBSAが投与されたAIM<sup>-/-</sup>マウスのmRNAレベルを評価した結果の一例を示す説明図である。

[図32] *in vivo*におけるAIMとFASとの結合を確認した結果の一例を示す説明図である。

[図33A] *in vitro*におけるAIMとFASとの結合を確認した結果の一例を示す説明図である。

[図33B] *in vitro*におけるAIMとFASとの結合を確認した結果の他の例を示す説明図である。

[図34A] 二量化したFAS及び各領域の主な機能を示す説明図である。

[図34B] FASの各領域をFlag配列でタグ化し、当該各領域とHA-tagged AIMとの結合を共沈試験により調べた結果の一例を示す説明図である。

[図35A] ワイルドタイプCD36<sup>+/-</sup>マウスに、rAIMを静脈から注射し、

脂肪組織への r A I M の取り込みを解析した結果の一例を示す説明図である。

[図35B] C D 3 6 - / - マウスに、r A I M を静脈から注射し、脂肪組織への r A I M の取り込みを解析した結果の一例を示す説明図である。

[図36A] 分化刺激前の H M S C を位相差顕微鏡下で観察した結果の一例を示す説明図である。

[図36B] r h A I M 不存在下での分化刺激後の H M S C を位相差顕微鏡下で観察した結果の一例を示す説明図である。

[図36C] r h A I M 存在下での分化刺激後の H M S C を位相差顕微鏡下で観察した結果の一例を示す説明図である。

[図37] H M S C における G l u t - 4 の m R N A レベルを評価した結果の一例を示す説明図である。

[図38] 抗マウス A I M 抗体を用いてイヌ血清及びネコ血清のウェスタンブロッティングを行った結果の一例を示す説明図である。

### 発明を実施するための形態

[0014] 以下、本発明の一実施形態について説明する。なお、本発明は本実施形態によって何ら限定されるものではない。

[0015] まず、本発明に関連するタンパク質であるマクロファージアポトーシスインヒビター（以下、「A I M」という。）について説明する。

[0016] A I M は、そのアミノ酸配列中に、3つの S R C R ( s c a v e n g e r r e c e p t o r c y s t e i n e - r i c h ) ドメイン（N末端側から順に、S R C R 1、S R C R 2、S R C R 3と呼ばれる。）が保存されており、当該3つの S R C R ドメインが直列的に連結された分子構造を有する分泌型のタンパク質である。

[0017] 本発明の発明者の研究グループは、マウス遺伝子をクローニングして、ノックアウトマウスを作製し解析した結果に基づいて、マクロファージによって特異的に産生され、マクロファージのアポトーシスを抑制する機能を有する分泌型タンパク質としてマウスの A I M を初めて報告した（文献1：Miyaz

aki, T. et al. Increased susceptibility of thymocytes to apoptosis in mice lacking AIM, a novel murine macrophage-derived soluble factor belonging to the scavenger receptor cysteine-rich domain superfamily. J Exp Med. 189:413-422, 1999.、文献2 : Haruta, I., Kato, Y., Hashimoto, E., Minjares, C., Kennedy, S., Uto, H., Yamauchi, K., Kobayashi, M., Yusa, S., Muller, U., Hayashi, N. & Miyazaki, T. Association of AIM, a novel apoptosis inhibitory factor, with hepatitis via supporting macrophage survival and enhancing phagocytotic function of macrophages. J. Biol. Chem. 276: 22910-22914 (2001).)。

[0018] 一方、他の研究グループによってヒト遺伝子シーケンスが「S p  $\alpha$ 」 (S e c r e t i o n P r o t e i n  $\alpha$ ) として報告された (文献3 : Gebe, J.A. et al. Molecular cloning, mapping to human chromosome 1 q21-q23, and cell binding characteristics of Spalpa, a new member of the scavenger receptor cysteine-rich (SRCR) family of proteins. J Biol Chem. 272: 6151-6158, 1997.)。また、その後、ゲノムシーケンスプロジェクトの一環として同遺伝子に「A p i 6」の名称が付けられた。さらに、S R C R ドメインを3つ有する構造が C D 5 の細胞外ドメインに似ていることから、「C D 5 L」という名称も付けられた。そして、最近、これらの名称を「C D 5 L」に統一することが提案されている。しかしながら、分子の名称がその機能を反映するものであるべきとするならば、これらのタンパク質の名称はいずれも「A I M」に統一されることが適切と考えられる。

[0019] マウス A I M は、配列表 5 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質である。また、ヒト A I M は、配列表 1 に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質である。なお、図 1 には、ヒト A I M のアミノ酸配列 (配列表 1 に示されるアミノ酸配列) と c D N A の塩基配列 (配列表 9 に示される塩基配列) とを対応させて示す。

[0020] 次に、A I M 分子の特徴について説明する。マウス A I M は、本来、S c a v e n g e r - R e c e p t o r C y s t e i n e - R i c h S u p

er Family (SRCR-SF) の新しいメンバーとして発見された、54 kDa の分子量をもつ分子である。

[0021] 図2には、このSRCR-SFに属する分子の一例を示す。図2に示すように、AIM分子は、SRCR-SFに属するメンバー分子間で保存されている、システインを多く含むSRCRドメインが直列的に3つ連結して構成されている。

[0022] このAIMは、最もN末端側にあるSRCRドメインであるSRCR1よりさらにN末端側にシグナルペプチドを有するが、膜貫通ドメインや細胞内ドメインに相当する部分は有しておらず、シーケンス上典型的な分泌型タンパク質である。なお、図2に示すように、CD5やCD6等、同様のSRCRドメインを3つ有する他のSRCR-SFメンバーは、膜貫通型タンパク質である。

[0023] ちなみに、「SRCR-SF」という名称は、システイン・リッチのドメインがスカベンジャー受容体において最初に記載されたために付けられた名称であり、このドメインを有している分子が全てスカベンジング機能をもっているわけではない。実際に、マウスAIMにスカベンジング機能はない。

[0024] マウスAIMとヒトAIMとは、アミノ酸配列において68%の相同性がある。また、マウスAIMには3つのN-glycosylation siteがあるが、これはヒトAIMには無い。

[0025] 図3には、ヒトのAIMのアミノ酸配列（配列表1に示されるアミノ酸配列の1文字表記）、マウスのAIMのアミノ酸配列（配列表5に示されるアミノ酸配列の1文字表記）及びこれらに共通するコンセンサス配列を対応させて示す。図3において、6段のうち、最上段から3段目にかけて示されている四角の枠で囲まれた部分が、SRCR1ドメインのアミノ酸配列（ヒトAIMに係る配列表2に示されるアミノ酸配列及びマウスAIMに係る配列表6に示されるアミノ酸配列）である。また、3段目から5段目にかけて示されている四角の枠で囲まれた部分が、SRCR2ドメインのアミノ酸配列（ヒトAIMに係る配列表3に示されるアミノ酸配列及びマウスAIMに係る配列表7に示されるアミノ酸配列）である。

る配列表 7 に示されるアミノ酸配列) である。そして、5 段目から 6 段目にかけて示されている四角の枠で囲まれた部分が、S R C R 3 ドメインのアミノ酸配列 (ヒト A I M に係る配列表 4 に示されるアミノ酸配列及びマウス A I M に係る配列表 8 に示されるアミノ酸配列) である。

[0026] さらに、これまでに知られている A I M の機能について説明する。A I M の機能の一部は、最初ノックアウトマウスを解析することにより明らかになった (上記文献 1)。すなわち、A I M 欠損 (A I M<sup>-/-</sup>) マウスは基本的に異常を呈さないが、腹腔マクロファージにおいて、様々な刺激によって誘導されるアポトーシスに対する抵抗性が低いことがわかった。同様に組換え A I M 分子を A I M<sup>-/-</sup>マクロファージに負荷すると、アポトーシス抵抗性が上昇する。すなわち、A I M はマクロファージのアポトーシスを抑制する機能をもつことが明らかとなった。

[0027] A I M により抑制されるアポトーシスは限定された誘導刺激によるものではなく、F a s / C D 9 5、放射線、ステロイド、感染 (リステリア等)、酸化 L D L 等、様々な刺激によるアポトーシスに対応している。どのようなメカニズムで A I M がアポトーシスを抑制しているかは未だ明らかでない。

[0028] そして、本発明の発明者は、このような A I M について鋭意検討を重ねた結果、A I M が、脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制し、また、成熟した脂肪細胞において脂肪滴の分解 (lipolysis) を誘導するという意外な機能を発揮することを独自に見出し、本発明を完成するに至った。

[0029] しかも、驚くべきことに、A I M は、分泌型タンパク質でありながら、細胞膜の表面に発現している C D 3 6 を介して細胞質内に取り込まれることによって、その機能を発揮することが明らかとなった。

[0030] この事実は、A I M が C D 3 6 を発現している細胞に対してのみ特異的に作用することを意味している。すなわち、例えば、C D 3 6 を発現していない脳神経系の細胞に対しては、A I M は作用しない。

[0031] また、A I M はタンパク質であるため、血液脳関門を通過することはない。したがって、A I M は、従来の低分子物質を有効成分とする抗肥満薬によ

って引き起こされていたような副作用（例えば、拒食症）を起こさない。

[0032] 次に、本実施形態に係る医薬組成物（以下、「本医薬組成物」という。）について説明する。本医薬組成物は、上述のA I Mを含む特定のタンパク質（以下、「本タンパク質」という。）を有効成分として含有する。

[0033] すなわち、本医薬組成物は、下記の（I）又は（I I）のタンパク質；（I）マクロファージアポトーシスインヒビター：、（I I）マクロファージアポトーシスインヒビターのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、前記アミノ酸配列と相同性を有するアミノ酸配列からなり、脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質、を有効成分として含有する医薬組成物である。ここで、上記（I）のタンパク質は、ネイティブなA I Mであり、上記（I I）のタンパク質は、当該ネイティブなA I Mの変異タンパク質である。

[0034] 本タンパク質は、上記（I）のタンパク質又は上記（I I）のタンパク質であって、医薬組成物の有効成分としての使用のためのタンパク質である。また、本タンパク質は、例えば、後述するいずれかの疾患の診断、治療又は予防における使用のためのタンパク質である。

[0035] 本医薬組成物は、例えば、ヒト又はヒト以外の動物（以下、単に「動物」という。）のA I Mを有効成分として含有する。

[0036] 本タンパク質は、例えば、配列表1に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質である。すなわち、この場合、本タンパク質は、ヒトのA I Mであり、マクロファージのアポトーシスを抑制する機能（以下、「アポトーシス抑制機能」という。）を有する分泌型のタンパク質である。

[0037] また、本タンパク質は、例えば、動物のA I Mである。動物は、ヒト以外の動物であれば特に限られず、例えば、哺乳動物（例えば、マウス、ラット、モルモット等のげっ歯類、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタ、ウシ、ウマ、サル）である。より具体的に、本タンパク質は、例えば、マウス、イヌ又はネコのA I Mである。

- [0038] 本タンパク質は、例えば、配列表5に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質である。すなわち、この場合、本タンパク質は、マウスのA I Mであり、アポトーシス抑制機能を有する分泌型のタンパク質である。
- [0039] これらのA I Mは、例えば、遺伝子組み換え技術を利用して製造することができる。すなわち、まず、配列表9に示されるヒトA I Mのc D N A（なお、配列表9に示されるアミノ酸配列において3'末端の「t a g」はストップコドンである。）を、適切な発現ベクター（p C A G G S等）に組み込む。次いで、この発現ベクターを動物細胞株（C H O細胞、2 9 3 T細胞等）に導入し、当該動物細胞にヒトA I Mを産生させる。
- [0040] ヒトA I Mは分泌型のタンパク質であるため、産生された組み換えヒトA I Mは培養上清中に放出される。したがって、例えば、このヒトA I MにH A等のタグ・ペプチド（9～12個のアミノ酸）を付加しておくことにより、当該タグ・ペプチドに対する抗体が固定化された精製カラムを用いて、培養上清から当該ヒトA I Mを精製することができる。また、例えば、予め抗A I M抗体が得られている場合には、当該抗A I M抗体を用いて培養上清からタグを付加されていないヒトA I Mを精製することもできる。
- [0041] なお、ヒト以外の動物のA I Mについても、同様にしてA I Mを製造することができる。すなわち、例えば、マウスについては配列表10に示されるマウスA I Mのc D N A（なお、配列表10に示されるアミノ酸配列において3'末端の「t g a」はストップコドンである。）を用いることにより、上述のヒトA I Mの場合と同様の手順で組換えマウスA I Mを得ることができる。
- [0042] また、他の動物種（例えば、イヌ、ネコ）についても、例えば、S R C Rドメインが保存されている点、当該S R C Rドメインが3つ直列的につながっている形を有する点、分泌型タンパク質である点、の3つの特徴に基づいて、当該他の動物種のc D N AライブラリーからA I Mのc D N Aを取得し、上述のヒトの場合と同様の手順で組換えA I Mを得ることができる。
- [0043] また、例えば、公知のデータベース（例えば、N a t i o n a l C e n

ter for Biotechnology Information (NCBI) が提供するデータベース) から AIM のアミノ酸配列を取得することもできる。具体的に、例えば、イヌ AIM のアミノ酸配列を配列表 11 に示し、チンパンジー AIM のアミノ酸配列を配列表 12 に示し、ラット AIM のアミノ酸配列を配列表 13 に示す。

[0044] さらに、これらネイティブな AIM のアミノ酸配列の一部に後述するような変異がある AIM 類似タンパク質についても、例えば、対応する cDNA を合成して使用すれば、同様の手順で組み換え変異 AIM として得ることができる。

[0045] また、本タンパク質は、その脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能（以下、「脂肪分化抑制機能」という。）及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解 (lipolysis) を誘導する機能（以下、「脂肪分解機能」という。）が損なわれない範囲で、上述のネイティブな AIM のアミノ酸配列に変異が生じたタンパク質 (AIM 変異タンパク質) とすることができる。

[0046] すなわち、本医薬組成物は、例えば、ヒト又は動物の AIM 変異タンパク質を有効成分として含有する。

[0047] AIM 変異タンパク質は、上述のとおり、AIM のアミノ酸配列において 1 若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、前記アミノ酸配列と相同性を有するアミノ酸配列からなり、脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質である。

[0048] なお、以下に説明する AIM 変異タンパク質は、明記しない場合においても、さらに次のような特徴を有してもよい。すなわち、AIM 変異タンパク質は、分泌型タンパク質であってもよい。また、AIM 変異タンパク質は、アポトーシス抑制機能を有してもよい。また、AIM 変異タンパク質は、そのアミノ酸配列に含まれるアミノ酸の数が 300～400 個、好ましくは 320～380 個、より好ましくは 340～360 個であるタンパク質であってもよい。

- [0049] また、A I M変異タンパク質のアミノ酸配列がネイティブなA I Mのアミノ酸配列と80%以上の相同性を有する場合、及びA I M変異タンパク質のドメインのアミノ酸配列がネイティブなA I Mのドメインのアミノ酸配列と80%以上の相同性を有する場合には、当該相同性は、85%以上であることが好ましく、90%以上であることがより好ましく、95%以上であることが特に好ましい。
- [0050] また、A I M変異タンパク質は、A I Mと同様、CD36を介して細胞に作用するタンパク質であってもよい。この場合、A I M変異タンパク質は、A I Mと同様、CD36を有する細胞に特異的に作用する。また、A I M変異タンパク質は、A I Mと同様、細胞のFASと結合して、当該FASの活性を低下させるタンパク質であってもよい。
- [0051] 本タンパク質は、例えば、配列表1に示されるアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、配列表1に示されるアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質である。
- [0052] 本タンパク質は、分泌型タンパク質であってもよい。この場合、本タンパク質は、分泌型タンパク質に特徴的なアミノ酸配列を有する。具体的に、本タンパク質は、例えば、そのアミノ酸配列のN端（最初の部分）に疎水性の短い配列（leader sequence）を持ち、且つ、膜透過配列（transmembrane region：やはり疎水性）や細胞内ドメインを有しないという分子構造を有する分泌型タンパク質となる。実際に、ネイティブなA I Mは、このような分子構造を有する分泌型タンパク質である。また、本タンパク質は、アポトーシス抑制機能を有してもよい。
- [0053] 本タンパク質は、例えば、配列表1に示されるアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質である。
- [0054] この場合、本タンパク質は、配列表1に示されるアミノ酸配列と80%以

上の相同性を有するアミノ酸配列からなるタンパク質である。また、本タンパク質は、分泌型タンパク質であってもよい。また、本タンパク質は、アポトーシス抑制機能を有してもよい。

[0055] また、本タンパク質は、例えば、配列表 1 に示されるアミノ酸配列において 1 若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、配列表 2 に示されるアミノ酸配列又は配列表 2 に示されるアミノ酸配列において 1 若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、配列表 2 に示されるアミノ酸配列と 80% 以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる第一のドメイン、配列表 3 に示されるアミノ酸配列又は配列表 3 に示されるアミノ酸配列において 1 若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、配列表 3 に示されるアミノ酸配列と 80% 以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び配列表 4 に示されるアミノ酸配列又は配列表 4 に示されるアミノ酸配列において 1 若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、配列表 4 に示されるアミノ酸配列と 80% 以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連結して構成され、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質である。

[0056] すなわち、この本タンパク質は、ヒト AIM の SRCR1 ドメイン又はこれに変異のあるドメイン、SRCR2 ドメイン又はこれに変異のあるドメイン、及び SRCR3 ドメイン又はこれに変異のあるドメインの 3 つを有する。また、この場合、本タンパク質は、配列表 1 に示されるアミノ酸配列と 80% 以上の相同性を有するアミノ酸配列からなるタンパク質であってもよい。また、本タンパク質は、分泌型タンパク質であってもよい。また、本タンパク質は、アポトーシス抑制機能を有してもよい。また、本タンパク質は、そのアミノ酸配列に含まれるアミノ酸の数が 300～400 個、好ましくは 320～380 個、より好ましくは 340～360 個であるタンパク質であってもよい。

[0057] また、第一のドメイン、第二のドメイン及び第三のドメインのうち少なく

とも一つは、当該少なくとも一つのドメインに対応する配列表に示されるアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、当該対応する配列表に示されるアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなるドメインであってもよい。また、第一のドメイン、第二のドメイン及び第三のドメインがN末端側から順に連結してもよい。

[0058] さらに、本タンパク質は、例えば、配列表2に示されるアミノ酸配列又は配列表2に示されるアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第一のドメイン、配列表3に示されるアミノ酸配列又は配列表3に示されるアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び配列表4に示されるアミノ酸配列又は配列表4に示されるアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連結して構成され、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質である。

[0059] また、本タンパク質は、例えば、配列表2に示されるアミノ酸配列からなる第一のドメイン（ヒトAIMのSRCR1ドメイン）、配列表3に示されるアミノ酸配列からなる第二のドメイン（ヒトAIMのSRCR2ドメイン）、及び配列表4に示されるアミノ酸配列からなる第三のドメイン（ヒトAIMのSRCR3ドメイン）が直列的に連結して構成され、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質である。

[0060] すなわち、この本タンパク質は、SRCRドメインとして、ヒトAIMのSRCR1ドメイン、SRCR2ドメイン及びSRCR3ドメインの3つを有する。また、この場合、本タンパク質は、配列表1に示されるアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなるタンパク質であってもよい。また、本タンパク質は、分泌型タンパク質であってもよい。また、本タンパク質は、アポトーシス抑制機能を有してもよい。また、本タンパク

質は、そのアミノ酸配列に含まれるアミノ酸の数が300～400個、好ましくは320～380個、より好ましくは340～360個であるタンパク質であってもよい。

[0061] また、上述した第一のドメイン、第二のドメイン及び第三のドメインを有する本タンパク質のいずれかは、当該第一のドメイン、第二のドメイン及び第三のドメインが直列的に直接連結して構成され、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質であってもよい。

[0062] すなわち、この場合、本タンパク質は、第一のドメインのアミノ酸配列、第二のドメインのアミノ酸配列及び第三のドメインのアミノ酸配列が直列的に直接連結して構成されたアミノ酸配列からなるタンパク質である。したがって、この場合、本タンパク質は、例えば、ヒトAIMにおいてSRCR1ドメインとSRCR2ドメインとの間の接続部分を構成するアミノ酸配列や、当該SRCR2ドメインとSRCR3ドメインとの間の接続部分を構成するアミノ酸配列に相当する、ドメイン間の接続部分を有しない。ただし、上述した第一のドメイン、第二のドメイン及び第三のドメインを有する本タンパク質は、これに限られず、ドメイン間の接続部分を有するタンパク質であってもよい。

[0063] また、本タンパク質は、例えば、配列表2に示されるアミノ酸配列又は配列表2に示されるアミノ酸配列のうちコンセンサス配列（図3に示すSRCR1ドメイン部分のコンセンサス配列）以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第一のドメイン、配列表3に示されるアミノ酸配列又は配列表3に示されるアミノ酸配列のうちコンセンサス配列（図3のSRCR2ドメイン部分のコンセンサス配列）以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び配列表4に示されるアミノ酸配列又は配列表4に示されるアミノ酸配列のうちコンセンサス配列（図3のSRCR3ドメイン部分のコンセンサス配列）以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ

酸配列からなる第三のドメインが直列的に連なって構成され、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質である。

[0064] すなわち、この本タンパク質は、ヒトA I MのS R C R 1ドメイン又はヒトA I MのS R C R 1ドメインのコンセンサス配列以外の部分に変異のあるドメイン、ヒトA I MのS R C R 2ドメイン又はS R C R 2ドメインのコンセンサス配列以外の部分に変異のあるドメイン、及びヒトA I MのS R C R 3ドメイン又はS R C R 3ドメインのコンセンサス配列以外の部分に変異のあるドメインの3つを有する。また、この場合、本タンパク質は、配列表1に示されるアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなるタンパク質である。すなわち、本タンパク質は、配列表1に示されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなるタンパク質であってもよい。また、本タンパク質は、分泌型タンパク質であってもよい。また、本タンパク質は、アポトーシス抑制機能を有してもよい。また、本タンパク質は、そのアミノ酸配列に含まれるアミノ酸の数が300～400個、好ましくは320～380個、より好ましくは340～360個であるタンパク質であってもよい。

[0065] また、第一のドメイン、第二のドメイン及び第三のドメインのうち少なくとも一つは、当該少なくとも一つのドメインに対応する配列表に示されるアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなるドメインであってもよい。また、第一のドメイン、第二のドメイン及び第三のドメインのうち少なくとも一つは、当該少なくとも一つのドメインに対応する配列表に示されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなるドメインであってもよい。すなわち、第一のドメイン、第二のドメイン及び第三のドメインのうち少なくとも一つは、当該少なくとも一つのドメインに対応する配列表に示されるアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなるドメインであってもよい。また、第一のドメイン、第二の

ドメイン及び第三のドメインがN末端側から順に連結してもよい。

[0066] また、上述したコンセンサス配列以外の部分に変異を有する第一のドメイン、第二のドメイン及び第三のドメインを有する本タンパク質のいずれかは、当該第一のドメイン、第二のドメイン及び第三のドメインが直列的に直接連結して構成され、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質であってもよい。

[0067] すなわち、この場合、本タンパク質は、第一のドメインのアミノ酸配列、第二のドメインのアミノ酸配列及び第三のドメインのアミノ酸配列が直列的に直接連結して構成されたアミノ酸配列からなるタンパク質である。ただし、上述したコンセンサス配列以外の部分に変異を有する第一のドメイン、第二のドメイン及び第三のドメインを有する本タンパク質は、これに限られず、ドメイン間の接続部分を有するタンパク質であってもよい。

[0068] また、本タンパク質は、例えば、下記の（x 1）、（x 2）又は（x 3）のタンパク質；（x 1）配列表 2 に示されるアミノ酸配列からなる第一のドメインタンパク質又は複数の前記第一のドメインタンパク質が直列的に連結してなるタンパク質；（x 2）配列表 3 に示されるアミノ酸配列からなる第二のドメインタンパク質又は複数の前記第二のドメインタンパク質が直列的に連結してなるタンパク質；（x 3）配列表 4 に示されるアミノ酸配列からなる第三のドメインタンパク質又は複数の前記第三のドメインタンパク質が直列的に連結してなるタンパク質、であって、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質である。

[0069] すなわち、この場合、本タンパク質は、例えば、ヒト AIM の SRCR 1 ドメインからなるタンパク質（第一のドメインタンパク質）であり、又は複数の当該 SRCR 1 ドメインが直列的に連結してなるタンパク質（上記（x 1）のタンパク質）である。また、本タンパク質は、例えば、ヒト AIM の SRCR 2 ドメインからなるタンパク質（第二のドメインタンパク質）であり、又は複数の当該 SRCR 2 ドメインが直列的に連結してなるタンパク質（上記（x 2）のタンパク質）である。また、本タンパク質は、例えば、ヒ

トA I MのS R C R 3ドメインからなるタンパク質（第三のドメインタンパク質）であり、又は複数の当該S R C R 3ドメインが直列的に連結してなるタンパク質（上記（x 3）のタンパク質）である。

[0070] また、本タンパク質は、同様に、例えば、下記の（y 1）、（y 2）又は（y 3）のタンパク質；（y 1）配列表2に示されるアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、配列表2に示されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる第一のドメインタンパク質又は複数の前記第一のドメインタンパク質が直列的に連結してなるタンパク質；（y 2）配列表3に示されるアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、配列表3に示されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる第二のドメインタンパク質又は複数の前記第二のドメインタンパク質が直列的に連結してなるタンパク質；（y 3）配列表4に示されるアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、配列表4に示されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる第三のドメインタンパク質又は複数の前記第三のドメインタンパク質が直列的に連結してなるタンパク質、であって、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質であってもよい。

[0071] また、本タンパク質は、同様に、例えば、下記の（z 1）、（z 2）又は（z 3）のタンパク質；（z 1）配列表2に示されるアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第一のドメインタンパク質又は複数の前記第一のドメインタンパク質が直列的に連結してなるタンパク質；（z 2）配列表3に示されるアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第二のドメインタンパク質又は複数の前記第二のドメインタンパク質が直列的に連結してなるタンパク質；（z 3）配列表4に示されるアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において1若しく

は複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第三のドメインタンパク質又は複数の前記第三のドメインタンパク質が直列的に連結してなるタンパク質、であって、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質であってもよい。

[0072] また、上述した第一のドメインタンパク質、第二のドメインタンパク質又は第三のドメインタンパク質を有する本タンパク質のいずれかは、複数の当該第一のドメインタンパク質、第二のドメインタンパク質又は第三のドメインタンパク質が直列的に直接連結して構成されたタンパク質であってもよい。ただし、本タンパク質は、これに限られず、ドメイン間の接続部分を有するタンパク質であってもよい。

[0073] また、本タンパク質は、例えば、動物のA I Mのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、当該動物のA I Mのアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質である。

[0074] この場合、動物は、ヒト以外の動物であれば特に限られず、例えば、哺乳動物（例えば、マウス、ラット、モルモット等のげっ歯類、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタ、ウシ、ウマ、サル）であり、より具体的には、例えば、マウス、イヌ又はネコである。

[0075] すなわち、本タンパク質は、例えば、配列表5に示されるアミノ酸配列（マウスA I Mのアミノ酸配列）において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、配列表5に示されるアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質である。

[0076] この場合、本タンパク質は、分泌型タンパク質であってもよい。また、本タンパク質は、アポトーシス抑制機能を有してもよい。

[0077] また、同様に、本タンパク質は、例えば、配列表11に示されるアミノ酸配列（イヌA I Mのアミノ酸配列）、配列表12に示されるアミノ酸配列（チンパンジーA I Mのアミノ酸配列）又は配列表13に示されるアミノ酸配

列（ラット A I M のアミノ酸配列）において 1 若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、配列表 1 1、配列表 1 2 又は配列表 1 3 に示されるアミノ酸配列と 8 0 % 以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質である。

[0078] さらに、本タンパク質は、例えば、動物の A I M のアミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質である。

[0079] この場合も、動物は、ヒト以外の動物であれば特に限られず、例えば、哺乳動物（例えば、マウス、ラット、モルモット等のげっ歯類、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタ、ウシ、ウマ、サル）であり、より具体的には、例えば、マウス、イヌ又はネコである。

[0080] すなわち、本タンパク質は、例えば、配列表 5 に示されるアミノ酸配列（マウス A I M のアミノ酸配列）において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質である。

[0081] この場合、本タンパク質は、配列表 5 に示されるアミノ酸配列と 8 0 % 以上の相同性を有するアミノ酸配列からなるタンパク質である。また、本タンパク質は、分泌型タンパク質であってもよい。また、本タンパク質は、アポトーシス抑制機能を有してもよい。

[0082] また、同様に、本タンパク質は、例えば、配列表 1 1 に示されるアミノ酸配列（イヌ A I M のアミノ酸配列）、配列表 1 2 に示されるアミノ酸配列（チンパンジー A I M のアミノ酸配列）又は配列表 1 3 に示されるアミノ酸配列（ラット A I M のアミノ酸配列）において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質である。

[0083] また、本タンパク質は、例えば、S R C R 1 ドメイン、S R C R 2 ドメイ

ン及びSRCR3ドメインを有する動物のAIMのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、当該SRCR1ドメインのアミノ酸配列又は当該SRCR1ドメインのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、当該SRCR1ドメインのアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる第一のドメイン、当該SRCR2ドメインのアミノ酸配列又は当該SRCR2ドメインのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、当該SRCR2ドメインのアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び当該SRCR3ドメインのアミノ酸配列又は当該SRCR3ドメインのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、当該SRCR3ドメインのアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連結して構成され、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質である。

[0084] この場合、本タンパク質は、動物のAIMのアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなるタンパク質であってもよい。また、本タンパク質は、分泌型タンパク質であってもよい。また、本タンパク質は、アポトーシス抑制機能を有してもよい。また、本タンパク質は、そのアミノ酸配列に含まれるアミノ酸の数が300～400個、好ましくは320～380個、より好ましくは340～360個であるタンパク質であってもよい。

[0085] また、第一のドメイン、第二のドメイン及び第三のドメインのうち少なくとも一つは、当該少なくとも一つのドメインに対応するSRCRドメインのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、当該対応するSRCRドメインのアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなるドメインであってもよい。また、第一のドメイン、第二のドメイン及び第三のドメインがN末端側から順に連結して

もよい。

[0086] この場合、動物は、ヒト以外の動物であれば特に限られず、例えば、哺乳動物（例えば、マウス、ラット、モルモット等のげっ歯類、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタ、ウシ、ウマ、サル）であり、より具体的には、例えば、マウス、イヌ又はネコである。

[0087] すなわち、例えば、動物のA I Mのアミノ酸配列は、配列表5に示されるアミノ酸配列（マウスA I Mのアミノ酸配列）であり、S R C R 1ドメインのアミノ酸配列は、配列表6に示されるアミノ酸配列であり、S R C R 2ドメインのアミノ酸配列は、配列表7に示されるアミノ酸配列であり、S R C R 3ドメインのアミノ酸配列は、配列表8に示されるアミノ酸配列である。

[0088] また、同様に、動物のA I Mのアミノ酸配列は、例えば、配列表11に示されるアミノ酸配列（イヌA I Mのアミノ酸配列）、配列表12に示されるアミノ酸配列（チンパンジーA I Mのアミノ酸配列）又は配列表13に示されるアミノ酸配列（ラットA I Mのアミノ酸配列）であってもよい。

[0089] さらに、本タンパク質は、例えば、上記S R C R 1ドメインのアミノ酸配列又は当該S R C R 1ドメインのアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第一のドメイン、上記S R C R 2ドメインのアミノ酸配列又は当該S R C R 2ドメインのアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び上記S R C R 3ドメインのアミノ酸配列又は当該S R C R 3ドメインのアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連結して構成され、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質である。

[0090] この場合も、動物は、ヒト以外の動物であれば特に限られず、例えば、哺乳動物（例えば、マウス、ラット、モルモット等のげっ歯類、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタ、ウシ、ウマ、サル）であり、より具体的には、例えば、マウス、イヌ又はネコである。

[0091] すなわち、本タンパク質は、例えば、配列表 6 に示されるアミノ酸配列又は配列表 6 に示されるアミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第一のドメイン、配列表 7 に示されるアミノ酸配列又は配列表 7 に示されるアミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び配列表 8 に示されるアミノ酸配列又は配列表 8 に示されるアミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連結して構成され、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質である。

[0092] すなわち、この本タンパク質は、マウス A I M の S R C R 1 ドメイン又はこれに変異のあるドメイン、S R C R 2 ドメイン又はこれに変異のあるドメイン、及び S R C R 3 ドメイン又はこれに変異のあるドメインの 3 つを有する。また、この場合、本タンパク質は、配列表 5 に示されるアミノ酸配列において 1 若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなるタンパク質である。すなわち、本タンパク質は、配列表 5 に示されるアミノ酸配列と 80 % 以上の相同性を有するアミノ酸配列からなるタンパク質であってもよい。また、本タンパク質は、分泌型タンパク質であってもよい。また、本タンパク質は、アポトーシス抑制機能を有してもよい。また、本タンパク質は、そのアミノ酸配列に含まれるアミノ酸の数が 300 ～ 400 個、好ましくは 320 ～ 380 個、より好ましくは 340 ～ 360 個であるタンパク質であってもよい。

[0093] また、本タンパク質は、例えば、上記 S R C R 1 ドメインのアミノ酸配列からなる第一のドメイン、上記 S R C R 2 ドメインのアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び上記 S R C R 3 ドメインのアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連結して構成され、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質である。

[0094] この場合も、動物は、ヒト以外の動物であれば特に限られず、例えば、哺乳

乳動物（例えば、マウス、ラット、モルモット等のげっ歯類、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタ、ウシ、ウマ、サル）であり、より具体的には、例えば、マウス、イヌ又はネコである。

[0095] すなわち、本タンパク質は、例えば、配列表5に示すアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、配列表6に示されるアミノ酸配列からなる第一のドメイン（マウスAIMのSRCR1ドメイン）、配列表7に示されるアミノ酸配列からなる第二のドメイン（マウスAIMのSRCR2ドメイン）、及び配列表8に示されるアミノ酸配列からなる第三のドメイン（マウスAIMのSRCR3ドメイン）が直列的に連結して構成され、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質である。

[0096] すなわち、この本タンパク質は、SRCRドメインとして、マウスAIMのSRCR1ドメイン、SRCR2ドメイン及びSRCR3ドメインの3つを有する。また、この場合、本タンパク質は、配列表5に示されるアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなるタンパク質であってもよい。すなわち、本タンパク質は、例えば、配列表5に示されるアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなるタンパク質であってもよい。また、本タンパク質は、分泌型タンパク質であってもよい。また、本タンパク質は、アポトーシス抑制機能を有してもよい。また、本タンパク質は、そのアミノ酸配列に含まれるアミノ酸の数が300～400個、好ましくは320～380個、より好ましくは340～360個であるタンパク質であってもよい。

[0097] また、上述した第一のドメイン、第二のドメイン及び第三のドメインを有する本タンパク質のいずれかは、当該第一のドメイン、第二のドメイン及び第三のドメインが直列的に直接連結して構成され、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質であってもよい。

[0098] すなわち、この場合、本タンパク質は、第一のドメインのアミノ酸配列、第二のドメインのアミノ酸配列及び第三のドメインのアミノ酸配列が直列的

に直接連結して構成されたアミノ酸配列からなるタンパク質である。ただし、上述した第一のドメイン、第二のドメイン及び第三のドメインを有する本タンパク質は、これに限られず、ドメイン間の接続部分を有するタンパク質であってもよい。

[0099] また、本タンパク質は、例えば、SRCR1ドメイン、SRCR2ドメイン及びSRCR3ドメインを有する動物のAIMのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、当該SRCR1ドメインのアミノ酸配列又は当該SRCR1ドメインのアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第一のドメイン、当該SRCR2ドメインのアミノ酸配列又は当該SRCR2ドメインのアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び当該SRCR3ドメインのアミノ酸配列又は当該SRCR3ドメインのアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連なって構成され、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質である。

[0100] この場合、本タンパク質は、動物のAIMのアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなるタンパク質であってもよい。また、本タンパク質は、分泌型タンパク質であってもよい。また、本タンパク質は、アポトーシス抑制機能を有してもよい。また、本タンパク質は、そのアミノ酸配列に含まれるアミノ酸の数が300～400個、好ましくは320～380個、より好ましくは340～360個であるタンパク質であってもよい。

[0101] また、第一のドメイン、第二のドメイン及び第三のドメインのうち少なくとも一つは、当該少なくとも一つのドメインに対応するSRCRドメインのアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において1若しくは複数個

のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなるドメインであってもよい。また、第一のドメイン、第二のドメイン及び第三のドメインのうち少なくとも一つは、当該少なくとも一つのドメインに対応するSRCRドメインのアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなるドメインであってもよい。すなわち、第一のドメイン、第二のドメイン及び第三のドメインのうち少なくとも一つは、当該少なくとも一つのドメインに対応するSRCRドメインのアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなるドメインであってもよい。また、第一のドメイン、第二のドメイン及び第三のドメインがN末端側から順に連結してもよい。

[0102] 動物は、ヒト以外の動物であれば特に限られず、例えば、哺乳動物（例えば、マウス、ラット、モルモット等のげっ歯類、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタ、ウシ、ウマ、サル）であり、より具体的には、例えば、マウス、イヌ又はネコである。

[0103] すなわち、本タンパク質は、例えば、配列表6に示されるアミノ酸配列又は配列表6に示されるアミノ酸配列のうちコンセンサス配列（図3に示すSRCR1ドメイン部分のコンセンサス配列）以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第一のドメイン、配列表7に示されるアミノ酸配列又は配列表7に示されるアミノ酸配列のうちコンセンサス配列（図3のSRCR2ドメイン部分のコンセンサス配列）以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び配列表8に示されるアミノ酸配列又は配列表8に示されるアミノ酸配列のうちコンセンサス配列（図3のSRCR3ドメイン部分のコンセンサス配列）以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連なって構成され、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質である。

[0104] すなわち、この本タンパク質は、SRCRドメインとして、マウスAIM

の S R C R 1 ドメイン又はマウス A I M の S R C R 1 ドメインのコンセンサス配列以外の部分に変異のあるドメイン、マウス A I M の S R C R 2 ドメイン又は S R C R 2 ドメインのコンセンサス配列以外の部分に変異のあるドメイン、及びマウス A I M の S R C R 3 ドメイン又は S R C R 3 ドメインのコンセンサス配列以外の部分に変異のあるドメインの 3 つを有する。また、この場合、本タンパク質は、配列表 5 に示されるアミノ酸配列と 80% 以上の相同性を有するアミノ酸配列からなるタンパク質であってもよい。また、本タンパク質は、分泌型タンパク質であってもよい。また、本タンパク質は、アポトーシス抑制機能を有してもよい。また、本タンパク質は、そのアミノ酸配列に含まれるアミノ酸の数が 300 ~ 400 個、好ましくは 320 ~ 380 個、より好ましくは 340 ~ 360 個であるタンパク質であってもよい。

[0105] また、同様に、動物の A I M のアミノ酸配列は、例えば、配列表 11 に示されるアミノ酸配列（イヌ A I M のアミノ酸配列）、配列表 12 に示されるアミノ酸配列（チンパンジー A I M のアミノ酸配列）又は配列表 13 に示されるアミノ酸配列（ラット A I M のアミノ酸配列）であってもよい。

[0106] また、上述したコンセンサス配列以外の部分に変異を有する第一のドメイン、第二のドメイン及び第三のドメインを有する本タンパク質のいずれかは、当該第一のドメイン、第二のドメイン及び第三のドメインが直列的に直接連結して構成され、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質であってもよい。

[0107] すなわち、この場合、本タンパク質は、第一のドメインのアミノ酸配列、第二のドメインのアミノ酸配列及び第三のドメインのアミノ酸配列が直列的に直接連結して構成されたアミノ酸配列からなるタンパク質である。ただし、上述したコンセンサス配列以外の部分に変異を有する第一のドメイン、第二のドメイン及び第三のドメインを有する本タンパク質は、これに限られず、ドメイン間の接続部分を有するタンパク質であってもよい。

[0108] また、本タンパク質は、例えば、下記の（p 1）、（p 2）又は（p 3）

のタンパク質；（p 1）動物のA I MのS R C R 1ドメインのアミノ酸配列からなる第一のドメインタンパク質又は複数の前記第一のドメインタンパク質が直列的に連結してなるタンパク質；、（p 2）動物のA I MのS R C R 2ドメインのアミノ酸配列からなる第二のドメインタンパク質又は複数の前記第二のドメインタンパク質が直列的に連結してなるタンパク質；、（p 3）動物のA I MのS R C R 3ドメインのアミノ酸配列からなる第三のドメインタンパク質又は複数の前記第三のドメインタンパク質が直列的に連結してなるタンパク質、であって、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質である。

[0109] すなわち、この場合、本タンパク質は、例えば、動物A I MのS R C R 1ドメインからなるタンパク質（第一のドメインタンパク質）であり、又は複数の当該S R C R 1ドメインが直列的に連結してなるタンパク質（上記（p 1）のタンパク質）である。また、本タンパク質は、例えば、動物A I MのS R C R 2ドメインからなるタンパク質（第二のドメインタンパク質）であり、又は複数の当該S R C R 2ドメインが直列的に連結してなるタンパク質（上記（p 2）のタンパク質）である。また、本タンパク質は、例えば、動物A I MのS R C R 3ドメインからなるタンパク質（第三のドメインタンパク質）であり、又は複数の当該S R C R 3ドメインが直列的に連結してなるタンパク質（上記（p 3）のタンパク質）である。

[0110] また、本タンパク質は、同様に、例えば、下記の（q 1）、（q 2）又は（q 3）のタンパク質；（q 1）動物のA I MのS R C R 1ドメインのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、前記S R C R 1ドメインのアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる第一のドメインタンパク質又は複数の前記第一のドメインタンパク質が直列的に直接連結してなるタンパク質；、（q 2）動物のA I MのS R C R 2ドメインのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、前記S R C R 2ドメインのアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる第二のドメイ

ンタンパク質又は複数の前記第二のドメインタンパク質が直列的に直接連結してなるタンパク質：、（q 3）動物のA I MのS R C R 3ドメインのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、前記S R C R 3ドメインのアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる第三のドメインタンパク質又は複数の前記第三のドメインタンパク質が直列的に直接連結してなるタンパク質、であって、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質である。

[0111] また、本タンパク質は、同様に、例えば、下記の（r 1）、（r 2）又は（r 3）のタンパク質；（r 1）動物の脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能のS R C R 1ドメインのアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第一のドメインタンパク質又は複数の前記第一のドメインタンパク質が直列的に直接連結してなるタンパク質：、（r 2）動物の脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能のS R C R 2ドメインのアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第二のドメインタンパク質又は複数の前記第二のドメインタンパク質が直列的に直接連結してなるタンパク質：、（r 3）動物の脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能のS R C R 3ドメインのアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第三のドメインタンパク質又は複数の前記第三のドメインタンパク質が直列的に直接連結してなるタンパク質、であって、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質である。

[0112] また、上述した第一のドメインタンパク質、第二のドメインタンパク質又は第三のドメインタンパク質を有する本タンパク質のいずれかは、複数の当該第一のドメインタンパク質、第二のドメインタンパク質又は第三のドメインタンパク質が直列的に直接連結して構成されたタンパク質であってもよい。ただし、本タンパク質は、これに限られず、ドメイン間の接続部分を有す

るタンパク質であってもよい。

- [0113] これらの場合、動物は、ヒト以外の動物であれば特に限られず、例えば、哺乳動物（例えば、マウス、ラット、モルモット等のげっ歯類、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタ、ウシ、ウマ、サル）であり、より具体的には、例えば、マウス、イヌ又はネコである。
- [0114] すなわち、例えば、動物のA I MがマウスA I Mである場合には、上記S R C R 1ドメインのアミノ酸配列は、配列表6に示されるアミノ酸配列であり、上記S R C R 2ドメインのアミノ酸配列は、配列表7に示されるアミノ酸配列であり、上記S R C R 3ドメインのアミノ酸配列は、配列表8に示されるアミノ酸配列である。
- [0115] また、同様に、動物のA I Mのアミノ酸配列は、例えば、配列表11に示されるアミノ酸配列（イヌA I Mのアミノ酸配列）、配列表12に示されるアミノ酸配列（チンパンジーA I Mのアミノ酸配列）又は配列表13に示されるアミノ酸配列（ラットA I Mのアミノ酸配列）であってもよい。
- [0116] 本医薬組成物は、上述した本タンパク質のうち1又は複数を有効成分として含有する。また、本医薬組成物は、さらに薬学的に許容され得る担体を含有することができる。薬学的に許容され得る担体は、特に限られないが、例えば、抗体医薬等、いわゆるタンパク質製剤に使用され得るものを好ましく使用することができる。具体的に、例えば、賦形剤、溶剤、希釈剤、分散剤、乳化剤、溶解補助剤、懸濁化剤、安定化剤、等張化剤、緩衝剤、pH調節剤、無痛化剤、保存剤、抗酸化剤のうち1種又は2種以上を使用することができる。
- [0117] 本医薬組成物の剤形は特に限られず、例えば、注射剤、錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤、液剤、シロップ剤とすることができる。すなわち、本医薬組成物は、例えば、生体の組織内に注入する局所注射剤、血管内に注入する静脈注射剤、動脈注射剤又は点滴剤、腹腔内に投与する注射剤とすることができる。
- [0118] 本医薬組成物が局所注射剤である場合には、本医薬組成物は、例えば、脂

肪組織（内臓脂肪組織、皮下脂肪組織等）に直接注入する脂肪組織注射剤や、皮下注射剤、筋肉注射剤とすることができる。

[0119] また、本医薬組成物が注射剤である場合、本医薬組成物は、例えば、本タンパク質と上述の薬学的に許容され得る担体とを含有する溶液を凍結乾燥等の方法により乾燥させることにより調製された粉末状とし、アンプル等の容器に無菌的に保存することができる。なお、本発明の発明者らによって、このような乾燥及び再溶解によってA I Mの機能は失われないことが確認されている。

[0120] そして、本医薬組成物を投与する際には、その粉末を適切な溶媒（例えば、生理食塩水、リンゲル液、その他の注射用液）に溶解して、本タンパク質を有効成分として含有する液状の注射剤からなる本医薬組成物を調製する。また、本医薬組成物が注射剤である場合、例えば、本タンパク質と上述の薬学的に許容され得る担体とを含有する溶液をそのままアンプル等の容器に無菌的に保存することもできる。

[0121] 本医薬組成物における本タンパク質の含有量は、剤形や、投与量等により適宜決定されるが、例えば、本医薬組成物は、本タンパク質を0.1～10重量%含有する液状の注射剤とすることができる。

[0122] 本医薬組成物は、ヒト又は動物の疾患の診断、治療又は予防に使用される。動物は、ヒト以外の動物であれば特に限られず、野生型でA I Mを発現しており、その脂肪細胞がC D 3 6を発現している動物が好ましい。具体的に、動物は、例えば、哺乳動物（例えば、マウス、ラット、モルモット等のげっ歯類、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタ、ウシ、ウマ、サル）であり、より具体的には、例えば、マウス、イヌ又はネコである。すなわち、本医薬組成物は、例えば、ヒト又はヒト以外の哺乳動物（例えば、マウス、ラット、モルモット等のげっ歯類、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタ、ウシ、ウマ、サル）の疾患の診断、治療又は予防に使用され、より具体的に、例えば、ヒト、マウス、イヌ又はネコの疾患の診断、治療又は予防に使用される。

[0123] すなわち、本医薬組成物は、例えば、ヒトに投与される医薬組成物（ヒト

用医薬組成物)である。また、本医薬組成物は、例えば、動物に投与される医薬組成物(動物用医薬組成物)である。動物は、ヒト以外の動物であれば特に限られず、野生型でA I Mを発現しており、その脂肪細胞がC D 3 6を発現している動物が好ましい。具体的に、動物は、例えば、哺乳動物(例えば、マウス、ラット、モルモット等のげっ歯類、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタ、ウシ、ウマ、サル)であり、より具体的には、例えば、マウス、イヌ又はネコである。すなわち、本医薬組成物は、例えば、ヒト又はヒト以外の哺乳動物(例えば、マウス、ラット、モルモット等のげっ歯類、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタ、ウシ、ウマ、サル)に投与される医薬組成物であり、より具体的に、例えば、ヒト、マウス、イヌ又はネコに投与される医薬組成物である。

[0124] なお、本医薬組成物が適用される対象となる疾患は、広義に解釈されるべきであり、生体において構造的又は機能的に何らかの不具合がある状態を全て含む。すなわち、本医薬組成物は、例えば、代謝性疾患(metabolic disorder)、脂肪性新生物(腫瘍)、(神経を含む)変性疾患の診断、治療又は予防のために生体に投与される医薬組成物である。これらの疾患領域には、例えば、糖尿病、肥満症、高血圧症、動脈硬化症を含む心・血管性疾患、脂肪腫も含まれる。

[0125] より具体的に、本医薬組成物は、例えば、脂肪組織に関連する不具合の診断、治療又は予防のために使用される。脂肪組織に関連する不具合としては、例えば、肥満、脂肪肉腫(liposarcoma)が挙げられる。すなわち、本医薬組成物は、肥満に伴って生じる不具合を解消し又は予防することを目的として、内臓脂肪及び／又は皮下脂肪の量を適切に調整するために使用される。また、本医薬組成物は、脂肪肉腫を縮小し又は増大を抑制するために使用される。また、本医薬組成物は、例えば、外見上視認可能な所望の部位の脂肪組織の量を調整することを目的とした美容整形や形成外科上の処置に使用することもできる。すなわち、本医薬組成物は、脂肪組織の減少、増大の抑制、増大の程度の低減を目的として生体に投与される。

- [0126] そして、本実施形態に係る方法（以下、「本方法」という。）の一つは、例えば、本タンパク質の有効量を生体に投与する方法である。すなわち、本方法は、上述した本医薬組成物を生体に投与する方法である。
- [0127] ここで、生体は、例えば、ヒトである。また、生体は、例えば、動物である。動物は、ヒト以外の動物であれば特に限られず、野生型でA I Mを発現しており、その脂肪細胞がC D 3 6を発現している動物が好ましい。具体的に、動物は、例えば、哺乳動物（例えば、マウス、ラット、モルモット等のげっ歯類、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタ、ウシ、ウマ、サル）であり、より具体的には、例えば、マウス、イヌ又はネコである。
- [0128] 本方法は、例えば、ヒト又はヒト以外の哺乳動物の疾患の診断、治療又は予防のために、当該診断、治療又は予防に有効な量の本タンパク質（すなわち、本医薬組成物）を当該ヒト又はヒト以外の哺乳動物に投与する方法である。
- [0129] 本タンパク質の投与方法は特に限られず、例えば、局所注射等による局所投与、静脈注射、動脈注射、点滴等による血管内投与、経口投与が挙げられる。
- [0130] 本タンパク質を局所投与する場合には、例えば、本医薬組成物を注射剤として調製し、注射器等の局所投与用器具を用いて、当該注射剤を生体の組織に注入する。すなわち、例えば、肥満の解消又は予防、美容整形等の目的で、内臓脂肪組織や皮下脂肪組織等の脂肪組織内に本医薬組成物を直接注入する。また、例えば、脂肪肉腫を患っている患者に対しては、当該脂肪肉腫組織内に本医薬組成物を局所注射する。
- [0131] 本タンパク質を血管内投与する場合には、本医薬組成物を注射剤として調製し、注射器や点滴用器具等の血管内投与用器具を用いて、当該注射剤を生体の血管内に注入する。本タンパク質を経口投与する場合には、本医薬組成物を錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤、液剤、シロップ剤等の経口投与剤として調製し、当該経口投与剤を患者に服用させる。なお、A I Mはp Hが2～3程度の酸性条件下でもその分子構造が安定であり機能を失わない

。

[0132] このように本タンパク質を生体に投与することにより、当該生体における脂肪組織の量を効果的に減少させ、増大を抑制し、又は増大の程度を低減することができる。中でも、本タンパク質を注射にて投与する場合、特に本タンパク質を脂肪組織内へ局所投与する場合には、当該脂肪組織の量をより効果的に減少させ、増大を抑制し、又は増大の程度を低減することができる。

[0133] 本タンパク質の投与量は、投与する対象の症状、年齢、体重等の条件に応じて適宜決定されるが、例えば、1回の投与量は、体重1kgあたり0.1～5mgとすることができる。もちろん、本タンパク質の投与量は、投与対象である生体における脂肪組織を減少させ、増加を抑制し、又は増加の程度を低減する上で有効な範囲であれば、これに限られない。すなわち、例えば、局所投与の場合には、本タンパク質を作用させたい部位に当該本タンパク質を効率よく且つ確実に到達させることができるため、血管内投与等の全身投与の場合に比べて、投与量を低減することができる。

[0134] また、本タンパク質の投与スケジュールも同様に、投与する対象の症状、年齢、体重等の条件に応じて適宜決定されるが、例えば、1～数週間の間隔で数週間～数カ月にわたって複数回投与することができる。

[0135] このような本タンパク質の投与により、当該本タンパク質が到達した生体内の脂肪組織において、成熟脂肪細胞における脂肪分解を誘導することができる。また、脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制することもできる。すなわち、本医薬組成物は、例えば、脂肪前駆細胞の分化抑制剤や、成熟脂肪細胞における脂肪分解誘導剤ということもできる。そして、本タンパク質を投与した結果、生体における脂肪組織の量の減少、増加の抑制、増加の程度の低減、ひいては体重の減少という効果が得られる。

[0136] また、本方法は、本タンパク質の使用に関連するものであれば、上述の例に限られない。すなわち、本方法は、例えば、本タンパク質を医薬組成物の有効成分として使用する方法である。また、本方法は、例えば、本タンパク質を有効成分として含有する医薬組成物を製造する方法である。この場合、

本方法は、例えば、本タンパク質と薬学的に許容され得る担体とを混合して、当該本タンパク質と当該担体とを含有する医薬組成物を製造する方法であってもよい。

[0137] また、本タンパク質は、飲食物に適用することもできる。すなわち、本実施形態に係る飲食物（以下、「本飲食物」という。）は、本タンパク質（すなわち、上記（I）AIM：又は（II）AIMのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、前記アミノ酸配列と相同性を有するアミノ酸配列からなり、且つ脂肪分化抑制機能及び／又は脂肪分解機能を有するタンパク質）を含有する飲食物である。すなわち、本飲食物は、例えば、本タンパク質を含有する食品である。また、本飲食物は、例えば、本タンパク質を含有する飲料である。

[0138] また、本飲食物は、例えば、本タンパク質を含有する経口摂取用組成物である。この経口摂取用組成物は、例えば、医薬品としてではなく、需要者がビタミン剤等のサプリメントに類似して、補助的に摂取するための組成物であり、例えば、錠剤、カプセル、顆粒、ゼリー等の形態で製造される。また、本飲食物は、例えば、本タンパク質を含有する飲食物用添加剤である。この飲食物用添加剤は、例えば、飲食物の製造工程において、原料の一部として使用され、又は原料に添加される組成物である。

[0139] また、本飲食物に関連して、本方法は、例えば、本タンパク質を飲食物の原料の一部として使用する方法である。また、本方法は、本タンパク質を含有する飲食物を製造する方法である。この場合、本方法は、例えば、本タンパク質と他の原料とを混合して、当該本タンパク質と当該他の原料とを含有する飲食物を製造する方法であってもよい。

[0140] ここで、本発明の一側面について記載する。本発明の一実施形態に係る医薬組成物は、以下の（a）～（l）のうち1又は複数のタンパク質を有効成分として含有することを特徴とする医薬組成物である；（a）配列表1に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質；、（b）配列表5に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質；、（c）配列表1に示されるアミノ酸配列に

において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質：、（d）配列表5に示されるアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質：、（e）配列表1に示されるアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、当該配列表1に示されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなり、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質：、（f）配列表5に示されるアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、当該配列表5に示されるアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなり、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質：、（g）配列表2に示されるアミノ酸配列からなる第一のドメイン、配列表3に示されるアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び配列表4に示されるアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連結して構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質：、（h）配列表6に示されるアミノ酸配列からなる第一のドメイン、配列表7に示されるアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び配列表8に示されるアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連結して構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質：、（i）配列表2に示されるアミノ酸配列又は配列表2に示されるアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第一のドメイン

、配列表 3 に示されるアミノ酸配列又は配列表 3 に示されるアミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び配列表 4 に示されるアミノ酸配列又は配列表 4 に示されるアミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連結して構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質：、（j）配列表 6 に示されるアミノ酸配列又は配列表 6 に示されるアミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第一のドメイン、配列表 7 に示されるアミノ酸配列又は配列表 7 に示されるアミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び配列表 8 に示されるアミノ酸配列又は配列表 8 に示されるアミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連結して構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質：、（k）配列表 2 に示されるアミノ酸配列又は配列表 2 に示されるアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において 1 若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第一のドメイン、配列表 3 に示されるアミノ酸配列又は配列表 3 に示されるアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において 1 若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び配列表 4 に示されるアミノ酸配列又は配列表 4 に示されるアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において 1 若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連なって構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質：、（l）配列表 6 に示

されるアミノ酸配列又は配列表6に示されるアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第一のドメイン、配列表7に示されるアミノ酸配列又は配列表7に示されるアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び配列表8に示されるアミノ酸配列又は配列表8に示されるアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連なって構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質。

[0141] 本発明の一実施形態に係る方法は、上記医薬組成物を生体に投与することを特徴とする。また、本発明の一実施形態に係る方法は、上記(a)～(l)のうち1又は複数のタンパク質の有効量を生体に投与することを特徴とする。また、本発明の一実施形態に係る方法は、上記(a)～(l)のうち1又は複数のタンパク質を医薬組成物の有効成分として使用することを特徴とする。また、本発明の一実施形態に係る方法は、上記(a)～(l)のうち1又は複数のタンパク質を有効成分として含有する医薬組成物を製造することを特徴とする。また、本発明の一実施形態に係る飲食物は、上記(a)～(l)のうち1又は複数のタンパク質を含有することを特徴とする。また、本発明の一実施形態に係る方法は、上記(a)～(l)のうち1又は複数のタンパク質を含有する飲食物を製造することを特徴とする。

[0142] 次に、本実施形態に係る具体的な実施例について説明する。

## 実施例 1

[0143] [脂肪組織中のマクロファージによるAIMの発現]

C57BL/6マウスに高脂肪食(High Fat Diet: HFD、fat calorie 60%)を20週与えた。また、より肥満が顕著であるadiponectinノックアウトマウス(Adipo<sup>-/-</sup>マウス)にも同様にHFDを与えた。その後、これらのマウスの腹腔内から

内臓脂肪組織を採取した。この脂肪組織から作製したパラフィン切片を抗マクロファージモノクローナル抗体（F4/80）及び抗マウスAIMポリクローナル抗体（SA-1）にて二重染色した。

[0144] 図4は、染色された切片を位相差顕微鏡及び蛍光顕微鏡で観察した結果の一例を示す。図4には、ワイルドタイプのC57BL/6マウス（Wild-type）及びAdipo<sup>-/-</sup>マウス（Adiponectin <sup>-/-</sup>）について、位相差顕微鏡写真（Phase）、マクロファージを染色した蛍光顕微鏡写真（F4/80 macrophage）、AIMを染色した蛍光顕微鏡写真（AIM）及びこれらの蛍光顕微鏡写真を重ね合わせた写真（merge）をそれぞれ示す。

[0145] 図4に示すように、ワイルドタイプマウス及びAdipo<sup>-/-</sup>マウスのいずれについても、マクロファージの染色部分とAIMの染色部分とが重複しており、脂肪組織に浸潤したマクロファージはAIMを強く発現していることが確認された。

## 実施例 2

[0146] [AIMによる脂肪細胞の分化抑制]

脂肪組織に浸潤したマクロファージが産生するAIMが周辺の脂肪細胞に対してどのような働きをしているのかを調べるため、3T3L1脂肪前駆細胞（preadipocyte）を成熟脂肪細胞に分化させる培養過程でAIMを負荷する実験を行った。

[0147] すなわち、図5Aに示すように、次の互いに異なる4つのスケジュールa～dにて3T3L1細胞の培養を行った；（a）AIMを負荷しない、（b）分化誘導刺激開始から10日間（day2-day12）AIMを負荷する、（c）分化誘導前の増殖（clonal expansion）期間のみ（day(-2)-day2）AIMを負荷する、（d）分化誘導刺激の初期のみ（day2-day4）AIMを負荷する。

[0148] AIMとしては、マウスの組換えAIMタンパク質又はヒトの組換えAIMタンパク質を用いた。これらの組換えAIMタンパク質は、マウス又はヒトのAIMを発現するベクターをトランスフェクションした、ヒト由来のHEK293T細胞を培養し、その培養上清から単離精製することにより調製した。なお、以下に示す他の実施例においても、AIMとしては同様の組換えAIMタンパク質を使用した。A

IMの負荷は、培養液に5  $\mu$ g/mlの濃度でAIMを添加することにより行った。

[0149] また、3T3L1細胞の分化誘導は、図5 Aに示すように、まず3T3L1細胞を4日間 (day(-2)-day2) 培養して増殖させ (cell proliferation)、その後、インスリン、デキサメタゾン (DEX)、イソブチルメチルキサンチン (IBMX) を含有する培養液で2日間 (day2-day4) 培養することで分化誘導刺激 (induction) を開始し、さらにインスリンを含有する培養液で2日間 (day4-day6) 培養することにより行った。

[0150] 分化誘導刺激期間 (day2-day6) 後は、これら分化誘導刺激因子を含有しない培養液にて培養を継続した。そして、分化誘導刺激開始から10日目 (day 12) の細胞をoil-red-oにて染色し、3T3L1細胞から成熟脂肪細胞への分化の状況を観察した。

[0151] 図5 Bには、4つのスケジュールa~dのそれぞれについて、マウスAIM (Mouse rAIM) 又はヒトAIM (Human rAIM) を負荷した実験 (ただし、スケジュールaはAIMの負荷なし) で得られた染色後の細胞の顕微鏡写真を示す。なお、ヒトAIMを使用したスケジュールcについては、顕微鏡写真を撮影しなかった (N. D.) 。

[0152] 図5 Bに示すように、スケジュールdにてAIMを分化誘導刺激の初期のみ (day2-day4) 負荷した場合には、脂肪滴を有する細胞はほとんど観察されず、3T3L1細胞の分化はほぼ完全に抑制されていた。すなわち、AIMは、上述の分化誘導因子の存在下で、3T3L1細胞の分化を抑制した。

[0153] なお、分化誘導因子とAIMとを含有する培養液を調製後、当該培養液から精製カラムを用いてAIMを除去した場合であっても、当該分化誘導因子による3T3L1細胞を分化させる能力は失われなかった (data not shown) 。したがって、分化誘導因子とAIMとの間では実質的に化学的な相互作用はないと考えられた。

[0154] また、スケジュールbにてAIMを分化誘導刺激開始から10日間 (day2-day 12) 負荷した場合も、脂肪滴を有する細胞はほとんど観察されず、3T3L1細胞の分化はほぼ完全に抑制されていた。また、このようなAIMによる分化抑制効

果は、AIMの濃度に依存することも確認された（data not shown）。すなわち、3T3L1細胞に負荷するAIMの濃度を $1\mu\text{g/ml}$ 、 $0.1\mu\text{g/ml}$ と減少させると、AIMによる分化抑制効果も低減された。

[0155] また、AIMの負荷による死細胞数の増加は認められなかった。したがって、AIMによる分化抑制は、細胞死を誘導することなく、成熟脂肪細胞まで分化する3T3L1細胞の数を減少させることによるものと考えられた。

[0156] 一方、スケジュールcにてAIMを分化誘導前にのみ（day(-2)-day2）負荷した場合には、スケジュールaにてAIMを負荷しなかった場合と同様、ほとんどの細胞が脂肪滴を有しており、ほとんどの3T3L1細胞が成熟脂肪細胞に分化していることが確認された。すなわち、AIMを分化誘導前のみ負荷しても、3T3L1細胞の成熟脂肪細胞への分化は抑制されなかった。ただし、AIMを分化誘導前から分化誘導期間を経てその後も継続的に（day(-2) - day12）負荷した場合には、3T3L1細胞の脂肪細胞への分化は完全に抑制された（data not shown）。

[0157] ここで、マウスAIMとヒトAIMとではアミノ酸配列の相同性が68%程度と高い。また、図3に示すように、マウスAIMとヒトAIMとでは、SRCRドメインにおけるコンセンサスなシーケンス（CD5、CD6など、SRCRドメインを有する他の分子においても保存されているアミノ酸配列）が完全に一致している。そして、上述のとおり、ヒトAIMは、マウスAIMと同様に、マウス由来の細胞である3T3L1細胞の分化を抑制した。すなわち、ヒトとマウスとの間で、AIMの機能について互換性があった。

### 実施例 3

[0158] [AIMによる脂肪油滴融解（Lipolysis）の誘導]

成熟脂肪細胞に対するAIMの効果を検討した。図6Aに示すように、上述の実施例2と同様に、スケジュールeとして、3T3-L1細胞が分化して細胞質内に脂肪滴が形成されてから6日間（day6-day12）、マウスAIMを負荷する培養実験を行った。

[0159] そして、分化誘導刺激開始から10日目（day12）の細胞をoil-red-oにて

染色した。また、脂肪滴を有する細胞の数を計数した。さらに、脂肪滴を有する細胞については、脂肪滴の直径を計測した。なお、比較のために、上述のスケジュール a で培養された細胞及びスケジュール d で培養された細胞についても、細胞の計数及び脂肪滴直径の計測を行った。

[0160] また、スケジュール e にて AIM を負荷して培養した後の培養液の上清を回収し、当該上清に含有されるグリセロール及び遊離脂肪酸 (free fatty acids : FFAs) の量を ELISA 法により測定した。また、比較のために、上述のスケジュール a についても同様に、培養上清中のグリセロール及び遊離脂肪酸の量を測定した。

[0161] なお、培養液に含まれるアルブミンに対する遊離脂肪酸の吸着を回避するために、分化誘導開始から 10 日目 (day 12) に、10%FBS (ウシ胎児血清) 添加培養液を無血清培養液に交換し、さらに細胞を当該無血清培養液中で 6 時間培養し、その後、当該無血清培養液の上清中に含まれるグリセロール及び遊離脂肪酸を測定した。

[0162] 図 6 B には oil-red-o 脂肪染色された細胞の顕微鏡写真を示す。図 7 A 及び図 7 B には、スケジュール a、d 及び e (Exp. a, d, e) について、脂肪滴を有する細胞 (Droplet(+) cells) の数 (個 /  $10^4 \mu m^2$ ) 及び脂肪滴の相対的な大きさ (Relative diameter of droplet) (%) を評価した結果をそれぞれ示す。なお、図 7 B に示す脂肪滴の相対的な大きさは、AIM を負荷しないスケジュール a で得られた細胞の有する脂肪滴の大きさを 100% として算出した。図 8 A 及び図 8 B には、スケジュール a 及び e (Exp. a, e) について、培養液中のグリセロール濃度 (Glycerol Efflux) (mM) 及び遊離脂肪酸濃度 (FFA Efflux) ( $\times 10^{-3}$  mM) を測定した結果をそれぞれ示す。

[0163] 図 6 B 及び図 7 A に示すように、スケジュール e にて、分化後の脂肪細胞に AIM を負荷して培養を継続した場合に得られた脂肪滴を有する細胞の数は、スケジュール a にて分化後の脂肪細胞に AIM を負荷することなく培養した場合に比べて、顕著に減少していた。

[0164] また、図 7 B に示すように、スケジュール e で得られた脂肪細胞に含まれ

る脂肪滴の直径は、スケジュールaで得られた細胞のそれに比べて、約25%まで縮小していた。

[0165] また、図8A及び図8Bに示すように、スケジュールeにてAIMを負荷した場合には、スケジュールaにてAIMを負荷しなかった場合に比べて、培養上清中のグリセロール濃度及び遊離脂肪酸濃度がいずれも顕著に増加していた。

[0166] さらに、スケジュールeにてAIMを負荷した場合には、AIMの負荷後、培養液の粘度が急激に増加することが観察された。この観察結果は、培養液中のグリセロール及び遊離脂肪酸の量が著しく増加していたことを支持するものであった。

[0167] このように、AIMは成熟脂肪細胞におけるlipolysisを誘導することが確認された。以上の結果からAIMは、脂肪前駆細胞の分化及び成熟を抑制するだけでなく、成熟した脂肪細胞にも作用してlipolysisを誘導し、成熟脂肪細胞を“痩せさせる機能”を発揮することが確認された。

#### 実施例 4

[0168] [脂肪細胞分化に伴う遺伝子群のAIMによる発現制御]

上述の実施例2及び実施例3において上述の5つのスケジュールa～eにて培養された細胞を分化誘導刺激開始から10日目(day12)に回収し、脂肪化に伴い発現する遺伝子の発現を定量RT-PCR (QPCR) により解析した。

[0169] ここで、図9には、脂肪細胞の分化に伴う主な遺伝子の発現様式を模式的に示す。図9の左の破線box内に示すように、分化誘導期には、分化誘導刺激によって一過性にC/EBP $\beta$ が誘導され、それによってC/EBP $\alpha$ が、次いでPPAR $\gamma$ の発現が上昇する。さらにPPAR $\gamma$ によってFatty acid synthase (FAS)、CD36、Glucose transporter 4 (Glut4)などの、分化した脂肪細胞にとって必要な機能遺伝子の発現が誘導される。

[0170] その後、C/EBP $\alpha$ 以下の遺伝子発現がある程度上昇すると、図9の右の破線box内に示すように、FASによって産生されたfatty acids (FAs)がPPAR $\gamma$ タンパク質を活性化し、それがC/EBP $\alpha$ 遺伝子の発現を一定のレベルに維持する。C/EBP $\alpha$ はさらにPPAR $\gamma$ 遺伝子の発現を誘導する。このような交互刺激によっ

て、C/EBP $\beta$ の発現がすでに低下していても、PPAR $\gamma$ 及びC/EBP $\alpha$ の発現を保持する機構が成立している（図9の右の破線box参照）。

[0171] 図10には、5つのスケジュールa～eにて培養された細胞における遺伝子発現を解析した結果を示す。図10に示すように、スケジュールdにてAIM（マウスAIM、本実施例4において以下同様。）を分化誘導刺激の初期のみ（day2-day4）負荷した場合及びスケジュールbにてAIMを分化誘導刺激から10日間（day2-day12）負荷した場合には、C/EBP $\alpha$ 、PPAR $\gamma$ 、CD36、Glut4の各遺伝子発現はほぼ完全に抑制されていた。なお、興味深いことに、これらの場合には、FAS遺伝子のみ、発現がむしろやや上昇していた。

[0172] 一方、スケジュールcにてAIMを分化誘導前にのみ（day(-2)-day2）負荷した場合及びスケジュールeにてAIMを細胞の分化誘導後にのみ（day6-day12）負荷した場合には、スケジュールaにてAIMを負荷しなかった場合と比べて、遺伝子発現パターンは変化しなかった。このように、FAS遺伝子発現以外の遺伝子については、AIMの負荷による発現制御は、上述の実施例2における細胞の形態学的な変化の結果と整合するものであった。

## 実施例 5

[0173] [AIMによるFAS酵素活性の抑制]

AIMがFASの酵素活性に影響を及ぼすかどうかを調べた。すなわち、図11Aに示すように、上述のスケジュールdにて、3T3L1細胞の分化誘導初期のみ（day2-day4）AIM（マウスAIM、本実施例5において以下同様。）を負荷し、その後、分化誘導開始から2日後（day4）に細胞を回収して細胞溶解物（cell lysate）を調製し、FASの酵素活性を測定した。

[0174] また、上述のスケジュールeに類似したスケジュールfとして、3T3L1細胞が分化した後4日間（day8-day12）AIMを負荷し、その後、分化誘導開始から10日後（day12）に細胞を回収して細胞溶解物（cell lysate）を調製しFASの酵素活性を測定した。なお、FASの酵素活性は、malonyl-CoAの消費量に基づいて測定した。

[0175] また、AIMに代えてFAS抑制剤（G75）を使用し、スケジュールd及びfにて

当該FAS抑制剤を25  $\mu$ Mの濃度で負荷し、上述のAIMの場合と同様に、分化誘導開始から2日後（day4：スケジュールd）及び10日後（day12：スケジュールf）に細胞を回収して、FASの酵素活性を測定した。

[0176] さらに、比較のため、上述のスケジュールaにてAIMを負荷することなく培養した細胞についても、分化誘導開始から2日後（day4）及び10日後（day12）のそれぞれのタイミングで同様にFASの酵素活性を測定した。

[0177] 図11B及び図11Cには、FAS酵素活性（Fatty acid synthase activity）（nmol NADPH/min/mg protein）の測定結果を示す。図11Bには、スケジュールaにてAIMが負荷されなかった場合（None）、スケジュールdにてAIMが負荷された場合（AIM（5  $\mu$ g/ml））、スケジュールdにてFAS抑制剤が負荷された場合（C75（25  $\mu$ M））のそれぞれについて分化誘導開始から2日後（day4）に得られた結果を示している。図11Cには、スケジュールaにてAIMが負荷されなかった場合（None）、スケジュールfにてAIMが負荷された場合（AIM（5  $\mu$ g/ml））、スケジュールfにてFAS抑制剤が負荷された場合（C75（25  $\mu$ M））のそれぞれについて分化誘導開始から10日後（day12）に得られた結果を示している。

[0178] 図11B及び図11Cに示すように、いずれのスケジュールの場合でも、AIMを負荷した場合には、AIMを負荷しなかった場合に比べて、FASの酵素活性が著しく低下していた。このAIMによるFAS酵素活性の低下の度合いは、FAS抑制剤であるC75を有効濃度（25  $\mu$ M）で負荷した場合と同程度であった。

[0179] また、図12A及び図12Bには、スケジュールaにてAIMを負荷されなかった場合（None）、スケジュールdにてAIMが負荷された場合（AIM（5  $\mu$ g/ml））、スケジュールdにてFAS抑制剤が負荷された場合（C75（25  $\mu$ M））のそれぞれについて、分化誘導開始から2日後（day4）に、細胞のoil-red-o染色及び遺伝子発現のRT-PCR解析を行った結果をそれぞれ示す。

[0180] また、図13A及び図13Bには、スケジュールaにてAIMを負荷されなかった場合（None）、スケジュールfにてAIMが負荷された場合（AIM）、スケジュールfにてFAS抑制剤が負荷された場合（C75）について、培養液中のグ

リセロール濃度 (Glycerol Efflux) (mM) 及び遊離脂肪酸濃度 (FFA Efflux) ( $\times 10^{-3}$  mM) を分化誘導開始から 10 日後 (day12) に測定した結果をそれぞれ示す。

[0181] これら図 12A、図 12B、図 13A 及び図 13B に示されるように、AIM を負荷した場合と FAS 抑制剤 (G75) を負荷した場合とでは、細胞の形態、遺伝子発現、グリセロール及び遊離脂肪酸の細胞外放出について、同様の効果がみられた。すなわち脂肪前駆細胞の分化及び成熟脂肪細胞における lipolysis の両方について、AIM は G75 と同様の効果を示した。

[0182] 上述の実施例 4 において FAS 遺伝子の発現のみが AIM によって抑制されなかったのは、AIM による FAS 機能抑制により、恐らくネガティブ・フィードバックがかかり、PPAR $\gamma$  以外の発現制御系 (例えば LXR-SREBP1 系による制御など) によって FAS 遺伝子の発現が上昇したのではないかと考えられた。

[0183] また、成熟脂肪細胞に AIM を負荷し FAS の機能を抑制すると、内因性の遊離脂肪酸 (FFAs) の量が低下するため、そのフィードバックとして lipolysis が誘導され、FFAs の量を調整していると考えられた。

## 実施例 6

[0184] [脂肪細胞内における AIM と FAS との結合]

細胞中における FAS の活性調節は、リン酸化などのタンパク修飾によってではなく、基本的に発現制御と分子構造の調節によって賄われる。AIM 負荷により FAS の活性が低下していても、FAS の発現は上述のように mRNA レベル、タンパク質量のいずれについても低下は認められない。したがって、可能性の一つとして、AIM が FAS に結合し構造的にその活性を抑制していることが考えられた。

[0185] そこで、これを確認するため、まず、HA タグが付加された AIM (マウス AIM) と、FLAG タグが付加された FAS と、を共に発現する HEK293T 細胞を作製した。そして、この HEK293T 細胞を所定期間培養した後回収して、cell lysate を調製し、抗 FLAG 抗体を用いて免疫沈降を行った。

[0186] その結果、図 14 に示すように、HA タグが付加された AIM (HA-AIM) と FLAG

タグが付加されたFAS (FL-FAS) との共沈降が認められた。すなわち、AIMがFASと結合するポテンシャルを有することが確認できた。この結果は、上述の仮説を支持するものであった。

## 実施例 7

### [0187] [AIMの脂肪細胞への取り込み]

AIMはマクロファージから分泌される可溶性タンパク質である。通常、分泌タンパク質分子は、標的細胞の膜表面に存在する受容体に結合し、シグナル伝達を誘起して、標的細胞に機能的に作用する。しかし、上述のようにAIMがFASと結合しその活性を抑制するためには、AIMは分子として細胞に取り込まれなくてはならない。

[0188] そのことを証明するために、上述の他の実施例と同様に3T3L1細胞を分化誘導し、分化誘導直後の培養4日目 (day4) から3時間、AIM (マウスAIM) ( $5 \mu\text{g/ml}$ ) を負荷した。その後、細胞を回収し、抗AIM抗体を用いて細胞内を染色した。なお、さらに細胞の核はDAPIを用いて染色した。

[0189] 図15A及び図15Bには、AIMを負荷してから3時間培養した後に染色された細胞を共焦点顕微鏡で観察した結果の一例を示す。図15Aは200倍、図15Bは400倍の倍率で撮影された結果である。図15A及び図15Bに示されるように、AIMはドット状 (原図では赤色) に細胞質内に取り込まれていることが確認された。

[0190] さらに、金コロイド標識された抗AIM抗体を用いた免疫電子顕微鏡法により、AIMが脂肪細胞に取り込まれることを確認した。図16A及び図16Bには、AIMを負荷してから3時間 (3hr) 及び12時間 (overnight) 培養した細胞の免疫電子顕微鏡写真をそれぞれ示す。図16AはAIM負荷から3時間後に回収された細胞、図16BはAIM負荷から12時間経過後に回収された細胞についての結果である。

[0191] 図16Aに示すように、AIMの存在下で3時間培養された細胞の細胞質内においては、エンドソーム (endosome) と思われる粒子 (particle) の膜上にAIMがドット状に集積していた。これは、脂肪細胞の表面の何らかの分子にAIM

が結合し、そのまま当該表面分子と共に細胞内に取り込まれた（Endocytosis された）ものと考えられた。

- [0192] また、図 16B に示すように、AIM の存在下で 12 時間培養された細胞の細胞質内においては、エンドソーム（endosome）が変性し、そこから AIM が細胞質中に移行している様子も観察された。なお、ファゴソーム（Phagosome）やファゴリソソーム（Phagolysosome）、あるいはミトコンドリアに AIM の集積はなかった。図 17 には、これらの知見に基づいて推測された、AIM が細胞内に取り込まれる機構を模式的に示す。

## 実施例 8

- [0193] [細胞表面の CD36 分子を介した AIM の取り込み（internalization）]

上述のように、AIM は細胞表面分子を介して細胞内に取り込まれると考えられた。そこで、その細胞表面分子を同定した。

- [0194] CD36 は膜 2 回貫通型の分子で、脂肪細胞やマクロファージに発現しており、脂肪酸、LDL などをはじめ多くの分子の細胞内取り込みに関与している。そこで、FLAG タグを C 端に付加したマウス CD36 を過剰発現する HEK293 細胞を作製し、当該細胞をマウス AIM とともに 3 時間培養した。その後、細胞を回収し、抗 AIM 抗体及び抗 CD36 抗体を用いて染色し、共焦点顕微鏡で観察した。

- [0195] 図 18A～D には、得られた共焦点顕微鏡写真を示す。図 18A は 2 次元的に解析した結果（2-dimensional analysis）、図 18B～D は 3 次元的に解析した結果（3-dimensional analysis）をそれぞれ示す。図 18A～D に示すように、2 次元及び 3 次元的に解析すると、細胞の CD36 が発現している部位（原図では FLAG が赤色で示された）に AIM のドット（原図では緑色で示された）が結合している様子が観察された。また、一部の細胞については、AIM が細胞内に取り込まれている様子も観察された。これらの結果から、AIM は CD36 に結合し、細胞内に取り込まれる（internalize される）と考えられた。

- [0196] ただし、今回用いた HEK293T 細胞においては、AIM が細胞表面に存在している様子が主に観察され、上述の実施例 7 における脂肪細胞（分化した 3T3-L1 細胞）に比べて、AIM が細胞内に移行されている様子はあまり観察されなかつ

た。これはHEK293T細胞が脂肪細胞に比較してエンドサイトーシス（endocytosis）の能力が弱いため、CD36に結合したAIMがそのまま細胞表面にとどまりやすかったことによると考えられた。

[0197] また、さらに、AIMがCD36を介して取り込まれることを確認するため、上述の分化誘導により分化させた3T3L1脂肪細胞にAIMを負荷する際に、CD36へのリガンドの結合を阻害する中和抗体を同時に負荷した。その後、培養された3T3L1脂肪細胞を回収し、抗AIM抗体を用いて染色した。また、CD36の中和抗体を負荷せずAIMのみを同様に負荷して培養した3T3L1脂肪細胞についても同様の染色を行った。

[0198] 図19A及び図19Bには、CD36の中和抗体を負荷しなかった場合（no CD36 antibody）及びCD36の中和抗体を負荷した場合（with CD36 neutralizing antibody）の染色結果をそれぞれ示す。図19Aに示すように、CD36の中和抗体を負荷しなかった場合には、AIMが細胞内に取り込まれた様子が観察された（原図ではAIMは細胞内に赤色のドット状に検出された）。一方、図19Bに示すように、CD36の中和抗体を負荷した場合には、細胞内は抗AIM抗体によって全く染色されず、AIMの取り込みは観察されなかった。

[0199] すなわち、CD36の中和抗体の負荷によって、細胞内へのAIMの取り込みが顕著に抑制された。以上の結果から、脂肪細胞へのAIMの取り込みをつかさどる分子の少なくとも一つはCD36であることが明らかになった。

## 実施例 9

[0200] [AIM欠損マウスにおける体重及び脂肪量の増加]

上述の実施例で得られた実験結果から、AIMは脂肪前駆細胞の成熟及び分化を抑制し、また成熟した脂肪細胞にlipolysisを誘導することが明らかとなった。そこで、この作用の生体での効果を調べるために、AIMがノックアウトされたAIM欠損マウス（AIM<sup>-/-</sup>マウス）、及びAIMをノックアウトしていない正常なマウス（AIM<sup>+/+</sup>マウス）に高脂肪食（HFD）を20週間以上投与し、体重と内臓白色脂肪の重量とを測定した。その結果、AIMが欠損したAIM<sup>-/-</sup>マウスではAIM<sup>+/+</sup>マウスに比して、体重及び内臓白色脂肪の重量の増加が有意に亢進していた

(data not shown)。

[0201] さらに、肥満の進行を増強させるためにそれぞれのマウスにアディポネクチンノックアウトマウス

(Adipo<sup>-/-</sup>マウス)を交配してAIM<sup>-/-</sup> Adipo<sup>-/-</sup>マウスとAIM<sup>+/+</sup>Adipo<sup>-/-</sup>マウスとを作製した。そして、これらのマウスにHFDを同様に20週間以上負荷し解析した。

[0202] 図20A及び図20Bには、AIM<sup>-/-</sup> Adipo<sup>-/-</sup>マウス (AIM<sup>-/-</sup>) 及びAIM<sup>+/+</sup>Adipo<sup>-/-</sup>マウス (AIM<sup>+/+</sup>) の腹腔内を撮影した写真をそれぞれ示す。図20Aにおいて、上側の矢印は腸管膜脂肪組織を示し、下側の矢印は精巣上体脂肪組織を示している。図21A及び図21Bには、AIM<sup>+/+</sup> Adipo<sup>-/-</sup>マウス (WT) 及びAIM<sup>-/-</sup> Adipo<sup>-/-</sup>マウス (KO) について、体重 (Body weight (g)) 及び内臓白色脂肪組織の重量 (Total fat tissue (g)) を測定した結果をそれぞれ示す。

[0203] 図21A及び図21Bに示すように、上述のアディポネクチンをノックアウトしていないマウスと同様に、AIMが欠損したAIM<sup>-/-</sup>Adipo<sup>-/-</sup>マウスでは、AIM<sup>+/+</sup>Adipo<sup>-/-</sup>マウスに比べて、体重及び内臓白色脂肪重量の増加が亢進していた。この体重の増加の亢進は、主に脂肪組織重量の増加の亢進によるものであった。

[0204] これらの結果は、脂肪組織に浸潤したマクロファージが分泌するAIMが、周辺の脂肪細胞において、FAS活性を低下させ、lipolysisを誘導するとともに、新たな成熟脂肪細胞の分化を抑制することによって、脂肪組織の量 (mass) を抑制的に調節していることを支持する結果であった。

[0205] また、マウスに対するFAS阻害剤 (G75) の投与は、視床下部におけるニューロペプチドY (NPY) の産生量を低減させ、顕著な食欲の減退と、体重の減少を引き起こすことが報告されている。

[0206] これに対し、AIM<sup>-/-</sup>マウスとAIM<sup>+/+</sup>マウスとで摂食量 (Food intake) に差は見られなかった。したがって、今回のAIM投与実験において、上述のFAS阻害剤 (G75) を全身性に投与した場合に見られるような脳神経系に対する作用は存在せず、AIM<sup>-/-</sup>マウスでの脂肪量増加は、AIMの欠損が脂肪細胞に直接的に与えた影響によるものと考えられた。

[0207] これは、AIMが作用するには、視床下部の細胞には存在せず、脂肪細胞に存在する、特異的なエンドサイトーシスメディエータであるCD36の存在が必要であるためと考えられた。

## 実施例 10

[0208] [肥満マウスへのAIM投与による脂肪融解 (Lipolysis) の誘導]

HFDを20週以上負荷して肥満したAIM<sup>-/-</sup>マウスを作製した。一方、精製したマウス組換えAIMタンパク質を準備し、当該AIMをPBS（リン酸バッファー、pH7.4）に0.2mg/mlの濃度で溶解したAIM溶液を注射剤として調製した。そして、このAIM注射剤を、マウスの尾静脈から週2回、4週間投与した。

[0209] 投与量は、マウスの体重1gあたり1 $\mu$ gとした。なお、この投与量は、上述のin vitro実験における培養液中のAIM濃度に基づいて、マウスの血液中におけるAIM濃度が当該培養液中のAIM濃度と同程度となるよう考慮して決定した。

[0210] また、コントロールとして、同様にHFDを20週以上負荷して肥満したAIM<sup>-/-</sup>マウスに、同量の牛血清アルブミン（BSA）を同様のスケジュールで尾静脈投与した。そして、投与後のマウスについて、体重を測定するとともに、内臓白色脂肪組織を採取して重量を測定した。

[0211] その結果、体重及び脂肪組織の総重量についてはAIMの投与の有無によって有意な差は認められなかったが、採取された脂肪組織において、局所的に（スポット状に）、脂肪細胞の縮小及び融解、それを処理するべく集積したマクロファージ、さらに恐らく脂肪滴をほぼ放出（融解）してしまった脂肪細胞と思われる、脂肪細胞の前駆細胞（分化誘導前の3T3L1様の細胞）が観察された。

[0212] 図22A及び図22Bには、Hematoxylin-Eosin（HE）染色された脂肪組織切片を顕微鏡で観察した結果を示す。図22Aはアルブミンを投与したマウス（BSA injected (control)）、図22BはAIMを投与したマウス（rAIM injected）についての結果をそれぞれ示す。

[0213] 図22A及び図22Bに示すように、AIMを投与した場合には、アルブミン

を投与した場合に比べて、脂肪組織における脂肪細胞のサイズが顕著に減少するとともに、マクロファージの顕著な集積が確認された。すなわち、肥満マウスへの精製AIMタンパク質のシステミックな静脈投与は、当該肥満マウスの脂肪組織において脂肪融解（Lipolysis）を誘導していた。

[0214] 今回の実験において、脂肪組織の一部において局所的にLipolysisが観察された理由は、恐らく、静脈注射による全身投与では、脂肪組織中での局所濃度が局所的にしか十分上昇せず（局所濃度は毛細血管の走行などにより左右され则认为られる）、脂肪組織全体でlipolysisを誘導し脂肪組織の総重量及び体重を減少させるにはいたらなかった可能性が高いと考えられた。しかし、上述のように、AIMは生体においても、明らかにlipolysisを誘導する作用を示すことが確認された。なお、AIMの投与によるマウスの摂食量の変化は認められなかった。

[0215] 上述のように、AIMによりlipolysisを誘導するためには、生体における局所濃度を高めることが有効と考えられた。したがって、例えば、局所注射によってAIMを脂肪組織に局所的に注入することで、lipolysisをより確実に誘導し、脂肪組織の重量及び体重を効果的に減少させることができると考えられた。また、AIMの全身投与及び局所投与によれば、生体における脂肪前駆細胞の分化を抑制する効果も得られると考えられた。

[0216] ここで、上述の実施例 1 ～ 10 により得られた知見の一部について説明する。実施例 1 では、肥満したマウスの脂肪組織中に浸潤したマクロファージはAIMを産生することが確認された。肥満したヒトの脂肪組織中にも同様にマクロファージが浸潤することが知られている。したがって、ヒトにおいても脂肪組織中に浸潤したマクロファージはAIMを産生していると考えられた。

[0217] 実施例 2 では、AIMが脂肪前駆細胞の成熟分化を抑制することが確認された。また、マウスAIM及びヒトAIMのいずれも同様の分化抑制機能を示した。このようなマウスとヒトとの間での分化抑制機能の互換性は、AIMのアミノ酸配列の相同性が高いことに加え、脂肪前駆細胞の分化及びAIMの機能発現に関与している分子の相同性もまた高いことによるものと考えられた。

- [0218] 実施例 3 では、AIM が成熟した脂肪細胞に作用して脂肪滴融解 (Lipolysis) を誘導することが確認された。実施例 7 及び実施例 8 では、AIM が脂肪細胞の細胞膜表面上の CD36 分子に結合し、endocytosis によって細胞質内に取り込まれることが確認された。
- [0219] 実施例 5 及び実施例 6 では、細胞内に取り込まれた AIM が細胞質に移行し、脂肪酸合成酵素 (Fatty acid synthase; FAS) と結合しその酵素活性を抑制することが確認された。したがって、AIM による脂肪前駆細胞の分化抑制及び成熟脂肪細胞における脂肪分解誘導は、この AIM による FAS 抑制によるものであると考えられた。
- [0220] 実施例 9 では、高脂肪食 (High Fat Diet; HFD) を負荷すると、AIM 欠損 (AIM<sup>-/-</sup>) マウスでは正常 (AIM<sup>+/+</sup>) マウスに比して体重及び脂肪組織の重量の増加が亢進することが確認された。
- [0221] しかしながら、AIM 欠損 (AIM<sup>-/-</sup>) マウスと正常 (AIM<sup>+/+</sup>) マウスとの間に摂食量の違いは認められなかった。すなわち、AIM は、従来の抗肥満薬のように食欲の減退を誘導することなく、全く異なる機構 (AIM が脂肪細胞又は脂肪組織に特異的に直接作用するという機構) で体重及び脂肪組織重量の増加を抑制していると考えられた。
- [0222] さらに、実施例 10 では、肥満した AIM<sup>-/-</sup> マウスに尾静脈から精製組換え AIM タンパクを全身投与 (4 週間) すると、脂肪組織に局所的に lipolysis を生ずることが確認された。すなわち、in vitro で確認された培養細胞に対する効果と同様の効果が、生体においても実際に確認された。
- [0223] 上述のとおり、ヒト AIM 及びマウス AIM は、保存された 3 つの特徴的なドメイン (SRCR 1~3) を有し、アミノ酸配列の相同性は 68% と高い。さらに、脂肪細胞への AIM の取り込みに関与する CD36 及び AIM による標的分子の一つである FAS もまた、ヒトとマウスとの間で相同性が高い。すなわち、AIM による脂肪前駆細胞の分化及び成熟脂肪細胞における lipolysis を担う分子は、いずれもヒトとマウスとの間で相同性が高いものであった。なお、従来、他の医薬について、マウスを用いた実験で効果があったにもかかわらずヒト

では効果が得られなかった例があるが、これは主に当該効果に関与する分子がマウスとヒトとの間で相同性が低いことに基づくものであった。

[0224] また、*in vitro*において、ヒトAIM及びマウスAIMのいずれも同一の濃度範囲でマウス由来の脂肪細胞に対して同様の分化抑制機能及び脂肪分解誘導機能を発揮した。そして、*in vitro*で効果が得られた濃度に対応する投与量でAIMをマウスの生体に投与したところ、実際に、脂肪組織におけるlipolysisが確認された。したがって、AIMは、ヒトの生体においても同様に脂肪細胞に作用して、同様の効果をもたらす可能性が極めて高いと考えられた。

[0225] また、AIMが上述のような機能を発揮するためには、CD36を介した細胞内への取り込みがなくてはならない。この作用メカニズムによれば、AIMを生体に投与した場合には、従来のFASの阻害剤で見られたような脳神経系への副作用は考えられない。

[0226] 実際に、AIM欠損マウスの摂食量は、正常なマウスと差がなかった。したがって、ヒト生体にAIMを投与した場合には、少なくとも従来のFASの阻害剤で見られたような脳神経系への副作用は生じないと考えられた。

## 実施例 11

[0227] [肥満マウスに投与されたAIMの脂肪細胞への取り込み及びFASとの結合]

肥満マウスから採取された脂肪組織試料を、抗マクロファージF4/80抗体（赤色）及び抗マウスAIMポリクローナル抗体（SA-1）（緑色）で共染色し、蛍光顕微鏡で観察した。その結果、マクロファージを取り囲む脂肪細胞のいくつかは抗AIM抗体で染色された。一方、マクロファージから離れている脂肪細胞は、抗AIM抗体で染色されなかった。これらの結果は、マクロファージに由来するAIMが組織内の脂肪細胞により取り込まれることを示すものと考えられた。

[0228] さらに、肥満AIM<sup>-/-</sup>マウスの精巣上体脂肪組織に、マウスrAIMを直接注射し、その後、当該脂肪組織を組織学的に分析した。すなわち、精巣上体脂肪組織の数か所に合計100  $\mu$ gのrAIMを直接注射した。注射から3時間後に、精巣上体脂肪組織から組織切片を作製し、当該組織切片を抗AIM抗体及び抗マ

クロファージ抗体で染色した。

[0229] その結果、rAIMが注射された脂肪組織内では、AIM<sup>-/-</sup>脂肪細胞がAIM陽性に染色された。すなわち、脂肪組織において外因性のrAIMが脂肪細胞に取り込まれることが確認された。より高倍率の蛍光顕微鏡観察では、脂肪細胞の細胞質内において、取り込まれた (endocytosed) rAIMの点状の蓄積 (dot-forming accumulation) が観察された。

[0230] また、rAIMを静脈注射によりAIM<sup>-/-</sup>マウスに全身投与し、その後、脂肪組織を組織学的に分析した。すなわち、AIM<sup>-/-</sup>マウスに、静脈内注射により200  $\mu$ gのrAIMを全身投与した。注射から3時間後に、精巣上体脂肪組織から組織切片を作製し、当該組織切片を抗AIM抗体及び抗マクロファージ抗体で染色した。

[0231] その結果、脂肪組織の脂肪細胞内において、上述の組織内への直接注射の場合に比べて低いレベルではあるが、取り込まれたrAIMのシグナルが検出された。興味深いことに、脂肪組織のマクロファージもまた抗AIM抗体で染色された。この結果は、外因性のrAIMは同様にマクロファージに取り込まれることを示唆していた。

[0232] さらに、これらの脂肪組織に由来する溶解物 (lysate) を使用して、取り込まれたrAIMを沈殿させ、内因性のFASが共沈されるかどうかを調べた。すなわち、HA-tagged rAIMと抗HA抗体とを使用し、沈殿物におけるFASの存在をウェスタンブロッティングにより分析した。

[0233] その結果、rAIM及びFASの両タンパク質は共沈された。この結果から、取り込まれたrAIMと細胞質内のFASとの結合が確認された。

[0234] これら全ての結果は、脂肪細胞によるAIMの取り込み、及びそれに続く当該AIMと細胞質内FASとの結合、がin vivoで生理学的に達成されたことを裏付けるものであった。

## 実施例 12

[0235] [AIM欠損がもたらす肥満の促進]

in vivoにおけるAIMの脂肪細胞に対する効果を試験するために、40週以

上にわたってHFDが与えられたAIM<sup>-/-</sup> Adipo<sup>-/-</sup>マウス及びAIM<sup>+/+</sup> Adipo<sup>-/-</sup>マウスの肥満状態を解析した。なお、Adipo<sup>-/-</sup>バックグラウンドのマウスの採用は、脂肪組織量に対するAIM欠損の影響を試験するにあたって、adiponectinの関与を排除する上で有用であった。

[0236] 解析の結果を図23A～Eに示す。図23Aは、HFDを与える前の体重（BW（pre））（g）を示し、図23Bは、HFDを与えた後の体重（BW（HFD）（g））を示す。図23C、図23D及び図23Eは、HFDを与えた後の内臓脂肪（Visceral Fat）の重量（g）、皮下脂肪（Subcutaneous Fat）の重量（g）及び肝臓（Liver）の重量（g）をそれぞれ示す。図23A～Eにおいて、「+／+」はAIM<sup>+/+</sup> Adipo<sup>-/-</sup>マウスの結果を示し、「-／-」はAIM<sup>-/-</sup> Adipo<sup>-/-</sup>マウスの結果を示す。

[0237] 図23A及び図23Bに示すように、体重の増加は、AIM<sup>+/+</sup> Adipo<sup>-/-</sup>マウスに比べて、AIM<sup>-/-</sup> Adipo<sup>-/-</sup>マウスにおいて加速された。この体重の違いは、図23C及び図23Dに示すように、主に脂肪組織の重量の増加によるものであった。

[0238] また、図23Eに示すように、肝臓組織の重量も同様に、AIM<sup>+/+</sup> Adipo<sup>-/-</sup>マウスに比べて、AIM<sup>-/-</sup> Adipo<sup>-/-</sup>マウスにおいて顕著に増加した。この結果は、AIMが肝細胞（hepatocyte）にも作用し、当該細胞内のグリセロール貯蔵を制御している可能性を示すものであった。なお、心臓や腎臓といった他の臓器の重量は、両タイプのマウスで同程度であった。

[0239] 同様の結果は、40週以上にわたってHFDが与えられたadiponectinをノックアウトしていないAIM<sup>-/-</sup>マウス及びAIM<sup>+/+</sup>マウスの解析においても観察された。解析の結果を図24A～Eに示す。図24A～Eに示すように、Adipo<sup>-/-</sup>バックグラウンドのマウスと同様、AIM<sup>+/+</sup>マウスに比べて、AIM<sup>-/-</sup>マウスの体重、脂肪組織重量及び肝臓重量の増加がより顕著であった。

[0240] 図25には、HFDが与えられたAIM<sup>-/-</sup>マウス及びAIM<sup>+/+</sup>マウスについて、その食欲の指標となる食餌摂取量（Food intake（g/24h））を評価した結果を示す。図25において、「+／+」はAIM<sup>+/+</sup>マウスの結果を示し、「-／-」はAIM

-/-マウスの結果を示す。

- [0241] ここで、上記実施例 9 でも述べたように、FAS阻害剤C75の投与は、マウスの視床下部においてニューロペプチド Y (NPY) の産生を減少させ、その結果、食欲の顕著な減退をもたらし、全体として、体重の減少を加速することが報告されている (Loftus, T.M. et al. Reduced food intake and body weight in mice treated with fatty acid synthase inhibitors. *Science* 288, 2379-2381 (2000)、Kumar, M.V., Shimokawa, T., Nagy, T.R. & Lane, M.D. Differential effects of a centrally acting fatty acid synthase inhibitor in lean and obese mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99, 1921-1925 (2002)、Shimokawa, T., Kumar, M.V. & Lane, M.D. Effect of a fatty acid synthase inhibitor on food intake and expression of hypothalamic neuropeptides. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99, 66-71 (2002)、Chakravarthy, M.V. et al. Inactivation of hypothalamic FAS protects mice from diet-induced obesity and inflammation. *J. Lipid Res.* 50, 630-640 (2009))。

- [0242] これに対し、本発明に係る実験においては、図 25 に示すように、AIM<sup>-/-</sup>マウス及びAIM<sup>+/+</sup>マウスの 24 時間での食餌摂取量 (g/24h) は同程度であった。すなわち、AIM は神経学的な効果をもたないことが示された。これは、AIM の作用には、視床下部の細胞が発現しているとの報告がない CD36 を介した、特異的な取り込み過程 (endocytotic process) が要求されるためと考えられる。

- [0243] なお、HFD が与えられた AIM<sup>-/-</sup>マウス及び AIM<sup>+/+</sup>マウス (Adipo<sup>-/-</sup>バックグラウンドか Adipo<sup>+/+</sup>バックグラウンドかにかかわらず) において、TNF  $\alpha$  及び IL-6 の血清中レベルに顕著な違いはなく、血中のグルコースレベルもまた同程度であった。

### 実施例 13

- [0244] [AIM 欠損マウスにおける脂肪細胞サイズ、脂肪組織量及び体重の増加]  
AIM<sup>-/-</sup>マウス及び AIM<sup>+/+</sup>マウスに、20 週にわたって HFD を付与した。そして

、それぞれのマウスから採取された精巢上体脂肪組織切片をHE染色し、顕微鏡下で観察した。また、画像解析ソフトをインストールしたコンピュータを使用して、各組織切片の顕微鏡写真内の異なる領域における50個の独立した脂肪細胞のサイズを評価した。脂肪細胞のサイズは、平均値±標準偏差 (SEM) (in pixels)で表した。

[0245] 図26には、AIM<sup>+/+</sup>マウス (「+／+」) 及びAIM<sup>-/-</sup>マウス (「-／-」) のそれぞれについて、脂肪細胞のサイズ (pixel/cell) を測定した結果を示す。図27A及び図27Bには、AIM<sup>+/+</sup>マウス (「+／+」) 及びAIM<sup>-/-</sup>マウス (「-／-」) から採取された内臓脂肪組織切片をHE染色して位相差顕微鏡下で観察した結果を示す。なお、図27A及び図27Bに示すスケールバーは100  $\mu$ mを示す。

[0246] 図26、図27A及び図27Bに示すように、上述のin vitroでの3T3-L1細胞における観察と一致して、肥満AIM<sup>-/-</sup>マウスの内臓脂肪細胞のサイズは、肥満AIM<sup>+/+</sup>マウスのそれに比べて大きかった。

[0247] また、AIM<sup>-/-</sup>マウス及びAIM<sup>+/+</sup>マウスに、12週にわたってHFDを付与し、体重及び脂肪組織の重量を測定した。図28A、図28B及び図28Cには、AIM<sup>+/+</sup>マウス (「+／+」) 及びAIM<sup>-/-</sup>マウス (「-／-」) のそれぞれについて、体重 (Body) (g)、内臓脂肪組織 (Visceral fat) の重量 (g) 及び皮下脂肪組織 (Subcutaneous fat) の重量 (g) を測定した結果をそれぞれ示す。

[0248] 図28A～Cに示すように、上述の脂肪細胞の増大に関連して、12週間のHFD付与後の体重、内臓脂肪組織の重量及び皮下脂肪組織の重量の増加は、AIM<sup>+/+</sup>マウスに比べて、AIM<sup>-/-</sup>マウスにおいてより加速されていた。

[0249] ここで、特筆すべきは、HFDを与えられたAIM<sup>+/+</sup>マウスとAIM<sup>-/-</sup>マウスとで代謝速度 (metabolic rates) が同程度であったことである。図29A、図29B、図29Cには、AIM<sup>+/+</sup>マウス (「+／+」) 及びAIM<sup>-/-</sup>マウス (「-／-」) のそれぞれについて、代謝速度を反映する指標として、体温 (Body temperature) (°C)、酸素消費速度 (Oxygen Consumption) ( $\text{VO}_2/\text{min/kg}$ ) 及び食

餌摂取量 (Food Intake) (g/24h) を評価した結果をそれぞれ示す。なお、図 29C には、HFD を与えた場合 (HFD) と、通常の食餌を与えた場合 (normal chow) とでの 24 時間あたりに摂取した食餌の量を示している。図 29A ~ C に示すように、体温、酸素消費速度及び食餌摂取量のいずれも、AIM<sup>+/+</sup>マウスと AIM<sup>-/-</sup>マウスとで大差はなかった。

[0250] さらに、HFD を与えられた AIM<sup>+/+</sup>マウスと AIM<sup>-/-</sup>マウスとでは、運動性 (Locomotor activity) もまた同程度であった。図 29D には、AIM<sup>+/+</sup>マウス (「+」) 及び AIM<sup>-/-</sup>マウス (「-」) のそれぞれについて、運動性 (Locomotor activity) (count) を評価した結果を示す。図 29D には、暗い環境下 (Dark) での 12 時間及び明るい環境下 (light) での 12 時間における運動性及び合計 24 時間での総合的な運動性 (Total) を示す。

[0251] これらの結果から、AIM は、脂肪細胞に特異的に作用することによって、脂肪組織量に影響を与えられたと考えられた。

## 実施例 14

[0252] [AIM 欠損マウスに対する AIM 投与による脂肪組織量及び体重の増加抑制]

AIM<sup>-/-</sup>マウスに HFD を 15 週与える間、最後の 9 週間に、マウス rAIM を当該 AIM<sup>-/-</sup>マウスの腹腔内に注射し、当該 rAIM の投与が脂肪組織量の増加を抑制するかどうかを調べた。すなわち、最後の 9 週間にわたって、AIM<sup>-/-</sup>マウスの腹腔内に rAIM を週に 3 回注射し ( [150  $\mu$ g / 注射 / マウス]  $\times$  [3 回 / 週] = [450  $\mu$ g / マウス / 週] )、15 週目に体重、内臓脂肪の重量及び皮下脂肪の重量を測定した。なお、対照として、同様の投与スケジュールで腹腔内に BSA (Bovine Serum Albumin) を投与した AIM<sup>-/-</sup>マウスについても、体重、内臓脂肪の重量及び皮下脂肪の重量を測定した。

[0253] 図 30A、図 30B 及び図 30C には、BSA が投与された AIM<sup>-/-</sup>マウス (「BSA」) 及び rAIM が投与された AIM<sup>-/-</sup>マウス (「rAIM」) のそれぞれについて、体重 (Body) (g)、内臓脂肪組織 (Visceral fat) の重量 (g) 及び皮下脂肪組織 (Subcutaneous fat) の重量 (g) を測定した結果を示す (n=3)。

- [0254] 図30A～Cに示すように、内臓脂肪の重量及び皮下脂肪の重量の両方の増加は、体重と同様に、対照としてBSAを注射されたマウスに比べて、rAIMを注射されたマウスにおいて顕著に小さかった。
- [0255] さらに、BSAが投与されたAIM<sup>-/-</sup>マウス及びrAIMが投与されたAIM<sup>-/-</sup>マウスのそれぞれについて、FSP27、Perilipin及びAdipophilinのmRNAレベルを評価した。mRNAレベルは、精巢上体脂肪から単離されたRNAを使用し、QPCRにより測定した。
- [0256] 図31には、BSAが投与されたAIM<sup>-/-</sup>マウス（「BSA」）及びrAIMが投与されたAIM<sup>-/-</sup>マウス（「rAIM」）のそれぞれについて、評価されたFSP27、Perilipin及びAdipophilinのmRNAレベルを示す（n=3）。なお、図31に示す値は、GAPDHで正規化し（normalized to GAPDH）、BSAを注射されたマウスの結果に対する相対値（Relative Expression）として表した。
- [0257] 図31に示すように、上述の3T3-L1脂肪細胞をrAIMで処理した場合に観察されたのと同様に、lipolysisが進行するにつれて減少するFSP27、Perilipin及びAdipophilinのmRNAレベルもまた、対照としてBSAを注射されたマウスに比べて、rAIMを注射されたマウスにおいて低かった。したがって、AIMの注射によって、生体内でlipolysisが進行したと考えられた。

## 実施例 15

- [0258] [AIMのFASへの結合]

in vivo及びin vitroの両方でAIMとFASとの結合を確認した。すなわち、肥満AIM<sup>-/-</sup>マウスの精巢上体脂肪組織の数か所に、HAタグ化されたマウスrAIMを、合計100 µg、直接注射した。注射から3時間後、精巢上体脂肪組織を採取した。次いで、抗HA抗体を使用して、この脂肪組織の溶解物から、取り込まれたrAIMを沈殿させた。そして、イムノブロッティング（WB）によって、得られた沈殿物にFASが存在するかどうかを分析した。その結果、図32に示すように、両タンパク質は共沈され、取り込まれたrAIMと内因性の細胞質内FASとの結合が確認された。

- [0259] 加えて、Flagタグ化されたFAS及びHAタグ化されたマウスAIMの両方を発現

するHEK293T細胞と、抗Flag抗体又は抗HA抗体と、を使用した共免疫沈降試験を行った。その結果、図3 3 A及び図3 3 Bに示すように、両タンパク質が互いに共沈された。したがって、AIMは、FASと結合する能力を有すると考えられた。

[0260] さらに、FASにおけるAIMに対する結合領域のマッピングを試みた。図3 4 Aに示すように、FASは、次の7つの別個の機能ドメインからなる；ketoacyl synthase (KS)、malonyl/acetyl transferase (MAT)、dehydrase (DH)、enoyl reductase (ER)、ketoreductase (KR)、acyl carrier protein (ACP) 及びthioesterase (TE)。DHドメインとERドメインとの間にはcentral core (CC) がある。このCCは既知の触媒機能をもたず、二量体の安定化における構造的な役割を担っていると考えられる。なお、図3 4 Aには、head-to-tailで二量化したFAS及びその各領域の主な機能を示している。

[0261] そこで、Flagタグ化されたFASの各領域と、HAタグ化されたAIMと、の結合 (association) を共沈試験により調べた。すなわち、N末端においてFlagタグ化されたFASの各ドメインを、安定してHAタグ化されたマウスAIMを発現するHEK293T細胞に発現させた。そして、抗Flag抗体及び抗HA抗体を使用した共免疫沈降試験により、各領域とAIMとの結合を調べた。その結果、図3 4 Bに示すように、AIMは、ER、DH、TE及びCCドメインに特異的に結合した。しかしながら、AIMは、初期のアシル鎖集合体 (initial acyl chain assembly) (すなわち、二酸化炭素の放出を伴う、アセチル基及びマロニル基の3-ketobutyryl-ACPへの凝集 (condensation) ) に関与する、KS及びMATを含むN末端領域 (図3 4 A参照) には結合しなかった。したがって、AIMは、脂肪酸鎖の延長 (ER及びDHに関与する)、及び合成されたpalmitate (TEに依存する) の放出に影響していると考えられた。なお、ER又はKRの過剰発現は、多数の細胞の死をもたらした。これは、これらの細胞溶解物を使用したWBにおけるシグナルの低下を引き起こした (図3 4 Bの下側パネル、lanes : ER及びKR) 。

## 実施例 16

[0262] [細胞表面CD36を介したAIMの取り込み]

CD36を欠損したCD36<sup>-/-</sup>マウス及びワイルドタイプCD36<sup>+/+</sup>マウスのそれぞれに、マウスrAIMを静脈から注射し、脂肪組織へのrAIMの取り込みを解析した。すなわち、rAIMをPSBに溶解して調製した注射液を、CD36<sup>-/-</sup>マウス及びCD36<sup>+/+</sup>マウスのそれぞれに静脈注射した（300  $\mu$ g/マウス）。注射から16時間後に、マウスを犠牲死させ、その精巢上体脂肪組織から組織切片を作製した。そして、組織切片を、抗AIM抗体で染色した。

- [0263] その結果、図35A及び図35Bに示すように、CD36<sup>-/-</sup>マウス（CD36<sup>-/-</sup>）の脂肪組織において検出されたAIMのシグナルのレベルは、CD36<sup>+/+</sup>マウス（CD36<sup>+/+</sup>）に比べて、顕著に小さかった。すなわち、脂肪細胞へのrAIMの取り込みは、CD36<sup>+/+</sup>マウスに比べて、CD36<sup>-/-</sup>マウスにおいて顕著に少なかった。

## 実施例 17

- [0264] [ヒトrAIMによるヒト脂肪前駆細胞の成熟の抑制]

ヒト細胞においてもAIMが脂肪細胞分化（adipogenesis）に作用することを確認するため、組換えヒトAIM（rhAIM）の存在下及び不存在下において、ヒト間葉系幹細胞（human mesenchymal stem cell：HMSC）（Lonza Walkersville Inc., USA）の分化を刺激した。

- [0265] すなわち、HMSCは、コンフルエントに達するまで、Mesenchymal Stem Cell Basal Medium（MSCBM, Lonza Walkersville Inc.）中で10日間培養された。その後、細胞を、rhAIMの存在下（10  $\mu$ g/mL）又は不存在下で、ヒトインシュリン、MCGS、dexamethasone、indomethacin及びIBMXとともに3日間培養することにより、当該細胞のadipogenesisを刺激した（adipogenesis induction）（参考文献：Janderova et al., Obes. Res. 11: 65, 2003）。この刺激後、細胞は、ヒトインシュリン及びMCGSが添加されたMSCBM中でさらに10日間培養された。そして、細胞は回収され、oil-red-oにて染色された。

- [0266] 図36A、図36B及び図36Cには、分化刺激前（Pre-stimulation）、rhAIM不存在下での刺激後（rhAIM(-)）及び10  $\mu$ g/mLのrhAIM存在下での刺激後（rhAIM(10  $\mu$ g/mL)）の細胞を位相差顕微鏡下で観察した結果をそれぞれ示す。

[0267] 図36A～Cに示すように、rhAIMは、HMSCの分化を劇的に抑制した。また、成熟脂肪細胞で発現するGlut-4のmRNAレベルをRT-PCRにより評価した。また、 $\beta$ アクチンのmRNAについても同様に評価した。図37に、その結果を示す。図37には、分化刺激前（Pre）、rhAIM不存在下での刺激後（-rhAIM）及び10  $\mu$ g/mLのrhAIM存在下での刺激後（+rhAIM）の細胞におけるGlut-4及び $\beta$ アクチン（ $\beta$ -actin）のmRNAレベルを評価した結果を示す。図37に示すように、上述の組織学的解析の結果と一致して、Glut-4のmRNAレベルは、rhAIM不存在下に比べて、rhAIMの存在下で顕著に減少した。

### 実施例 18

[0268] [イヌ及びネコにおけるAIMの発現]

イヌ及びネコにおけるAIMの発現を調べるため、抗マウスAIMポリクローナル抗体（SA-1）を用いて、3頭のイヌ及び3匹のネコから採取した血清のウェスタンブロッティングを行った。また、比較のため、マウスの血清についても、同様にウェスタンブロッティングを行った。

[0269] 図38には、イヌの3例（dog 1, 2, 3）、ネコの3例（cat 1, 2, 3）及びマウス（mouse）のそれぞれについて、ウェスタンブロッティングの結果を示す。図38に示すように、イヌの血清については、明瞭なバンドが検出された。一方、ネコの血清については、イヌに比べて大きく、マウスと同程度の分子量に薄いバンドが検出された。すなわち、イヌ及びネコにおいても、抗マウスAIMポリクローナル抗体により検出される程度にマウスAIMとの相同性を有するAIMが発現していることが確認された。

[0270] ここで、上述の実施例11～18により得られた知見の一部について説明する。実施例11においては、AIM<sup>-/-</sup>マウスの精巣上体脂肪組織にrAIMを直接注射した場合及びAIM<sup>-/-</sup>マウスにrAIMを静脈注射した場合のいずれの場合も、投与された外因性のrAIMが脂肪細胞に取り込まれ、且つ取り込まれたrAIMが当該脂肪細胞の細胞質内で内因性のFASと結合することが示された。また、実施例16においては、CD36<sup>-/-</sup>マウス及びワイルドタイプCD36<sup>+/+</sup>マウスのそれぞれにrAIMを静脈注射したところ、脂肪細胞へのrAIMの取り込みは、CD36<sup>+/+</sup>マウ

スに比べて、CD36<sup>-/-</sup>マウスにおいて顕著に少ないことが確認された。すなわち、上述の実施例 5～8 において培養細胞を使用して *in vitro* で確認された現象が、マウスを使用して *in vivo* でも確認された。なお、実施例 15 においては、細胞内において AIM が FAS と結合することが再確認されるとともに、FAS の AIM に対する結合領域についての知見も得られた。

[0271] 実施例 12 及び実施例 13 においては、HFD が与えられた AIM<sup>-/-</sup>マウスの体重、脂肪組織の重量、肝臓の重量及び脂肪組織に含まれる脂肪細胞のサイズの増加は、同じく HFD が与えられた AIM<sup>+/+</sup>マウスのそれに比べて、顕著に促進されること、及びそれにもかかわらず、当該 AIM<sup>-/-</sup>マウスの食餌摂取量、代謝速度及び運動性は、当該 AIM<sup>+/+</sup>マウスのそれと同程度であることが示された。すなわち、上述の実施例 9 で確認された現象が、より詳細に確認された。

[0272] 実施例 14 においては、HFD の摂取と rAIM の腹腔内注射とを同時に施した AIM<sup>-/-</sup>マウスの体重、内臓脂肪の重量及び皮下脂肪の重量の増加は、HFD の摂取と腹腔内への BSA の注射とを同時に施した AIM<sup>-/-</sup>マウスに比べて、顕著に抑制されることが示された。また、このような AIM による効果は、lipolysis が進行するにつれて減少する FSP27、Perilipin 及び Adipophilin の mRNA レベルが、BSA を腹腔内注射された AIM<sup>-/-</sup>マウスに比べて、rAIM を腹腔内注射された AIM<sup>-/-</sup>マウスにおいて低いという解析結果によっても裏付けられた。すなわち、上述の実施例 10 において既に理解されていたとおり、静脈注射に比べて脂肪組織における局所濃度を高めることのできる腹腔内注射によって、AIM の投与による体重及び脂肪組織重量の増加抑制効果が明確に確認された。

[0273] 実施例 17 においては、ヒト AIM がヒト脂肪前駆細胞に作用することによって、当該ヒト脂肪前駆細胞のヒト脂肪細胞への分化が抑制されることが確認された。すなわち、上述の実施例 1～10 で得られた知見と、AIM 分子の構造及びその作用機構に関するマウスとヒトとの相同性と、に基づいて既に理解されていたとおり、マウス AIM がマウス細胞に作用するのと同様に、ヒト AIM がヒト細胞に作用することが確認された。この結果は、AIM が、ヒトの生体においてもマウスの生体と同様に脂肪細胞に作用して、脂肪前駆細胞の分化抑

制、脂肪細胞におけるlipolysis、脂肪組織重量の増加抑制、体重の増加抑制といった効果をもたらすとの理解を支持する根拠を補強するものであった。

[0274] 実施例 18 においては、イヌ及びネコにおいても、抗マウスAIMポリクローナル抗体により検出される程度にマウスAIMとの相同性を有するAIMが発現していることが確認された。実際に、配列表 11 に示されるアミノ酸配列からなるイヌAIMは、配列表 1 に示されるヒトAIMと 66%の相同性を有し、配列表 5 に示されるマウスAIMと 60%の相同性を有する。

[0275] 以上のとおり、AIMは、様々な哺乳動物の種間でのアミノ酸配列の相同性及び当該AIMの作用機構の類似性に基づき、生体に投与されることで、当該生体における脂肪組織の量及び／又は体重の減少、増加の抑制、増加の程度の低減といった効果をもたらすとの知見が得られた。さらに、AIMは、CD36を介した細胞内への取り込みにより当該細胞に作用するという機構に基づき、生体の代謝状態を変えることなく、当該生体の脂肪細胞に特異的に作用するという、医薬としての有用性及び安全性という点で極めて興味深い知見も得られた。

## 請求の範囲

- [請求項1] 下記の（I）又は（I I）のタンパク質；
- （I）マクロファージアポトーシスインヒビター；、
- （I I）マクロファージアポトーシスインヒビターのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、前記アミノ酸配列と相同性を有するアミノ酸配列からなり、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質、
- を有効成分として含有する
- ことを特徴とする医薬組成物。
- [請求項2] 前記（I）のタンパク質を有効成分として含有する
- ことを特徴とする請求項1に記載された医薬組成物。
- [請求項3] 前記（I）のタンパク質は、配列表1に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質である
- ことを特徴とする請求項2に記載された医薬組成物。
- [請求項4] 前記（I）のタンパク質は、動物のマクロファージアポトーシスインヒビターである
- ことを特徴とする請求項2に記載された医薬組成物。
- [請求項5] 前記動物は、マウス、イヌ又はネコである
- ことを特徴とする請求項4に記載された医薬組成物。
- [請求項6] 前記（I I）のタンパク質を有効成分として含有する
- ことを特徴とする請求項1に記載された医薬組成物。
- [請求項7] 前記（I I）のタンパク質は、配列表1に示されるアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、配列表1に示されるアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項6に記載された医薬組成物。

[請求項8]

前記（I I）のタンパク質は、配列表1に示されるアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項7に記載された医薬組成物。

[請求項9]

前記（I I）のタンパク質は、配列表1に示されるアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、配列表2に示されるアミノ酸配列又は配列表2に示されるアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、配列表2に示されるアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる第一のドメイン、配列表3に示されるアミノ酸配列又は配列表3に示されるアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、配列表3に示されるアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び配列表4に示されるアミノ酸配列又は配列表4に示されるアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、配列表4に示されるアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連結して構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項6に記載された医薬組成物。

[請求項10]

前記（I I）のタンパク質は、配列表2に示されるアミノ酸配列又は配列表2に示されるアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第一のドメイン、配列表3に示されるアミノ酸配列又は配列表3に示されるアミ

ノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び配列表4に示されるアミノ酸配列又は配列表4に示されるアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連結して構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項9に記載された医薬組成物。

[請求項11]

前記(11)のタンパク質は、配列表2に示されるアミノ酸配列からなる第一のドメイン、配列表3に示されるアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び配列表4に示されるアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連結して構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項10に記載された医薬組成物。

[請求項12]

前記(11)のタンパク質は、前記第一のドメイン、前記第二のドメイン、及び前記第三のドメインが直列的に直接連結して構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項9に記載された医薬組成物。

[請求項13]

前記(11)のタンパク質は、配列表2に示されるアミノ酸配列又は配列表2に示されるアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第一のドメイン、配列表3に示されるアミノ酸配列又は配列表3に示されるアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び配列表4

に示されるアミノ酸配列又は配列表 4 に示されるアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において 1 若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連なって構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項 6 に記載された医薬組成物。

[請求項 14] 前記 (I I) のタンパク質は、前記第一のドメイン、前記第二のドメイン、及び前記第三のドメインが直列的に直接連結して構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項 13 に記載された医薬組成物。

[請求項 15] 前記 (I I) のタンパク質は、下記の (x 1)、(x 2) 又は (x 3) のタンパク質；

(x 1) 配列表 2 に示されるアミノ酸配列からなる第一のドメインタンパク質又は複数の前記第一のドメインタンパク質が直列的に連結してなるタンパク質；、

(x 2) 配列表 3 に示されるアミノ酸配列からなる第二のドメインタンパク質又は複数の前記第二のドメインタンパク質が直列的に連結してなるタンパク質；、

(x 3) 配列表 4 に示されるアミノ酸配列からなる第三のドメインタンパク質又は複数の前記第三のドメインタンパク質が直列的に連結してなるタンパク質、

であって、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項 6 に記載された医薬組成物。

- [請求項16] 前記（I I）のタンパク質は、動物のマクロファージアポトーシスインヒビターのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、前記動物のマクロファージアポトーシスインヒビターのアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である
- ことを特徴とする請求項6に記載された医薬組成物。
- [請求項17] 前記動物は、マウス、イヌ又はネコである
- ことを特徴とする請求項16に記載された医薬組成物。
- [請求項18] 前記（I I）のタンパク質は、動物のマクロファージアポトーシスインヒビターのアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である
- ことを特徴とする請求項16に記載された医薬組成物。
- [請求項19] 前記動物は、マウス、イヌ又はネコである
- ことを特徴とする請求項18に記載された医薬組成物。
- [請求項20] 前記（I I）のタンパク質は、SRCR1ドメイン、SRCR2ドメイン及びSRCR3ドメインを有する動物のマクロファージアポトーシスインヒビターのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、前記SRCR1ドメインのアミノ酸配列又は前記SRCR1ドメインのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、前記SRCR1ドメインのアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる第一のドメイン、前記SRCR2ドメインのアミノ酸配列又は前記SRCR2ドメインのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加さ

れた、前記S R C R 2ドメインのアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び前記S R C R 3ドメインのアミノ酸配列又は前記S R C R 3ドメインのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、前記S R C R 3ドメインのアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連結して構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項6に記載された医薬組成物。

[請求項21] 前記動物は、マウス、イヌ又はネコである

ことを特徴とする請求項20に記載された医薬組成物。

[請求項22] 前記( I I )のタンパク質は、前記S R C R 1ドメインのアミノ酸配列又は前記S R C R 1ドメインのアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第一のドメイン、前記S R C R 2ドメインのアミノ酸配列又は前記S R C R 2ドメインのアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び前記S R C R 3ドメインのアミノ酸配列又は前記S R C R 3ドメインのアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連結して構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項20に記載された医薬組成物。

[請求項23] 前記動物は、マウス、イヌ又はネコである

ことを特徴とする請求項22に記載された医薬組成物。

[請求項24] 前記( I I )のタンパク質は、前記S R C R 1ドメインのアミノ酸

配列からなる第一のドメイン、前記S R C R 2ドメインのアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び前記S R C R 3ドメインのアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連結して構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項20に記載された医薬組成物。

[請求項25]

前記動物は、マウス、イヌ又はネコである

ことを特徴とする請求項24に記載された医薬組成物。

[請求項26]

前記(11)のタンパク質は、前記第一のドメイン、前記第二のドメイン、及び前記第三のドメインが直列的に直接連結して構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項20に記載された医薬組成物。

[請求項27]

前記(11)のタンパク質は、S R C R 1ドメイン、S R C R 2ドメイン及びS R C R 3ドメインを有する動物のマクロファージアポトーシスインヒビターのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、前記S R C R 1ドメインのアミノ酸配列又は前記S R C R 1ドメインのアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第一のドメイン、前記S R C R 2ドメインのアミノ酸配列又は前記S R C R 2ドメインのアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び前記S R C R 3ドメインのアミノ酸配列又は前記S R C R 3ドメインのアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第三のドメイン

が直列的に連なって構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項 6 に記載された医薬組成物。

[請求項28] 前記動物は、マウス、イヌ又はネコである

ことを特徴とする請求項 27 に記載された医薬組成物。

[請求項29] 前記 ( I I ) のタンパク質は、前記第一のドメイン、前記第二のドメイン、及び前記第三のドメインが直列的に直接連結して構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項 27 に記載された医薬組成物。

[請求項30] 前記 ( I I ) のタンパク質は、下記の ( p 1 ) 、 ( p 2 ) 又は ( p 3 ) のタンパク質；

( p 1 ) 動物のマクロファージアポトーシスインヒビターの S R C R 1 ドメインのアミノ酸配列からなる第一のドメインタンパク質又は複数の前記第一のドメインタンパク質が直列的に連結してなるタンパク質；、

( p 2 ) 動物のマクロファージアポトーシスインヒビターの S R C R 2 ドメインのアミノ酸配列からなる第二のドメインタンパク質又は複数の前記第二のドメインタンパク質が直列的に連結してなるタンパク質；、

( p 3 ) 動物のマクロファージアポトーシスインヒビターの S R C R 3 ドメインのアミノ酸配列からなる第三のドメインタンパク質又は複数の前記第三のドメインタンパク質が直列的に連結してなるタンパク質、

であって、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有す

るタンパク質である

ことを特徴とする請求項 6 に記載された医薬組成物。

[請求項31] 前記動物は、マウス、イヌ又はネコである

ことを特徴とする請求項 30 に記載された医薬組成物。

[請求項32] ヒトに投与される医薬組成物である

ことを特徴とする請求項 1 に記載された医薬組成物。

[請求項33] 動物に投与される医薬組成物である

ことを特徴とする請求項 1 に記載された医薬組成物。

[請求項34] 前記動物は、マウス、イヌ又はネコである

ことを特徴とする請求項 33 に記載された医薬組成物。

[請求項35] 請求項 1 乃至 34 のいずれかに記載された前記 (I) のタンパク質又は前記 (I I) のタンパク質であって、医薬組成物の有効成分としての使用のためのタンパク質。

[請求項36] 請求項 1 乃至 34 のいずれかに記載された医薬組成物を製造することを特徴とする方法。

[請求項37] 請求項 1 乃至 34 のいずれかに記載された医薬組成物を生体に投与する

ことを特徴とする方法。

[請求項38] 前記生体はヒトである

ことを特徴とする請求項 37 に記載された方法。

[請求項39] 前記生体は動物である

ことを特徴とする請求項 37 に記載された方法。

[請求項40] 前記動物は、マウス、イヌ又はネコである

ことを特徴とする請求項 39 に記載された方法。

[請求項41] 下記の (I) 又は (I I) のタンパク質を含有することを特徴とする飲食物；

(I) マクロファージアポトーシスインヒビター；、

(I I) マクロファージアポトーシスインヒビターのアミノ酸配列に

において 1 若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、前記アミノ酸配列と相同性を有するアミノ酸配列からなり、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質。

[請求項42]      請求項 4 1 に記載された飲食物を製造することを特徴とする方法。

補正された請求の範囲  
[2010年10月4日(04.10.2010)国際事務局受理]

- [請求項1] (補正後) 脂肪組織の減少、増大の抑制、又は増大の程度の低減のための医薬組成物であって、  
下記の(Ⅰ)又は(ⅠⅠ)のタンパク質；  
(Ⅰ) マクロファージアポトーシスインヒビター；、  
(ⅠⅠ) マクロファージアポトーシスインヒビターのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、前記アミノ酸配列と相同性を有するアミノ酸配列からなり、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質、  
を有効成分として含有する  
ことを特徴とする医薬組成物。
- [請求項2] 前記(Ⅰ)のタンパク質を有効成分として含有する  
ことを特徴とする請求項1に記載された医薬組成物。
- [請求項3] 前記(Ⅰ)のタンパク質は、配列表1に示されるアミノ酸配列からなるタンパク質である  
ことを特徴とする請求項2に記載された医薬組成物。
- [請求項4] 前記(Ⅰ)のタンパク質は、動物のマクロファージアポトーシスインヒビターである  
ことを特徴とする請求項2に記載された医薬組成物。
- [請求項5] 前記動物は、マウス、イヌ又はネコである  
ことを特徴とする請求項4に記載された医薬組成物。
- [請求項6] 前記(ⅠⅠ)のタンパク質を有効成分として含有する  
ことを特徴とする請求項1に記載された医薬組成物。
- [請求項7] 前記(ⅠⅠ)のタンパク質は、配列表1に示されるアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、配列表1に示されるアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制

制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項6に記載された医薬組成物。

[請求項8] 前記（I I）のタンパク質は、配列表1に示されるアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項7に記載された医薬組成物。

[請求項9] 前記（I I）のタンパク質は、配列表1に示されるアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、配列表2に示されるアミノ酸配列又は配列表2に示されるアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、配列表2に示されるアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる第一のドメイン、配列表3に示されるアミノ酸配列又は配列表3に示されるアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、配列表3に示されるアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び配列表4に示されるアミノ酸配列又は配列表4に示されるアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、配列表4に示されるアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連結して構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項6に記載された医薬組成物。

[請求項10] 前記（I I）のタンパク質は、配列表2に示されるアミノ酸配列又は配列表2に示されるアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ

酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第一のドメイン、配列表 3 に示されるアミノ酸配列又は配列表 3 に示されるアミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び配列表 4 に示されるアミノ酸配列又は配列表 4 に示されるアミノ酸配列において 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連結して構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項 9 に記載された医薬組成物。

[請求項 11] 前記 (I I) のタンパク質は、配列表 2 に示されるアミノ酸配列からなる第一のドメイン、配列表 3 に示されるアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び配列表 4 に示されるアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連結して構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項 10 に記載された医薬組成物。

[請求項 12] 前記 (I I) のタンパク質は、前記第一のドメイン、前記第二のドメイン、及び前記第三のドメインが直列的に直接連結して構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項 9 に記載された医薬組成物。

[請求項 13] 前記 (I I) のタンパク質は、配列表 2 に示されるアミノ酸配列又は配列表 2 に示されるアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において 1 若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第一のドメイン、配列表 3 に示されるアミノ酸配列又は配列表 3 に示されるアミノ酸配列のうちコンセンサス配

列以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び配列表4に示されるアミノ酸配列又は配列表4に示されるアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連なって構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項6に記載された医薬組成物。

[請求項14] 前記(11)のタンパク質は、前記第一のドメイン、前記第二のドメイン、及び前記第三のドメインが直列的に直接連結して構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項13に記載された医薬組成物。

[請求項15] 前記(11)のタンパク質は、下記の(x1)、(x2)又は(x3)のタンパク質；

(x1) 配列表2に示されるアミノ酸配列からなる第一のドメインタンパク質又は複数の前記第一のドメインタンパク質が直列的に連結してなるタンパク質；、

(x2) 配列表3に示されるアミノ酸配列からなる第二のドメインタンパク質又は複数の前記第二のドメインタンパク質が直列的に連結してなるタンパク質；、

(x3) 配列表4に示されるアミノ酸配列からなる第三のドメインタンパク質又は複数の前記第三のドメインタンパク質が直列的に連結してなるタンパク質、

であって、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有す

るタンパク質である

ことを特徴とする請求項6に記載された医薬組成物。

- [請求項16] 前記（I I）のタンパク質は、動物のマクロファージアポトーシスインヒビターのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、前記動物のマクロファージアポトーシスインヒビターのアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなり、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項6に記載された医薬組成物。

- [請求項17] 前記動物は、マウス、イヌ又はネコである

ことを特徴とする請求項16に記載された医薬組成物。

- [請求項18] 前記（I I）のタンパク質は、動物のマクロファージアポトーシスインヒビターのアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項16に記載された医薬組成物。

- [請求項19] 前記動物は、マウス、イヌ又はネコである

ことを特徴とする請求項18に記載された医薬組成物。

- [請求項20] 前記（I I）のタンパク質は、SRCR1ドメイン、SRCR2ドメイン及びSRCR3ドメインを有する動物のマクロファージアポトーシスインヒビターのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、前記SRCR1ドメインのアミノ酸配列又は前記SRCR1ドメインのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、前記SRCR1ドメインのアミノ酸配列と80%以上の相同性を有するアミノ酸配列からなる第一のドメイン、前記SRCR

2ドメインのアミノ酸配列又は前記SRCR2ドメインのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、前記SRCR2ドメインのアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び前記SRCR3ドメインのアミノ酸配列又は前記SRCR3ドメインのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、前記SRCR3ドメインのアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連結して構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項6に記載された医薬組成物。

[請求項21] 前記動物は、マウス、イヌ又はネコである

ことを特徴とする請求項20に記載された医薬組成物。

[請求項22] 前記(11)のタンパク質は、前記SRCR1ドメインのアミノ酸配列又は前記SRCR1ドメインのアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第一のドメイン、前記SRCR2ドメインのアミノ酸配列又は前記SRCR2ドメインのアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び前記SRCR3ドメインのアミノ酸配列又は前記SRCR3ドメインのアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連結して構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項20に記載された医薬組成物。

[請求項23] 前記動物は、マウス、イヌ又はネコである

ことを特徴とする請求項 22 に記載された医薬組成物。

[請求項24] 前記 (I I) のタンパク質は、前記 S R C R 1 ドメインのアミノ酸配列からなる第一のドメイン、前記 S R C R 2 ドメインのアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び前記 S R C R 3 ドメインのアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連結して構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項 20 に記載された医薬組成物。

[請求項25] 前記動物は、マウス、イヌ又はネコである

ことを特徴とする請求項 24 に記載された医薬組成物。

[請求項26] 前記 (I I) のタンパク質は、前記第一のドメイン、前記第二のドメイン、及び前記第三のドメインが直列的に直接連結して構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項 20 に記載された医薬組成物。

[請求項27] 前記 (I I) のタンパク質は、S R C R 1 ドメイン、S R C R 2 ドメイン及び S R C R 3 ドメインを有する動物のマクロファージアポトーシスインヒビターのアミノ酸配列において 1 若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、前記 S R C R 1 ドメインのアミノ酸配列又は前記 S R C R 1 ドメインのアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において 1 若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第一のドメイン、前記 S R C R 2 ドメインのアミノ酸配列又は前記 S R C R 2 ドメインのアミノ酸配列のうちコンセンサス配列以外の部分において 1 若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第二のドメイン、及び前記 S R C R 3 ドメインのアミノ酸配列又は前記 S R C R 3 ドメインのアミノ酸配列のうち

コンセンサス配列以外の部分において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる第三のドメインが直列的に連なって構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項6に記載された医薬組成物。

[請求項28] 前記動物は、マウス、イヌ又はネコである

ことを特徴とする請求項27に記載された医薬組成物。

[請求項29] 前記(11)のタンパク質は、前記第一のドメイン、前記第二のドメイン、及び前記第三のドメインが直列的に直接連結して構成され、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項27に記載された医薬組成物。

[請求項30] 前記(11)のタンパク質は、下記の(p1)、(p2)又は(p3)のタンパク質；

(p1) 動物のマクロファージアポトーシスインヒビターのSRCR1ドメインのアミノ酸配列からなる第一のドメインタンパク質又は複数の前記第一のドメインタンパク質が直列的に連結してなるタンパク質；、

(p2) 動物のマクロファージアポトーシスインヒビターのSRCR2ドメインのアミノ酸配列からなる第二のドメインタンパク質又は複数の前記第二のドメインタンパク質が直列的に連結してなるタンパク質；、

(p3) 動物のマクロファージアポトーシスインヒビターのSRCR3ドメインのアミノ酸配列からなる第三のドメインタンパク質又は複数の前記第三のドメインタンパク質が直列的に連結してなるタンパク質、

であって、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質である

ことを特徴とする請求項 6 に記載された医薬組成物。

[請求項31] 前記動物は、マウス、イヌ又はネコである

ことを特徴とする請求項 30 に記載された医薬組成物。

[請求項32] ヒトに投与される医薬組成物である

ことを特徴とする請求項 1 に記載された医薬組成物。

[請求項33] 動物に投与される医薬組成物である

ことを特徴とする請求項 1 に記載された医薬組成物。

[請求項34] 前記動物は、マウス、イヌ又はネコである

ことを特徴とする請求項 33 に記載された医薬組成物。

[請求項35] (補正後) 請求項 1 乃至 34 のいずれかに記載された前記 (I) のタンパク質又は前記 (I I) のタンパク質であって、

脂肪組織の減少、増大の抑制、又は増大の程度の低減のための医薬組成物の有効成分としての使用のためのタンパク質。

[請求項36] 請求項 1 乃至 34 のいずれかに記載された医薬組成物を製造することを特徴とする方法。

[請求項37] (補正後) 請求項 1 乃至 34 のいずれかに記載された医薬組成物を、脂肪組織の減少、増大の抑制、又は増大の程度の低減のために生体に投与する

ことを特徴とする方法。

[請求項38] 前記生体はヒトである

ことを特徴とする請求項 37 に記載された方法。

[請求項39] 前記生体は動物である

ことを特徴とする請求項 37 に記載された方法。

[請求項40] 前記動物は、マウス、イヌ又はネコである

ことを特徴とする請求項 39 に記載された方法。

[請求項41] (補正後) 脂肪組織の減少、増大の抑制、又は増大の程度の低減のための飲食物であって、

下記の (I) 又は (I I) のタンパク質を含有することを特徴とする飲食物；

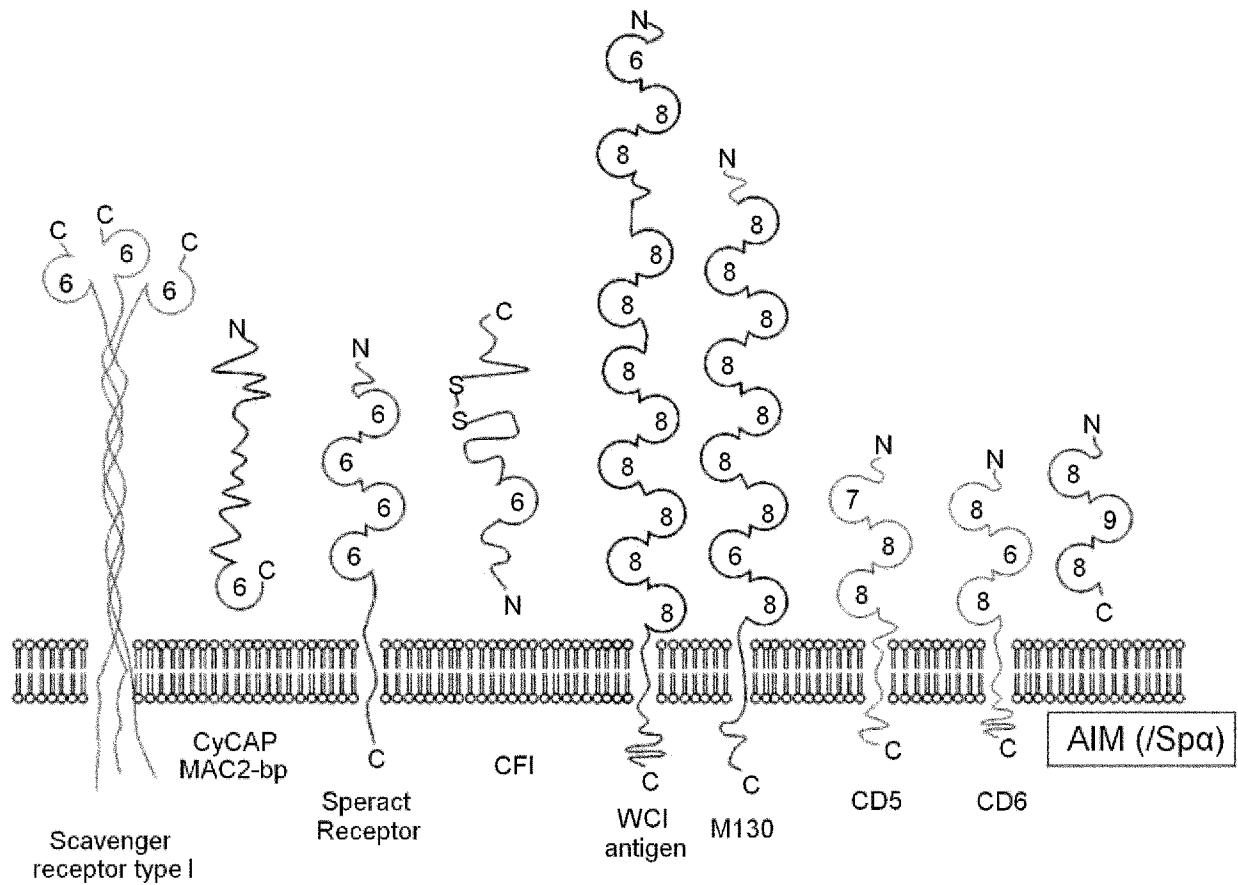
(I) マクロファージアポトーシスインヒビター；、

(I I) マクロファージアポトーシスインヒビターのアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加された、前記アミノ酸配列と相同性を有するアミノ酸配列からなり、且つ脂肪前駆細胞の成熟脂肪細胞への分化を抑制する機能及び／又は成熟脂肪細胞において脂肪滴分解を誘導する機能を有するタンパク質。

[請求項42] 請求項41に記載された飲食物を製造することを特徴とする方法。

[illegible]

[図2]

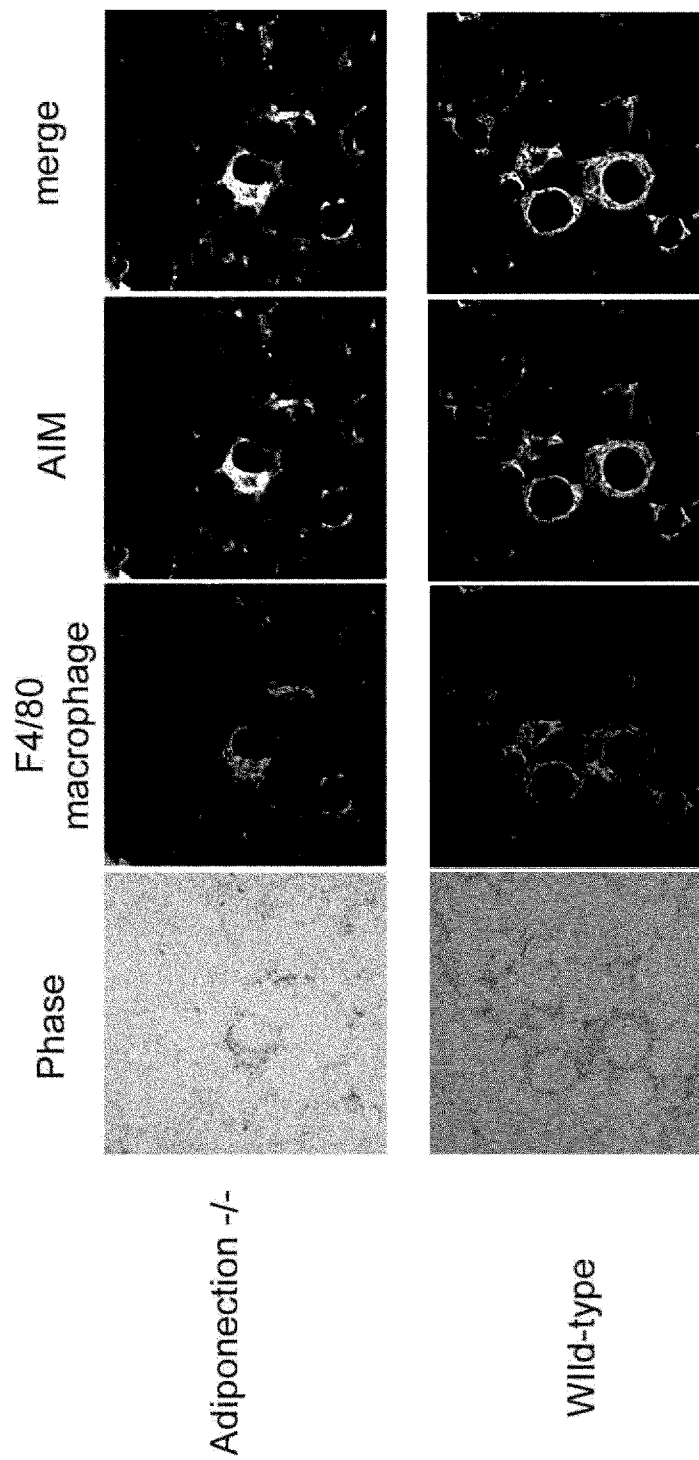


The Scavenger Receptor Cysteine Rich (SRCR) superfamily

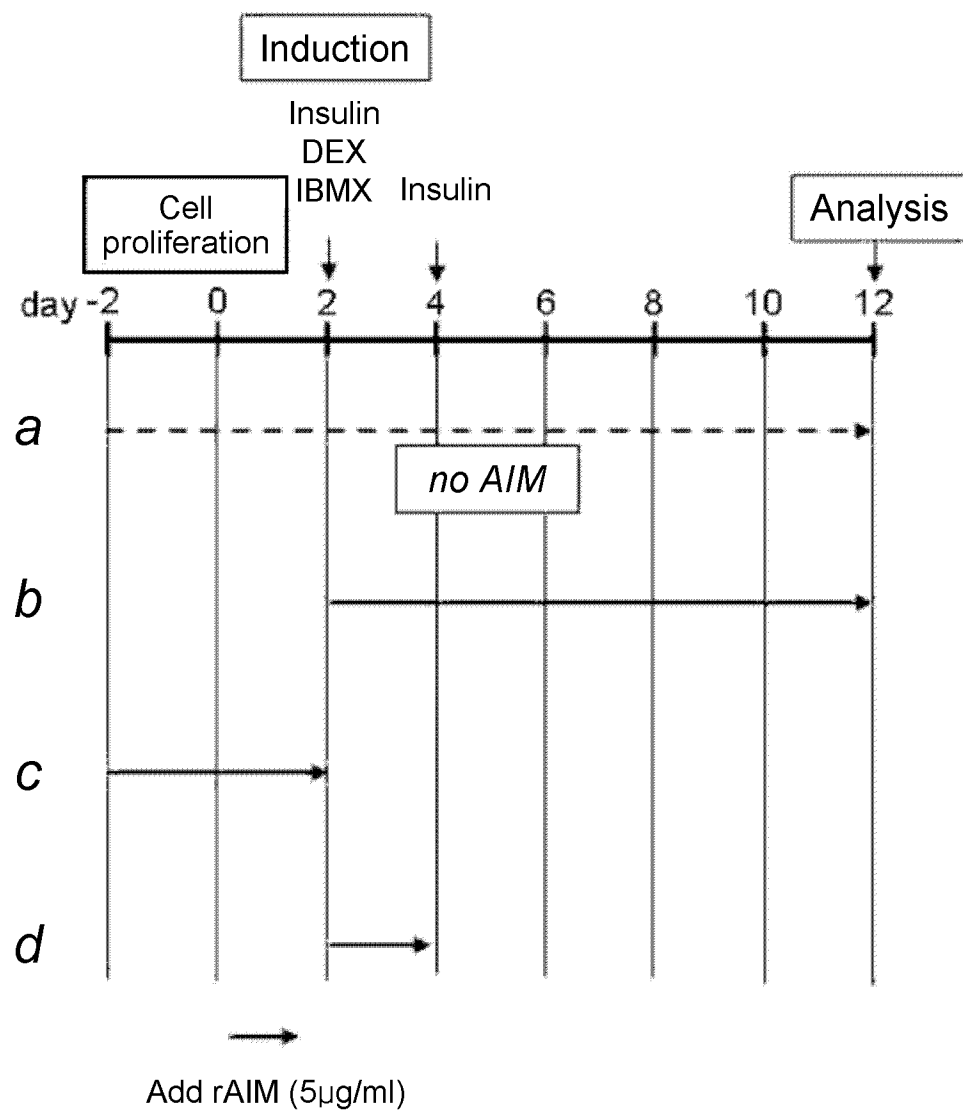
[ 3 ]

|     |                                                                                                                                                                                                                        |     |                             |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----------------------------|
| 1   | <div>SRCR1</div> <div> MALLFSLILA--ICTIRPGELASPSGVRLVGGGLHRCEGRVEVEQKGQWGTVCDDGWDIKD<br/> MA LF L LA I F SP V LVGG HREGRVEVE GQWGTVCDDGWD D<br/> MAPLFNLMLAILSIIEVGSCESEPTKVLQVLGGAHRCGRVEVEHNGQWGTVCDDGWDRRD </div>   | 60  | human<br>consensus<br>mouse |
| 61  | <div>SRCR2</div> <div> VAVLCRELGCGAASGTPSGILYEPPEAEQKVLIQSVSCTGTEDTLAQCEQ-EVYDCSH<br/> VAV CREL CGA TP G Y PPA EQ VLIQ V C GTEDTLAQCE V DCSH<br/> VAVVCRELNCGAVIQTPRGASYQPPAS-EQRVLIQGVDCNGTETDLAQCELNVDVDFDCSH </div> | 120 | human<br>consensus<br>mouse |
| 121 | <div>SRCR2</div> <div> DEDAGASCENPESSEFSPVPEGVRLADPGHGCKGRVEVKHQWYTVQCQTGWSLRAAKVVC<br/> EDAGA CENP S PE MRL DPGGHC GRVEV HQ QW TVC GW L KVVVC<br/> EEDAGAQCENPDSDLLFIPEDEVRLVDGPGHCGRVEVLHQSWSTVCKAGWNLQVSKVVC </div> | 180 | human<br>consensus<br>mouse |
| 181 | <div>SRCR3</div> <div> RQLGCGRAVLTQKRCNKHAYGRKPIWLSQMSCSGREATLQDCPSGPWGKNTCNHDEDTWV<br/> RQLGCGRA LT CNK G PIW MSCSG EA L C N C H EDTW<br/> RQLGCGRALLTYGSCNKSTQKGKPIWMGKMSCSGQEANLRSCLLSRLENN-CTHGEDTWM </div>        | 240 | human<br>consensus<br>mouse |
| 241 | <div>SRCR3</div> <div> ECHDPFDRLRVGGDNLCSGRLEVLHKGVWGSVCDNNGEKEQVVKQLGCGKSLSPSFR<br/> ECRDPF L LVGGD CSGRLEVLHKGSWGSVCDNNGEKEQVVKQLGCGKSL PS<br/> ECHDPFELKLVGGDTPCSGRLEVLHKGSWGSVCDNNGEKEQVVKQLGCGKSLHPSPK </div>     | 300 | human<br>consensus<br>mouse |
| 301 | <div> DRKCYGPGVGRIWLDNVRCSGEEQSLQCHQRFNGFHDCTHQEDVAVICSG<br/> RK YGPG GRIWLD V CSG EQSLE C HR WG HDCTH EDV VIC<br/> TRKIYGPAGRIWLDVNCSCGKEQSLFCRHLRWGYHDCTHKEDVEICTDFDV </div>                                         | 351 | human<br>consensus<br>mouse |

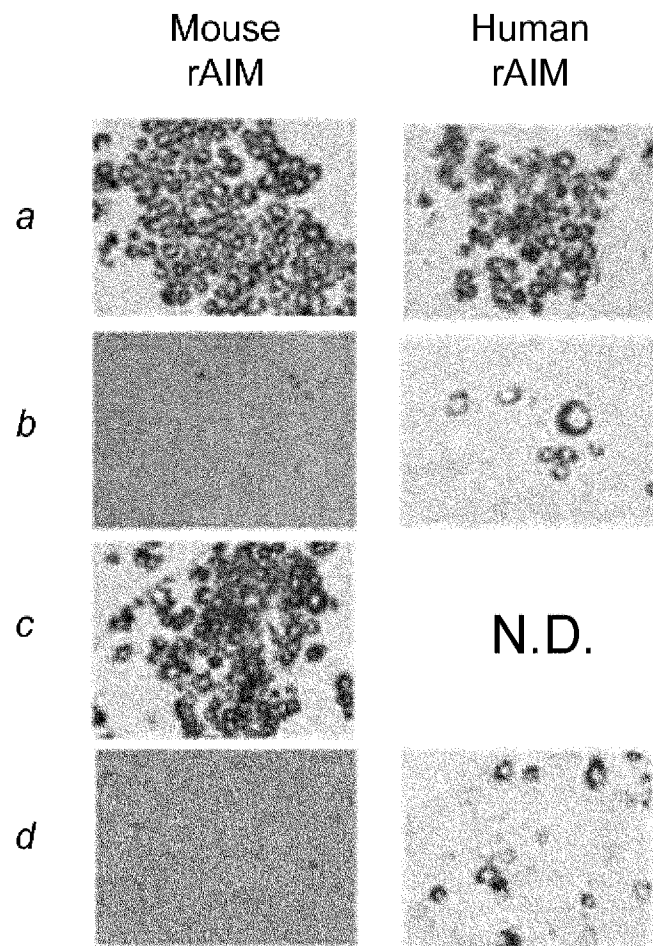
[図4]



[図5A]

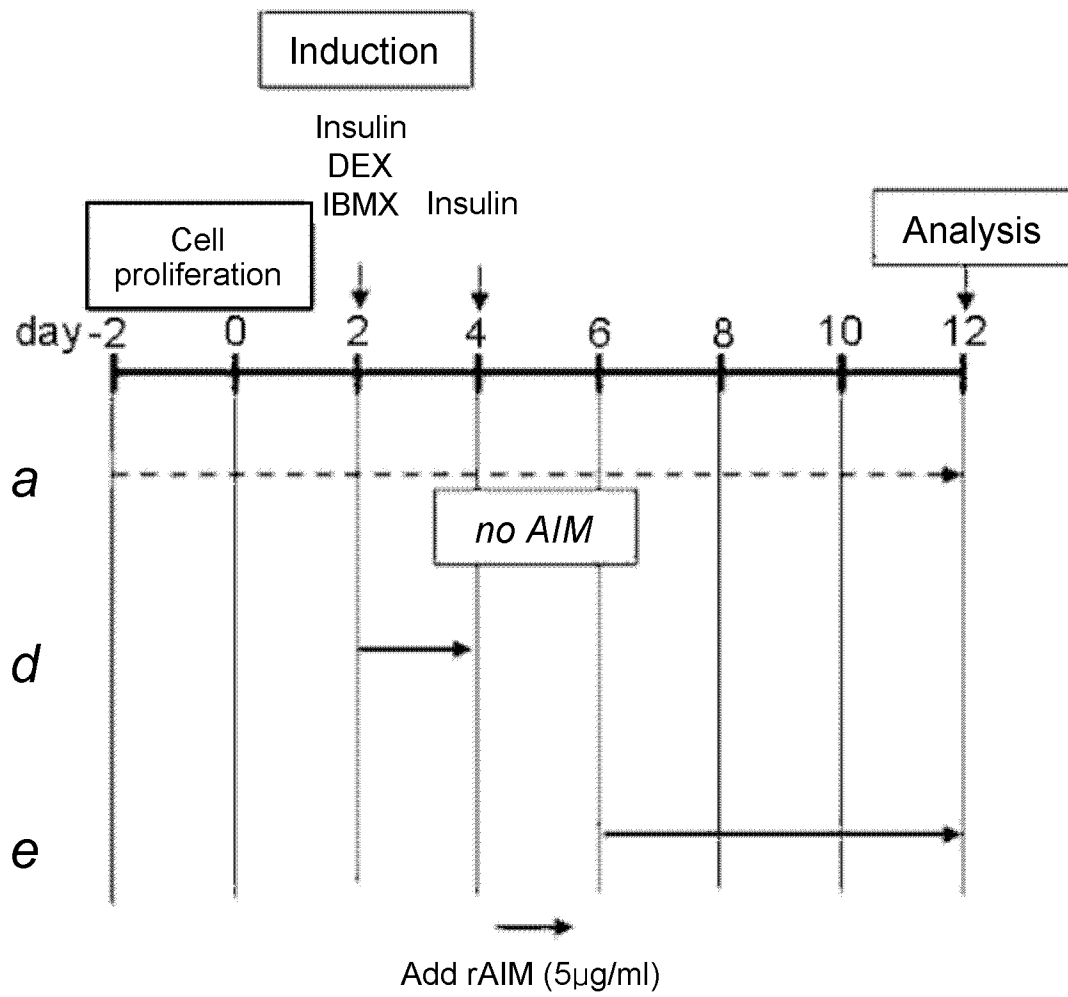


[図5B]

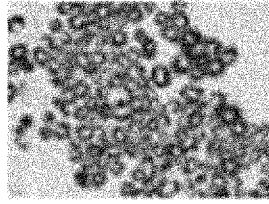
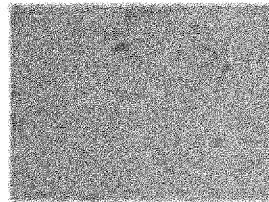
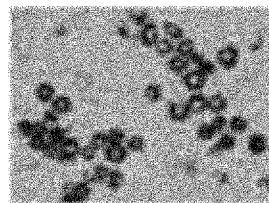


oil-red-o staining

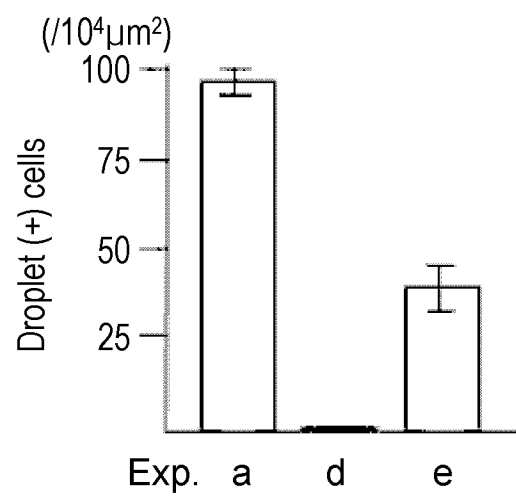
[図6A]



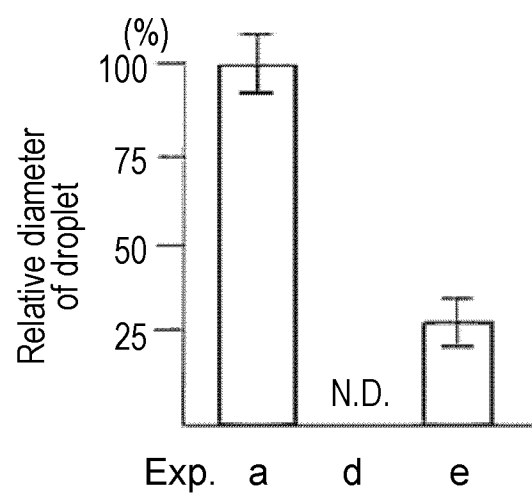
[図6B]

oil-red-o  
staining*a**d**e*

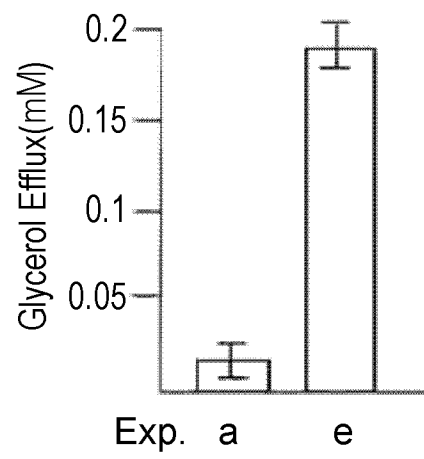
[図7A]



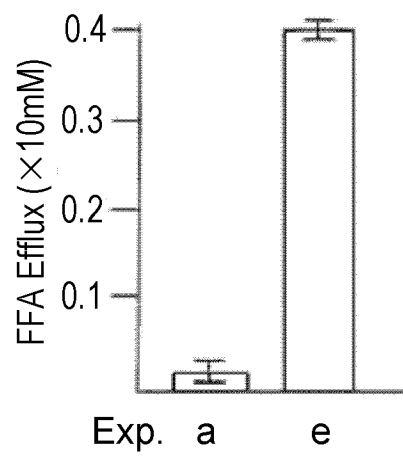
[図7B]



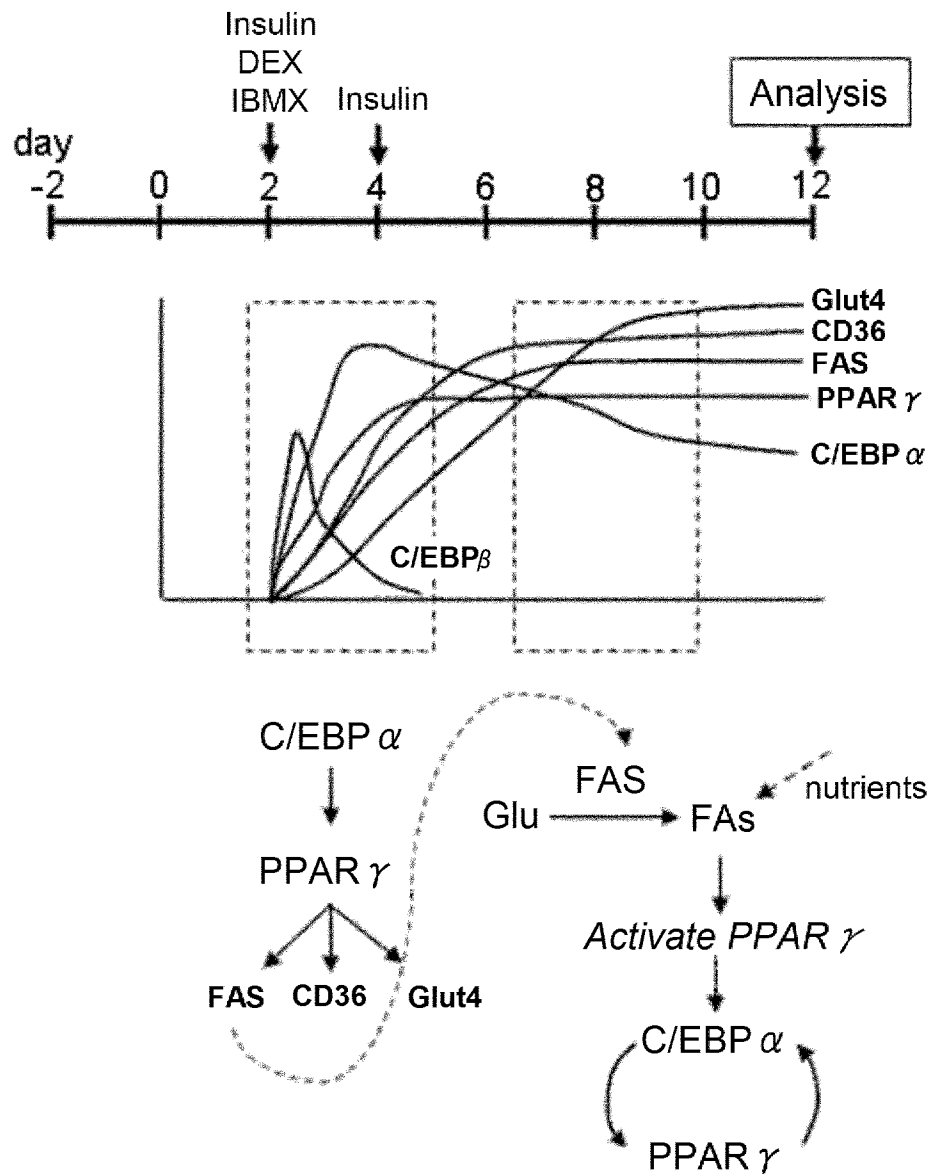
[図8A]



[図8B]

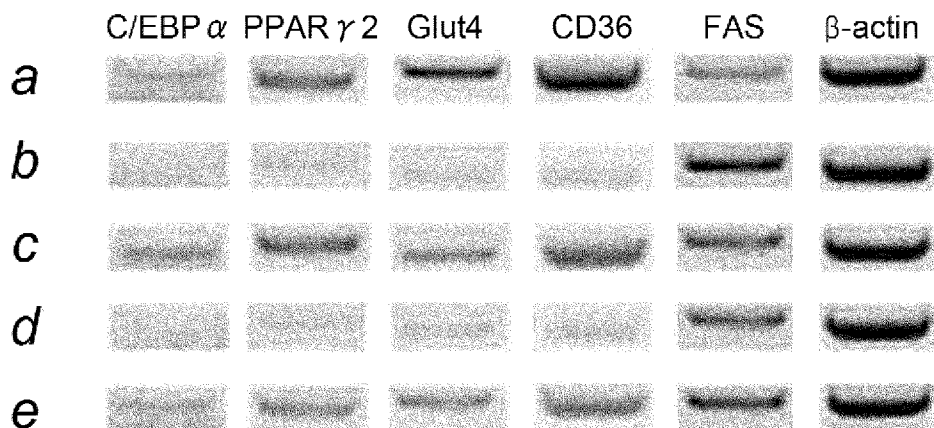


[図9]

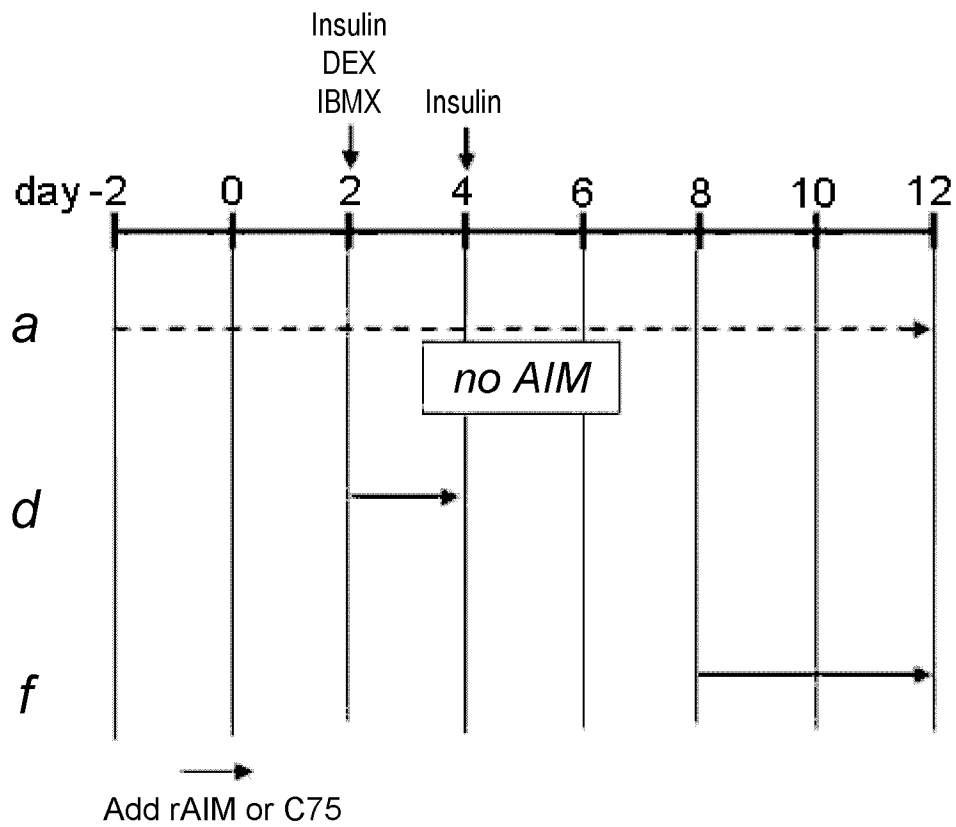


[図10]

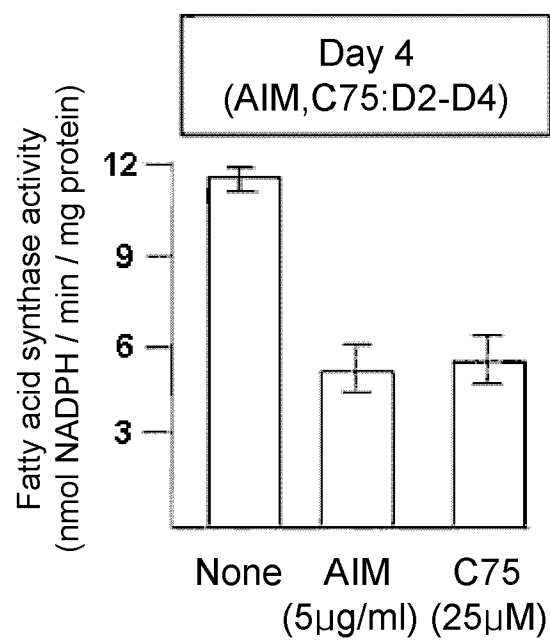
## Fatty Gene Expression



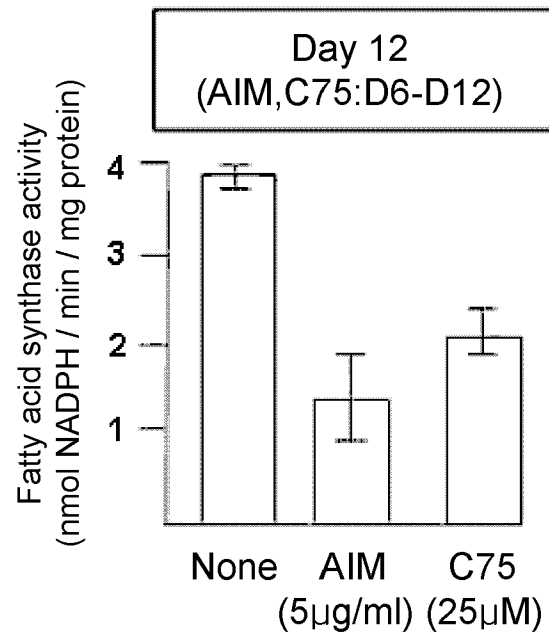
[図11A]

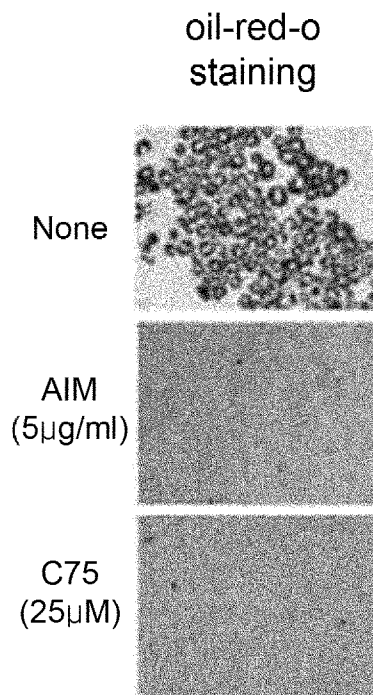
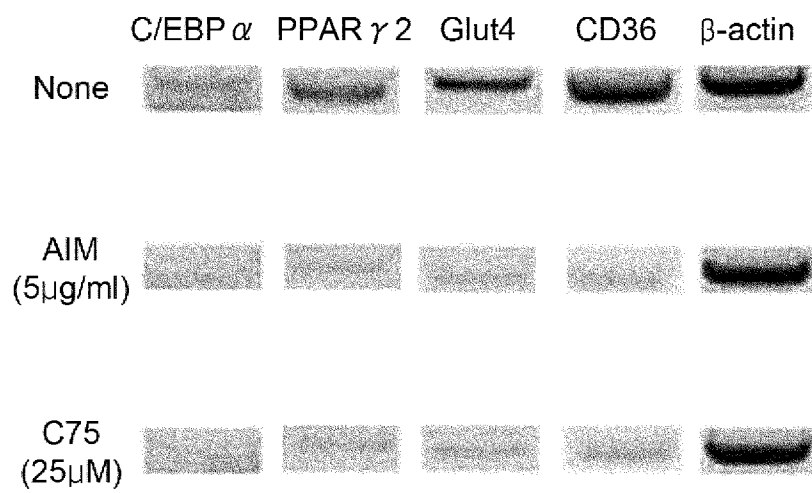


[図11B]

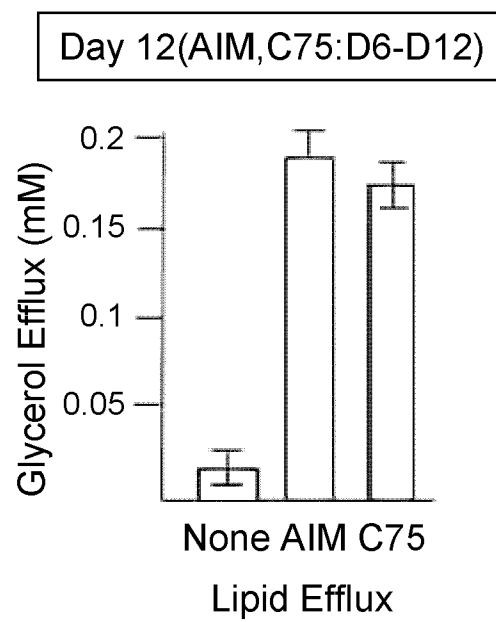


[図11C]

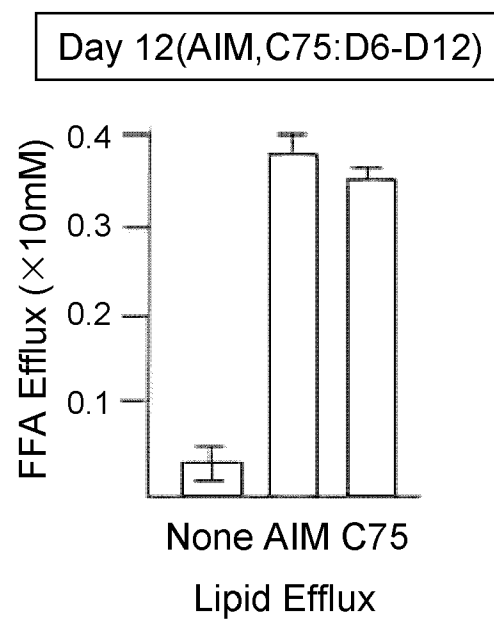


[12A][12B]

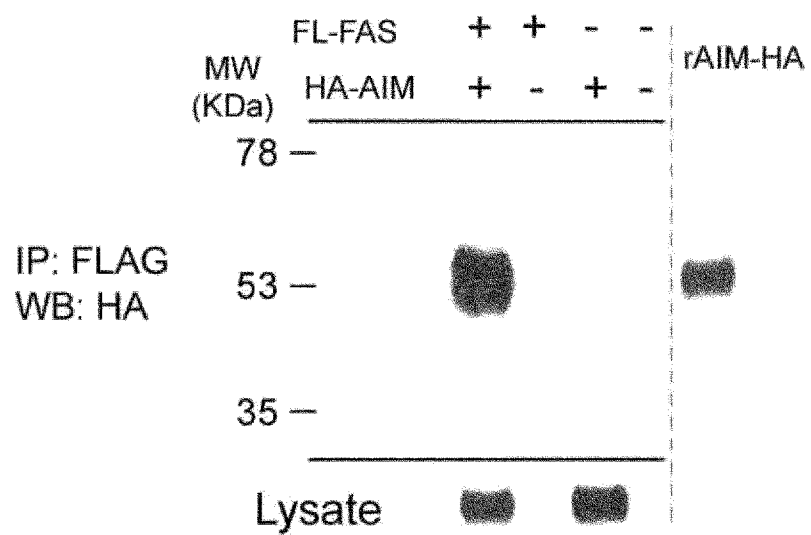
[図13A]



[図13B]

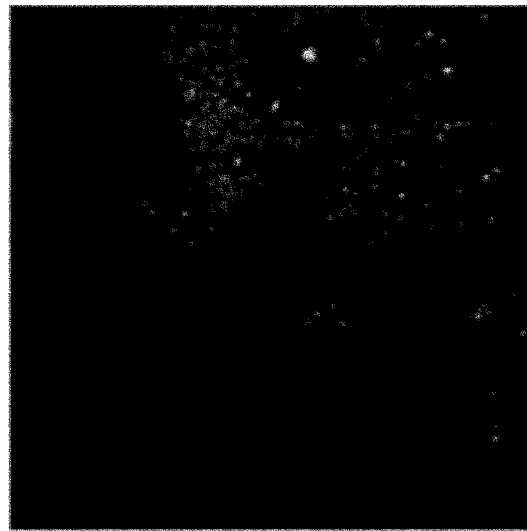


[図14]



[図15A]

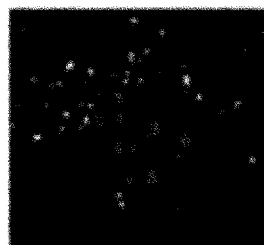
confocal  
microscopic



x200

[図15B]

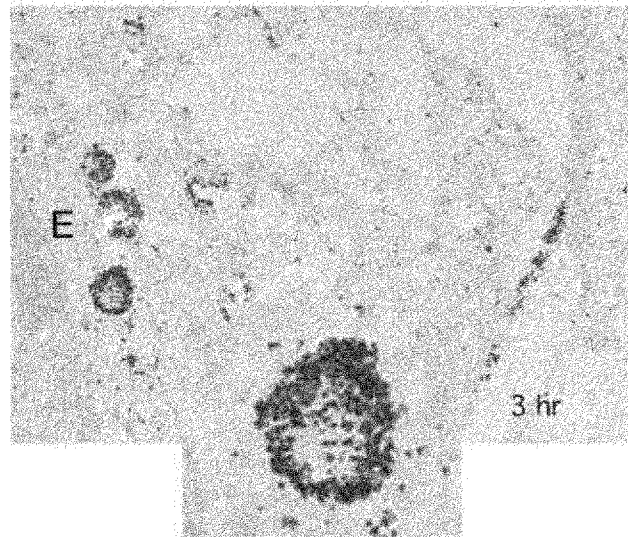
confocal  
microscopic



X400

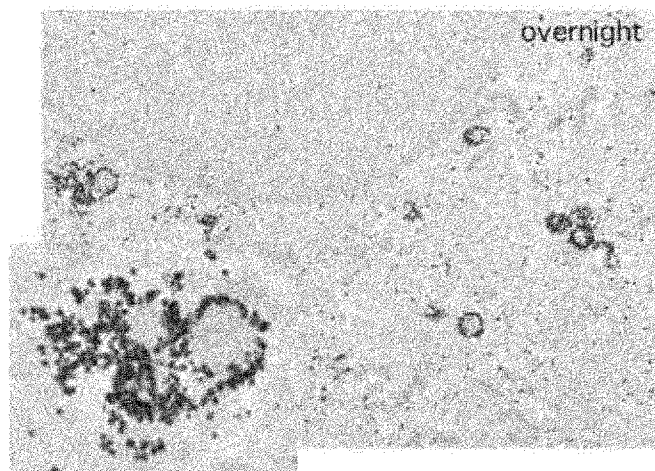
[図16A]

Electron  
microscopic

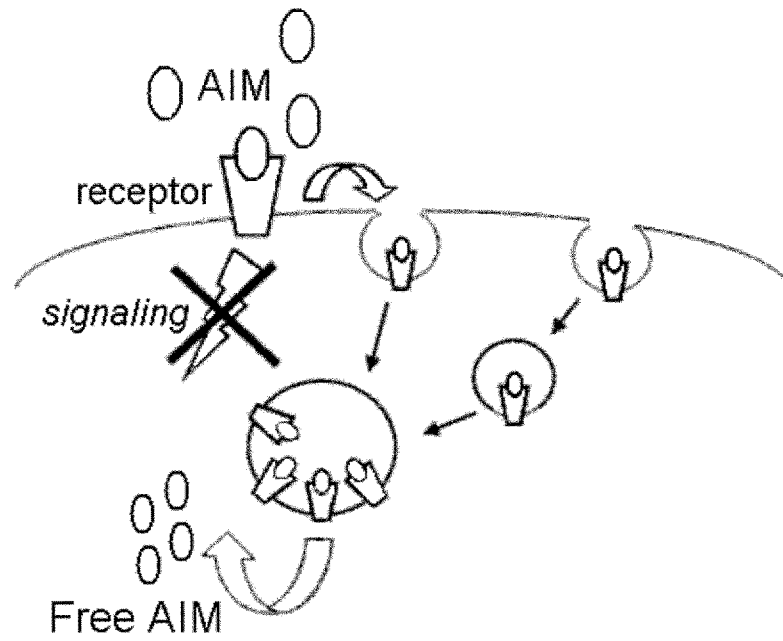


[図16B]

Electron  
microscopic

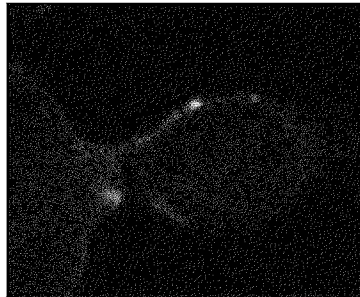


[図17]



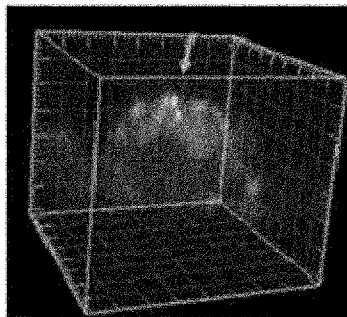
[図18A]

2-dimensional analysis



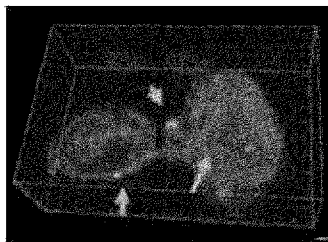
[図18B]

3-dimensional analysis



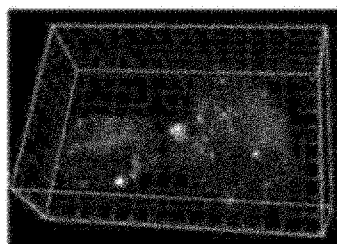
[図18C]

3-dimensional analysis

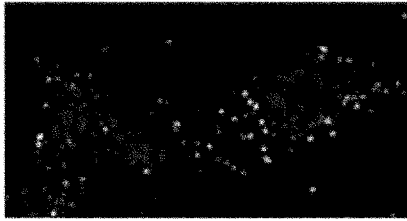
AIM (Green)  
+  
CD36(Red)

[図18D]

3-dimensional analysis

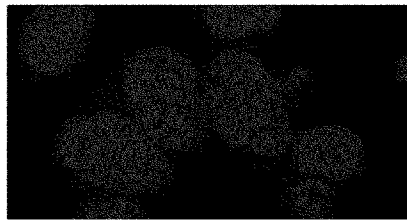
AIM (Green)  
only

[図19A]

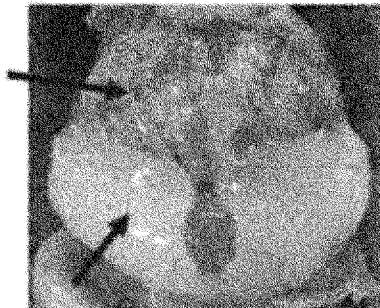


no CD36 antibody

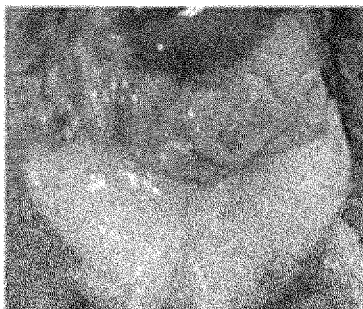
[図19B]

with CD36  
neutralizing antibody

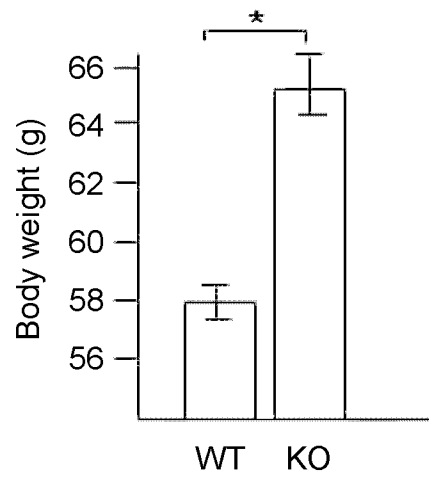
[図20A]

AIM<sup>-/-</sup>*Adiponectine<sup>-/-</sup> background*

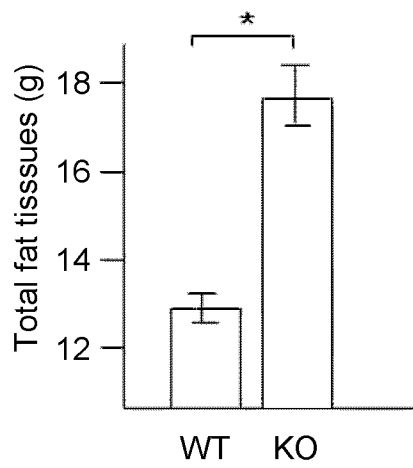
[図20B]

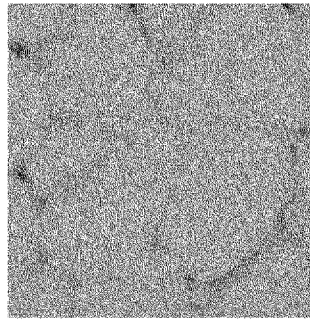
AIM<sup>+/-</sup>*Adiponectine<sup>-/-</sup> background*

[図21A]

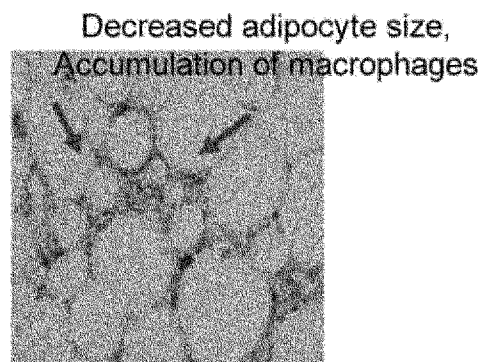


[図21B]



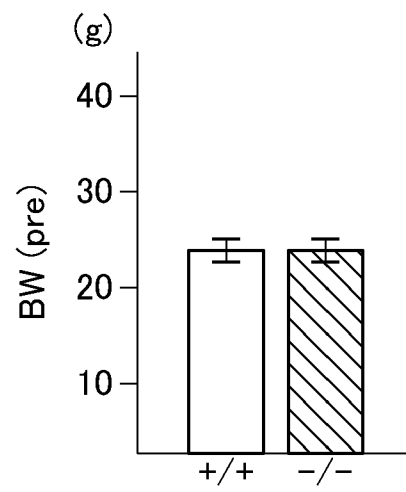
[ 22A]

BSA injected  
(control)

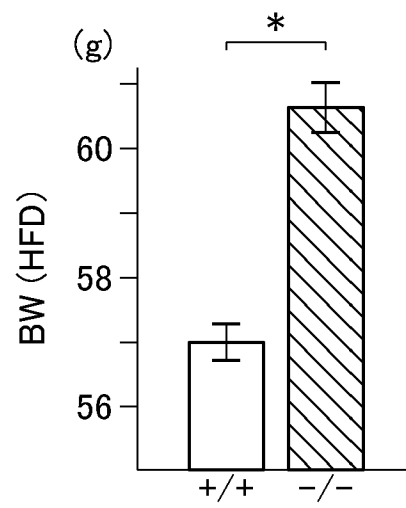
[ 22B]

rAIM injected

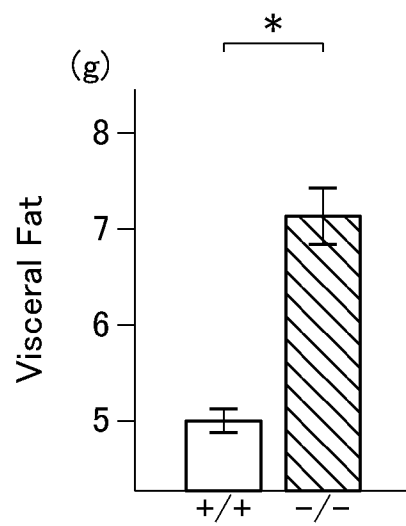
[図23A]



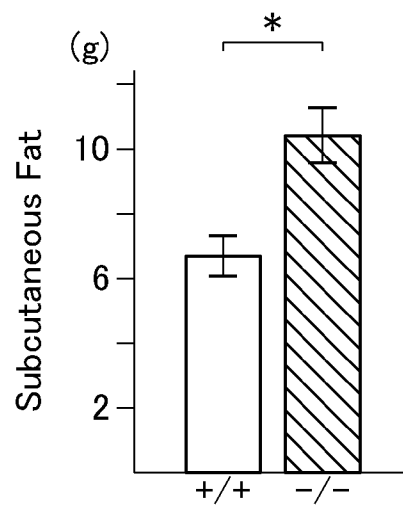
[図23B]



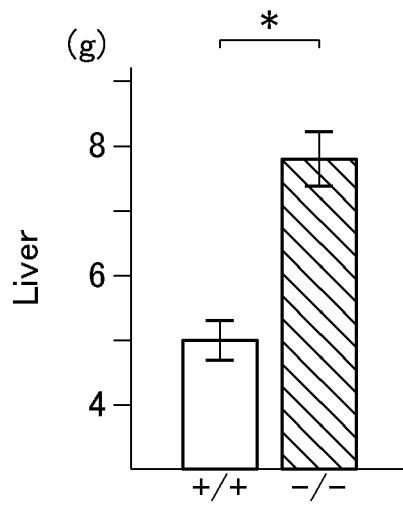
[図23C]



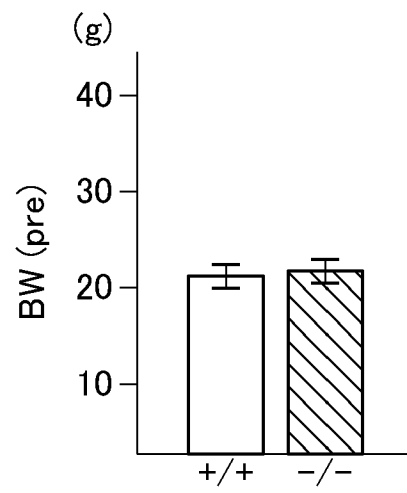
[図23D]



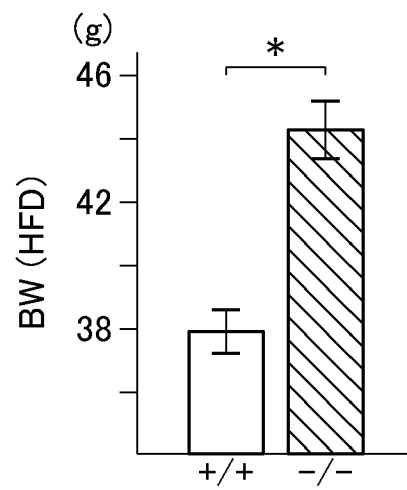
[図23E]



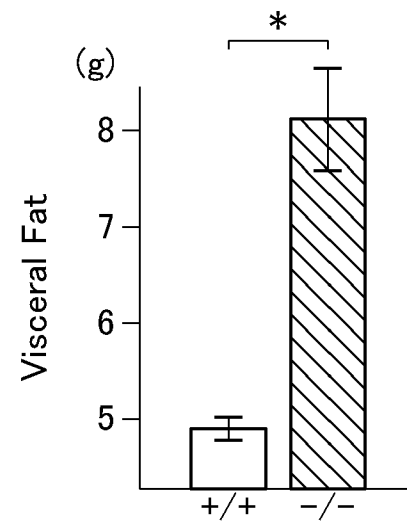
[図24A]



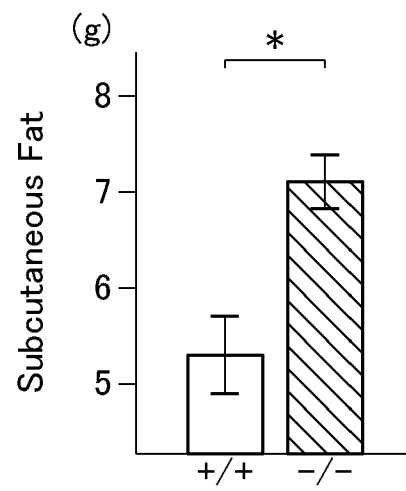
[図24B]



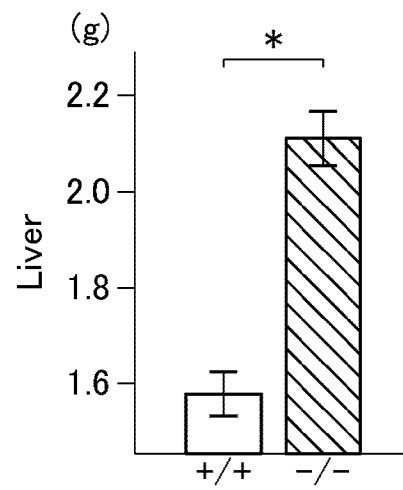
[図24C]



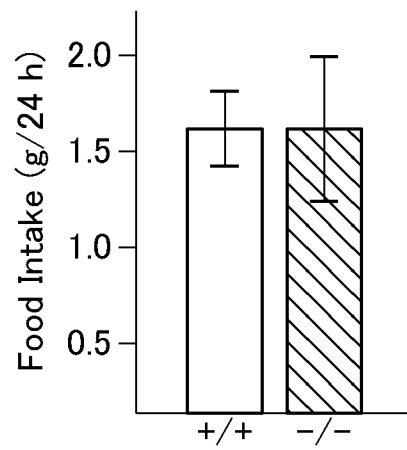
[図24D]



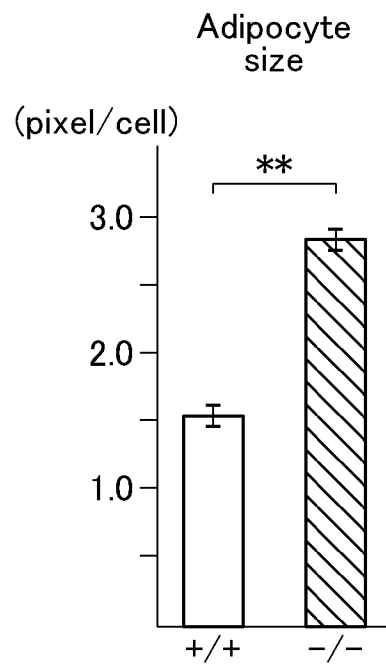
[図24E]



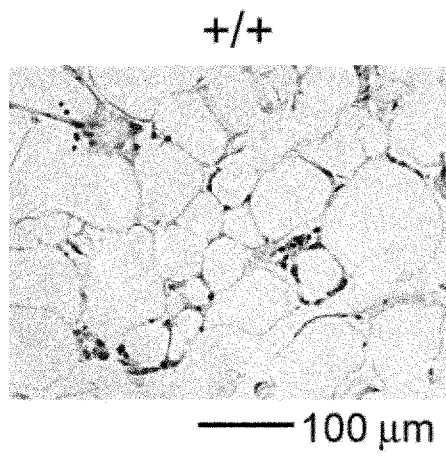
[図25]



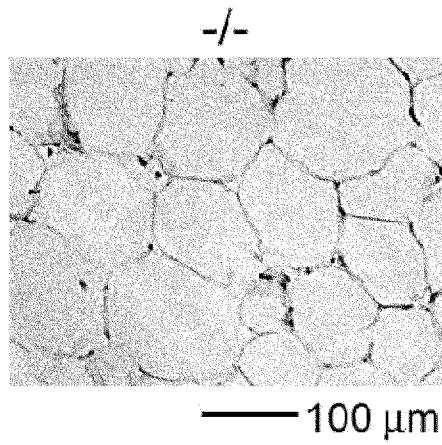
[図26]



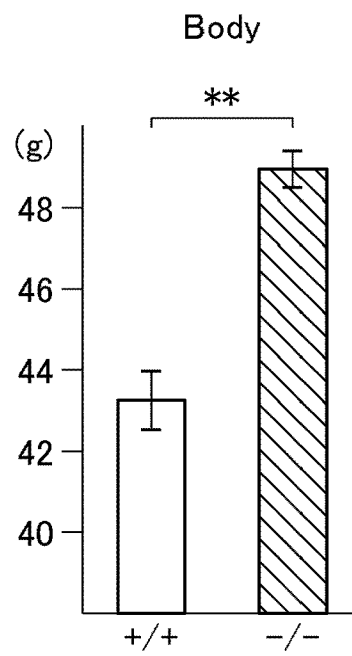
[図27A]



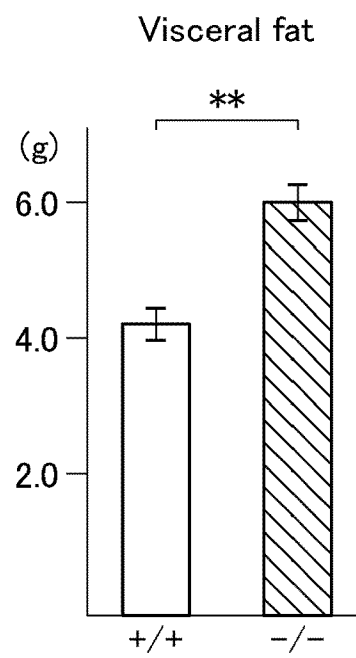
[図27B]



[図28A]

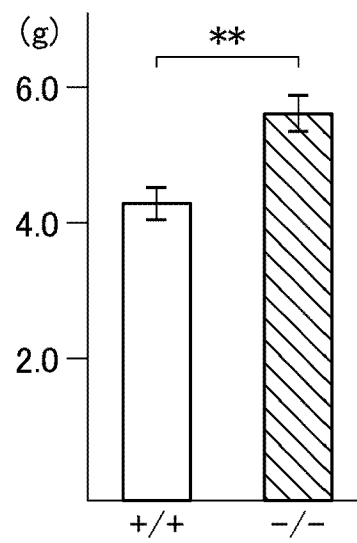


[図28B]



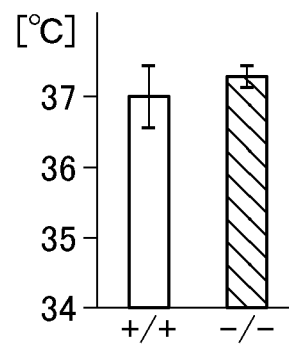
[図28C]

## Subcutaneous Fat

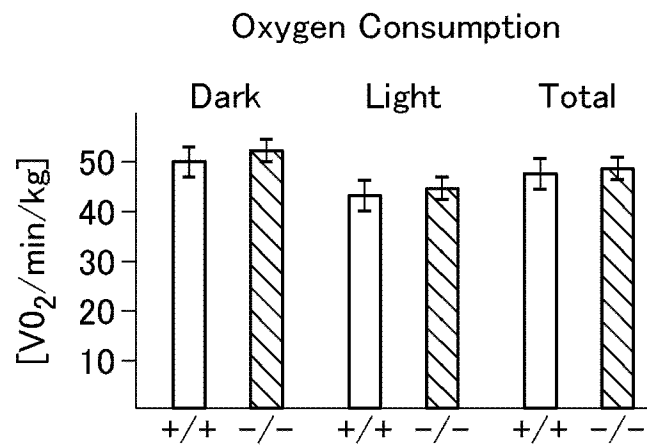


[図29A]

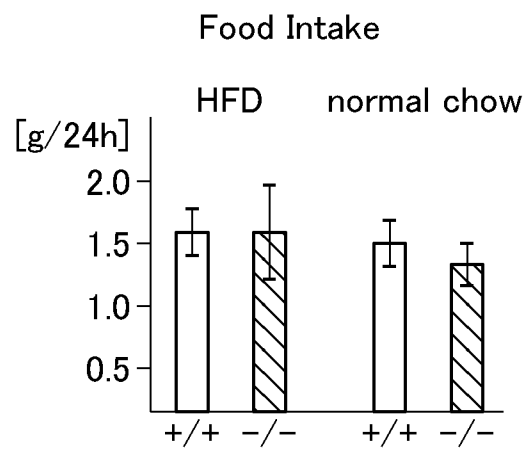
## Body temperature



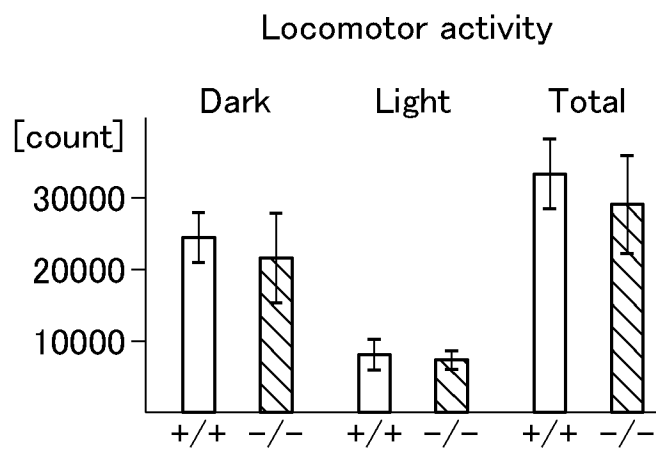
[図29B]



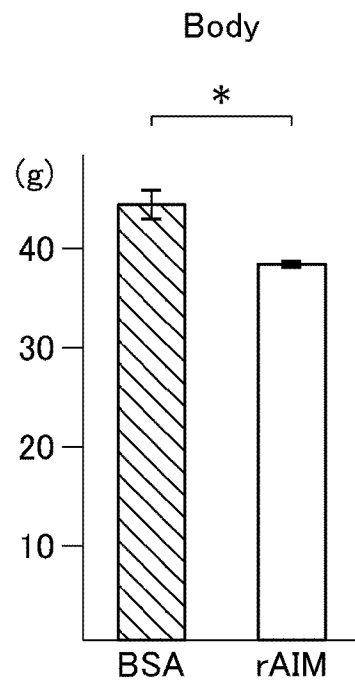
[図29C]



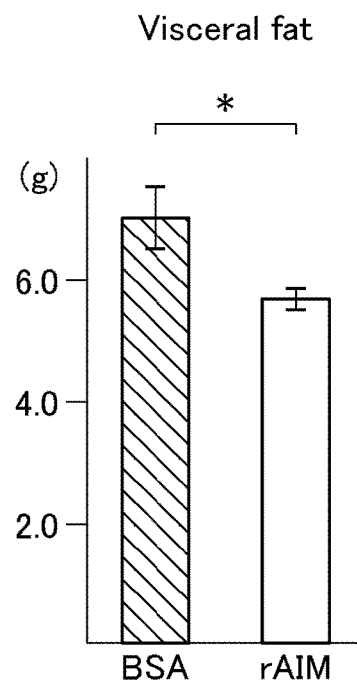
[図29D]



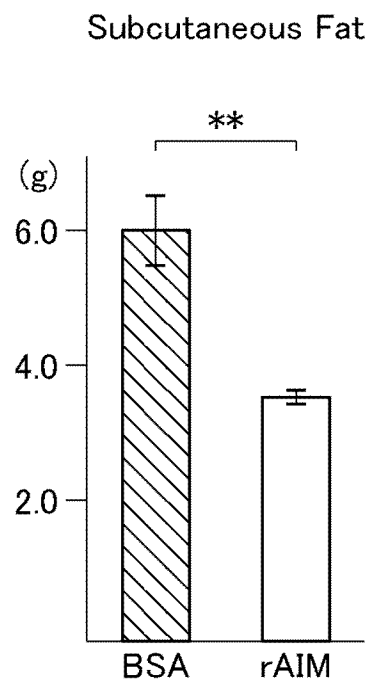
[図30A]



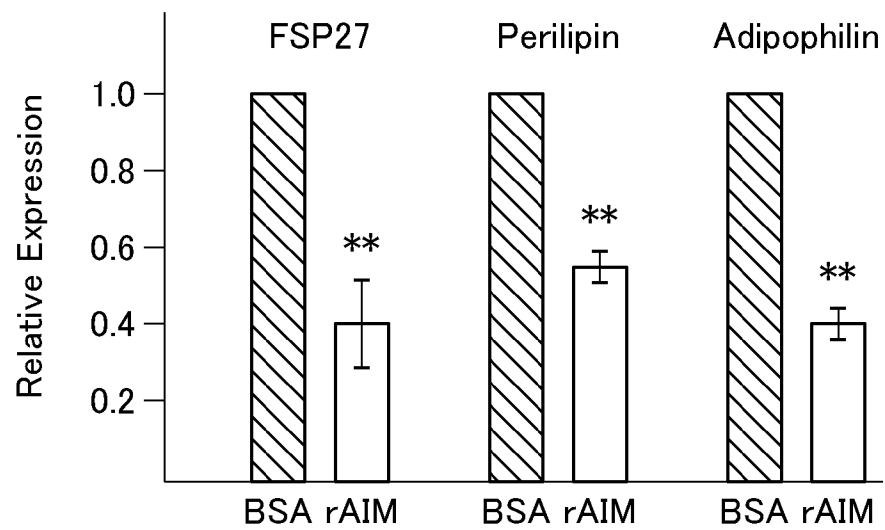
[図30B]



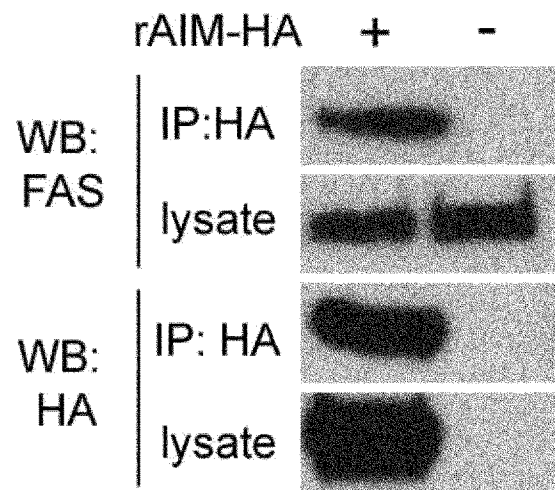
[図30C]



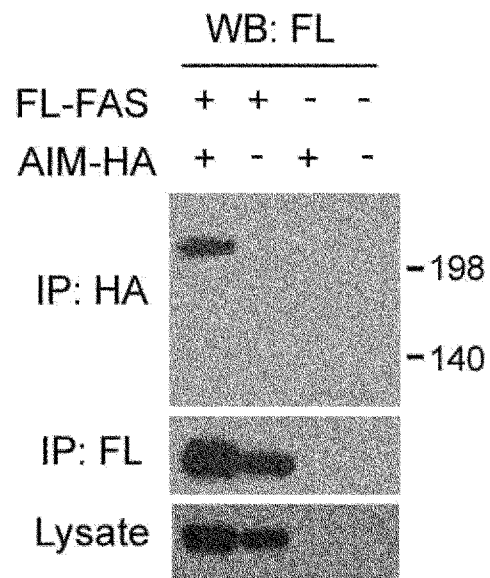
[図31]



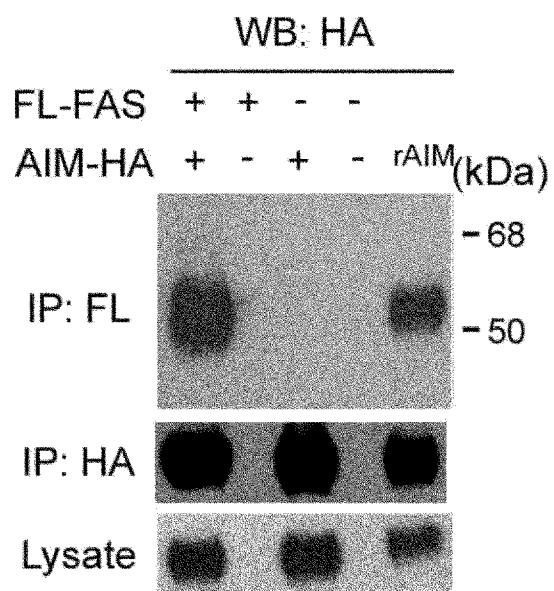
[図32]



[図33A]



[図33B]



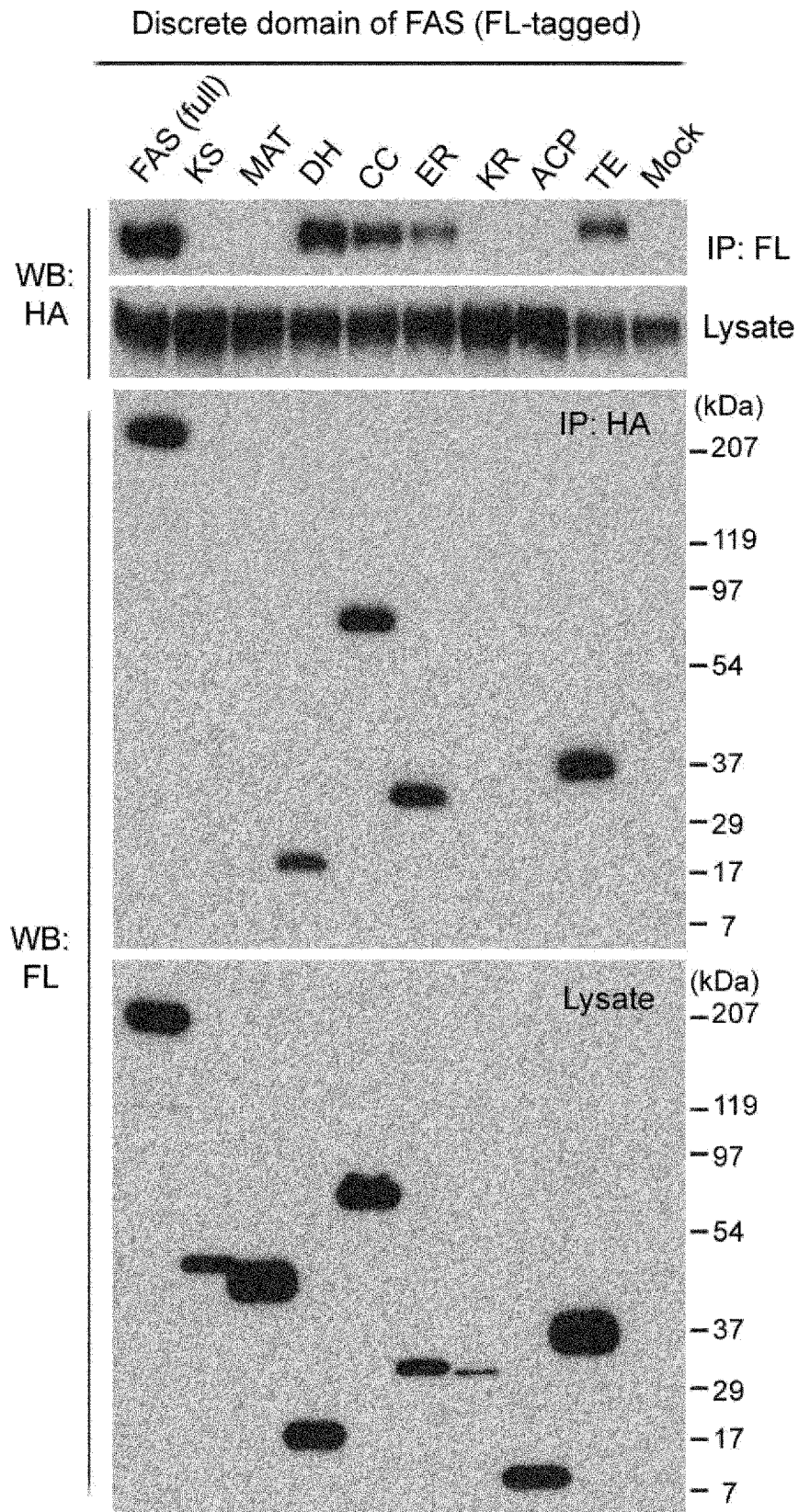
The diagram illustrates the structure and function of the fatty acid synthase complex. It is divided into two main sections: the **Acyl chain assembly** and the **Chain elongation**.

**Acyl chain assembly:** This section shows the initial steps of fatty acid synthesis. It begins with the entry of **Maronyl-CoA** and **Acetyl-CoA** into the complex. The **KS** (Ketoacyl synthase) enzyme is shown with an **NH<sub>1</sub>** group. The **SH** and **HS** groups are also indicated. The **TE** (Thioesterase) enzyme is shown with a **COOH** group. The **ACP** (Acyl carrier protein) is shown with a **SH** group. The **KR** (Ketoacyl reductase) and **ER** (Enoyl reductase) enzymes are also shown. The **CC** (Chain elongation) enzyme is shown with a **SH** group. The **TE** enzyme is shown with a **COOH** group. The **Palmitate** product is released from the **TE** enzyme.

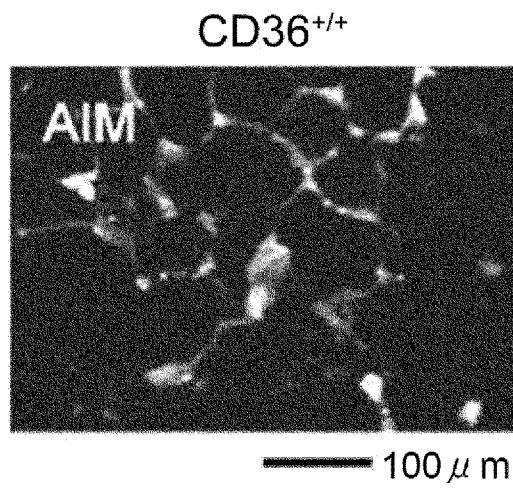
**Chain elongation:** This section shows the iterative process of adding two-carbon units to the growing acyl chain. It involves the **KS**, **ER**, **KR**, **ACP**, and **TE** enzymes. The **KS** enzyme is shown with an **NH<sub>2</sub>** group. The **SH** and **HS** groups are also indicated. The **TE** enzyme is shown with a **COOH** group. The **Palmitate** product is released from the **TE** enzyme.

**Stabilization of the dimer:** The diagram shows two monomers of the fatty acid synthase complex. The **CC** (Chain elongation) enzyme is shown with a **SH** group. The **TE** enzyme is shown with a **COOH** group. The **Palmitate** product is released from the **TE** enzyme.

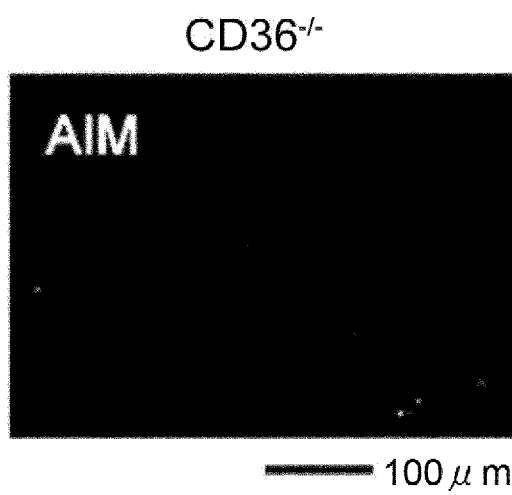
[図34B]



[図35A]

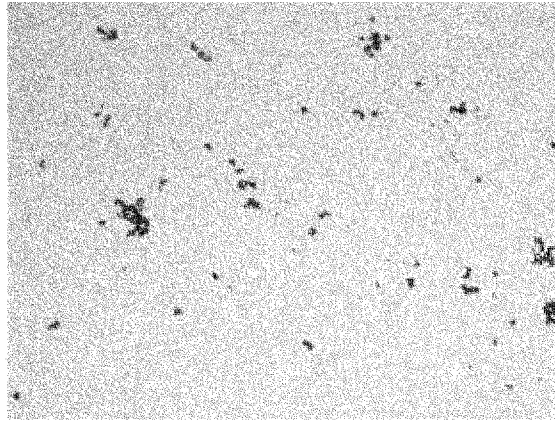


[図35B]

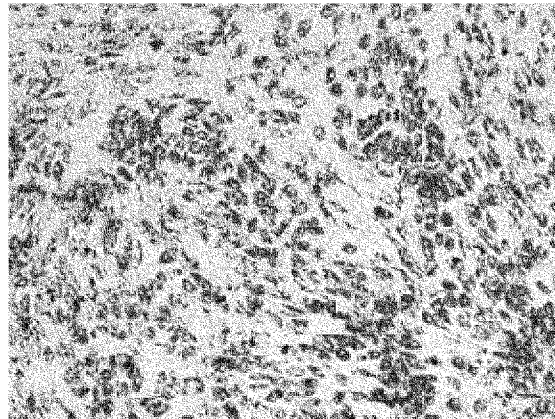
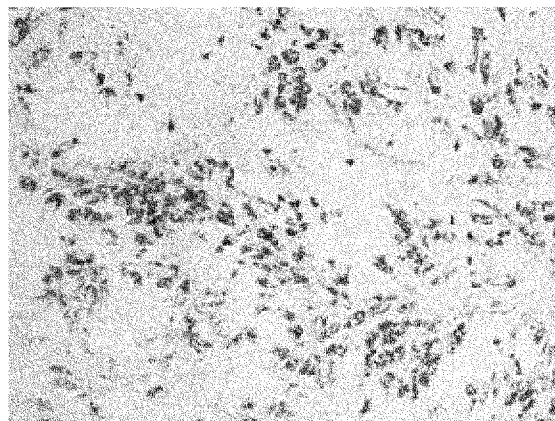


[ 36A]

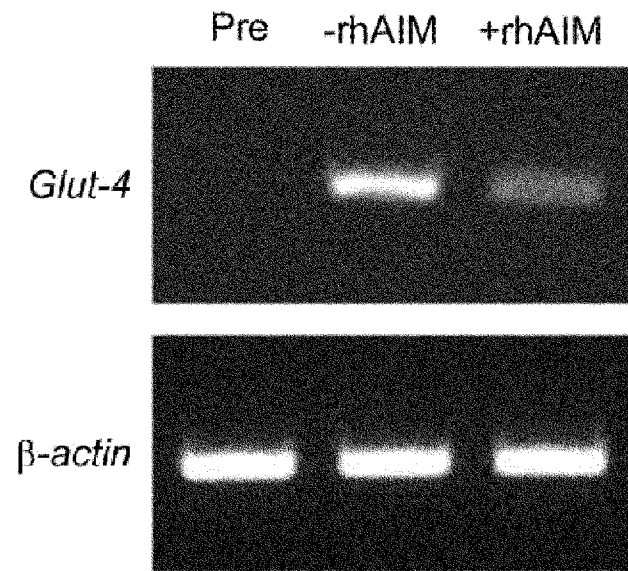
Pre-stimulation

[ 36B]

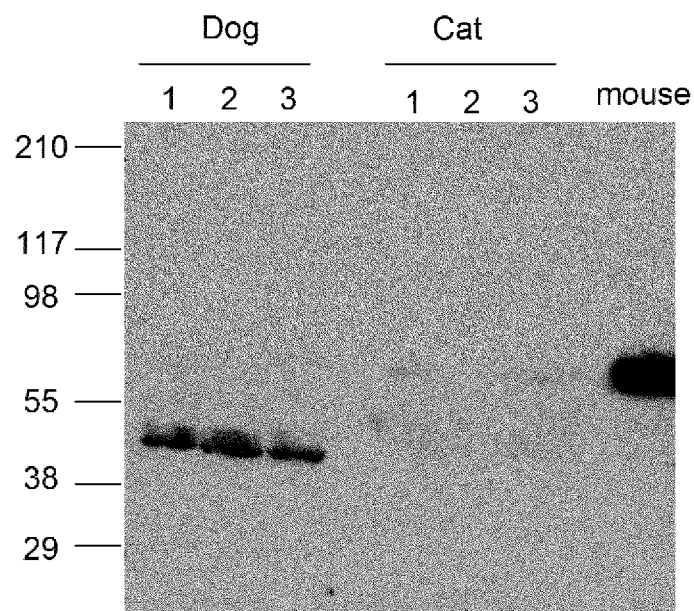
rhAIM (-)

[ 36C]rhAIM (10 $\mu$ g/ml)

[図37]



[図38]



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/058998

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K45/00(2006.01)i, A61K38/00(2006.01)i, A61P3/04(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i, A23L1/30(2006.01)n, A23L1/305(2006.01)n, C07K14/47(2006.01)n, C12N15/09(2006.01)n

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K45/00, A61K38/00, A61P3/04, A61P43/00, A23L1/30, A23L1/305, C07K14/47, C12N15/09

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

|                           |           |                            |           |
|---------------------------|-----------|----------------------------|-----------|
| Jitsuyo Shinan Koho       | 1922-1996 | Jitsuyo Shinan Toroku Koho | 1996-2010 |
| Kokai Jitsuyo Shinan Koho | 1971-2010 | Toroku Jitsuyo Shinan Koho | 1994-2010 |

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                          | Relevant to claim No. |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| X<br>Y    | WO 98/39443 A1 (BRISTOL-MYERS SQUIBB CO.),<br>11 September 1998 (11.09.1998),<br>page 18, lines 16 to 21; fig. 1; pages 7 to 12,<br>'A. Definitions'<br>& JP 2001-517078 A & US 6046314 A<br>& EP 970208 A                                                                  | 1-36, 40<br>41, 42    |
| X<br>Y    | GEBE, J.A. et al, Molecular cloning, mapping to<br>human chromosome 1 q21-q23, and cell binding<br>characteristics of Spalpha, a new member of the<br>scavenger receptor cysteine-rich (SRCR) family<br>of proteins, J Biol Chem, 1997, Vol.272, No.10,<br>pp.6151-8, Fig.1 | 35<br>41, 42          |

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
28 July, 2010 (28.07.10)

Date of mailing of the international search report  
10 August, 2010 (10.08.10)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/058998

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                            | Relevant to claim No. |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| X, P      | Toru MIYAZAKI, "Macrophage ga Hatsugen suru AIM no Himan ni Okeru Atarashii Yakuwari", Dai 39 Kai Japanese Society of Nephrology Seibu Gakujutsu Taikai Shoroku, 25 August 2009 (25.08.2009), vol.51, no.6, page 769, WS3-2                                   | 1-36,40               |
| A         | VERA, J. et al, The CD5 ectodomain interacts with conserved fungal cell wall components and protects from zymosan-induced septic shock-like syndrome, Proc Natl Acad Sci U S A, 2009.01.13, Vol.106, No.5, pp.1506-11                                         | 1-36,40               |
| A         | RENNER, M. et al, DMBT1 confers mucosal protection in vivo and a deletion variant is associated with Crohn's disease, Gastroenterology, 2007, Vol.133, No.5, pp.1499-509                                                                                      | 1-36,40               |
| A         | ARAI, S. et al, A role for the apoptosis inhibitory factor AIM/Spalpha/Ap16 in atherosclerosis development, Cell Metab, 2005, Vol.1, No.3, pp.201-13                                                                                                          | 1-36,40               |
| A         | YUSA, S. et al, AIM, a murine apoptosis inhibitory factor, induces strong and sustained growth inhibition of B lymphocytes in combination with TGF-beta1, Eur J Immunol, 1999, Vol.29, No.4, pp.1086-93                                                       | 1-36,40               |
| A         | MIYAZAKI, T. et al, Increased susceptibility of thymocytes to apoptosis in mice lacking AIM, a novel murine macrophage-derived soluble factor belonging to the scavenger receptor cysteine-rich domain superfamily, J Exp Med, 1999, Vol.189, No.2, pp.413-22 | 1-36,40               |
| A         | Toru MIYAZAKI, "AIM (apoptosis inhibitor expressed by macrophages) ni yoru Apoptosis no Yokusei", Saishin Igaku, 2000, vol.55, no.5, pages 1064 to 1071                                                                                                       | 1-36,40               |

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/058998

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

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

1. ☒ Claims Nos.: 37-39  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Claims 37 to 39 pertain to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter on which the International Searching Authority is not required to carry out a search under the provisions of PCT Rule 39.1 (iv) .
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

### Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K45/00(2006.01)i, A61K38/00(2006.01)i, A61P3/04(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i,  
A23L1/30(2006.01)n, A23L1/305(2006.01)n, C07K14/47(2006.01)n, C12N15/09(2006.01)n

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K45/00, A61K38/00, A61P3/04, A61P43/00, A23L1/30, A23L1/305, C07K14/47, C12N15/09

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

|             |                     |
|-------------|---------------------|
| 日本国実用新案公報   | 1 9 2 2 - 1 9 9 6 年 |
| 日本国公開実用新案公報 | 1 9 7 1 - 2 0 1 0 年 |
| 日本国実用新案登録公報 | 1 9 9 6 - 2 0 1 0 年 |
| 日本国登録実用新案公報 | 1 9 9 4 - 2 0 1 0 年 |

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)

## C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の<br>カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示                                                                                                                                                                                                                                             | 関連する<br>請求項の番号     |
|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| X<br>Y          | WO 98/39443 A1 (BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY) 1998.09.11,<br>第 1 8 頁 1 6 ~ 2 1 行目、F i g . 1 及び第 7 ~ 1 2 頁の「A. Definitions」<br>の項<br>& JP 2001-517078 A & US 6046314 A & EP 970208 A                                                                                           | 1-36, 40<br>41, 42 |
| X<br>Y          | GEBE, J. A. et al, Molecular cloning, mapping to human chromosome 1<br>q21-q23, and cell binding characteristics of Spalpha, a new member of<br>the scavenger receptor cysteine-rich (SRCR) family of proteins,<br>J Biol Chem, 1997, Vol. 272, No. 10, pp. 6151-8, F i g . 1 | 35<br>41, 42       |

☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の 1 以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

2 8 . 0 7 . 2 0 1 0

国際調査報告の発送日

1 0 . 0 8 . 2 0 1 0

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号

特許庁審査官 (権限のある職員)

宮坂 隆

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 5 2

4 C

4 4 9 7

| C (続き) . 関連すると認められる文献 |                                                                                                                                                                                                                                                                        |                |
|-----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| 引用文献の<br>カテゴリー*       | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示                                                                                                                                                                                                                                      | 関連する<br>請求項の番号 |
| X P                   | 宮崎徹, マクロファージが発現するA I Mの肥満における新しい役割,<br>第39回日本腎臓学会西部学術大会抄録, 2009.08.25, Vol.51, No.6,<br>p.769, WS3-2                                                                                                                                                                   | 1-36, 40       |
| A                     | VERA, J. et al, The CD5 ectodomain interacts with conserved fungal cell<br>wall components and protects from zymosan-induced septic shock-like<br>syndrome,<br>Proc Natl Acad Sci U S A, 2009.01.13, Vol.106, No.5, pp.1506-11                                         | 1-36, 40       |
| A                     | RENNER, M. et al, DMBT1 confers mucosal protection in vivo and a<br>deletion variant is associated with Crohn's disease,<br>Gastroenterology, 2007, Vol.133, No.5, pp.1499-509                                                                                         | 1-36, 40       |
| A                     | ARAI, S. et al, A role for the apoptosis inhibitory factor<br>AIM/Spalpha/Ap16 in atherosclerosis development,<br>Cell Metab, 2005, Vol.1, No.3, pp.201-13                                                                                                             | 1-36, 40       |
| A                     | YUSA, S. et al, AIM, a murine apoptosis inhibitory factor, induces<br>strong and sustained growth inhibition of B lymphocytes in combination<br>with TGF-beta1,<br>Eur J Immunol, 1999, Vol.29, No.4, pp.1086-93                                                       | 1-36, 40       |
| A                     | MIYAZAKI, T. et al, Increased susceptibility of thymocytes to apoptosis<br>in mice lacking AIM, a novel murine macrophage-derived soluble factor<br>belonging to the scavenger receptor cysteine-rich domain superfamily,<br>J Exp Med, 1999, Vol.189, No.2, pp.413-22 | 1-36, 40       |
| A                     | 宮崎徹, A I M (apoptosis inhibitor expressed by macrophages) によ<br>るアポトーシスの抑制,<br>最新医学, 2000, Vol.55, No.5, pp.1064-71                                                                                                                                                    | 1-36, 40       |

## 第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求項 3 7 - 3 9 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。  
つまり、  
請求項 3 7 - 3 9 は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT規則39.1(iv)の規定により、国際調査をすることを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求項 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求項 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☐ 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。