

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6938835号
(P6938835)

(45) 発行日 令和3年9月22日 (2021.9.22)

(24) 登録日 令和3年9月6日 (2021.9.6)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 K 38/16 (2006.01)	A 6 1 K 38/16 Z N A
A 6 1 P 21/00 (2006.01)	A 6 1 P 21/00
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 K 47/68

請求項の数 20 (全 19 頁)

(21) 出願番号	特願2018-539976 (P2018-539976)	(73) 特許権者	517385151
(86) (22) 出願日	平成29年2月2日 (2017.2.2)		オンコイミュン, インコーポレイテッド
(65) 公表番号	特表2019-506408 (P2019-506408A)		アメリカ合衆国 メリーランド 2085
(43) 公表日	平成31年3月7日 (2019.3.7)		O, ロックビル, キー ウェスト ア
(86) 国際出願番号	PCT/US2017/016120		ベニユー 9430, スイート 113
(87) 国際公開番号	W02017/136492	(74) 代理人	100079049
(87) 国際公開日	平成29年8月10日 (2017.8.10)		弁理士 中島 淳
審査請求日	令和2年1月27日 (2020.1.27)	(74) 代理人	100084995
(31) 優先権主張番号	62/290, 202		弁理士 加藤 和詳
(32) 優先日	平成28年2月2日 (2016.2.2)	(72) 発明者	リウ, ヤン
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		アメリカ合衆国 ワシントン ディストリ
			クト オブ コロンビア 20002,
			イー ストリート エヌイー 502

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 レプチン欠乏状態を治療するためのCD24タンパク質の使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

CD24タンパク質を含む、被験体の血中の循環レプチンレベルを上昇させるための薬剤であって、前記CD24タンパク質が、

(a) 配列番号1又は配列番号2の配列を含む成熟CD24タンパク質、及び

(b) ヒトIgタンパク質のFc部分であって、前記CD24タンパク質のC末端に融合されている前記Fc部分

を含む前記薬剤。

【請求項2】

前記被験体のレプチンが低下している、請求項1に記載の薬剤。

【請求項3】

前記被験体がガリボジストロフィーを有する、請求項2に記載の薬剤。

【請求項4】

前記被験体がHIVを有する、請求項2に記載の薬剤。

【請求項5】

前記被験体が抗ウイルス療法を受けている、請求項2に記載の薬剤。

【請求項6】

前記ヒトIgタンパク質が、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、及びIgAから成る群から選択される、請求項1に記載の薬剤。

【請求項7】

10

20

前記 F c 部分が、前記ヒト I g G 1、I g G 2、I g G 3、又は I g G 4 のヒンジ領域並びに C H 2 及び C H 3 ドメインを含む、請求項 6 に記載の薬剤。

【請求項 8】

前記 C D 2 4 タンパク質が、配列番号 6、配列番号 1 1、又は配列番号 1 2 の配列を含む、請求項 1 に記載の薬剤。

【請求項 9】

前記 C D 2 4 タンパク質のアミノ酸配列が、配列番号 6、配列番号 1 1、又は配列番号 1 2 のアミノ酸配列からなる、請求項 8 に記載の薬剤。

【請求項 10】

前記 C D 2 4 タンパク質が可溶性である、請求項 1 に記載の薬剤。

10

【請求項 11】

前記 C D 2 4 タンパク質がグリコシル化されている、請求項 1 に記載の薬剤。

【請求項 12】

C D 2 4 タンパク質を含む、被験体におけるリポジストロフィー症候群を治療または予防するための薬剤であって、前記 C D 2 4 タンパク質が、

(a) 配列番号 1 又は配列番号 2 の配列を含む成熟 C D 2 4 タンパク質、及び

(b) ヒト I g タンパク質の F c 部分であって、前記 C D 2 4 タンパク質の C 末端に融合されている前記 F c 部分

を含む前記薬剤。

【請求項 13】

前記被験体が H I V を有する、請求項 1 2 に記載の薬剤。

20

【請求項 14】

前記被験体が抗ウイルス療法を受けている、請求項 1 2 に記載の薬剤。

【請求項 15】

前記ヒト I g タンパク質が、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、及び I g A から成る群から選択される、請求項 1 2 に記載の薬剤。

【請求項 16】

前記 F c 部分が、前記ヒト I g G 1、I g G 2、I g G 3、又は I g G 4 のヒンジ領域並びに C H 2 及び C H 3 ドメインを含む、請求項 1 5 に記載の薬剤。

【請求項 17】

前記 C D 2 4 タンパク質が、配列番号 6、配列番号 1 1、又は配列番号 1 2 の配列を含む、請求項 1 2 に記載の薬剤。

30

【請求項 18】

前記 C D 2 4 タンパク質のアミノ酸配列が、配列番号 6、配列番号 1 1、又は配列番号 1 2 のアミノ酸配列からなる、請求項 1 7 に記載の薬剤。

【請求項 19】

前記 C D 2 4 タンパク質が可溶性である、請求項 1 2 に記載の薬剤。

【請求項 20】

前記 C D 2 4 タンパク質がグリコシル化されている、請求項 1 2 に記載の薬剤。

【発明の詳細な説明】

40

【技術分野】

【0001】

本発明は、レプチン欠乏状態の治療に使用するための C D 2 4 タンパク質に関する。

【背景技術】

【0002】

レプチン遺伝子の変異によるレプチン欠損症、視床下部性無月経、及びリポジストロフィー症候群（L S）等のレプチン欠乏状態は、脂肪組織及び脂肪組織由来のホルモン、つまり最も重要なレプチンの部分的または完全な欠如を特徴とする（Rodriguezら 2015）。これらの疾患では、皮下脂肪組織が最も罹患しやすく、脂肪が非脂肪組織に蓄積する。脂肪萎縮症は、1つの部位（通常は顔）からの脂肪の消失を説明するときに使

50

用するより具体的な用語である。レプチンを欠乏している患者は、高血糖症、高トリグリセリド血症、及び肝脂肪変性等の多くの重度代謝異常を示し、これらの異常は、それぞれ糖尿病、急性膵炎、及び肝硬変に進行し得る。リポジストロフィーも骨硬化症の原因となり得る。

【 0 0 0 3 】

全身性リポジストロフィーは、最も顕著なりポジストロフィー型であり、後天性または先天性のいずれかであり得る。後天性リポジストロフィーは、高活性レトロウイルス療法（H A A R T）の使用または潜在するH I V感染（最も一般的なりポジストロフィー型）もしくは自己免疫性状態から発現し得る。先天性のリポジストロフィー型の病因は、脂肪細胞分化、脂肪滴形態、及び脂質代謝を主導するいくつかの遺伝子の分子欠乏によって決定される。

10

【 0 0 0 4 】

L Sの臨床症状は、低レベルまたは検出不能なレベルの脂肪由来のサイトカインレプチンの原因となる白色脂肪組織の部分的または完全な欠如によって本質的に決定される。レプチンは、以前は、グルコース恒常性、インスリン感受性、及び脂肪酸酸化を含むいくつかの代謝過程を調節するアディポサイトカインとして知られている。リポジストロフィーに見られるレプチン欠損症の状態は、いくつかの代謝異常の発現の原因となり、リポジストロフィー患者の約80%は、メタボリック症候群の診断基準を満たしている。

【 0 0 0 5 】

リポジストロフィーのようなレプチン欠乏状態のために現在承認されている治療法は、レプチンアナログメトレプチン（M Y A L E P T）等によるレプチン補充療法（L R T）を伴う。しかしながら、L R Tは、中和抗薬物抗体及びリンパ腫の発現に関連するリスクと関係し、全身性非H I Vリポジストロフィーの症例のみに現在承認されている。さらに、その低半減期により、メトレプチンは、固有のレプチン概日周期を模倣するために1日に1回または2回（通常は同じ時刻に）投与しなければならない。ゆえに、特にH I V患者のL S及びレプチン欠損症を治療する代替方法の必要性がある。

20

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 6 】

本発明は、それを必要とする被験体にC D 2 4タンパク質を投与することによって、被験体におけるレプチン欠乏状態を治療するための新規の方法について説明する。また、それを必要とする被験体にC D 2 4タンパク質を投与することによって、H I Vを有する患者におけるリポジストロフィーを治療または治療することを予防するための方法も提供される。

30

【 0 0 0 7 】

C D 2 4タンパク質は、成熟ヒトC D 2 4の配列またはその変異体を含んでもよい。成熟ヒトC D 2 4は、配列番号1または2の配列を含んでもよい。C D 2 4タンパク質は、ヒトC D 2 4の細胞外ドメインのうちのいずれかまたは全てを含んでもよい。C D 2 4タンパク質は、タンパク質を発現する細胞からの分泌を可能にするように、配列番号4のシグナル配列を含んでもよい。シグナルペプチド配列は、他の膜貫通または分泌タンパク質上に見られるものであってもよく、または当技術分野で既知である既存のシグナルペプチドから修飾されたものであってもよい。C D 2 4タンパク質は、可溶性であってよく、及び/またはグリコシル化されてもよい。C D 2 4タンパク質は、真核生物タンパク質発現系を使用して産生されてもよく、真核生物タンパク質発現系は、チャイニーズハムスター卵巣細胞株または複製欠損レトロウイルスベクターに含有されるベクターを含んでもよい。複製欠損レトロウイルスベクターは、真核生物細胞のゲノム内に安定して組み込まれてもよい。

40

【 0 0 0 8 】

C D 2 4タンパク質は、タンパク質タグを含んでもよく、タンパク質タグは、C D 2 4タンパク質のN末端またはC末端に融合されてもよい。タンパク質は、哺乳類免疫グロブ

50

リン (I g) の一部分を含んでもよく、哺乳類免疫グロブリンの一部分は、ヒト I g タンパク質の F c 部分であってもよい。ヒト I g タンパク質は、ヒト I g タンパク質のヒンジ領域ならびに C H 2 及び C H 3 ドメインを含んでもよく、ヒト I g タンパク質は、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、または I g A であってもよい。F c 部分は、I g M のヒンジ領域ならびに C H 3 及び C H 4 ドメインも含んでもよい。C D 2 4 タンパク質は、配列番号 5、6、8、または 9 の配列を含んでもよい。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 0 9 】

【図 1 A】全長 C D 2 4 融合タンパク質、C D 2 4 I g G 1 F c (本明細書において C D 2 4 F c と呼ばれる) のアミノ酸組成物を示す (配列番号 5)。下線の 2 6 個のアミノ酸は、C D 2 4 のシグナルペプチドであり (配列番号 4)、これは、タンパク質を発現する細胞からの分泌中に切断され、タンパク質の成熟型から欠如している (配列番号 6)。配列の太字部分は、融合タンパク質に使用される成熟 C D 2 4 タンパク質の細胞外ドメインである (配列番号 2)。成熟 C D 2 4 タンパク質に通常存在している最後のアミノ酸 (A または V) は、免疫原性を回避するために構築体から削除されている。下線無しの太字無しの文字は、I g G 1 F c の配列であり、ヒンジ領域ならびに C H 1 及び C H 2 ドメインを含む (配列番号 7)。

10

【図 1 B】C D 2 4 ^V F c の配列を示し (配列番号 8)、配列において、成熟ヒト C D 2 4 タンパク質 (太字) は、配列番号 1 のバリン多型変異体である。

【図 1 C】C D 2 4 ^A F c の配列を示し (配列番号 9)、配列において、成熟ヒト C D 2 4 タンパク質 (太字) は、配列番号 1 のアラニン多型変異体である。図 1 B 及び図 1 C における融合タンパク質の様々な部分が図 1 A のように示され、変異バリン / アラニンアミノ酸は 2 重下線が引かれる。

20

【 0 0 1 0 】

【図 2】治療前 1 日目と比較した C D 2 4 F c 治療後 3 日目における健常ヒト被験体の血清中のレプチンの比率を示す。薬剤は、0 日目に投与された。データは、C D 2 4 F c 投薬コホートによって示され、0 m g / k g 群は、プラセボ対照群を示す。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 1 1 】

本明細書において、C D 2 4 タンパク質のヒト被験体への投与によって血液内の循環レプチンレベルが上昇するという驚くべき発見について説明する。これは、循環レプチンレベルを上昇させることによる、リポジストロフィー等のレプチン欠乏状態の治療に有用である。具体的な実施形態では、本発明は、H I V 患者のリポジストロフィーを治療する方法に関する。

30

【 0 0 1 2 】

本明細書においてより詳細に説明するように、C D 2 4 は、造血細胞及び非造血細胞の両方で広範囲に発現する小さなグリコシル - ホスファチジル - イノシトール (G P I) - アンカー型糖タンパク質であり、これは、2 4 0 個の塩基対のコード配列によってコード化される。8 0 個のアミノ酸のうちの最初の 2 6 個は、シグナルペプチドを構成し、最後の 2 3 個は、G P I 尾部の付着を可能にする切断のためのシグナルとしての役割を果たす。結果として、成熟ヒト C D 2 4 分子は、3 1 個のアミノ酸のみを有する。成熟 C D 2 4 タンパク質中の 3 1 個のアミノ酸のうち、最後の (C 末端) アミノ酸は、ヒト集団において多型である。ヌクレオチド 2 2 6 における C から T への転移によって、アラニン (a) のバリン (v) との置換がもたらされる。この残基が、切断部位への近接 N 末端であるため、及び置き換えが非保存性であるため、これらの 2 つのアレルは、細胞表面上に異なる効果で発現され得る。

40

【 0 0 1 3 】

C D 2 4 は、多発性硬化症 (M S)、関節リウマチ (R A)、及び全身性エリテマトーデス (S L E) のための遺伝的修飾因子であることが知られている。集団レベルにおいて、C D 2 4 ^{v / v} 遺伝子型は、正常集団における頻度の 2 倍を超える。M S 多発家系では

50

、C D 2 4^Δ アレルは、健常対照に比べて、M S 患者に優先的に伝達される。さらに、より重症の病気型（総合障害度評価 [E D S S] 6 . 0 以上、患者が一人で歩行する能力を失うとき）の M S 患者では、C D 2 4^Δ / ^Δ 個体は、最初の臨床症状から E D S S 6 . 0 に到達するまでに平均 7 年かかり、さらに、C D 2 4^Δ / ^Δ または C D 2 4^Δ / ^Δ 個体は、E D S S 6 . 0 に到達するのに 1 3 ~ 1 5 年かかった。反対に、C D 2 4 伝令リボ核酸 (m R N A) の 3 ' 非翻訳領域におけるジヌクレオチド欠失は、C D 2 4 の m R N A 安定性を低下させ、ひいては C D 2 4 発現を低下させるものであり、M S 及び他の自己免疫疾患からヒトを保護する。これまで、C D 2 4 は、脂質レベルに影響を及ぼすことが示されていない。

【 0 0 1 4 】

10

1 . 定義

本明細書で使用する専門用語は、特定の実施形態を説明する目的のためだけのものであり、限定するものとして意図されない。本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用する時、単数形「 a 」、 「 a n 」、及び「 t h e 」は、文脈上明白に他の意味を示す場合を除いて、複数の指示対象を含む。

【 0 0 1 5 】

本明細書における数値範囲の列挙について、同じ精度でその間に介在する各数字が、明示的に企図される。例えば、6 ~ 9 の範囲について、6 及び 9 に加えて数字の 7 及び 8 が企図され、6 . 0 ~ 7 . 0 の範囲について、数字の 6 . 0、6 . 1、6 . 2、6 . 3、6 . 4、6 . 5、6 . 6、6 . 7、6 . 8、6 . 9、及び 7 . 0 が明示的に企図される。

20

【 0 0 1 6 】

「ペプチド」または「ポリペプチド」は、アミノ酸の結合配列であり、天然、合成、または天然及び合成の修飾もしくは組み合わせであってもよい。

【 0 0 1 7 】

「実質的に同一」は、第 1 及び第 2 のアミノ酸配列が、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、または 300 個のアミノ酸の領域について、少なくとも 60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 %であることを意味してもよい。

30

【 0 0 1 8 】

「治療」または「治療する」は、ヒトまたは動物の病気からの保護を指すとき、病気を予防、抑制、抑止、または完全に排除することを意味する。病気を予防することは、発病前に、本発明の組成物をヒトまたは動物に投与することを伴う。病気を抑制することは、病気誘導後、但し臨床的所見前に、本発明の組成物をヒトまたは動物に投与することを伴う。病気を抑止することは、病気の臨床的所見後に本発明の組成物をヒトまたは動物に投与することを伴う。

40

【 0 0 1 9 】

「変異体」は、アミノ酸の挿入、欠失、または保守的置換によってアミノ酸配列の点で異なるが、いくつかの生物学的活性を保持するペプチドまたはポリペプチドを意味してもよい。C D 2 4 の「生物学的活性」の代表的な例として、レクチン、具体的には、シグレック（シアル酸結合免疫グロブリン型レクチン）に結合し、かつ特異抗体により結合される能力が挙げられる。また、変異体は、少なくとも 1 つの生物学的活性を保持するアミノ酸配列を有する参照タンパク質に実質的に同一であるアミノ酸配列を有するタンパク質も意味してもよい。アミノ酸の保守的置換、すなわち、類似の特性（例えば、親水性、荷電領域の度合い及び分布）の異なるアミノ酸とのアミノ酸の置き換えが、典型的にはわずか

50

な変化を伴うものとして当技術分野において認識されている。これらのわずかな変化は、当技術分野において理解されているように、アミノ酸の疎水性指標を考慮することによって部分的に同定され得る。アミノ酸の疎水性指標は、その疎水性及び荷電の考慮に基づく。類似の疎水性指標のアミノ酸が置換され、依然としてタンパク質機能を保持することができるのが当技術分野において既知である。一態様では、 ± 2 の疎水性指標を有するアミノ酸が置換される。生物学的機能を保持するタンパク質をもたらし得る置換を明らかにするためにアミノ酸の親水性も使用することができる。ペプチドの観点からアミノ酸の親水性について考慮することによって、そのペプチドの最大局所平均親水性の計算、つまり、抗原性及び免疫原性とよく相関するように報告されている有用な測定が可能になる。米国特許第4,554,101号は、参照により本明細書に完全に組み込まれる。類似の親水性値を有するアミノ酸の置換によって、当技術分野で理解されるように、生物学的活性、例えば、免疫原性を保持するペプチドがもたらされ得る。置換は、互いに ± 2 内の親水性値を有するアミノ酸で行われてもよい。アミノ酸の疎水性指標及び親水性値の両方が、アミノ酸の特定の側鎖によって影響を受ける。その観察と一致して、生物学的機能に適合するアミノ酸置換は、疎水性、親水性、荷電、サイズ、及び他の特性により明らかにされるように、アミノ酸の相対類似性、具体的には、これらのアミノ酸の側鎖に依存すると理解されている。

【0020】

2. CD24

細胞外ドメイン (ECD) に対応する、成熟ヒトCD24または他の哺乳類からのアミノ酸配列、またはその変異体を含み得るCD24タンパク質が本明細書に提供される。上述のように、成熟ヒトCD24タンパク質の配列は、31アミノ酸長であり、バリン (V) 残基との可変アラニン (a) をそのC末端に有する。

SETTTGTSSNSSQSTSSNSGLAPNPTNATTK (V/A) (配列番号1)

【0021】

C末端バリンまたはアラニンは、免疫原性であってもよく、CD24タンパク質から省略されてその免疫原性を低下させてもよい。ゆえに、別の実施形態では、CD24タンパク質は、以下のC末端アミノ酸を欠如しているアミノ酸配列または成熟ヒトCD24を含んでもよい。

SETTTGTSSNSSQSTSSNSGLAPNPTNATTK (配列番号2)

【0022】

マウス及びヒトからの成熟CD24タンパク質のアミノ酸配列における大幅な配列変異にもかかわらず、ヒトCD24Fcがマウスにおいて活性であるように示されているため、機能的に同等である。ヒトCD24ECDのアミノ酸配列は、マウスタンパク質とのいくつかの配列保存を示す (39%同一性、ジェンバンク登録番号NP_033976)。しかしながら、CD24ECDがその種に応じた長さにおいて27~31個のアミノ酸のみであるように、同一性割合がより高くないことは驚くには当たらず、シグレック10/G等のその受容体のいくつかに結合することは、そのシアル酸及び/または糖タンパク質のガラクトース糖によって介在される。ヒトシグレック10 (ジェンバンク登録番号AF310233) の細胞外ドメインとそのマウス相同体シグレックG (ジェンバンク登録番号NP_766488) 受容体タンパク質とのアミノ酸配列同一性は、63%である。主にC末端及びグリコシル化部位の存在量におけるマウスとヒトCD24との間の配列保存の結果、成熟CD24タンパク質における著しい変異が、CD24タンパク質の使用において認められてもよく、これは、特にこれらの変異が、C末端における保存残基に影響を及ぼさない場合、またはマウスもしくはヒトCD24からのいずれもグリコシル化部位に影響を及ぼさない場合である。ゆえに、CD24タンパク質は、以下の成熟マウスCD24のアミノ酸配列を含んでもよい。

NQTSVAPFPGNQNISASPNPTNATTRG (配列番号3)。

【0023】

10

20

30

40

50

ヒトCD24ECDのアミノ酸配列は、マウスよりもカニクイザルのタンパク質とより多くの配列保存を示す(52%同一性、ユニプロット登録番号UniProtKB-I7GKK1)。この場合も、ECDがこれらの種における長さにおいて29~31個のアミノ酸のみであるように、同一性割合がより高くないことは驚くには当たらず、糖残基の役割はその受容体への結合である。カニクイザルシグレック10受容体のアミノ酸配列は、決定されていないが、ヒトとアカゲザルシグレック10(ジェンバンク登録番号XP_001116352)タンパク質との間のアミノ酸配列同一性は、89%である。ゆえに、CD24タンパク質は、以下の成熟カニクイ(またはアカゲ)ザルCD24のアミノ酸配列も含んでもよい。

TVTTTSAPLSSNSPQNTSTTPNPANTTTKA(配列番号10)
【0024】

10

CD24タンパク質は、可溶性であってもよい。CD24タンパク質は、タンパク質を発現する細胞からの分泌を可能にするように、N末端シグナルペプチドをさらに含んでもよい。シグナルペプチド配列は、アミノ酸配列MGRAMVARGLGGLLLALLLPITQIYS(配列番号4)を含んでもよく、これは、内因性ヒトCD24シグナルペプチドからのものである。代替として、シグナル配列は、他の膜貫通タンパク質もしくはは分泌タンパク質に見られるものまたは当技術分野で既知である既存のシグナルペプチドから修飾されたもののうちのいずれかであってもよい。

【0025】

a. 融合

20

CD24タンパク質は、そのN末端またはC末端においてタンパク質タグに融合されてもよく、タンパク質タグは、ヒトまたはマウスであり得る哺乳類Igタンパク質の一部分を含んでもよい。その部分は、Igタンパク質のFc領域を含んでもよい。Fc領域は、Igタンパク質のヒンジ領域ならびにCH2及びCH3ドメインを含んでもよい。Igタンパク質は、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、またはIgAであってもよい。Fc部分は、ヒト免疫グロブリンG1(IgG1)アイソタイプ配列番号7を含んでもよい。Igタンパク質は、IgMであってもよく、Fc部分は、IgMのヒンジ領域ならびにCH3及びCH4ドメインを含んでもよい。タンパク質タグは、GST、His、またはFLAGも含んでもよい。融合タンパク質を作製し、融合タンパク質を浄化するための方法は、当技術分野において周知である。

30

【0026】

我々の前臨床研究に基づいて、例において同定された融合タンパク質CD24Fcの構築のために、GPISigナル切断部位の前の最終多型アミノ酸が欠如している30個のアミノ酸のうちの天然CD24分子の切断型を使用するように選択した(配列番号2)。このタンパク質は、ヒトIgG1Fcドメインに融合される(配列番号7)。全長CD24Fc融合タンパク質が、配列番号5(図1)に提供され、細胞から分泌される(すなわち、切断されるシグナル配列が欠如している)CD24Fc融合タンパク質の成熟型が、配列番号6に提供される。IgG1Fcに融合される成熟CD24(つまり、配列番号1を有する成熟CD24タンパク質)のプロセス多型変異体は、配列番号11または12を含んでもよい。

40

【0027】

b. 産生

本明細書で説明するCD24タンパク質は、高度にグリコシル化されてもよく、糖部分は、免疫細胞共刺激、シグレック(シアル酸結合免疫グロブリン型レクチン)との相互作用、及び損傷関連分子パターン(DAMP)との相互作用等のCD24の生物学的活性に関与してもよい。CD24タンパク質は、真核生物発現系を使用して調製されてもよい。発現系は、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞等の哺乳類細胞におけるベクターからの発現を伴ってもよい。その発現系はまた、真核生物細胞に感染するために使用され得る複製欠損レトロウイルスベクター等のウイルスベクターであってもよい。CD24タンパク質は、細胞ゲノムに組み込まれているベクターまたはベクターの一部分からCD2

50

4 タンパク質を発現する安定細胞株からも産生されてもよい。安定細胞株は、組み込まれた複製欠損レトロウイルスベクターからCD24タンパク質を発現してもよい。発現系は、GPEX（商標）であってもよい。

【0028】

c. 医薬組成物

本明細書に説明するCD24タンパク質は、医薬組成物に含有されてもよく、医薬組成物は、少なくとも1つの薬学的に許容可能な賦形剤を含んでもよい。医薬組成物は、長期間にわたってCD24タンパク質を安定させ得る溶媒を含んでもよい。溶媒は、PBSであってもよく、PBSは、少なくとも66ヶ月の間約-20°C（-15~-25°C）でCD24タンパク質を安定させ得る。溶媒は、別の薬剤と組み合わせてCD24タンパク質を収容することができ得る。

10

【0029】

d. 投薬量

CD24タンパク質の用量は、許容可能な毒性及び臨床有効性を有する用量を決定するために、臨床試験によって最終的に決定されてもよい。初回臨床用量は、げっ歯類及び非ヒト霊長類における薬物動態及び毒性研究によって見積もられてもよい。CD24タンパク質の用量は、所望の量のレプチン上昇及び投与経路に応じて、0.01mg/kg~1000mg/kgであってもよく、1~500mg/kgであってもよい。CD24タンパク質は、静脈内注入または皮下もしくは壁内注射によって投与されてもよく、用量は、被験体がヒトである場合、10~100,000mg、10~10,000mg、10~1000mg、10~500mg、10~240mg、10~120mg、または10、30、60、120、もしくは240mgであってもよい。

20

【0030】

3. 治療の方法

CD24タンパク質は、レプチン遺伝子におけるハイボモルフ変異またはエピジェネティックサイレンシングによるレプチン欠損症、視床下部性無月経、及び脂肪萎縮症を含むリポジストロフィー症候群（LS）等のレプチン欠乏状態を有する被験体等の、レプチンレベルを上昇させる必要のある被験体に投与されてもよい。さらに、被験体は、先天性または後天性のいずれかである全身性リポジストロフィーを有してもよい。後天性リポジストロフィーは、高活性レトロウイルス療法（HAART）を使用する被験体または潜在的HIV感染（最も一般的なりポジストロフィー型）もしくは自己免疫状態を有する被験体を含む。後天性リポジストロフィーは、脂肪細胞分化、脂肪滴形態、及び脂質代謝を主導するいくつかの遺伝子のうちのいずれかに分子欠損を有する被験体を含む。被験体は、ヒト等の哺乳類であってもよい。

30

【0031】

被験体は、レプチン補充療法（LRT）等のレプチン補充薬剤、または血中のレプチンレベルを上昇させる薬剤で過去に治療されていてもよい。LRT療法の具体的な例として、レプチンアナログメトレレプチン（Myalept, Aegerion Pharmaceuticals, Inc., Cambridge, MA, USA）が挙げられる。

【0032】

40

a. 投与

医薬組成物の投与の経路は、非経口であってもよい。非経口投与は、静脈内、動脈内、腹腔内、皮下、筋肉内、髄腔内、関節内、及び罹患関節内への直接注射を含むがこれらに限定されない。獣医学的使用について、薬剤は、通常の獣医学診療に従って、適切に許容可能な製剤として投与されてもよい。獣医は、特定の動物に最も適切な投薬計画及び投与経路を容易に決定することができる。医薬組成物は、ヒト患者、ネコ、イヌ、大型動物、または鳥類に投与されてもよい。

【0033】

CD24タンパク質は、他の治療と同時にまたはメトロノミックに投与されてもよい。本明細書で使用する用語の「同時」または「同時に」は、CD24タンパク質及び他の治

50

療が、相互に４８時間、好ましくは２４時間、より好ましくは１２時間、さらにより好ましくは６時間、及び最も好ましくは３時間以下以内に投与されることを意味する。本明細書で使用する用語の「メトロノミックに」は、他方の治療とは異なる時間における及び反復投与に対する一定の頻度における薬剤の投与を意味する。

【００３４】

ＣＤ２４タンパク質は、約１２０時間、１１８時間、１１６時間、１１４時間、１１２時間、１１０時間、１０８時間、１０６時間、１０４時間、１０２時間、１００時間、９８時間、９６時間、９４時間、９２時間、９０時間、８８時間、８６時間、８４時間、８２時間、８０時間、７８時間、７６時間、７４時間、７２時間、７０時間、６８時間、６６時間、６４時間、６２時間、６０時間、５８時間、５６時間、５４時間、５２時間、５０時間、４８時間、４６時間、４４時間、４２時間、４０時間、３８時間、３６時間、３４時間、３２時間、３０時間、２８時間、２６時間、２４時間、２２時間、２０時間、１８時間、１６時間、１４時間、１２時間、１０時間、８時間、６時間、４時間、３時間、２時間、１時間、５５分、５０分、４５分、４０分、３５分、３０分、２５分、２０分、１５分、１０分、９分、８分、７分、６分、５分、４分、３分、２分、及び１分を含む別の治療前の任意の時点で投与されてもよい。ＣＤ２４タンパク質は、約１２０時間、１１８時間、１１６時間、１１４時間、１１２時間、１１０時間、１０８時間、１０６時間、１０４時間、１０２時間、１００時間、９８時間、９６時間、９４時間、９２時間、９０時間、８８時間、８６時間、８４時間、８２時間、８０時間、７８時間、７６時間、７４時間、７２時間、７０時間、６８時間、６６時間、６４時間、６２時間、６０時間、５８時間、５６時間、５４時間、５２時間、５０時間、４８時間、４６時間、４４時間、４２時間、４０時間、３８時間、３６時間、３４時間、３２時間、３０時間、２８時間、２６時間、２４時間、２２時間、２０時間、１８時間、１６時間、１４時間、１２時間、１０時間、８時間、６時間、４時間、３時間、２時間、１時間、５５分、５０分、４５分、４０分、３５分、３０分、２５分、２０分、１５分、１０分、９分、８分、７分、６分、５分、４分、３分、２分、及び１分を含むＣＤ２４タンパク質の第２の治療前の任意の時点で投与されてもよい。

【００３５】

ＣＤ２４タンパク質は、約１分、２分、３分、４分、５分、６分、７分、８分、９分、１０分、１５分、２０分、２５分、３０分、３５分、４０分、４５分、５０分、５５分、１時間、２時間、３時間、４時間、６時間、８時間、１０時間、１２時間、１４時間、１６時間、１８時間、２０時間、２２時間、２４時間、２６時間、２８時間、３０時間、３２時間、３４時間、３６時間、３８時間、４０時間、４２時間、４４時間、４６時間、４８時間、５０時間、５２時間、５４時間、５６時間、５８時間、６０時間、６２時間、６４時間、６６時間、６８時間、７０時間、７２時間、７４時間、７６時間、７８時間、８０時間、８２時間、８４時間、８６時間、８８時間、９０時間、９２時間、９４時間、９６時間、９８時間、１００時間、１０２時間、１０４時間、１０６時間、１０８時間、１１０時間、１１２時間、１１４時間、１１６時間、１１８時間、及び１２０時間を含む別の治療後の任意の時点で投与されてもよい。ＣＤ２４タンパク質は、約１２０時間、１１８時間、１１６時間、１１４時間、１１２時間、１１０時間、１０８時間、１０６時間、１０４時間、１０２時間、１００時間、９８時間、９６時間、９４時間、９２時間、９０時間、８８時間、８６時間、８４時間、８２時間、８０時間、７８時間、７６時間、７４時間、７２時間、７０時間、６８時間、６６時間、６４時間、６２時間、６０時間、５８時間、５６時間、５４時間、５２時間、５０時間、４８時間、４６時間、４４時間、４２時間、４０時間、３８時間、３６時間、３４時間、３２時間、３０時間、２８時間、２６時間、２４時間、２２時間、２０時間、１８時間、１６時間、１４時間、１２時間、１０時間、８時間、６時間、４時間、３時間、２時間、１時間、５５分、５０分、４５分、４０分、３５分、３０分、２５分、２０分、１５分、１０分、９分、８分、７分、６分、５分、４分、３分、２分、及び１分を含む前のＣＤ２４治療後の任意の時点で投与されてもよい。

10

20

30

40

50

【 0 0 3 6 】

b . 組み合わせ治療

C D 2 4 タンパク質は、レプチン補充療法 (L R T)、または血中のレプチンレベルを上昇させる薬剤等の、別の薬剤または治療計画と組み合わせてもよい。L R T 療法の具体的な例として、レプチンアナログメトレプチン (M y a l e p t , A e g e r i o n P h a r m a c e u t i c a l s , I n c . , C a m b r i d g e , M A , U S A) が挙げられる。C D 2 4 タンパク質及び他方の薬剤は、同時または順番に投与されてもよい。

【 0 0 3 7 】

本発明は、多数の態様を有し、以下の非限定的な実施例によって説明される。

【実施例】

10

【 0 0 3 8 】

実施例 1

本実施例は、C D 2 4 F c が循環レプチンレベルを上昇させることを実証する。ベースラインからの血漿中のレプチンの変化を、以下に詳細に説明する臨床研究において分析した (本実施例の方法セクション参照) 。

【 0 0 3 9 】

L u m i n e x ビーズベースの免疫測定を使用して、C D 2 4 F c またはプラセボを服用する 4 0 人の健常被験体から、1 日目の治療前及び 3 日目の治療後に得られた 8 0 個の試料において、血漿レプチンレベルを決定した。データを表 1 に要約する。

【表 1 - 1】

表 1 被験体血漿中のレプチンレベル

被験体 #	コホート	試料日	レプリケート 1 : レプチン、p g / m l	レプリケート 2 : レプチン、p g / m l	平均 : レプチン、p g / m l
0 0 2	プラセボ	1 日目	2057.5	2151.1	2104.3
0 0 2	プラセボ	3 日目	3101.0	2603.7	2852.4
0 0 3	1 0 m g	1 日目	8764.2	7524.7	8144.4
0 0 3	1 0 m g	3 日目	10738.8	9318.1	10028.4
0 0 6	1 0 m g	1 日目	3205.3	3461.2	3333.2
0 0 6	1 0 m g	3 日目	4919.7	5651.1	5285.4
0 0 9	1 0 m g	1 日目	26019.6	33582.9	29801.2
0 0 9	1 0 m g	3 日目	25430.8	26998.1	26214.4
0 1 0	1 0 m g	1 日目	3657.9	3961.1	3809.5
0 1 0	1 0 m g	3 日目	4705.2	5613.2	5159.2
0 0 8	1 0 m g	1 日目	4055.9	4856.4	4456.2
0 0 8	1 0 m g	3 日目	11582.4	14660.8	13121.6
0 1 2	プラセボ	1 日目	12345.2	14724.4	13534.8
0 1 2	プラセボ	3 日目	14293.5	17111.0	15702.3
0 1 6	1 0 m g	1 日目	5281.3	6345.6	5813.4
0 1 6	1 0 m g	3 日目	5562.1	5491.4	5526.7
0 3 3	3 0 m g	1 日目	7906.4	8295.2	8100.8
0 3 3	3 0 m g	3 日目	15080.8	15884.3	15482.5
0 4 2	プラセボ	1 日目	3795.8	4013.6	3904.7
0 4 2	プラセボ	3 日目	4153.9	4767.0	4460.4
0 4 7	3 0 m g	1 日目	11751.1	13536.1	12643.6
0 4 7	3 0 m g	3 日目	14161.9	16374.2	15268.1
0 5 2	プラセボ	1 日目	4022.3	4668.0	4345.2
0 5 2	プラセボ	3 日目	5699.2	6002.9	5851.0
0 6 0	3 0 m g	1 日目	13672.4	16908.8	15290.6
0 6 0	3 0 m g	3 日目	18703.5	19928.7	19316.1
0 6 3	3 0 m g	1 日目	6375.7	7636.9	7006.3
0 6 3	3 0 m g	3 日目	8173.2	9556.2	8864.7
0 6 6	3 0 m g	1 日目	15790.3	17753.7	16772.0
0 6 6	3 0 m g	3 日目	24460.6	27606.1	26033.3
0 6 7	3 0 m g	1 日目	2141.7	1618.8	1880.2
0 6 7	3 0 m g	3 日目	1908.2	1721.9	1815.0
0 8 8	プラセボ	1 日目	2389.5	1932.3	2160.9
0 8 8	プラセボ	3 日目	2273.8	2305.3	2289.6
0 9 0	6 0 m g	1 日目	4883.8	4147.8	4515.8
0 9 0	6 0 m g	3 日目	4884.7	4864.1	4874.4
0 9 6	6 0 m g	1 日目	6991.8	6135.6	6563.7
0 9 6	6 0 m g	3 日目	9448.9	8672.7	9060.8
1 0 5	6 0 m g	1 日目	21867.1	20502.8	21185.0
1 0 5	6 0 m g	3 日目	27647.6	28394.9	28021.2

10

20

30

【表 1 - 2】

1 2 4	プラセボ	1 日目	787.0	811.4	799.2
1 2 4	プラセボ	3 日目	1038.7	1140.8	1089.8
1 2 9	6 0 m g	1 日目	10978.2	12103.2	11540.7
1 2 9	6 0 m g	3 日目	12475.3	15487.5	13981.4
1 3 0	6 0 m g	1 日目	10948.9	13845.4	12397.2
1 3 0	6 0 m g	3 日目	14237.8	18069.0	16153.4
1 3 1	6 0 m g	1 日目	7087.5	9026.8	8057.1
1 3 1	6 0 m g	3 日目	7537.5	9046.6	8292.1
1 3 4	1 2 0 m g	1 日目	27893.0	31498.7	29695.9
1 3 4	1 2 0 m g	3 日目	38629.1	43787.4	41208.2
1 4 9	プラセボ	1 日目	494.4	386.1	440.3
1 4 9	プラセボ	3 日目	740.8	650.8	695.8
1 4 3	プラセボ	1 日目	11114.0	9806.6	10460.3
1 4 3	プラセボ	3 日目	13506.2	10982.0	12244.1
1 4 7	1 2 0 m g	1 日目	7143.4	5834.3	6488.8
1 4 7	1 2 0 m g	3 日目	10558.2	8223.6	9390.9
1 4 8	1 2 0 m g	1 日目	1830.8	1432.5	1631.7
1 4 8	1 2 0 m g	3 日目	2193.1	1930.4	2061.7
1 5 7	1 2 0 m g	1 日目	884.3	781.7	833.0
1 5 7	1 2 0 m g	3 日目	1224.7	1087.3	1156.0
1 6 1	1 2 0 m g	1 日目	6576.9	5863.6	6220.3
1 6 1	1 2 0 m g	3 日目	8689.1	7117.7	7903.4
1 7 1	1 2 0 m g	1 日目	2899.6	2606.4	2753.0
1 7 1	1 2 0 m g	3 日目	2872.4	2592.9	2732.6
1 8 1	プラセボ	1 日目	2433.6	2206.1	2319.8
1 8 1	プラセボ	3 日目	2384.8	2171.0	2277.9
2 1 2	プラセボ	1 日目	6780.4	6600.6	6690.5
2 1 2	プラセボ	3 日目	10183.2	9953.6	10068.4
1 7 9	2 4 0 m g	1 日目	19575.6	20203.2	19889.4
1 7 9	2 4 0 m g	3 日目	29443.7	30264.3	29854.0
2 1 3	2 4 0 m g	1 日目	19.4	19.9	19.7

10

20

30

【表 1 - 3】

2 1 3	2 4 0 m g	3 日 目	31.0	31.6	31.3
2 1 6	2 4 0 m g	1 日 目	321.2	326.1	323.7
2 1 6	2 4 0 m g	3 日 目	448.1	453.2	450.6
2 1 1	2 4 0 m g	1 日 目	811.7	817.6	814.7
2 1 1	2 4 0 m g	3 日 目	1883.2	1889.4	1886.3
2 1 4	2 4 0 m g	1 日 目	888.5	887.8	888.1
2 1 4	2 4 0 m g	3 日 目	981.2	976.5	978.9
2 1 8	2 4 0 m g	1 日 目	900.6	892.7	896.6
2 1 8	2 4 0 m g	3 日 目	1831.2	1808.1	1819.7

10

【 0 0 4 0】

分析感度または検出限界（L O D）は、平均背景を上回る 2 つの標準偏差にある点における標準曲線から計算した値として決定した（2 0 のゼロ標準レプリケート）。定量下限（L L O Q）は、3 つの異なるラウンドにおいて 3 部ずつアッセイした標準希釈剤における 2 倍数希釈系列の標準を使用して決定し、測定の変動係数（C V）が 3 0 % である時点として定義した。C V を計算して濃度に対してプロットし、L L O Q をプロットから補間した。アッセイの性能特性は表 2 の以下の通りである。

20

【表 2】

表 2

検体	レプチン
単位	p g / m l
L O D	8. 1
L L O Q	1 8. 2
標準曲線領域	7. 7 ~ 6 0 0, 0 0 0

30

【 0 0 4 1】

図 2 は、コホートを投薬することによりグループ化された患者について、3 日目 / 1 日目のレプチンの比率を示す。図が示すように、C D 2 4 F c 治療後、循環レプチンの相対量において上昇傾向があり、0、6 0、1 2 0、及び 2 4 0 m g のコホート間において、この上昇は、統計的に有意であり（ $P = 0.009397$ 、用量依存的な一般線形回帰モデル）、6 0 m g を超える用量依存的な上昇が実証される。さらに、プラセボ（0 m g）と比較した 2 4 0 m g のコホートにおける C D 2 4 F c 投与後のレプチンのレベルにおいて統計的に有意な上昇があり（スチューデントの T 検定により決定される $P = 0.05$ ）、ヒト患者におけるレプチン上昇に効果的であることが示される。

【 0 0 4 2】

40

方法

これは、健常成人男女の被験体における C D 2 4 F c の安全性、忍容性、及び P K を査定するための、第 1 相、無作為化、二重盲検、プラセボ対照、単回漸増投与試験であった。8 人の被験体から成る 5 つのコホートにおける全 4 0 人の被験体が本研究に参加した。各コホートにおける 8 人の被験体のうちの 6 人が被験薬を服用し、2 人の被験体がプラセボ（0. 9 % 塩化ナトリウム、生理食塩水）を服用した。第 1 のコホートは、1 0 m g の投薬を受け、後続のコホートは、3 0 m g、6 0 m g、1 2 0 m g、及び 2 4 0 m g の C D 2 4 F c または対応プラセボを服用した。投薬は、固定量の C D 2 4 F c に基づき、体重または B S A には基づかなかった。被験体は、安全性及び忍容性のデータの検討を可能にするために少なくとも 3 週間の間隔で投薬を受けた。被験体の新しいコホートへの次に

50

高い用量の投与は、十分な安全性及び忍容性が実証された場合のみ許可された。

【 0 0 4 3 】

各コホートにおいて、最初の 2 人の被験体は、1 日目における 1 人の被験薬服用者及び 1 人のプラセボ服用者であった。3 ~ 5 人目及び 6 ~ 8 人目の被験体は、7 日目の後に投薬を受けた（下位群間で最低 24 時間の間隔）。各被験体は、同一の下位群において少なくとも 1 時間間隔で投薬を受けた。必要に応じて、残りの被験体の投薬は、そのコホートにおける第 1 または第 2 の下位群を伴う投薬後期間中に発生し得た任意の有意な安全性の問題の検討の間に遅らせた。後続のコホートは、前回のコホート後少なくとも 3 週間に投薬を受けた。

【 0 0 4 4 】

10

スクリーニング期間：スクリーニング訪問（訪問 1）は、積極的治療期間の開始前最大 21 日に発生した。インフォームドコンセントの提供後、被験体は、適格性についてのスクリーニング手順を受けた。

【 0 0 4 5 】

治療期間：被験体は、1 日目に臨床薬理施設（CPU）に入れられ（訪問 2）、無作為化治療期間は、10 時間の最低夜間絶食の後、1 日目に開始した。被験体は、CD24Fc またはプラセボを単回投与として含む治療に無作為に割り当てられた。被験体は、4 日目の朝まで閉じ込められたままであった。

【 0 0 4 6 】

経過観察：全被験体が、経過観察訪問（訪問 3、訪問 4、訪問 5、訪問 6、及び訪問 7）のために 7 日目、14 日目、21 日目、28 日目、及び 42 日目（± 1 日）に CPU に戻った。訪問 7 は、全被験体の最終訪問であった。

20

【 0 0 4 7 】

治療の期間：

被験体毎の全研究期間は、最大 63 日であった。

【 0 0 4 8 】

単一用量投与は、1 日目に発生した。

【 0 0 4 9 】

被験体の数：

計画：40 人の被験体

スクリーニング：224 人の被験体

無作為化：40 人の被験体

完了：39 人の被験体

中止：1 人の被験体

30

【 0 0 5 0 】

診断及び主要な組み入れ基準：本研究の集団は、 18 kg/m^2 以上 30 kg/m^2 以下の体格指数を有する、18 歳以上 55 歳以下の健常男女であった。

【 0 0 5 1 】

治験薬及び対照薬情報：CD24Fc：静脈内注入を介して投与された 10 mg、30 mg、60 mg、120 mg、または 240 mg の単一用量、ロット番号：09MM-036。CD24Fc は、ヒト CD24 の細胞外ドメイン及びヒト免疫グロブリン G1（IgG1Fc）のフラグメント結晶化可能領域から成る完全ヒト化融合タンパク質である。CD24Fc は、静脈内投与のために、滅菌、澄明、無色の、防腐剤の入っていない、水溶液として供給された。CD24Fc は、 10 mg/mL の濃度及び 7.2 の pH で、単一用量注射液として製剤された。各 CD24Fc バイアルは、160 mg の CD24Fc、5.3 mg の塩化ナトリウム、32.6 mg のリン酸水素 2 ナトリウム 7 水和物、及び 140 mg のリン酸 1 ナトリウム 1 水和物を $16 \text{ mL} \pm 0.2 \text{ mL}$ の CD24Fc 中を含んだ。CD24Fc を、クロロブチルのゴムストッパー及びアルミニウムのフリップオフシールを含む透明のハウケイ酸ガラスバイアルに供給した。

40

【 0 0 5 2 】

50

静脈内注入を介した投与された対応プラセボ（0.9%塩化ナトリウム、生理食塩水）、ロット番号：P296855、P311852、P300715、P315952。

【0053】

治療意図（ITT）集団は、少なくとも1つの用量の被験薬を服用した全ての被験体から成る。ITT集団は、被験体の情報及び安全性の評価のための主要な分析集団であった。

【0054】

血漿試料は、投薬前1日目、投薬日、及び2日目、3日目、4日目、7日目、14日目、21（±1）日目、28（±1）日目、及び42（±1）日目に採取された。

【0055】

引用文献：Rodriguez AJ, Mastronardi CA, Paz-Filho GJ. New advances in the treatment of generalized lipodystrophy: role of metrelleptin. Therapeutics and Clinical Risk Management. 2015; 11: 1391-1400. doi: 10.2147/TCRM.S66521.

本発明の態様は以下を含む。

[付記1]

被験体の血中の循環レプチンレベルを上昇させるための方法であって、それを必要とする被験体にCD24タンパク質を投与することを含む、方法。

[付記2]

前記被験体が、低下したレプチンを有する、付記1に記載の方法。

[付記3]

前記被験体が、リポジストロフィーを有する、付記2に記載の方法。

[付記4]

前記被験体が、HIVを有する、付記2に記載の方法。

[付記5]

前記被験体が、抗ウイルス療法を受けている、付記2に記載の方法。

[付記6]

前記CD24タンパク質が、成熟ヒトCD24の配列またはその変異体を含む、付記1に記載の方法。

[付記7]

前記成熟ヒトCD24が、配列番号1及び2の配列から成る群から選択される配列を含む、付記6に記載の方法。

[付記8]

前記CD24タンパク質が、ヒトCD24の細胞外ドメインを含む、付記6に記載の方法。

[付記9]

前記CD24タンパク質が、タンパク質タグをさらに含み、前記タンパク質タグが、前記CD24タンパク質のN末端またはC末端に融合される、付記7に記載の方法。

[付記10]

前記タンパク質タグが、哺乳類免疫グロブリン（Ig）の一部を含む、付記9に記載の方法。

[付記11]

前記Ig部分が、ヒト免疫グロブリンのFc部分である、付記10に記載の方法。

[付記12]

前記Fc部分が、前記ヒトIgタンパク質のヒンジ領域ならびにCH2及びCH3ドメインを含み、前記Igが、IgG1、IgG1、IgG3、IgG4、及びIgAから成る群から選択される、付記11に記載の方法。

[付記13]

10

20

30

40

50

前記 F c 部分が、I g M のヒンジ領域ならびに C H 3 及び C H 4 ドメインを含む、付記 1 1 に記載の方法。

[付記 1 4]

前記 C D 2 4 タンパク質が、配列番号 6 の配列を含む、付記 1 1 に記載の方法。

[付記 1 5]

前記 C D 2 4 タンパク質が、真核生物タンパク質発現系を使用して産生される、付記 1 に記載の方法。

[付記 1 6]

前記発現系が、チャイニーズハムスター卵巣細胞株に含有されるベクターを含む、付記 1 5 に記載の方法。

[付記 1 7]

前記 C D 2 4 タンパク質が、配列番号 4 のシグナル配列を含む、付記 1 6 に記載の方法。

[付記 1 8]

前記シグナルペプチド配列が、天然タンパク質配列から採用されたか、または機能的に同等の変異体のいずれかである、付記 1 6 に記載の方法。

[付記 1 9]

前記 C D 2 4 タンパク質が可溶性である、付記 1 に記載の方法。

[付記 2 0]

前記 C D 2 4 タンパク質がグリコシル化される、付記 1 に記載の方法。

[付記 2 1]

被験体におけるリポジストロフィー症候群を治療または予防するための方法であって、それを必要とする被験体に C D 2 4 タンパク質を投与することを含む、方法。

[付記 2 2]

H I V を有する被験体におけるリポジストロフィーを治療または予防するための方法であって、それを必要とする被験体に C D 2 4 タンパク質を投与することを含む、方法。

[付記 2 3]

抗ウイルス療法を受けた被験体におけるリポジストロフィー症候群を治療または予防するための方法であって、それを必要とする被験体に C D 2 4 タンパク質を投与することを含む、方法。

[付記 2 4]

被験体の血中の循環レプチンレベルを上昇させるための方法であって、それを必要とする被験体に配列番号 6 の C D 2 4 タンパク質を投与することを含む、方法。

[付記 2 5]

被験体におけるリポジストロフィー症候群を治療または予防するための方法であって、それを必要とする被験体に配列番号 6 の C D 2 4 タンパク質を投与することを含む、方法。

[付記 2 6]

H I V を有する被験体におけるリポジストロフィーを治療または予防するための方法であって、それを必要とする被験体に配列番号 6 の C D 2 4 タンパク質を投与することを含む、方法。

[付記 2 7]

抗ウイルス療法を受けた被験体におけるリポジストロフィー症候群を治療または予防するための方法であって、それを必要とする被験体に配列番号 6 の C D 2 4 タンパク質を投与することを含む、方法。

10

20

30

40

【☒ 1 A】

MGRAMVARLGLGLLLALLLPTQIYSS**SETTTGTSSNSSQSTNSGLAP**
NP**TNA****T****T****K****A****K****P****K****S****C****D****K****T****H****T****C****P****P****C****P****A****P****E****L****L****G****G****P****S****V****F****L****F****P****P****K****P****K****D****T****L****M****I****S****R**
PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLD
DGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

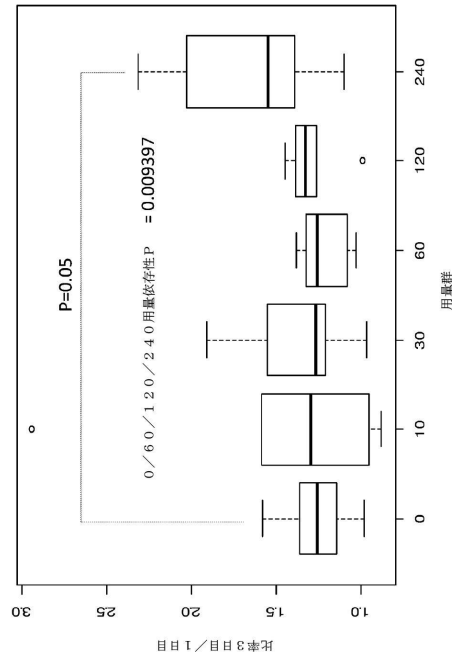
【☒ 1 C】

MGRAMVARLGLGLLLALLLPTQIYSS**SETTTGTSSNSSQSTNSGLAP**
NP**TNA****T****T****K****A****K****P****K****S****C****D****K****T****H****T****C****P****P****C****P****A****P****E****L****L****G****G****P****S****V****F****L****F****P****P****K****P****K****D****T****L****M****I****S****R**
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLD
SDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【☒ 1 B】

MGRAMVARLGLGLLLALLLPTQIYSS**SETTTGTSSNSSQSTNSGLAP**
NP**TNA****T****T****K****V****K****P****K****S****C****D****K****T****H****T****C****P****P****C****P****A****P****E****L****L****G****G****P****S****V****F****L****F****P****P****K****P****K****D****T****L****M****I****S****R**
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLD
SDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【☒ 2】



【配列表】

0006938835000001.app

フロントページの続き

- (72)発明者 ジェン, パン
アメリカ合衆国 ワシントン ディストリクト オブ コロンビア 20002, イー ストリ
ート エヌイー 502
- (72)発明者 デベンポート, マーティン
アメリカ合衆国 メリーランド 20878, ゲイザースバーグ, スティル クリーク レー
ン 614

審査官 佐々木 大輔

- (56)参考文献 特表2013-527168(JP,A)
国際公開第2001/072325(WO,A1)
国際公開第2004/106495(WO,A1)
PLOS ONE, 2015, Vol.10, No.4, e0141966
Metabolism, 2015, Vol.64, No.1, pp.47-59

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
A61K 38/00 - 38/58
A61K 47/00 - 47/69
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)
CPlus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)